

5 ERGEBNISSE (TEIL I)

5.1 Experimentelle Trypanosoma cruzi-Infektionen bei Mäusen

5.1.1 Klinischer Verlauf der Trypanosoma cruzi-Infektion

Vor Versuchsbeginn zeigten die Tiere ein ungestörtes Allgemeinbefinden mit normaler Futter- und Wasseraufnahme und intensiver Aktivität in den Abend- und Nachtstunden.

Im Versuch bildete sich während des Saugaktes der Wanzen im Rahmen der Auftropfversuche bei einigen Mäusen eine winzige Hautverdickung an der Stichstelle, die nach wenigen Minuten wieder abklang (s. Anm. zu Abb. 12) Hierfür war nicht von Bedeutung, wie fest die stechende Wanze verankert war oder wie sie abgelöst werden mußte. In zwei Fällen entstand an der Stichstelle ein kleines Hämatom (\emptyset ca. 1mm, s. Anm. zu Abb. 15)

Die Narkose wurde in der Regel gut überstanden, alle Tiere erholten sich innerhalb weniger Stunden vollständig.

In der überwiegenden Zahl der Fälle zeigten die Mäuse in der Frühphase der Infektion keinerlei Hautreaktion an der Infektionsstelle – d.h. am Eintrittsort der Parasiten – egal ob die Infektion als Injektion oder als Auftropfversuch erfolgte.

Als Ausnahme hiervon entwickelten die Mäuse, denen 10^3 T. cruzi in 0,1 ml Wanzenkot und -urin subkutan injiziert wurden (s. Versuchsansatz zu Abb. 56), ein sulziges Unterhautödem. Ihr klinischer Zustand verschlechterte sich früher als der aller anderen Tiere.

Im Verlauf der Präpatenzzeit war das Allgemeinbefinden der Mäuse zunächst ungestört.

Mäuse, bei denen die Erkrankung chronisch verlief, hatten während der gesamten Zeit ein fast ungestörtes Allgemeinbefinden, es war – wenn überhaupt – nur eine geringe Gewichtsabnahme feststellbar.

Mit Beginn der Parasitämie wurden die anderen Tiere deutlich ruhiger, Wehrten sich aber immer noch stark gegen die Blutabnahme.

Bei einigen Nacktmäusen war an der Hautfarbe schon kurz vor Ende der Präpatenz eine deutliche Anämie erkennbar, ihr Schwanzblut erschien dünnflüssig und hell.

Im weiteren Fortschreiten der Parasitämie nahmen Aktivität und Nahrungsaufnahme ab, die Mäuse verloren deutlich an Gewicht. Wenn sie sich bewegten, dann mit stark aufgekrümmten Rücken. Meist saßen sie jedoch eng aneinander gedrängt regungslos in einer Käfigecke.

Bei den C57 Bl/6 stellten sich im späten Stadium der Erkrankung unregelmäßig Lähmungen verschiedenen Grades ein. Einige Tiere erlitten eine Parese oder Paralyse eines oder beider Hinterbeine, bei anderen entwickelte sich eine Lähmung des Blasen- oder Analsphinkters.

Bei den Nacktmäusen kam es in fortgeschrittenem Stadium zu einer recht hochgradigen Dehydratation zusätzlich zur Kachexie. Schwanzblut mußte dann "ermolken" werden. Nachdem die meisten Tiere im Spätstadium der Erkrankung eine dunkelrosa Farbe angenommen hatten, wurden sie kurz vor dem Exitus fast porzellanfarben. Lähmungen traten bei ihnen nie auf.

Auf dem Käfigboden angebotene Futterpellets wurden von allen Tieren bis kurz vor ihrem Tod gerne genommen.

Die Tiere erlagen entweder der Krankheit oder wurden getötet, wenn ihr Zustand vermuten ließ, daß sie eine weitere Nacht nicht überlebt hätten. Einzelne Mäuse wurden wegen ihrer starken Lähmungserscheinungen getötet.

Diese Art des Krankheitsverlaufes galt für alle Mäuse, bei denen die Krankheit letal verlief, konnte aber nicht mit einem festen zeitlichen Ablauf verbunden werden. Es gab große individuelle Unterschiede innerhalb der Gruppen. Allgemein war zu beobachten, daß mit einer hohen Dosis infizierte Tiere klinisch noch recht gesund erschienen, obwohl sie bereits Parasiten zeigten. Tiere, die mit einer geringen Dosis infiziert worden waren, wurden schon einige Tage vor Beginn der meßbaren Parasitämie deutlich ruhiger. In welchen Versuchen sich Unterschiede in der klinischen Entwicklung ganzer Gruppen deutlich zeigten oder sich Einzeltiere besonders auffällig verhielten, ist in der Beschreibung der einzelnen Diagrammen aufgeführt.

5.1.2 Sekundärinfektionen

Die Versuche mit C57 Bl/6 wurden nur zweimal von Sekundärinfektionen begleitet: Einmal traten Milben auf (Versuchsansatz zu Abb. 49-51), woraufhin die Tiere der Stammhaltung mit einem Ivomec-Pour-on behandelt wurden. In einem zweiten Fall hatten einige Gruppen während der Präpatenzphase für einige Tage leicht entzündete Augen, diese Symptome verschwanden aber von selbst wieder. In beiden Fällen war das Allgemeinbefinden der Mäuse nicht beeinträchtigt.

Zu echten Beeinträchtigungen und sogar zu Verlusten führten die bei den Nacktmäusen häufigen Darmvorfälle und Abszesse im Kopfbereich. Diese Symptome waren vom Versuch unabhängig, oft fanden sich in den Lieferungen bereits erkrankte Tiere. Streß schien insbesondere die Darmvorfälle zu begünstigen, eine auslösende Noxe konnte jedoch nicht festgestellt werden. Auch ein veterinärmedizinisches Labor konnte aus einer eingesandten Maus keinen verursachenden Erreger isolieren. Die Beteiligung von *Citrobacter freundii* oder *Helicobacter jejuni* kann nur vermutet werden. Eine wirksame Therapie wurde nicht gefunden.

Die Darmvorfälle waren für die Tiere anscheinend sehr schmerzhaft, fingen bald an zu bluten und wurden nekrotisch. Derart erkrankte Tiere wurden getötet.

Es gab aber auch eine mildere Verlaufsform, bei der es nicht zu Blutungen kam, sondern manchmal sogar zu Spontanheilungen. Das Allgemeinbefinden dieser Mäuse blieb ungestört.

Abszesse schienen die Tiere nicht so stark zu beeinträchtigen, obwohl sie zum Teil fast erbsengroß waren und einige Mäuse dadurch ein Auge verloren. Nach Spaltung kam es immer zu Rezidiven. Eine Ursache konnte auch hier nicht ermittelt werden.

Erkrankte Tiere wurden isoliert von den klinisch gesunden der Gruppe weitergeführt oder getötet, ihre Sekundärinfektionen werden in der Beschreibung der Diagramme angegeben.

5.1.3 Parasitologische Befunde

Da die Parasitämiekurven je nach Versuchsbedingungen unterschiedlich verliefen, werden sie bei der Darstellung der Parasitämiediagramme im Einzelnen beschrieben.

Der Parasitämieverlauf bei den C57 Bl/6 Mäusen war ungleichmäßig und schankend, obwohl die Kurven insgesamt zunächst exponentiell anstiegen. Sie flachten im weiteren Verlauf meist etwas ab und fielen vereinzelt wieder. Zu einer Clearance der Flagellaten aus dem Blut kam es aber bei keiner der Mäuse innerhalb des Versuchszeitraumes von 50-120 Tagen, auch nicht bei chronischem Krankheitsverlauf.

Die Parasitämiekurven der Nacktmäuse stiegen dagegen nach einer flachen Anfangsphase gleichmäßig exponentiell an, sie hatten nur selten eine kurze Plateauphase und fielen nie wieder ab. Meist erfolgte der Tod der Tiere noch während des exponentiellen Anstiegs. Allgemein läßt sich sagen, daß die Präpatenzzeiten der Nacktmäuse kürzer waren und ihre Parasitämien schneller und steiler anstiegen als die der C57 Bl/6 Mäuse. Mit durchschnittlich um 1×10^7 bis manchmal um 1×10^8 Flagellaten/ml erreichten sie um ein bis zwei Zehnerpotenzen höhere Maxima als die der C57 Bl/6 Mäuse in einem entsprechenden Versuch.

Insgesamt fiel eine große Variabilität innerhalb der einzelnen Gruppen auf. Gleichbehandelte Tiere aus demselben Versuchsansatz, die dieselben Bedingungen hatten, reagierten z.T. sehr unterschiedlich. Bis auf Ausnahmen war dieses Phänomen bei Infektionen mit geringen Dosen stärker ausgeprägt als bei Gruppen mit hohen Infektionsdosen.

Der erste aufzufindende Flagellat zu Beginn der meßbaren Parasitämie war immer schlank. Auffällig war jedoch, daß bei höherer Infektionsdosis – insbesondere bei den Nacktmäusen – noch einige Tage lang weiter ausschließlich schlanke Formen folgten, bei geringerer Infektionsdosis aber schon der nächst sichtbare Flagellat vom kurzen, dicken Typ war.

Bei den Tests zur Überprüfung resistenter Tiere – d.h. der Tiere, bei denen keine Parasitämie meßbar war – auf eine latente Infektion blieben die mit Cyclophosphamid behandelten Mäuse negativ. Auch die Xenodiagnose verlief negativ, keine der Wanzen hatte nach 60 Tagen Flagellaten im Rektum. Die Mäuse, mit denen der "Mouse protection test" gemacht wurde, zeigten sich positiv: Sie bekamen nach Reinfektion mit 1×10^4 aufgereinigten *T. cruzi* wieder keine meßbare Parasitämie. Beide Mäuse stammten aus dem Versuch 3.1. (Versuchsansatz zu Abb.49).

5.1.4 Beobachtungen zu Infektionsverläufen bei verschiedenen Geschlechtern

Die Ergebnisse dieser Vergleiche sind als Nebenbefunde im Rahmen der anderen Versuchsserien entstanden, da zeitweilig nur das eine oder andere Geschlecht der Mäuse für die Aufstellung von Versuchsgruppen verfügbar war.

Vergleich 5.1.4.A

Abb. 5

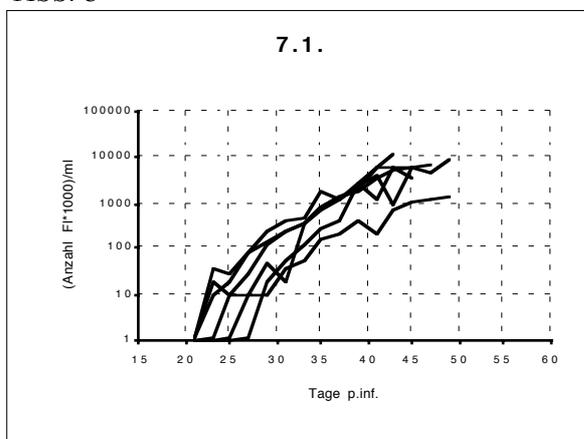


Abb. 6

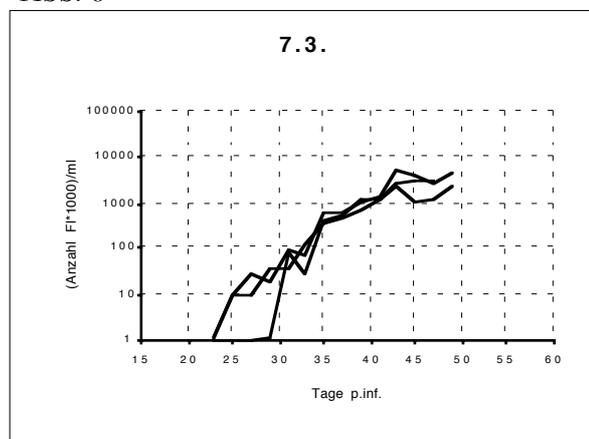


Abb. 5 und 6: Bei weiblichen (Abb. 5) und männlichen (Abb. 6) C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* des Stammes Chile 5 auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* (L4) ohne Speicheldrüsen aufgetropft.

Bei den weiblichen Mäusen ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $24,6 \pm 2,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 5). Die Kurven stiegen fast gleichmäßig bis zu Maxima von 2000-10.000 Fl/ μ l an, die Tiere verstarben zwischen dem 43. und 49. Tag p. inf. A.: Bei zwei Mäusen hatte die für den Stich eingesetzte Wanze Blutkontakt gehabt: Eins dieser Tiere hatte eine Präpatenz von 23 Tagen und verstarb am 49. Tag p. inf. mit 9000 Fl/ μ l, das andere hatte eine Präpatenz von 29 Tagen und verstarb am 45. Tag p. inf. mit 6000 Fl/ μ l. Die Mäuse, die zwischen dem 47. und 49. Tag p. inf starben, waren drei Monate älter als alle anderen. Ihre Präpatenzen unterschieden sich mit 23 ($2\times$) und 27 Tagen nicht von den übrigen.

Die männlichen Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $27.0 \pm 3,4$ Tagen und eine Morbidität von 60% (3/5) (Abb.6). Damit war die Morbidität dieser Gruppe deutlich geringer, die Steigung der Parasitämiekurven mit Maxima zwischen 4000 und 7000 Fl/ μ l und die Überlebensdauer mit 47-49 Tagen p. inf. entsprach jedoch genau den Ergebnissen der weiblichen Gruppe. Die Präpatenzunterschiede sind aufgrund der hohen Standardabweichung und der kleinen Größe der männlichen Gruppe schwer zu interpretieren.

Vergleich 5.1.4.B

Abb. 7

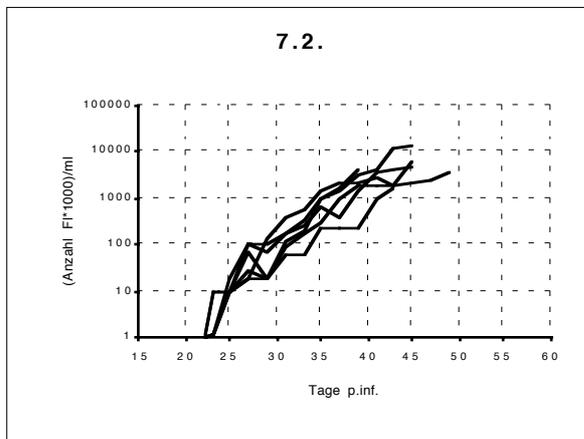


Abb. 8

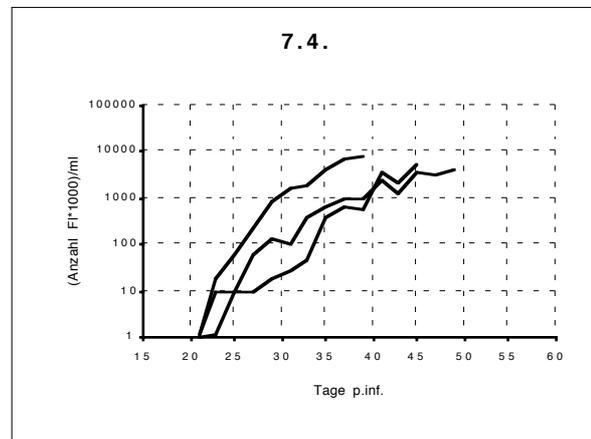


Abb. 7 und 8: Bei weiblichen (Abb. 7) und männlichen (Abb.8) C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* des Stammes Chile 5 auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* (L4) mit Speicheldrüsen aufgetropft.

Im zweiten Vergleich lagen die Präpatenzen der weiblichen Mäuse bei durchschnittlich $24,3 \pm 1,0$ Tagen, die Gruppe hatte eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 7). Die Kurven stiegen, in sich leicht schwankend, fast gleichförmig auf Maxima zwischen 5000 und 11.000 Fl/ μ l an und die Tiere starben 39-49 Tagen p. inf..

Die männlichen Mäuse hatten Präpatenzen von durchschnittlich von $23,6 \pm 1,1$ Tagen und eine Morbidität von 100% (3/3) (Abb. 8). Auch hier entsprachen die Verläufe ihrer Parasitämiekurven denen der weiblichen Tiere, die Männchen starben im gleichen Zeitraum mit Maxima von 5000-9000 Fl/ μ l.

Vergleich 5.1.4.C

Abb. 9

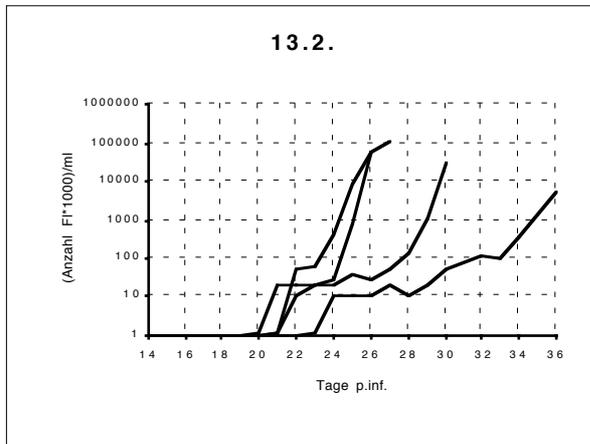


Abb. 10

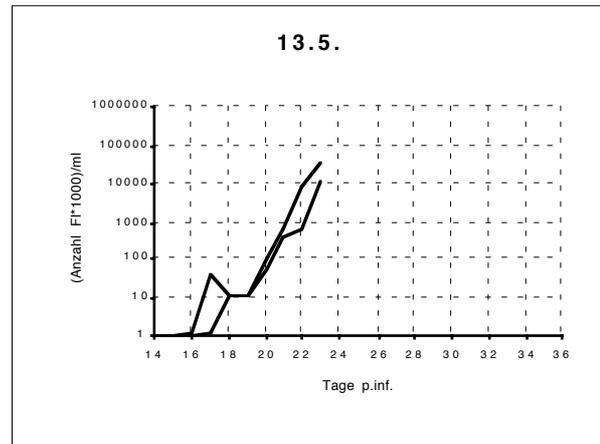


Abb. 9 und 10: Weiblichen (Abb. 9) und männlichen (Abb.10) Balb/c nu/nu Mäusen wurden 100 aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 intradermal injiziert.

Im dritten Vergleich resultierte die Infektion der weiblichen Mäuse in einer durchschnittlichen Präpatenz von $21,2 \pm 1,3$ Tagen und einer Morbidität von 100% (4/4) (Abb.9). Die Parasitämien verliefen in dieser Gruppe sehr inhomogen: Zwei Mäuse hatten einen steilen Kurvenanstieg und verstarben am 26. und 27. Tag p. inf. mit 70.000 und 90.000 Fl/µl. Die Parasitämien der anderen beiden Tiere verliefen in unterschiedlichem Maße verzögert, die Tiere starben mit 50.000 Fl/µl am 30. Tag bzw. mit 6000 Fl/µl am 36. Tag p. inf..

Bei den Männchen ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $17,5 \pm 2,1$ Tagen und eine Morbidität von 100% (2/2) (Abb.10). Ihre Präpatenzen sind damit um fast vier Tage kürzer als die der Weibchen. Ihre Kurvenverläufe und Maxima von 10.000 und 14.000 Fl/µl entsprachen in etwa den Parasitämien der erstgenannten Tiere aus der weiblichen Gruppe.

Vergleich 5.1.4.D

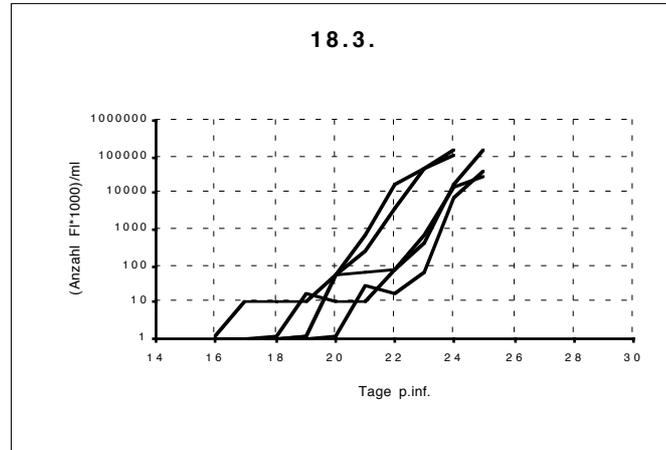


Abb. 11

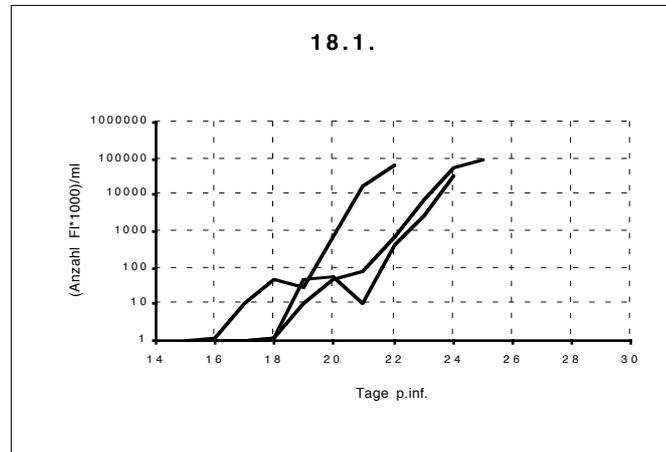


Abb. 12

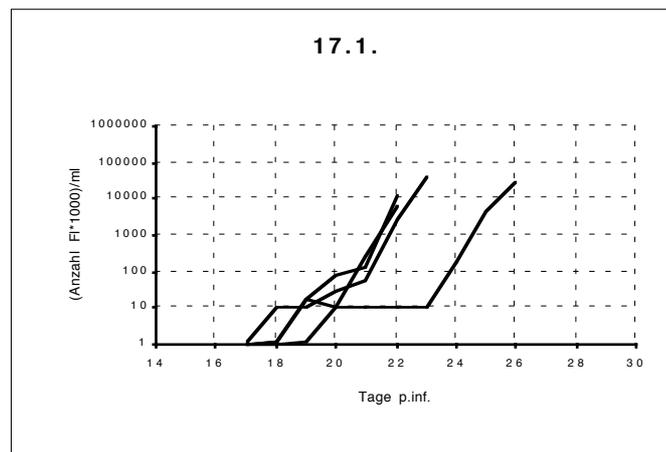


Abb. 13

Abb. 11-13: Weiblichen (Abb. 11) und männlichen (Abb. 12 und 13) Balb/c nu/nu Mäusen wurden 10^4 T. cruzi vom Stamm Chile 5 in Wanzenfäzes auf die Stichstelle von salivarekto-mierten Dipetalogaster (L4) aufgetropft.

Die weiblichen Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $18,4 \pm 1,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb.11). Alle Kurven stiegen in den ersten Tagen etwas flacher an und erreichten dann Maxima von 30.000 bis 110.000 Fl/ μ l. Zwei Mäuse starben am 24. Tag p. inf. nach sehr einheitlichem Parasitämieverlauf, die übrigen Parasitämien verliefen ihrerseits fast gleichförmig und die Tiere starben am Tag 25 p. inf..

Die Infektion der am selben Tag unter gleichen Bedingungen angesetzten männlichen Gruppe (18.1.) ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $17,3 \pm 0,9$ Tagen und eine Morbidität von 75% (3/4) (Abb.12). Die Parasitämieverläufe entsprachen denen der weiblichen Gruppe, die Tiere starben am 22., 24. und 25. Tag p. inf mit Parasitämimaxima von 50.000-90.000 Fl/ μ l. A.: Bei der Maus mit der Präpatenz von 18 Tagen, die am 25. Tag p. inf. mit 10.000 Fl/ μ l starb, hatte sich während des Wanzenstichs eine winzige Hautverdickung gebildet, die aber nach wenigen Minuten wieder verschwand.

Die Männchen der an einem anderen Tag, aber ansonsten unter gleichen Bedingungen angesetzten Gruppe (17.1.) hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $18,0 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb.13). Auch ihre Kurvenverläufe glichen denen der anderen beiden Gruppen, drei Tiere verstarben am 22. und 23. Tag, eines am 26. Tag p. inf. mit Maxima von 9000-15.000 Fl/ μ l.

Präpatenzen, Kurvenverläufe und Überlebensspannen unterschieden sich nicht wesentlich, es bestand in allen Gruppen eine hohe Variabilität.

Vergleich 5.1.4.E

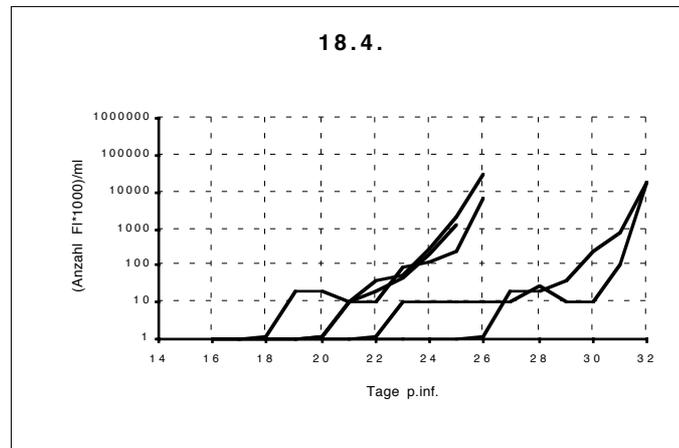


Abb. 14

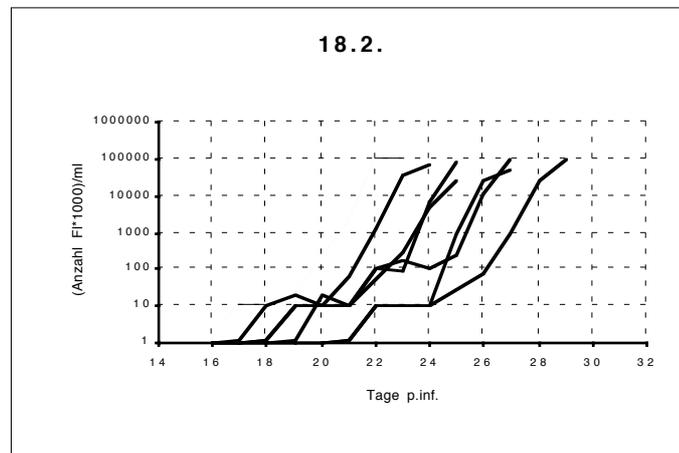


Abb. 15

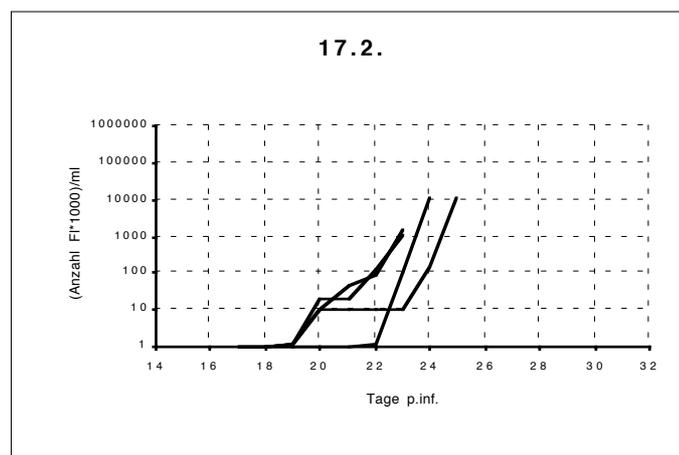


Abb. 16

Abb. 14-16: Weiblichen (Abb. 14) und männlichen (Abb. 15 und 16) Balb/c nu/nu Mäusen wurden 10^4 T. cruzi vom Stamm Chile 5 in Wanzenfäzes auf die Stichstelle von Triatoma (L5) mit Speicheldrüsen aufgetropft.

Die Infektion der weiblichen Tiere resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $18,4 \pm 1,5$ Tagen und einer Morbidität von 100% (5/5) (Abb.14). Bei dieser Gruppe entwickelten sich die Parasitämien sehr deutlich in zwei "Untergruppen": Drei Mäuse hatten Präpatenzen von 18 und 20 Tagen, ihre Kurven stiegen relativ gleichmäßig an, bis die Tiere mit Maxima zwischen 1000 und 15.000 Fl/ μ l am 23. und 24. Tag p. inf. verstarben. Die anderen beiden Mäuse hatten Präpatenzen von 22 und 26 Tagen, ihre Parasitämien hatten für 2-3 Tage eine flache, verzögerte Anfangsphase und stiegen dann erst steiler an bis auf Maxima von 11.000 Fl/ μ l; die Tiere starben am 32. Tag p. inf..

A.: Die Maus mit einer Präpatenz von 22 Tagen, die am 32. Tag starb, konnte nur am Bauch infiziert werden, da mehrere Wanzen sich dauerhaft weigerten, das Tier im Rückenbereich anzustechen. Die Mäuse, die am 24. und 25. Tag p. inf. verstarben, waren klinisch alle sehr krank.

Die Männchen der unter gleichen Bedingungen angesetzten Gruppe (18.2.) hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $18,6 \pm 1,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (7/7) (Abb.15). Ihre Parasitämien verliefen fast parallel, nur zeitlich leicht versetzt: Alle Parasitämien stiegen nach einer kurzen flacheren Anfangsphase steil bis zu Maxima von 13.000-19.000 Fl/ μ l an, die Tiere verstarben zwischen dem 23. und 29. Tag p. inf..

A.: Die Maus mit einer Präpatenz von 18 Tagen, die am Tag 25 p. inf. mit 14.000 Fl/ μ l starb, wurde im Versuchsansatz mehrmals angestochen, bis eine Wanze erfolgreich an ihr saugte. Bei der Maus mit einer Präpatenz von 21 Tagen, die am Tag 27 p. inf. mit 16.000 Fl/ μ l verstarb, hatte sich an der Stichstelle der Wanze ein kleines Hämatom gebildet. Die Maus mit einer Präpatenz von 17 Tagen, die am Tag 27 p. inf. mit 19.000 Fl/ μ l verstarb, litt seit dem 16. Tag p. inf. an Darmvorfall.

Die Infektion der anderen, an einem anderen Tag und sonst unter gleichen Bedingungen angesetzten Männchen-Gruppe (17.2.) ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $18,7 \pm 1,2$ (unter Einbeziehung des "Nachzüglers" von $20,4 \pm 1,9$) Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb.16). Die Kurven verliefen sehr inhomogen: Zwei Tiere kamen bis zu ihrem Tod am 23. Tag p. inf. nur auf Maxima von knapp 1000 Fl/ μ l, ein Tier hatte einen etwas flacheren Parasitämieverlauf und erreichte bis zu seinem Tod am 25. Tag 10.000 Fl/ μ l. Der "Nachzügler" mit der Präpatenz von 22 Tagen wies einen sehr steilen Kurvenanstieg auf und verstarb schon zwei Tage später mit 10.000 Fl/ μ l.

Die Präpatenzen der Gruppe 18.4. (Abb. 14) waren etwas länger als die der anderen Gruppen. Die Kurvenverläufe lassen sich nur schwer vergleichen, da auch hier eine hohe Variabilität bestand.

A.: Bei den Mäusen der Versuche 17 und 18 (Abb. 11-16) wurde der Tropfen aus Wanzenfäzes mit *T. cruzi* nach der Feuchtekammer noch nicht abgetupft, diese Maßnahme wurde erst später eingeführt.

Neben der Parasitämiemessung ergaben sich weitere Beobachtungen zu dem möglichen Einfluß des Geschlechtes bzw. der Hormone der Wirtstiere auf den Infektionsverlauf:

Ein Nacktmausweibchen war falsch zugeordnet worden und lebte während des Versuches in einer Gruppe mit Männchen. Das Tier wurde kurz nach der Infektion tragend und bekam während der gesamten Trächtigkeit und auch in den ersten Tagen post partum keine Parasitämie. Drei Junge wurden geboren, die aber innerhalb von sechs Tagen starben und von der Mutter gefressen wurden. Erst danach bekam das Muttertier eine Parasitämie, die vergleichsweise normal anstieg und mit dem Tod endete.

Auffallend war bei der Haltung von Nacktmausmännchen, die mit anderen männlichen Wurfgenossen zusammengehalten wurden, daß der Hodendeszensus und die Größenentwicklung der Hoden bei einigen Tieren verspätet und eingeschränkt verlief. Nur jeweils ein Tier einer solchen Gruppe und einzeln gehaltene Tiere machten eine "normale" körperliche Entwicklung durch. In Einzelhaltung wurden nur sehr aggressive Tiere verbannt, die sonst alle anderen zerbissen hätten. Diese Tiere hatten eine Veranlagung zu Alpha-Verhalten. Sie waren meist sehr kräftig gebaut, hatten breite Köpfe und erkrankten im Versuch seltener als andere.

Folgende Seite:

Abb. 17-19: Parasitämieverläufe von weiblichen C57 Bl/6 Mäusen nach Infektion mit 10^3 aufgereinigten Vektor-*Trypomastigoten* des Stammes Chile 5 (intradermal injiziert) (Abb. 17) und des Stammes Tulahuén (subkutan injiziert) (Abb. 18) sowie 10^3 aufgereinigten Kultur-*Trypomastigoten* des Stammes Tulahuén (subkutan injiziert) (Abb. 19).

5.2 Beobachtungen zu den verwendeten Trypanosomen

5.2.1 Entwicklung von *Trypanosoma cruzi* nach Infektion mit zwei Stämmen bzw. mit Trypomastigoten unterschiedlicher Herkunft

Vergleich 5.2.1.

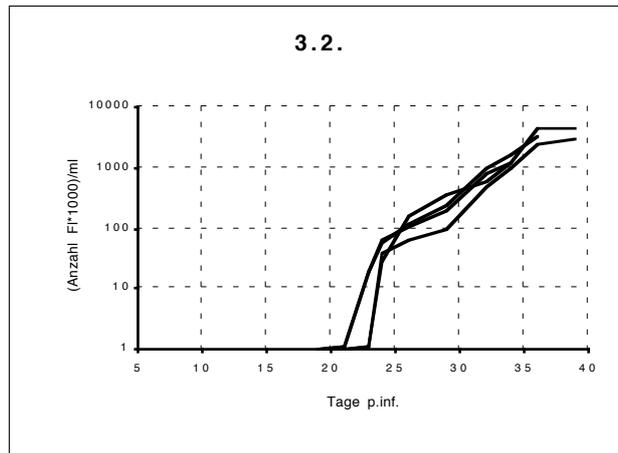


Abb. 17

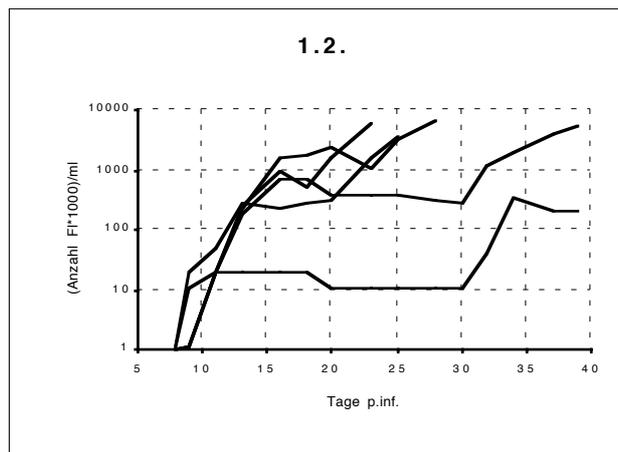


Abb. 18

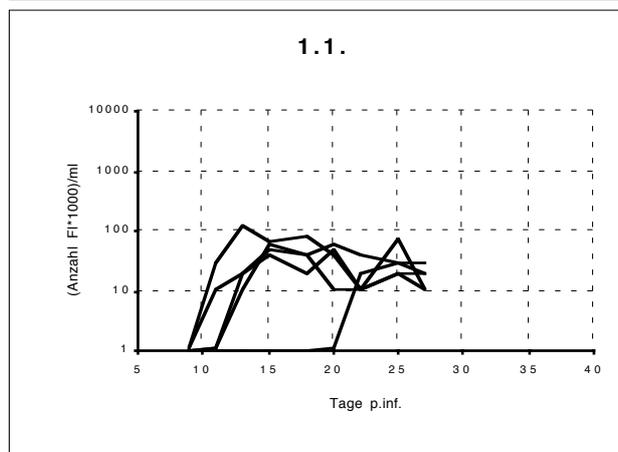


Abb. 19

(Legende s. vorhergehende Seite)

Nach der Infektion mit Vektor-Trypomastigoten des Stammes Chile 5 ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $22,5 \pm 1,7$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 17). Die Mäuse verstarben mit Parasitämimaxima von 5000-8000 Fl/ μ l 36-39 Tagen p. inf..

Die Infektion mit Vektor-Trypomastigoten des Stammes Tulahuén resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $9,8 \pm 1,1$ Tagen und einer Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 18). Die Parasitämimaxima lagen fast alle zwischen 5000 und 8000 Fl/ μ l. Drei Tiere starben nach 23-28 Tagen p. inf., eines am 39. Tag p. inf.. Nur eine Maus, die am Tag 39 maximal 300 Fl/ μ l hatte, lebte mehr als 50 Tage.

A.: Um den 18. Tag hatten alle Tiere leicht entzündete Augen; dieses Symptom verschwand aber innerhalb von drei Tagen wieder.

Die mit Kultur-Trypomastigoten des Stammes Tulahuén infizierte Gruppe zeigte eine durchschnittliche Präpatenz von $14,4 \pm 4,3$ Tagen (ohne Berücksichtigung des einen "Nachzüglers" von $12,5 \pm 1,0$) und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 19). Die Parasitämimaxima lagen zwischen 50 und 200 Fl/ μ l. Alle Tiere überlebten die Versuchsdauer von 28 Tagen.

Beim Vergleich der beiden *T. cruzi*-Stämme (Abb. 17 und 18) unterschieden sich beide Gruppen deutlich in den Präpatenzzeiten. Die Parasitämiekurven verliefen aber bei fast allen Mäusen etwa gleich steil und wiesen fast alle Maxima im Bereich von 5000-8000 Fl/ μ l auf.

(Die unterschiedlichen Injektionsformen, subkutan und intradermal, wirken sich nicht auf die Parasitämieverläufe aus; s. Kap. 6.5)

Die Infektionen mit Trypomastigoten unterschiedlicher Herkunft (Abb. 18 und 19) ergaben bei den mit Kulturstadien infizierten Tieren um vier Tage längeren Präpatenzen und sehr viel niedrigeren Parasitämien als bei den mit Wanzenstadien infizierten Mäusen.

5.2.2 Entwicklung von *Trypanosoma cruzi* in der Maus nach Aufreinigung bzw. ohne Aufreinigung aus Wanzenfäzes

Vergleich 5.2.2.A

Abb. 20

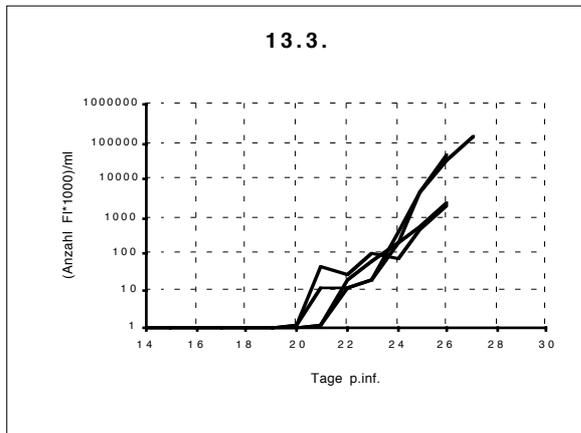


Abb. 21

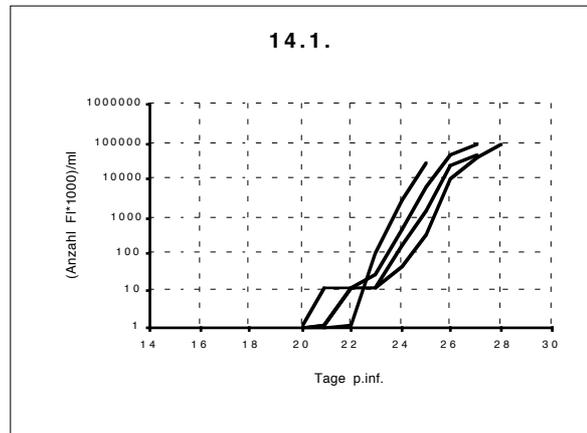


Abb. 20 und 21: Parasitämieverläufe von weiblichen Balb/c nu/nu Mäusen nach intradermaler Injektion von 50 aufgereinigten Trypomastigoten (Abb.20) und 50 Trypomastigoten – zusammen mit Epimastigoten – in Wanzenfäzes (Abb. 21), beides Stamm Chile 5.

Die mit aufgereinigten *T. cruzi* infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $20,5 \pm 0,6$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb.20). Zwei Mäuse verstarben mit Parasitämimaxima von ca. 3000 Fl/μl am Tag 26 p. inf., die anderen beiden mit Maxima von 60.000 und 110.000 Fl/μl am Tag 26 und Tag 27 p. inf..

A.: Bei einer Maus mit der Präpatenz von 20 Tagen, die am 26. Tag p. inf. mit einer Parasitämie von 3000 Fl/μl verstarb, war die Injektion wahrscheinlich subkutan erfolgt.

Nach Infektion mit Trypo- und Epimastigoten in Wanzenfäzes ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $21,0 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 21). Die Mäuse starben 25-28 Tage p. inf. mit Parasitämimaxima von 40.000-90.000 Fl/μl.

A.: Bei einer Maus mit der Präpatenz von 20 Tagen, die am 27. Tag p. inf. mit einer Parasitämie von 8000 Fl/μl verstarb, war bei der Injektion ein Hautgefäß getroffen worden, es kam dabei zu einer leichten Blutung.

Die Präpatenzen, Parasitämiekurven und Überlebenszeiten weichen in beiden Gruppen kaum voneinander ab.

Vergleich 5.2.2.B

Abb. 22

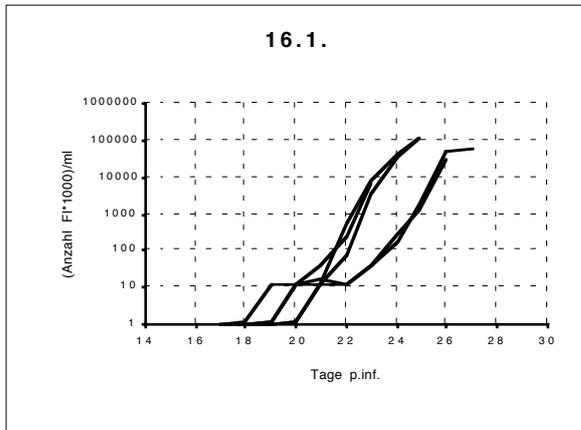


Abb. 23 (=Abb. 13)

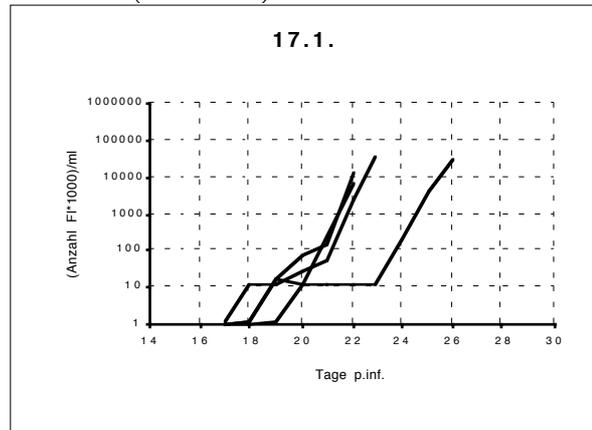


Abb. 22 und 23: Parasitämieverläufe von weiblichen Balb/c nu/nu Mäusen nach Auftropfen von 10^4 aufgereinigten Trypomastigoten (Abb.22) und 10^4 Trypomastigoten – zusammen mit Epimastigoten – in Wanzenfäzes (Abb. 23) auf die Stichstelle von salivarektomierten *Dipetalogaster maximus* (L4); alle *T. cruzi*. vom Stamm Chile 5.

Die Tropfen-Infektion mit aufgereinigten Flagellaten resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $19,2 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 22). Die Parasitämien gliederten sich in zwei Untergruppen: Die Kurven dreier Mäuse stiegen sofort steil und fast parallel an, die Tiere starben 23-25 Tage p. inf. mit 50.000-100.000 Fl/ μ l. Die Kurven zweier anderer Mäuse zeigten eine etwas flachere Anfangsphase, erreichten um zwei Tage verzögert eine den anderen Kurven entsprechende Steigung und starben an Tag 28 und 29 p. inf. mit eben solchen Maxima.

A.: Eine Maus mit der Präpatenz von 20 Tagen, die am 23. Tag p. inf. mit einer Parasitämie von 10.000 Fl/ μ l verstarb, hatte einen Abszeß am Auge.

Die mit Trypo- und Epimastigoten in Wanzenfäzes infizierten Mäuse hatten eine durchschnittlichen Präpatenz von $18,0 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 23). Die Kurvenverläufe entsprechen denen der Gruppe aus Abb. 22, auch hier hatte eine Maus eine etwas verzögerte Anfangsphase. Die Tiere erreichten allerdings nur Maxima von 9000-15.000 Fl/ μ l und verstarben am Tag 22 und 23 p. inf., der "Nachzügler" am 26. Tag p. inf..

Vergleich 5.2.2.C

Abb. 24 (=Abb. 5)

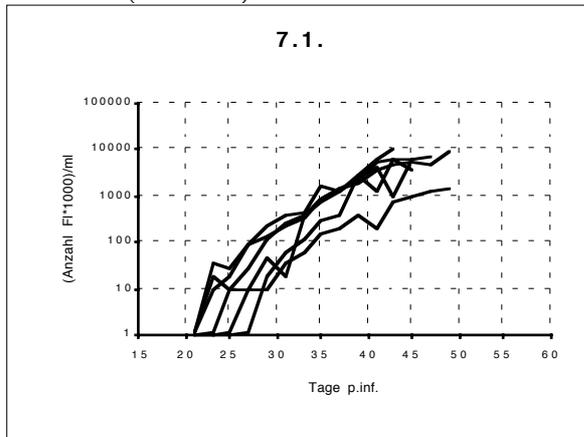


Abb. 25

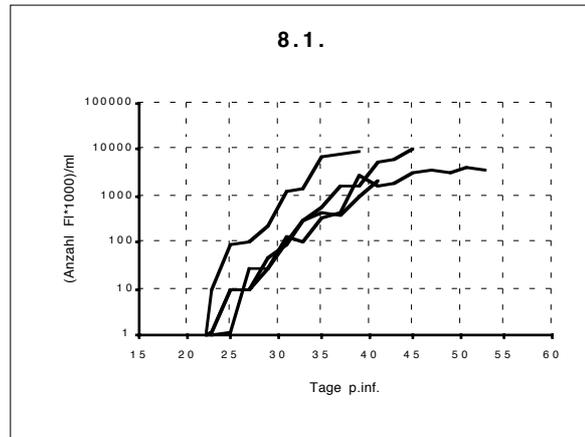


Abb. 24 und 25: Parasitämieverläufe von weiblichen C57 Bl/6 Mäusen nach Auftropfen von 10^4 aufgereinigten Trypomastigoten (Abb.24) und 10^4 Trypomastigoten in Wanzenfäzes (Abb. 25) auf die Stichstelle von salivarektomierten *Dipetalogaster maximus* (L4); alle *T. cruzi*. vom Stamm Chile 5.

Die mit aufgereinigten Trypomastigoten infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $24,6 \pm 2,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb.24). Der Kurvenverlauf dieser Gruppe ist zu Abb. 5 schon beschrieben worden.

Die Infektion mit Trypo- und Epimastigoten in Wanzenfäzes resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $24,5 \pm 1,9$ Tagen und einer Morbidität von 66% (4/6) (Abb. 25). Die Kurvenverläufe entsprachen in Präpatenz, Steigung und Maxima der Gruppe von Abb. 24, drei Mäuse verstarben zwischen dem 43. und 56. Tag.

A.: Nur eine Maus wich etwas von der Gruppe ab mit kürzerer Präpatenz (Tag 22), steilerer Kurve und früherem Tod (39. Tag p. inf.). Dieses Tier war als einziges zwischen dem 25. und 30. Tag klinisch sehr krank, erholte sich dann aber etwas. Kurz vor seinem Tod wies es starke Lähmungen der Hinterbeine auf.

Für alle verglichenen Gruppen gilt, daß es durch Infektion mit aus verschiedenen Flagellaten-Entwicklungsstadien zusammengesetzten Inokula zu keinen deutlichen Unterschieden in den Infektionsverläufen kam.

5.3 Beobachtungen und Daten zu den verwendeten Vektoren

5.3.1 Verhalten der beiden Wanzenarten

Um den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, wurde zunächst *Triatoma infestans* – der Hauptüberträger der Chagaskrankheit – für die Auftropfversuche verwendet.

Dipetalogaster maximus wurde nur für Salivarektomie-Versuche an den Untersuchungen beteiligt, weil eine derartige Operation bei *Triatoma infestans* nicht gelang. Zuerst wurde mit dem vierten Larvenstadium von *Dipetalogaster* gearbeitet, weil die Körpergröße dieser Insekten in etwa der vom fünften Larvenstadium von *Triatoma* entspricht. Später wurden Tiere des dritten Stadiums hinzugezogen, weil die Größenverhältnisse ihrer Mundwerkzeuge denen des fünften Larvenstadiums von *Triatoma* ähnlicher sind.

Die Wanzen stachen ihre Opfer abends williger an als tagsüber. Dabei zeigte sich *T. infestans* vorsichtig und nervös: Die Wanzen brachen schon bei geringen Störungen ihre Mahlzeit ab und versuchten zu flüchten. *Dipetalogaster maximus* agierte wesentlich aggressiver, die Wanzen verankerten sich geradezu in der Haut der Mäuse und konnten manchmal nur mit sanfter Gewalt entfernt werden. Wurden die Insekten nicht bei der Nahrungsaufnahme gestört und konnten sich vollsaugen, entfernten sie sich nach ihrer Blutmahlzeit zunächst nur wenig vom Ort des Anstiches und liefen erst weiter, wenn sie sich durch eine schnelle Bewegung in ihrer Umgebung bedroht fühlten.

Salivarektomierte Wanzen stachen die Mäuse sehr viel williger an als unversehrte Insekten. Problematisch war zuweilen, daß diese Wanzen bei der Suche nach Blutgefäßen viel erfolgloser waren als ihre unbehandelten Artgenossen. Ihr häufiges Umsetzen der Mundwerkzeuge verzögerte nicht nur den Versuchsablauf, sondern es war in diesen Fällen auch nicht sicher gewährleistet, daß die aufgetropften Flagellaten nur eine einzige Eintrittspforte zur Verfügung hatten. Im Gegensatz zu den unversehrten Wanzen hatten nur wenige der salivarektomierten Tiere Kontakt zur Blutbahn. Bei nachträglicher Kontrolle konnten allerdings bei keiner dieser Wanzen noch verbliebene Speicheldrüsen aufgefunden werden.

Viele Versuche wurden zudem dadurch verzögert, daß einige Wanzen – unabhängig von Tageszeit oder Hungerzustand – nicht bereit waren, die vorgelegten Mäuse im Rückenbereich

anzustechen. Sie bevorzugten den Bauchbereich oder die Nase der narkotisierten Tiere oder stachen sie überhaupt nicht an.

5.3.2 Stichparameter von den Mundwerkzeugen der Wanzen und von der Maushaut

Die Proboszis einer *Triatoma infestans* ist sehr viel borstiger als die von *Dipetalogaster maximus*. Während des Stiches werden die gezahnten Mandibeln nur so weit ausgefahren, um eine Verankerung in der Haut zu gewährleisten (Pfeilspitze in Abb. 27), während die beiden verschiedenen, langen Maxillen sehr weit unter die Haut vorgeschoben werden (Abb. 28-30).

Der Durchmesser der Mundwerkzeuge einzelner Wanzen betrug in ausgefahrenem Zustand an der Austrittsstelle zusammen mit den Mandibeln, an der Austrittsstelle der Maxillen, in der Mitte und an der Spitze

bei *Dipetalogaster maximus* (L3): 60 , 40 , 26 und 13 μm .

bei *Dipetalogaster maximus* (L4): 66 , 46 , 33 und 20 μm .

bei *Triatoma infestans* (L5): 66 , 53 , 26 und 13 μm .

Diesen Werten entsprach die Größe der Eintrittspforte für *T. cruzi* in den Auftropfversuchen. Im histologischen Präparat eines angestochenen Hautstückes war der einen Stichkanal in der Epidermis 53 μm breit und ließ sich über 470 μm bis zur Hautmuskulatur verfolgen (Abb. 30). Die Dicke der Maushaut beträgt im Bereich des Rückens von der Epidermis bis zum Hautmuskel 400-600 μm .

Bei der Einbettung eines Hautstückes mit darin steckenden Mundwerkzeugen hatten Wanzen zumindest bei der Maus die gesamte Haut durchstoßen und im Bereich der Subcutis oder sogar der darunterliegenden Muskulatur nach Blutgefäßen gesucht. Die Eindringtiefe der Maxillen, bzw. die Länge der ausgefahrenen Maxillen betrug ca. 3 mm (Abb.29).

Im Vergleich zu den Mundwerkzeugen einer Wanze ist eine 30 Gauge-Kanüle um ein Vielfaches dicker: Sie hat einen Durchmesser von 400 μm und wird am Anschliff über die Länge von ca. 460 μm schmaler bis zu einer Spitze von wenigen μm Breite.

Abb. 26



Abb. 27

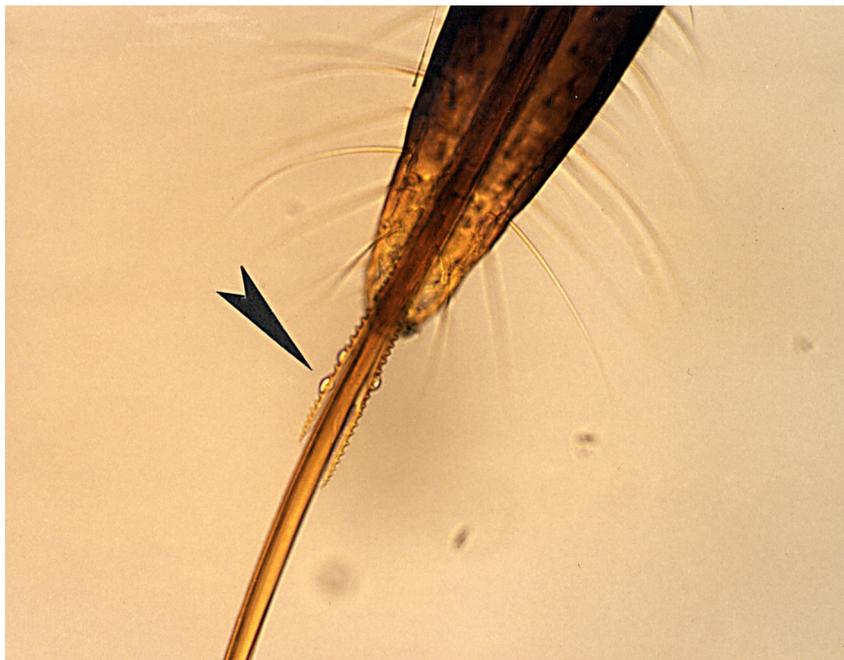


Abb.26 und 27: Ende des Proboszis (borstiger bei *Triatoma infestans* (Abb. 26) und glatter bei *Dipetalogaster maximus* (Abb. 27)) mit ausgefahrenen gezahnten Mandibeln (Pfeil) und einem Teilstück der weit ausgefahrenen Maxillen (Vergr. 100x).

Abb. 28



Abb. 29

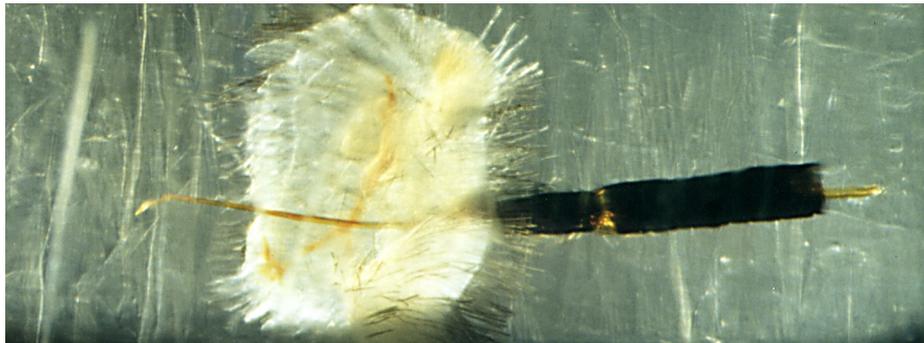


Abb. 30

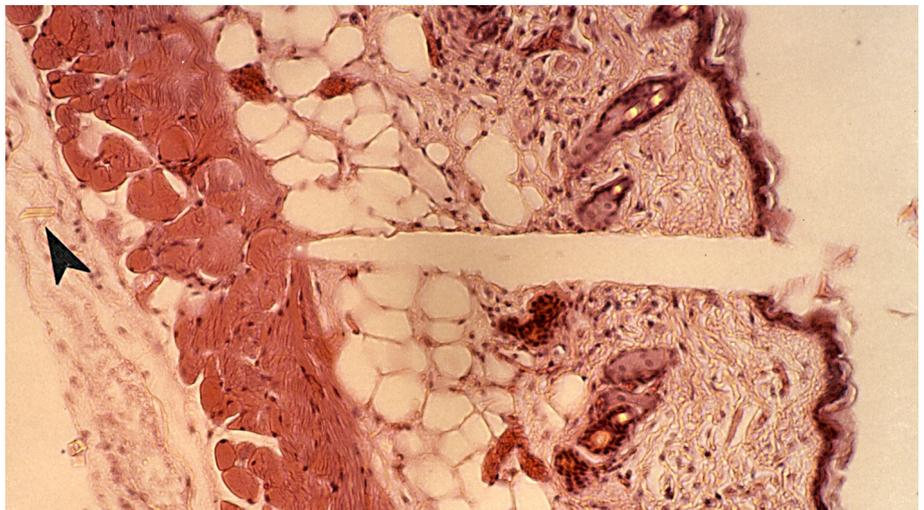


Abb. 28-30: Abb. 28 zeigt ausgefahrene Mundwerkzeuge von *Triatoma infestans* mit kurzen gezahnten Mandibeln und dem Saugrohr bestehend aus kürzerer linker Maxille mit abklappbarer Spitze (Pfeil) und längerer rechter Maxille (Vergr. 100×). Diese Mundwerkzeuge können bis weit unter die Haut dringen (bei der Maus ca. 3 mm, Abb. 29, Vergr. 20×) und hinterlassen in der Dermis einen feinen Stichkanal (Abb. 30, Vergr. 100×). Teile der oberen Mundwerkzeuge sind leider bei der histologischen Präparation aus der Haut entfernt worden, ein kleines Stück der Maxillen ist jedoch unterhalb der Hautmuskelschicht noch sichtbar (Pfeil).

5.4

Variation der Erreger-Eintrittspforte in der Haut

Vergleich 5.4.A

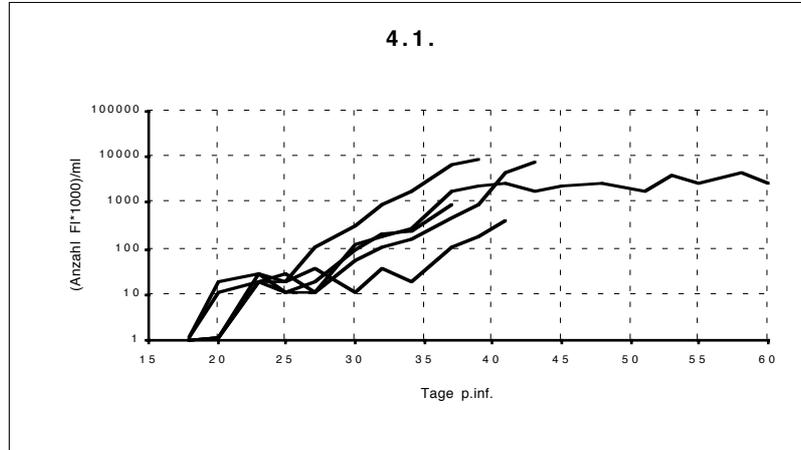


Abb. 31

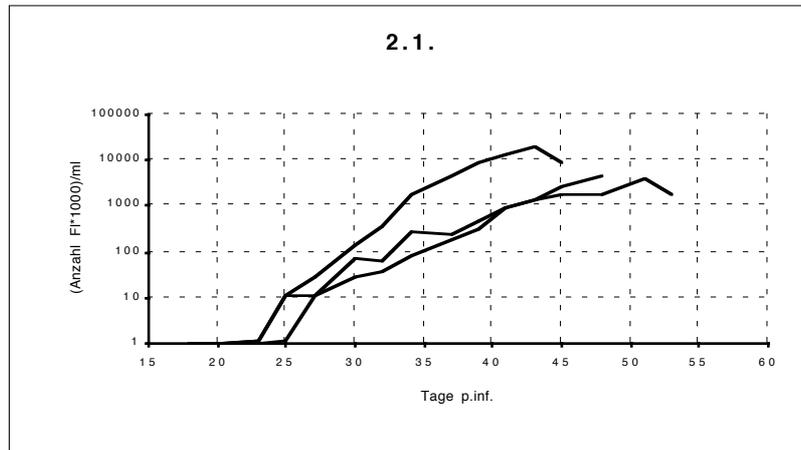


Abb. 32

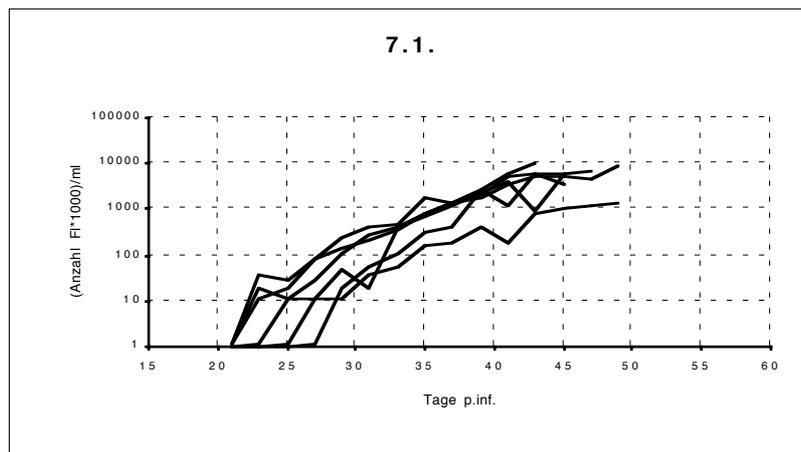


Abb. 33 (=5)

Abb. 31-33: 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* des Stammes Chile 5 wurden weiblichen C57 Bl/6 Mäusen intradermal injiziert (Abb.31), auf unblutig angeritzte Haut aufgetropft (Abb.32) bzw. auf den Stichkanal von salivarektomierten *Dipetalogaster maximus* (L4) aufgetropft (Abb.33).

Die intradermale Infektion ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $21,8 \pm 1,6$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb.31). Die Parasitämien von vier Mäusen wiesen nur anfangs Wellen auf und stiegen dann bis auf Maxima von 1000-9000 Fl/ μ l. Drei der Tiere starben zwischen dem 32. und 38. Tag p. inf., eines hielt eine leicht schwankende Parasitämie um 5000 Fl/ μ l und überlebte die Versuchsdauer von 60 Tagen. Bei einer weiteren Maus variierte die Höhe der Parasitämie von Tag 20 bis Tag 35 zwischen 10 und 50 Fl/ μ l und stieg dann noch, bis das Tier an Tag 41 mit nur 600 Fl/ μ l verstarb.

Die Mäuse, denen *T. cruzi* auf die angeritzte Haut aufgetropft wurde, hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $25,6 \pm 1,2$ Tagen und eine Morbidität von 75% (3/4) (Abb.32). Ihre Parasitämien stiegen relativ gleichmäßig an bis zu Maxima von 2000-10.000 Fl/ μ l und fielen bei zwei Mäusen wieder ganz leicht ab, bis die Tiere zwischen dem 45. und 53. Tag p. inf. verstarben.

Die Mäuse, bei denen *T. cruzi* auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* aufgetropft wurde, hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $24,6 \pm 2,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb.33). Ihre Kurven stiegen in leichten Wellen an bis zu Maxima von 1000-10.000 Fl/ μ l und die Mäuse starben zwischen dem 43. und 49. Tag p. inf. (genauer beschrieben bei Abb. 5).

Die Präpatenzen der durch Injektion der Flagellaten infizierten Gruppe waren auffallend um 3 Tage kürzer als die der anderen Gruppen, die Kurvenverläufe waren jedoch bei allen Mäusen ähnlich, unabhängig vom Infektionsmodus.

Vergleich 5.4.B

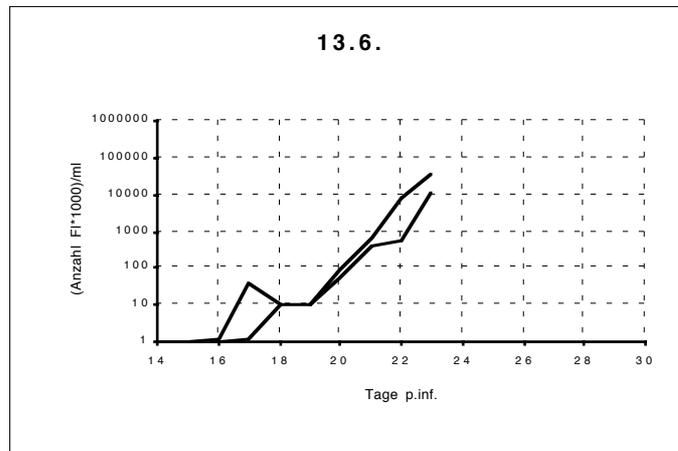


Abb. 34 (=Abb. 10)

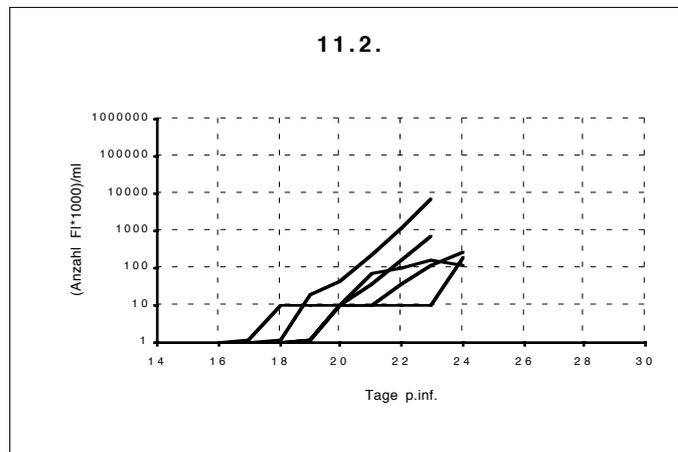


Abb. 35

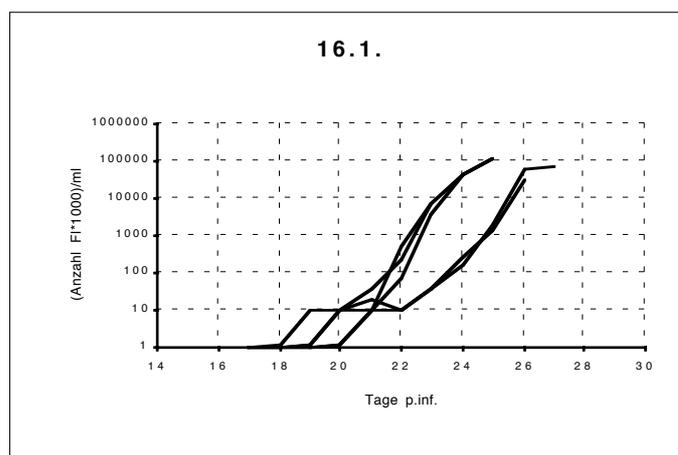


Abb. 36 (=22)

Abb. 34-36: 100 aufgereinigte *T. cruzi* des Stammes Chile 5 wurden männlichen Balb/c nu/nu Mäusen intradermal injiziert (Abb.34), bzw. 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* desselben Stammes auf unblutig angeritzte Haut (Abb.35) oder auf den Stichkanal von salivarekтомierten *Dipetalogaster maximus* (L4) aufgetropft (Abb.36).

Die intradermale Infektion resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $17,5 \pm 2,1$ Tagen und einer Morbidität von 100% (2/2) (Abb.34). Ihre Parasitämiekurven stiegen nach einer flachen Anfangsphase fast parallel bis auf Maxima von 10.000-15.000 Fl/ μ l an, und die Tiere verstarben am 23. Tag p. inf..

Nach Auftropfen von *T. cruzi* auf die angeritzte Haut ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $18,4 \pm 0,9$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb.35). Der Anstieg der Parasitämien war in dieser Gruppe sehr unterschiedlich: Die Kurve eines Tieres mit der Präpatenz von 18 Tagen stieg sofort steil bis auf 9000 Fl/ μ l an, während die einer anderen Maus mit der Präpatenz von 17 Tagen bis zum 23. Tag p. inf. sehr flach verlief, um erst dann auf ein Maximum von nur 300 Fl/ μ l anzusteigen. Die Kurven der anderen Mäuse gruppieren sich gleichmäßig verteilt zwischen diesen beiden "Extremen". Alle Tiere verstarben am 23. und 24. Tag p. inf..

A.: Die Maus mit der Präpatenz von 18 Tagen und dem sehr steilen Kurvenanstieg litt ab dem 19. Tag p. inf an Darmvorfall.

Die Mäuse, denen *T. cruzi* auf den Stichkanal von *Dipetalogaster* aufgetropft worden war, hatten eine durchschnittlichen Präpatenz von $19,2 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb.36). Der Verlauf ihrer Parasitämien ist bei Abb. 22 schon beschrieben.

Die Präpatenzen der Gruppen glichen sich in etwa (sie unterscheiden sich nur um jeweils einen Tag), Verlauf und Steigung der Kurven sind jedoch sehr inhomogen. Auffallend ist, daß die Maxima der letzten Gruppe (16.1.,Abb. 36) mit 15.000 und 17.000 Fl/ μ l um fast eine Zehnerpotenz höher lagen als die der anderen Gruppen.

5.5 Infektionsdosis bei der "natürlichen Infektion" durch den Stichkanal der Wanze

5.5.1 Dosisversuche mit Balb/c nu/nu Mäusen

Um herauszufinden, welche Anzahl von *T. cruzi* im Durchschnitt durch den Stichkanal einer Wanze eintreten kann, wurden Mäuse mit verschiedenen Infektionsdosen intradermal infiziert und ihre Parasitämieverläufe mit denen nach einer Infektion durch einen Auftropfversuch verglichen. Für diesen Versuch wurden zunächst Nacktmäuse verwendet, da deren unvollständiges Immunsystem die Entwicklung der Parasitämien weniger beeinträchtigt. Er wurde zweimal durchgeführt (s. Versuch Nr. 10 der Tabelle S. 100)

Die Infektion mit 10.000 *T. cruzi* ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $15,7 \pm 1,3$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 37). Die Parasitämien aller Mäuse stiegen steil an, bis die Tiere zwischen dem 18. und 21. Tag p. inf. mit Maxima von 11.000-400.000 FI/ μ l verstarben.

Die mit 1000 *T. cruzi* infizierten Tiere hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $17,5 \pm 0,6$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 38). Auch ihre Kurven stiegen steil und relativ einheitlich auf Maxima von 50.000-70.000 FI/ μ l an, die Mäuse starben am 20.-22. Tag p. inf..

Bei den mit 100 *T. cruzi* infizierten Tieren kam es zu einer durchschnittlichen Präpatenz von $19,2 \pm 1,1$ Tagen und einer Morbidität von 83% (5/6) (Abb. 39). Ihre Parasitämien verliefen sehr uneinheitlich, zwei Tiere zeigten einen steilen Anstieg und starben am 23. Tag p. inf. mit 12.000-13.000 FI/ μ l, die Kurven der anderen Tiere verliefen flacher und erreichten bis zum Tod der Mäuse am 24. Tag p. inf. nur Maxima von 1000-11.000 FI/ μ l.

A.: Beide Mäuse mit einer Präpatenz von 18 Tagen litten ab diesem Tag an Darmvorfall.

Die Infektion mit 10 *T. cruzi* resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $22,4 \pm 3,0$ (ohne Berücksichtigung des einen "Nachzüglers" in $21,3 \pm 1,9$) Tagen und einer Morbidität von 83% (5/6) (Abb. 40). Diese Gruppe zeigte stark variable Kurvenverläufe: Die Parasitämie eines Tieres stieg steil bis auf 500.000 FI/ μ l bei seinem Tod am 26. Tag p. inf., die eines anderen Tieres verlief anfangs verzögert, erreichte dann aber doch 50.000 FI/ μ l, das Tier starb erst am 28. Tag p. inf.. Die Präpatenzen der anderen Tiere waren alle unterschiedlich viel

länger, ihre Parasitämien jedoch kürzer. Die Tiere starben an Tag 26, 28 und 32 p. inf. mit Maxima von 8000-60.000 Fl/ μ l.

A.: Die Maus mit einer Präpatenz von 20 Tagen, die am 26. Tag p. inf. mit 60.000 Fl/ μ l starb, war ab Tag 21 sehr blaß und ab Tag 22 klinisch sehr krank. Die Mäuse mit Präpatenzen von 21 und 23 Tagen litten ab dem 20. Tag p. inf an Darmvorfall, die Maus mit einer Präpatenz von 27 Tagen ab dem 23. Tag.

Die Mäuse, denen *T. cruzi* auf den Stichkanal einer salivarektomierten Wanze getropft worden waren, hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $18,4 \pm 1,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 41). Ihre Parasitämien begannen alle verzögert und stiegen schließlich auf Maxima von 50.000- 200.000 Fl/ μ l an, die Tiere starben am 24. und 25. Tag p. inf..

Im Vergleich dieser Gruppen – bei denen sich die Infektionsdosis um je eine Zehnerpotenz unterschied – fällt auf, daß sich die Präpatenzzeiten mit sinkender Infektionsdosis verlängerten. Bei sehr kleinen Infektionsdosen verlängerten sich auch die Dauer der einzelnen Parasitämien und die Variabilität innerhalb der Gruppen nahm zu. Auffallend war, daß die Parasitämienmaxima von der Infektionsdosis unabhängig zu sein schienen, wobei die höchsten Werte immer bei Tieren mit der kürzesten Lebensdauer auftraten.

Nach Vergleich mit den Injektionsversuchen ließen sich die Parasitämieverläufe nach Infektion durch den Stichkanal einer Wanze (Gruppe 18.3., Abb. 41) zwischen den mit 100 (Abb. 39) bzw. mit 10 Parasiten (Abb. 40) infizierten Gruppen einordnen.

Folgende Seiten:

Abb. 37-41: Weiblichen Balb/c nu/nu Mäusen wurden intradermal 10^4 (Abb. 37), 10^3 (Abb.38), 100 (Abb.39) und 10 (Abb.40) aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 injiziert bzw. 10^4 *T. cruzi* auf den Stichkanal von salivarektomierten *Dipetalogaster maximus* (L4) aufgetropft (Abb. 41).

Abb. 42-46: Weiblichen Balb/c nu/nu Mäusen wurden intradermal 10^3 (Abb. 42), 100 (Abb.43), 50 (Abb.44) und 10 (Abb.45) aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 injiziert bzw. 10^4 *T. cruzi* auf den Stichkanal von *Triatoma infestans* (L5) mit Speicheldrüsen aufgetropft (Abb. 46).

Vergleich 5.5.1.A

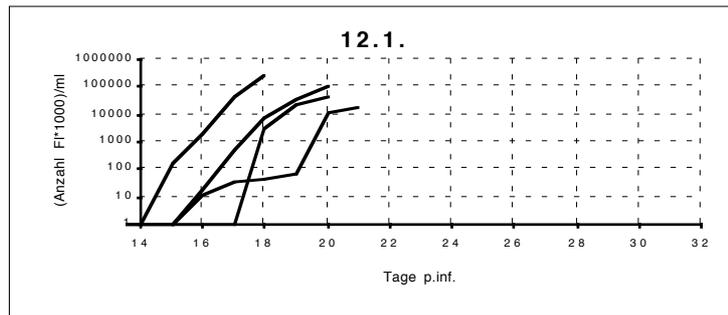


Abb. 37

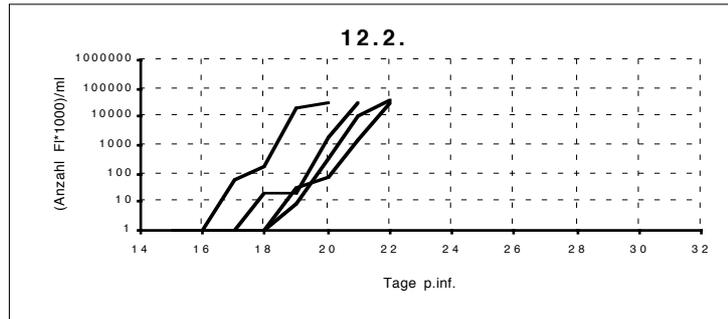


Abb. 38

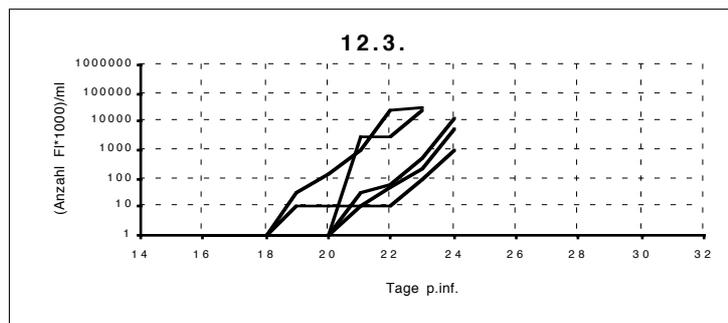


Abb. 39

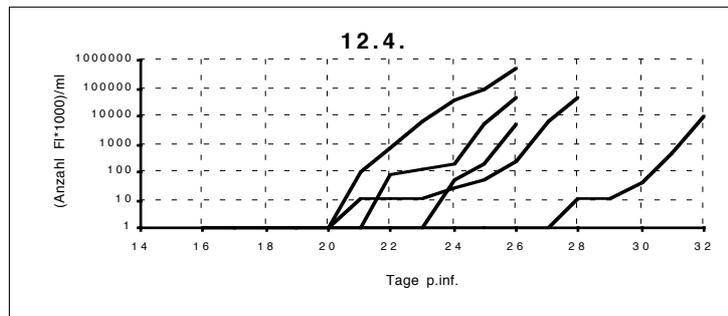


Abb. 40

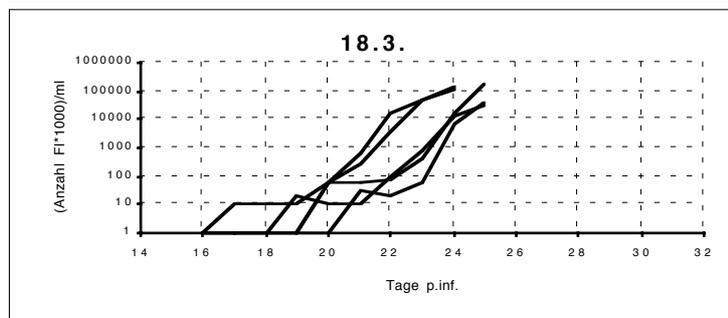


Abb. 41(=11)

(Legende s. vorhergehende Seite)

Vergleich 5.5.1.B

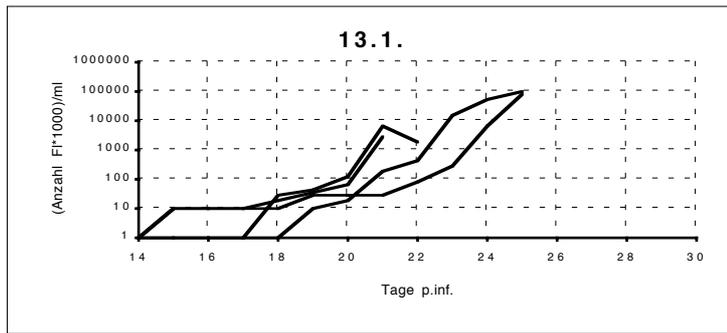


Abb. 42

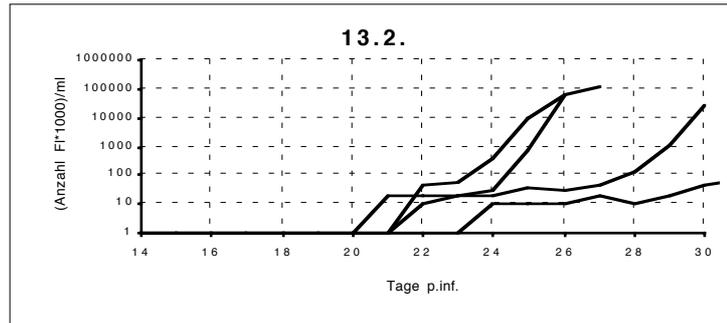


Abb. 43 (=9)

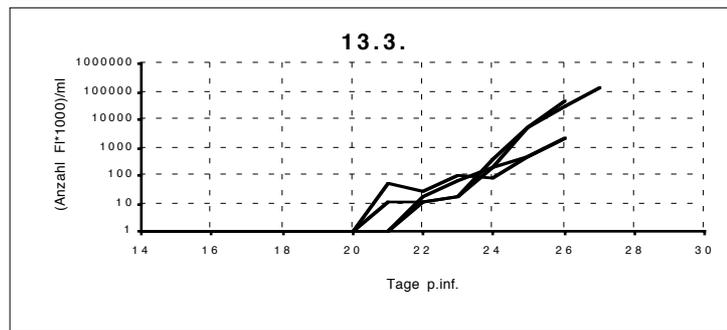


Abb. 44 (=20)

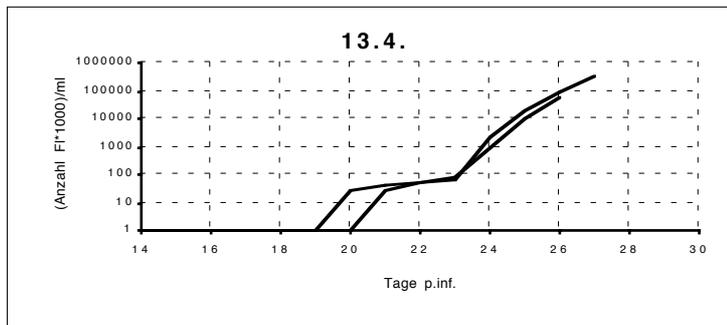


Abb. 45

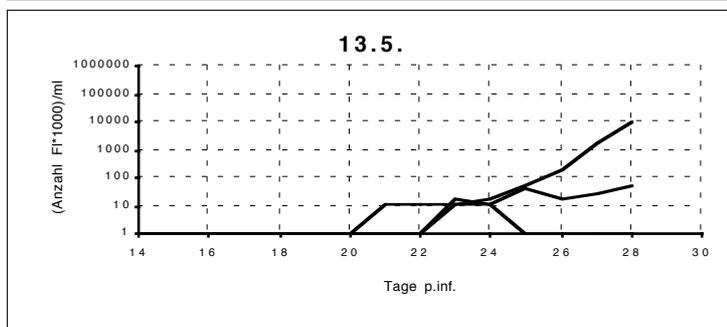


Abb. 46

(Legende s. vorhergehende Seiten)

Die Infektion mit 1000 *T. cruzi* ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $15,7 \pm 2,1$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 42). Die Parasitämien verliefen flach und anfangs stark verzögert und waren sehr inhomogen: Eine Maus starb am 21. Tag p. inf. mit nur 5000 FI/ μ l, bei einer anderen mit der Präpatenz von 14 Tagen sank die Parasitämie nach einem Maximum von 8000 FI/ μ l sogar wieder etwas ab, bis das Tier am 22. Tag p. inf. starb. Die Kurven der anderen beiden Mäuse stiegen auf 90.000 FI/ μ l bis zum Tod der Tiere am 25. Tag p. inf..

A.: Bei einer Maus, die eine Präpatenz von 14 Tagen hatte und an Tag 25 verstarb, war die Infektion wahrscheinlich subkutan erfolgt. Ihre Parasitämie unterschied sich aber nicht deutlich von den anderen.

Die mit 100 *T. cruzi* infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $21,2 \pm 1,3$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 43). Die sehr uneinheitlichen Kurvenverläufe sind unter Abb. 7 bereits beschrieben worden.

A.: Bei zwei Mäusen war die Injektion wahrscheinlich subkutan erfolgt., eine hatte eine Präpatenz von 21 Tagen und verstarb an Tag 27, die andere hatte eine Präpatenz von 20 Tagen und verstarb an Tag 30. Auch in diesem Fall unterschieden sich die Parasitämien nicht von den anderen der Gruppe. Die Maus mit einer Präpatenz von 21 Tagen, die an Tag 26 verstarb, hatte einen Abszeß am Auge.

Die Infektion mit 50 *T. cruzi* resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $20,5 \pm 0,6$ Tagen und einer Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 44). Die Parasitämien dieser Tiere stiegen fast gleichmäßig bis auf Maxima von 3000-110.000 FI/ μ l, und die Tiere verstarben am 26. und 27. Tag p. inf..

Die mit 10 *T. cruzi* infizierten Mäuse zeigten eine durchschnittliche Präpatenz von $19,5 \pm 0,7$ Tagen und eine Morbidität von 33% (2/6) (Abb. 45). Auch ihre Kurven stiegen fast parallel, die Tiere starben am 26. und 27. Tag p. inf. mit Maxima von 90.000-500.000 FI/ μ l.

A.: Bei zwei Mäusen erfolgte die Infektion wahrscheinlich subkutan, bei einer weiteren floß fast das ganze Infektionsvolumen durch den Stichkanal wieder aus. Diese Tiere erkrankten nicht.

Bei den durch den Stichkanal von *Triatoma infestans* (mit Speicheldrüsen) infizierten Mäusen ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $22,0 \pm 2,0$ Tagen und eine Morbidität von 60% (3/5) (Abb. 46). Nur bei zwei Tieren stiegen die Parasitämien nach einer verzögerten Anfangsphase bis auf 90 und 10.000 Fl/ μ l an. Eine Maus erreichte nur kurzfristig an Tag 23 und 24 ein Maximum von 10 Fl/ μ l, danach war ihre Parasitämie nicht mehr meßbar.

A.: Die Steigung der Kurven und ihre Maxima blieben in dieser Gruppe für Nacktmäuse ungewöhnlich niedrig. Eine der Mäuse zeigte ein besonders erstaunliches Verhalten: Bei ihr waren nur zwischen Tag 22 und Tag 25 einige wenige Flagellaten im Blut aufzufinden, danach keine mehr. Das Tier überlebte die Versuchsdauer und war im Allgemeinbefinden nicht beeinträchtigt.

Zu den Gruppen 13.2. bis 13.5. wurden entsprechend je zwei männliche Nacktmäuse infiziert (Daten hier nicht aufgeführt). Die mit 100 *T. cruzi* infizierten Männchen erkrankten beide (s. Abb. 34). Von den mit 50 bzw. 10 *T. cruzi* infizierten Männchen erkrankte jeweils nur eines, im ersteren Fall zeigte beide Tiere ein normales Wachstum, im letzteren hatte das klinisch gesunde Männchen ein vermindertes Wachstum. Die Männchen aus dem Auftropfversuch blieben beide klinisch gesund.

Dieser Versuch hatte im Vergleich zu den meisten anderen veränderte Begleitumstände, da es in dieser Zeit sehr heiß war und im Infektionsbereich zeitweise Temperaturen von 30°C herrschten.

Die Variabilität bei den Kurven dieser Gruppen war sehr hoch, Verläufe sowie Maxima variierten stark. Auffallend war, daß alle Präpatenzen der Gruppen mit Infektionsdosen kleiner oder gleich 100 *T. cruzi* unregelmäßig zwischen 19 und 22 Tagen lagen. Die Infektionsverläufe nach Infektionsdosen, die sich um weniger als eine Zehnerpotenz unterschieden, waren also nicht so verschieden wie die in Abb. 37-41.

Auch hier ließ sich die durch den Wanzen-Stichkanal infizierte Gruppe im Vergleich zwischen den Infektionen mit 10 (Abb. 45) bis 100 (Abb. 43) *T. cruzi* einordnen.

Vergleich 5.5.1.C

Abb. 47 (=Abb. 21)

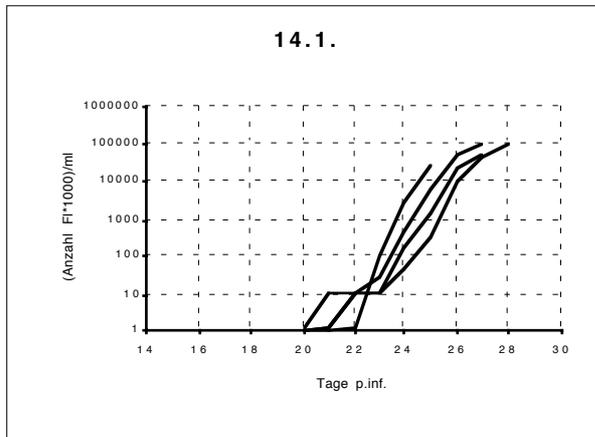


Abb. 48

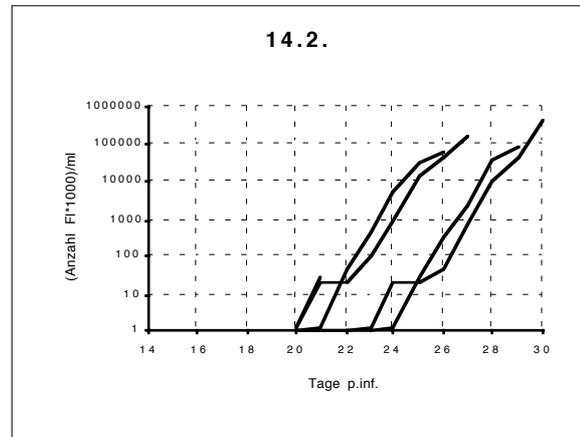


Abb. 47 und 48: Abschließend zu den Dosisversuchen wurde einer Gruppe von weiblichen Balb/c nu/nu Mäusen die "Stich-Infektionsdosis" (50 *T. cruzi* vom Stamm Chile 5) intradermal injiziert (Abb. 47) und der anderen Gruppe 1×10^4 *T. cruzi* auf den Stichkanal von *Triatoma infestans* (L5) mit Speicheldrüsen aufgetropft (Abb. 48).

Die intradermale Infektion ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $21,0 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 47). Die Parasitämien der Mäuse stiegen einheitlich bis auf Maxima von 40.000-90.000 FI/ μ l und die Tiere starben zwischen dem 25. und 28. Tag p. inf..

Die Tiere, denen *T. cruzi* auf den Stichkanal von *Triatoma infestans* getropft worden war, hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $21,8 \pm 1,6$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 48). Auch ihre Kurven stiegen sehr einheitlich, allerdings in zwei Untergruppen, die sich in Präpatenz und Verlauf um genau zwei Tage unterschieden. Die Tiere verstarben mit Maxima von 70.000-600.000 FI/ μ l am 26. und 27. Tag und am 29. und 30. Tag p. inf.. Nur eine Maus starb schon einen Tag nach Beginn der meßbaren Parasitämie mit nur 40 FI/ μ l. A.: Die Maus mit der Präpatenz von 20 Tagen, die an Tag 21 verstarb, litt seit dem 16. Tag p. inf. an Darmvorfall.

Präpatenzen und Kurvenverläufe der beiden Gruppen unterschieden sich nur wenig. Die Maxima lagen in Gruppe, der *T. cruzi* auf den Wanzen-Stichkanal aufgetropft worden war (Abb. 48) nur wenig höher als die der Gruppe, der 50 *T. cruzi* injiziert wurden (Abb. 47).

5.5.2 Dosisversuche mit C57 Bl/6-Mäusen

Vergleich 5.5.2.A

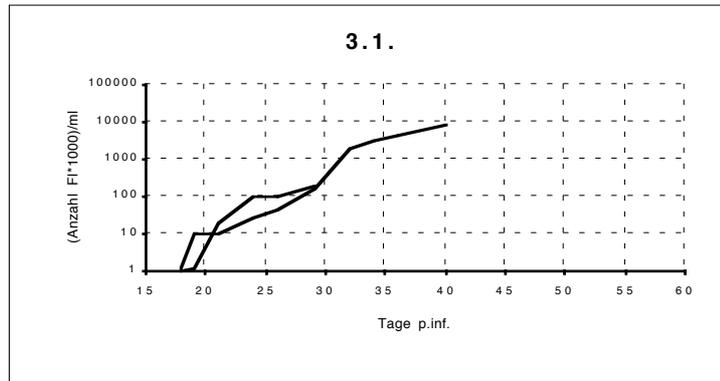


Abb. 49

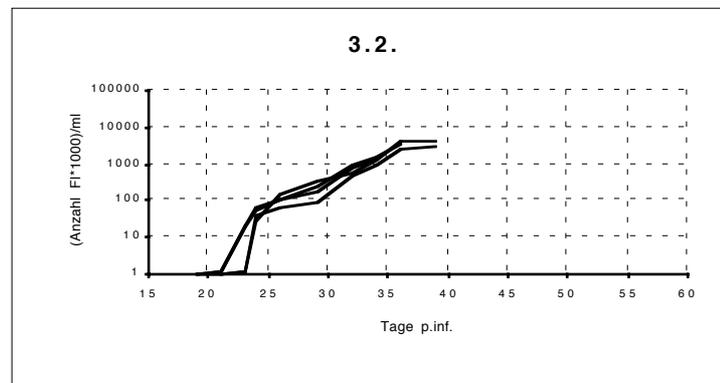


Abb. 50 (=17)

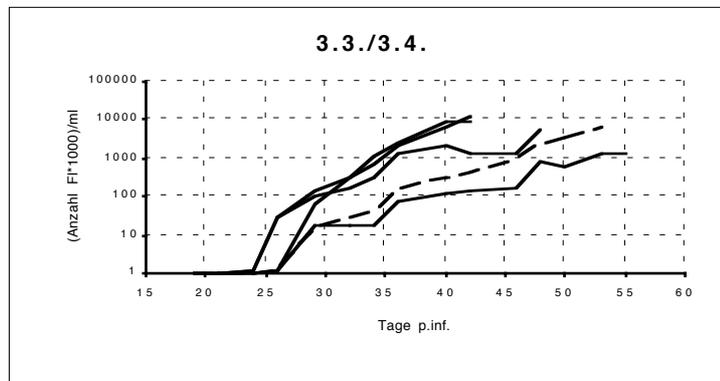


Abb. 51

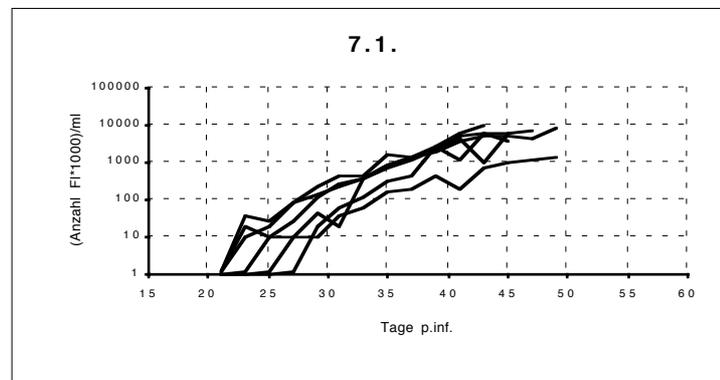


Abb. 52 (=5)

(Legende s. folgende Seite)

Vorhergehende Seite:

Abb. 49-52: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 (Abb. 49), 10^3 (Abb. 50), 100 (Abb. 51) und 10 (Abb. 52, gestrichelte Kurve) aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 intradermal injiziert bzw. 1×10^4 auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* (L4) ohne Speicheldrüsen aufgetropft.

Die mit 10.000 *T. cruzi* infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $20,0 \pm 1,4$ Tagen und eine Morbidität von 100% (2/2) (Abb. 49). Die Parasitämien der beiden Tiere stiegen gleichmäßig an, eine Maus verstarb mit 300 FI/ μ l am 29. Tag p. inf, die andere Maus mit knapp 10.000 FI/ μ l am Tag 40.

A.: Ab dem 26. Tag erschienen die Mäuse deutlich krank, ab Tag 30 p. inf. bewegte sich die verbliebene Maus kaum noch.

Dieser Versuchsansatz entsprach dem von Gruppe 4.1. (Abb. 31). In beiden Versuchen waren die Präpatenzen (Gruppe 4.1.: $21,8 \pm 1,60$ Tage), Kurvenverläufe und Maxima (Gruppe 4.1.: 300-10.000 FI/ μ l) sehr ähnlich.

Die Infektion mit 1000 *T. cruzi* ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $22,5 \pm 1,7$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 50). In dieser Gruppe verliefen die Kurven fast deckungsgleich, und die Mäuse starben an Tag 36 und 39 p. inf. mit 6000-7000 FI/ μ l.

Bei der Infektion mit 100 *T. cruzi* entstand eine durchschnittliche Präpatenz von $25,7 \pm 2,4$ Tagen und eine Morbidität von 100% (4/4) (Abb. 51). Die Parasitämien dieser Gruppe waren inhomogener: Die Parasitämie dreier Tiere stieg gleichmäßig an, bis die Mäuse am 42. und 47. Tag p. inf. mit fast 10.000 FI/ μ l verstarben. Eine Maus entwickelte eine etwas flachere Kurve, sie starb erst am 55. Tag p. inf. mit nur 2000 FI/ μ l.

In der mit 10 *T. cruzi* infizierten Gruppe erkrankte nur eine Maus mit der Präpatenz von 29 Tagen, es ergab sich daraus eine Morbidität von 25% (1/4). Die Parasitämiekurve dieses Tieres wurde in das Diagramm der Gruppe 3.3. mit aufgenommen (gestrichelte Linie). Der Kurvenverlauf lag im Rahmen der mit einer zehnfach höheren Dosis infizierten Mäuse und endete am 53. Tag p. inf. mit dem Tod der Maus.

Die Infektion durch Auftropfen auf den Stichkanal von *Dipetalogaster* (L4), (die allerdings nicht gleichzeitig mit den Injektionsversuchen erfolgt war), resultierte in einer durchschnitt-

lichen Präpatenz von $24,6 \pm 2,5$ Tagen und einer Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 52). Die Kurven stiegen in leichten Wellen bis zu Maxima von 2000-9000 Fl/ μ l, die Mäuse starben zwischen dem 43. und 49. Tag p. inf..

Am 34. Tag p. inf. fiel auf, daß die Tiere dieses Versuches (Abb. 49-51) vermilbt waren. Da der Versuch schon weit fortgeschritten war, wurde nicht therapiert. Die Ektoparasiten schienen das Allgemeinbefinden der Mäuse nur wenig zu beeinträchtigen, die Tiere kratzten sich ab und zu. Es kam dadurch nicht zu Verletzungen.

Die Variabilität der Präpatenzen nahm mit sinkender Infektionsdosis zu, die Kurvenverläufe der Gruppen 3.3./3.4. (Abb. 51) und der Gruppe 7.1. (Abb. 52) erschienen sehr ähnlich, so daß auch bei den Dosisversuchen mit C57 Bl/6 Mäusen die Infektion durch den Stichkanal zwischen die Infektionen mit 10 und 100 T. cruzi eingeordnet werden kann.

Da der vorhergehende Versuch bei den kleineren Infektionsdosen nicht viele Ergebnisse brachte, wurde er z.T. wiederholt.

Vergleich 5.5.2.B

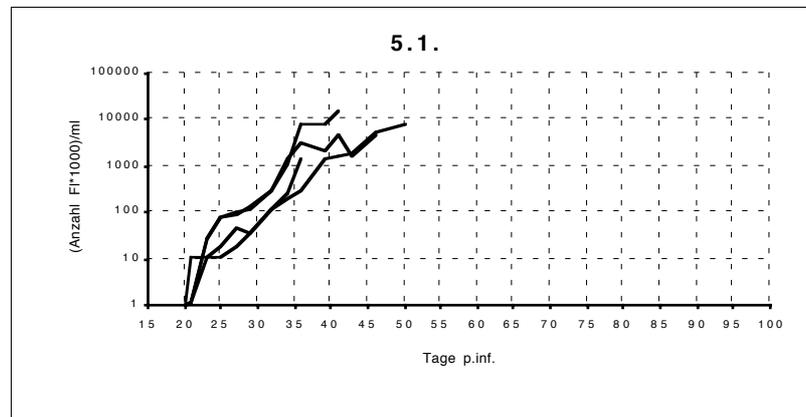


Abb. 53

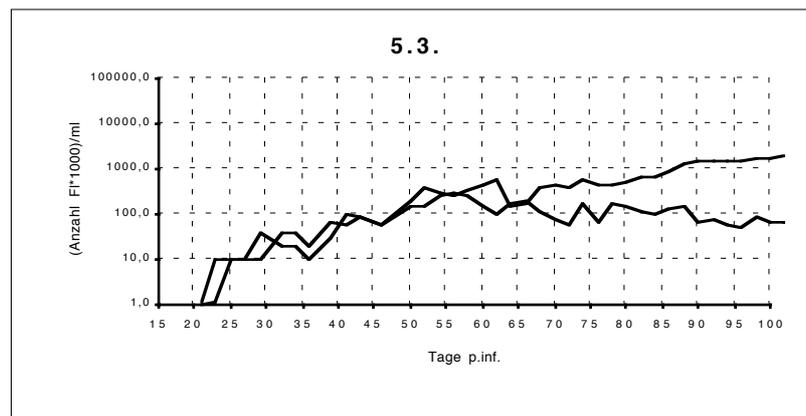


Abb. 54

Abb. 53 und 54: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 100 (Abb. 53) und 10 (Abb. 54) aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 intradermal injiziert.

Bei diesem Versuch ergab sich nach der Infektion mit 100 *T. cruzi* eine durchschnittliche Präpatenz von $22,5 \pm 1,0$ Tagen und eine Morbidität von 80% (4/5) (Abb. 53). In dieser Gruppe stiegen die Kurven aller Mäuse gleichmäßig in leichten Wellen an, und die Mäuse starben an Tag 36 und Tag 39 p. inf. mit 6000-7000 FI/ μ l.

Die mit 10 *T. cruzi* infizierten Mäuse entwickelten eine durchschnittliche Präpatenz von $22,0 \pm 1,4$ Tagen und eine Morbidität von 25% (2/8) (Abb. 54). Die Tiere zeigten einen chronischen Krankheitsverlauf, die Parasitämien blieben sehr niedrig. Während die Parasitämie einer Maus in Wellen langsam anstieg, bis das Tier an Tag 116 mit 2000 FI/ μ l verstarb,

erreichte die Parasitämie des anderen Tieres an Tag 56 mit 500 Fl/μl ein Maximum und fiel dann in Wellen wieder leicht ab. Dieses Tier wurde von mir am 116. Tag p. inf. mit 100 Fl/μl getötet.

Bei keinem der beiden Tiere waren während der Versuchsdauer klinische Symptome oder eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens feststellbar. Die Morbidität der Gruppe 5.3. (Abb. 54) entsprach der Gruppe 3.4. (Abb. 51).

Während der Durchführung dieses Versuches war es sehr warm (zeitweise ca. 30°C).

Bei immunkompetenten Mäusen kam es bei der Infektion mit sehr kleinen Dosen von *T. cruzi* also zu einer merklich verringerter Morbidität und manchmal zu chronischen Krankheitsverläufen.

5.5.3 Präpatenztabelle zu den Dosisversuchen

Bei einem Vergleich der Präpatenzen aus den Dosisversuchen (Tab. 1) zeigt sich:

- Die Parasitämien der C57 Bl/6 Mäuse setzten bei gleichartigen Versuchen ca. vier Tage später ein als die der Nacktmäuse.
- Bei beiden Mausstämmen verlängerte sich mit fallender Infektionsdosis die Präpatenz und erhöhte sich die Variabilität der Einzeltier-Kurven (zu ersehen aus der Standardabweichung der Präpatenzen).
- Gleichartige Versuche, die an verschiedenen Tagen und somit mit unterschiedlichen Chargen von *T. cruzi* durchgeführt wurden, brachten annähernd die gleichen Ergebnisse. Es kam nur zu sehr geringen Abweichungen der Präpatenzen und Kurvenverläufe.

Abweichungen von der letztgenannten Beobachtung kamen nur bei Versuchen vor, die unter sehr warmen Umgebungstemperaturen stattfanden. In dieser Tabelle sind das die Versuche 13 und 5. Die Präpatenzen waren in diesen Fällen kürzer, der Krankheitsverlauf aber weniger aggressiv. Das gleiche Phänomen trat bei Versuch 9 (Abb. 76-78, Kap. 4.6.3) auf.

Jahreszeit	Baib/c nu/nu				C57 Bl/6			
	Winter	Winter	Sommer (heiß)	Sommer	Sommer	Sommer (heiß)	Frühjahr	
Versuchs- Nr.	10 (ohne Diagr.)	12 (Abb. 33-36)	13 (Abb. 38-42)	17 (Abb. 43-44)	3 (Abb. 45-47)	5 (Abb. 49-50)	4 (Abb. 30)	
10.000 T.c. i.d.	16,5 +/- 0,6	15,5 +/- 1,7	(-)		20,0 +/- 1,1		21,8 +/- 1,6	
1000 T.c. i.d.	17,5 +/- 1,2	17,5 +/- 0,6	15,7 +/- 2,1		22,5 +/- 1,7			
100 T.c. i.d.	18,5 +/- 3,5	19,2 +/- 1,1	21,2 +/- 1,3		25,7 +/- 2,4	22,5 +/- 1,0		
50 T.c. i.d.			20,5 +/- 0,6	21,0 +/- 0,8				
10 T.c. i.d.	(-)	22,4 +/- 3,0	19,5 +/- 0,7		29 +/- 0	22,0 +/- 1,4		
Aufropfversuch (gleichzeitig erfolgt)			22,0 +/- 2,0 Triatoma L5	21,8 +/- 1,6 Triatoma L5				
Aufropfversuch anderen Datums (andere Versuchs-Nr.)		18,4 +/- 1,5 Dipetal. L4 (Abb. 37)			24,6 +/- 2,5 Dipetal. L4 (Abb. 48)	24,5 +/- 1,9 Dipetal. L4 (Abb. 69)	25,4 +/- 2,6 Dipetal. L3 (Abb. 75)	

Tabelle 1: Präpatenzzeiten (in Tagen) aller Dosis- und Aufropfversuche unter Verwendung von salivarektomierten *Dipetalogaster maximus*

5.6 Beeinflussung der Erregerübertragung durch Begleitfaktoren

5.6.1 Einflußfaktor Wanzenkot und -urin

Um zu prüfen, ob Wanzenfäzes die Frühphase der Infektion beeinflussen, wurden Kot und Urin der Insekten der Infektion in verschiedenen Applikationsformen und Dosierungen zugesetzt.

Vergleich 5.6.1.A

Abb. 55 (=Abb. 18)

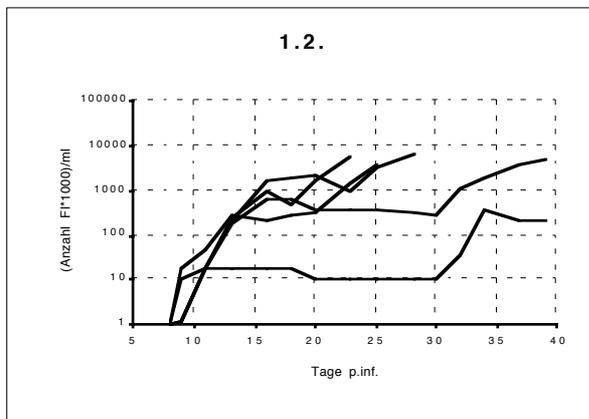


Abb. 56

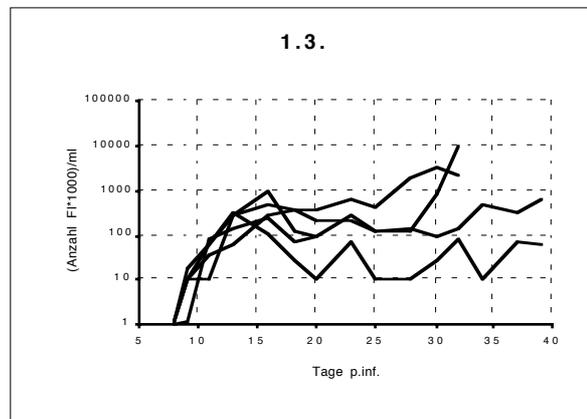


Abb. 55 und 56: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^3 aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Tulahuén in 0,1 ml PBS (Abb. 55) und in 0,1 ml Wanzenkot und -urin (Abb. 56) intradermal injiziert.

Die Mäuse, die mit *T. cruzi* in PBS infiziert wurden, hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $9,8 \pm 1,1$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 55). Die Parasitämien sind bereits unter Abb. 16 ausführlich besprochen worden.

Die Infektion mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $9,4 \pm 0,9$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 56). Ihre Parasitämien stiegen zunächst genauso steil an wie die von Gruppe 1.2. (Abb. 55), blieben dann aber deutlich flacher, fielen mit einer Ausnahme nach Tag 13 bis 17 wieder etwas ab und wurden sehr heterogen: Drei Tiere starben zwischen dem 33. und 39. Tag mit Maxima zwischen 800 und

10.000 FI/ μ l, auch hier überlebte ein Tier die Versuchsdauer von 40 Tagen mit einer zwischen 10 und 80 FI/ μ l schwankenden Parasitämie.

Die Tiere dieser Gruppe waren schon bei Ablauf der Präpatenz deutlich ruhiger als die Tiere der Vergleichsgruppe, sie entwickelten schwere klinische Begleiterscheinungen: Bei ihnen entstand innerhalb weniger Tage beginnend vom Injektionsort ein massives Unterhautödem, das sich über den Rumpf der Tiere ausbreitete und während der gesamten Versuchsdauer nicht verschwand. Bei Sektion der Tiere zeigte sich das Unterhautgewebe schmutzig grau und gallertig bis sulzig verändert. Die Rumpfmuskulatur schien jedoch weitgehend unverändert.

Vergleich 5.6.1.B

Abb. 57 (=Abb. 31)

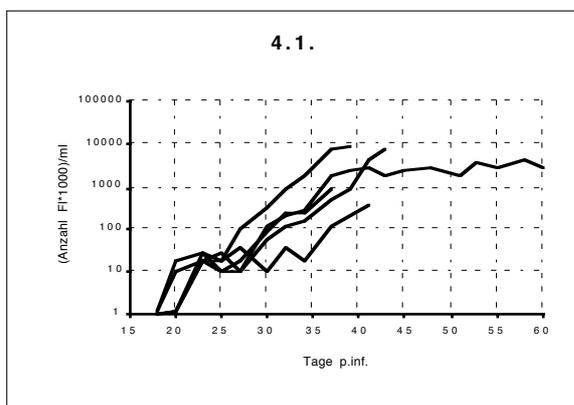


Abb. 58

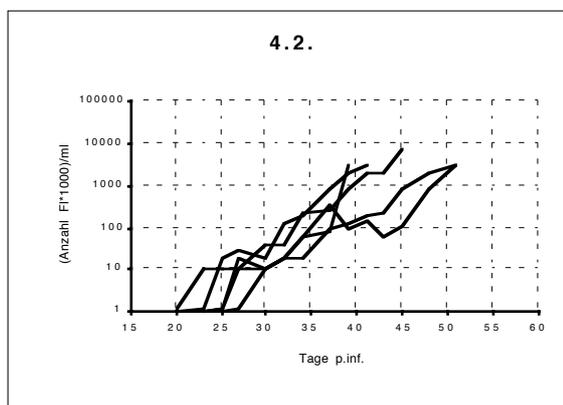


Abb. 57 und 58: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 in 0,02 ml PBS (Abb. 57) und in 0,02 ml Wanzenkot und -urin (Abb. 58) intradermal injiziert.

Die Mäuse, denen *T. cruzi* in PBS injiziert wurden, hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $21,8 \pm 1,6$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 57). Die Parasitämien sind unter Abb. 31 besprochen.

Die mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $26,6 \pm 1,0$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 58). Ihre Kurven stiegen einheitlicher als in der Vergleichsgruppe in deutlichen Wellen bis auf Maxima von 4000-9000 FI/ μ l, die Tiere verstarben zwischen Tag 38 und 52 p. inf..

Die Präpatenzen der Gruppe 4.2. (Abb. 58) waren fast vier Tage länger als die der Vergleichsgruppe, die Kurvenverläufe unterschieden sich jedoch nur wenig.

Der gleiche Versuchsansatz wurde mit einer kleineren Infektionsdosis wiederholt:

Vergleich 5.6.1.C

Abb. 59 (=Abb. 53)

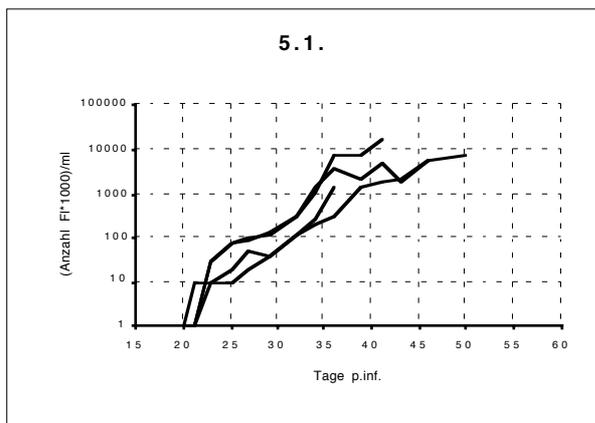


Abb. 60

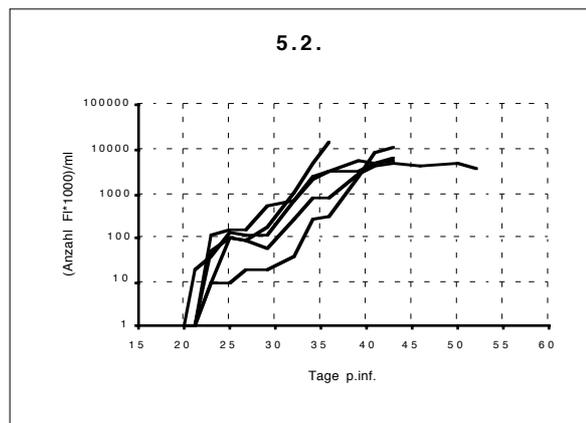


Abb. 59 und 60: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 100 aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 in 0,02 ml PBS (Abb. 59) und in 0,02 ml Wanzenkot und -urin (Abb. 60) intradermal injiziert.

Die Infektion mit *T. cruzi* in PBS resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $22,5 \pm 1,0$ Tagen und einer Morbidität von 80% (4/5) (Abb. 59). Die Kurven stiegen relativ einheitlich und nur wenig gewellt an, bis die Mäuse zwischen Tag 37 und 50 mit Maxima von 2000-20.000 FI/ μ l verstarben.

Bei den mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes infizierten Mäuse entwickelte sich eine durchschnittliche Präpatenz von $22,2 \pm 1,0$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 60). Auch ihre Parasitämien stiegen in flachen Wellen bis zu Maxima von 5000-12.000 FI/ μ l an, die Mäuse starben zwischen Tag 37 und 43, nur ein Tier überlebte bis zum 53. Tag p. inf..

Bei dieser Wiederholung des Versuches 4.1/2. (Abb. 57 und 58) mit einer geringeren Infektionsdosis fielen auch die Unterschiede der Präpatenzzeiten weg, die Kurvenverläufe und Maxima waren untereinander und denen der Versuche 4.1/2. sehr ähnlich.

Die intradermale Injektion der gleichen Menge uninfizierten Kotes (0,02 ml) ergab bei Mäusen keine klinisch erkennbare lokale Entzündung: Der Wanzenkot lag, von außen deutlich sichtbar, ohne abgebaut zu werden über Wochen in der Haut.

Vergleich 5.6.1.D

Abb. 61 (=Abb. 5)

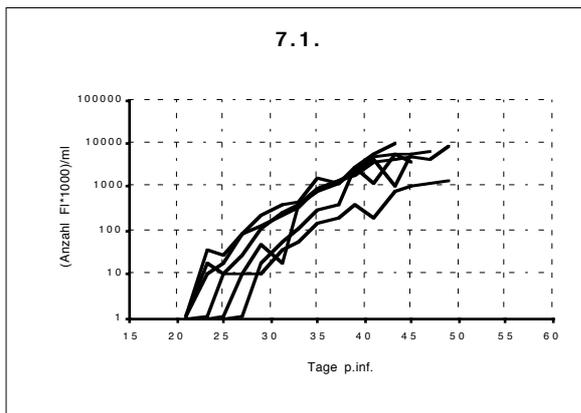


Abb. 62 (=Abb. 25)

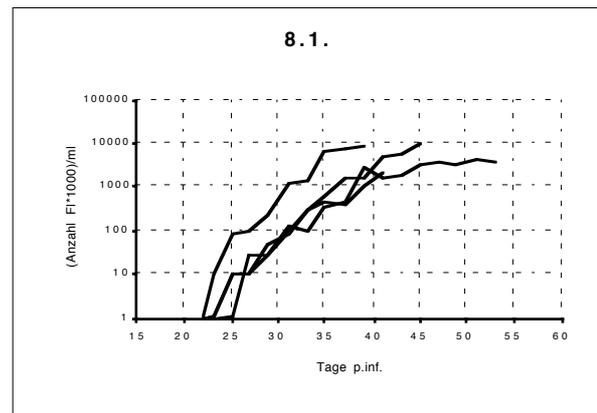


Abb.60 und 61: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 in 10 μ l PBS (Abb. 61) und in 10 μ l Wanzenkot und -urin (Abb. 62) auf die Stichstelle von salivarektomierten *Dipetalogaster maximus* (L4) aufgetropft.

Die Infektion mit aufgereinigten *T. cruzi* ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $24,6 \pm 2,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 61), während es nach Infektion mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes zu einer durchschnittlichen Präpatenz von $24,5 \pm 1,9$ Tagen und einer Morbidität von 66% (4/6) kam (Abb. 62). Die Parasitämieverläufe beider Gruppen unterschieden sich kaum, alle Kurven stiegen in leichten Wellen gleichmäßig an, bis die Mäuse mit Maxima von 2000-10.000 FI/ μ l verstarben. Auffallend ist nur die geringere Morbidität in Gruppe 8.1. (Abb. 62).

Vergleich 5.6.1.E

Abb. 63 (=Abb. 32)

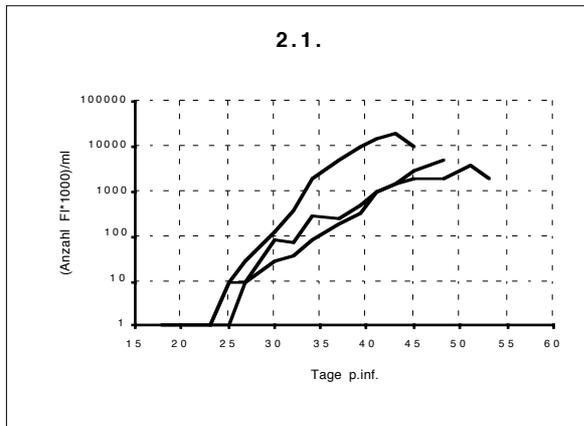


Abb. 64

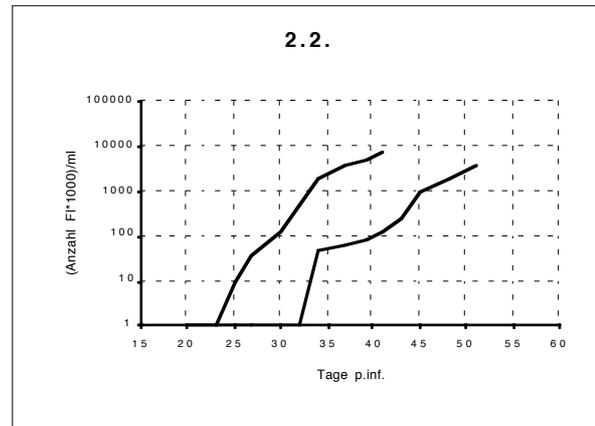


Abb. 63 und 64: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* vom Stamm Chile 5 in 10 μ l PBS (Abb. 63) und in 10 μ l Wanzenkot und -urin (Abb. 64) auf einen Hautbereich aufgetropft, der vorher mit einer Kanüle unblutig angeritzt worden war.

In diesem Versuch resultierte die Infektion mit aufgereinigten *T. cruzi* in einer durchschnittlichen Präpatenz von $25,6 \pm 1,2$ Tagen und einer Morbidität von 75% (3/4) (Abb. 63); die mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $29,5 \pm 6,3$ Tagen und eine Morbidität von 40% (2/5) (Abb. 64). Bei allen Tieren stiegen die Parasitämien in nur flachen Wellen auf Maxima von 2000-9000 FI/ μ l, sie starben zwischen dem 42. und 53 Tag p. inf..

In Gruppe 2.2. lag allerdings der Parasitämieverlauf nur eines der Tiere in dem gleichen zeitlichen Rahmen wie die Parasitämien der Gruppe 2.1., das andere folgte mit sehr ähnlichem Kurvenverlauf fast 10 Tage später. Die Überlebensspanne beider Tiere der Gruppe 2.2. war um ca. 5 Tage kürzer als die der Tiere von Gruppe 2.1.. Auch in diesem Versuch war die Morbidität in der mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes infizierten Gruppe geringer als in der Vergleichsgruppe.

5.6.2

Einflußfaktor Symbionten

Vergleich 5.6.2.

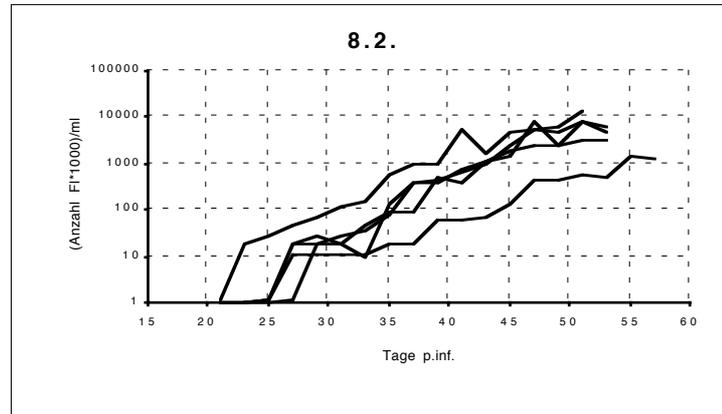


Abb. 65

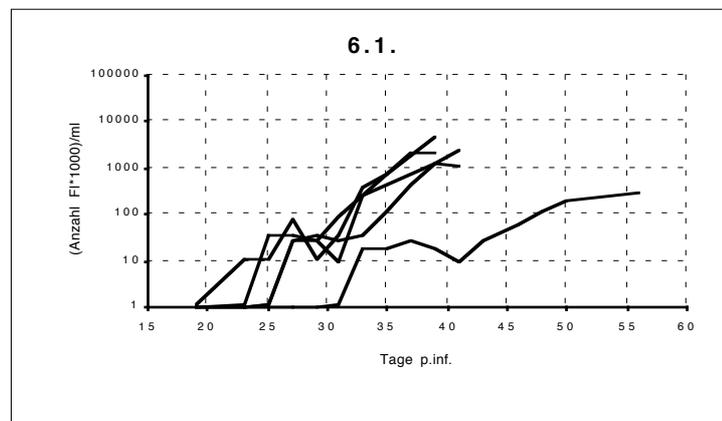


Abb. 66

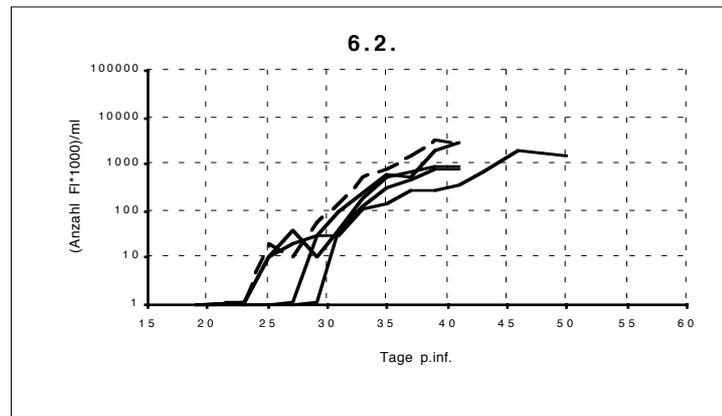


Abb. 67

Abb. 65-67: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 1×10^4 T. cruzi vom Stamm Chile 5 auf den Stichkanal von Dipetalogaster (L4) ohne Speicheldrüsen aufgetropft. Dabei wurden als Trägermedien verwendet

- "normale" Wanzenfäzes, die wenig Symbionten und eventuell unbekannt Keime enthielten (Abb. 65).
- sterile Wanzenfäzes, die gar keine Symbionten oder andre Keime enthielten (Abb. 66).

- sterile Wanzenfäzes, denen viele Symbionten zugesetzt wurden (1×10^4 bzw. $5 \times 10^4/10 \mu\text{l}$, durchgezogene bzw. gestrichelte Linie – Nocardien aus Kultur) (Abb. 67). Die mit *T. cruzi* in "normalen" Wanzenfäzes infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $26,6 \pm 2,2$ Tagen und eine Morbidität von 83% (5/6) (Abb. 65) Ihre Parasitämien stiegen gleichmäßig und in leichten Wellen. Vier der Tiere verstarben am 51. und 53. Tag p. inf. mit 3000-11.000 FI/ μl , eine Maus hatte über die gesamte Lebenszeit eine etwas flachere Parasitämie und starb an Tag 57 mit nur 1000 FI/ μl .

Bei den mit *T. cruzi* in sterilen Wanzenfäzes infizierten Mäusen entwickelte sich eine durchschnittliche Präpatenz von $26,2 \pm 5,0$ (ohne Berücksichtigung des einen "Nachzüglers" von $24,5 \pm 3,8$) Tagen und eine Morbidität von 83% (5/6) (Abb. 66). Auch hier verliefen die Kurven von vier Tieren sehr einheitlich: Um den 25. Tag p. inf kam es zu einem ersten Peak mit 50-80 FI/ μl , danach fielen die Parasitämien wieder etwas, um dann bis zum Tod der Mäuse zwischen dem 39. und 42. Tag p. inf. auf Maxima von 1000-7000 FI/ μl anzusteigen. Ein "Nachzügler" hatte eine um 5 Tage verzögerte Präpatenz, einen deutlich flacheren Kurvenverlauf und eine um 17 Tage längere Lebenszeit; das Tier starb an Tag 57 mit nur 400 FI/ μl .

Die Infektion mit *T. cruzi* in Wanzenfäzes und vielen Nocardien ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $27,0 \pm 2,8$ Tagen und eine Morbidität von 62% (5/8) (Abb. 67). Die Parasitämien stiegen relativ gleichmäßig in nur flachen Wellen, und die Mäuse starben am 38.-42. Tag p. inf. mit 900-6000 FI/ μl . Nur ein Tier überlebte mit 2000 FI/ μl bis Tag 51 p. inf..

A.: Keine der Mäuse zeigte klinische oder pathologische Symptome einer Nocardiose: Atembeschwerden, andere ZNS-Symptome als Lähmungserscheinungen oder multiple Abszesse in der Haut oder inneren Organen traten nicht auf (Rolle & Mayr 1993). Eine weitere Maus dieser Gruppe, die mit der höheren Nocardiodosis infiziert worden war, erkrankte überhaupt nicht (auch nicht an der *T. cruzi*-Infektion).

Bei fast allen Mäusen des Versuches 6 (Abb. 66 und 67) traten Hinterhandpareesen auf. Besonders schlimm betroffen war eine Maus aus Gruppe 6.1. mit einer Präpatenz von 18 Tagen, die an Tag 39 verstarb, und die Maus, die mit der höheren Nocardiodosis behandelt worden war (gestrichelte Linie Abb. 67).

Während der Durchführung des Versuches 6 herrschte warmes Sommerwetter, der Versuch 8 wurde im Winter durchgeführt.

Weder Präpatenzzeiten noch Kurvenverläufe der drei Gruppen unterschieden sich wesentlich. Betrachtet man den Nachzügler aus Gruppe 6.1. jedoch als Ausreißer, so war die durchschnittliche Präpatenz dieser Gruppe zwei Tage kürzer als die der Vergleichsgruppen. Die Tiere der Gruppe 8.2. hatten um fast eine Zehnerpotenz höhere Maxima, die sie ca. 10 Tage später als die Tiere der anderen beiden Gruppen erreichten.

5.6.3 Einflußfaktor WanzenSpeichel

Um zu prüfen, ob WanzenSpeichel die Frühphase der Infektion beeinflusst, wurden *T. cruzi* bei beiden Mausstämmen. auf die Stichstellen von Wanzen mit und ohne Speicheldrüsen aufgetropft. Als weitere Variante wurden verschiedene Wanzenarten verwendet.

Vergleich 5.6.3.A

Abb. 68 (=Abb.5)

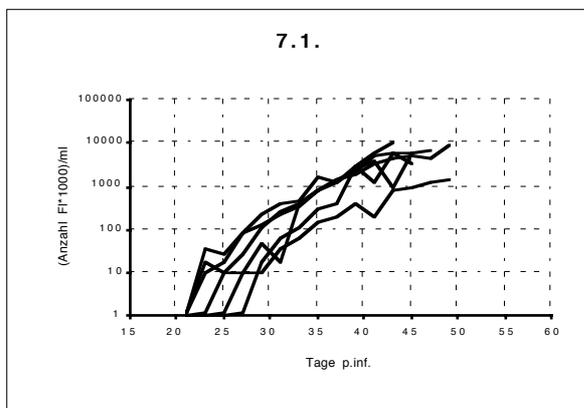


Abb. 69

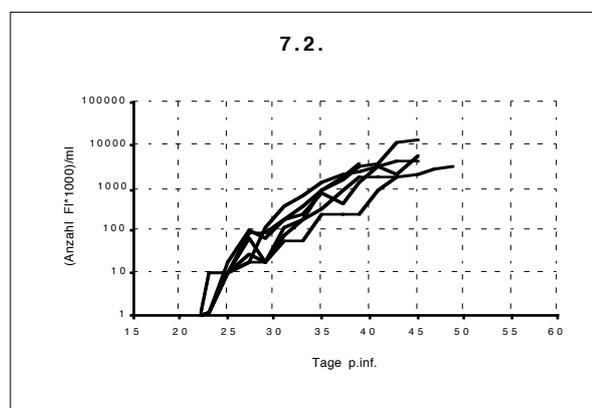


Abb. 68 und 69: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* (L4) ohne Speicheldrüsen (Abb. 68) und mit Speicheldrüsen (Abb. 69) aufgetropft.

Die ohne WanzenSpeichel mit *T. cruzi* infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $24,6 \pm 2,5$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 68), die mit WanzenSpeichel infizierten Mäuse entwickelten eine durchschnittliche Präpatenz von $24,3 \pm 1,0$ Tagen

und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 69). In beiden Gruppen verliefen auch die Parasitämien sehr einheitlich, die Kurven stiegen in Wellen bis auf Maxima von 2000-11.000 FI/ μ l an und alle Tiere starben zwischen Tag 43 und 49 p. inf..

A. zu Gruppe 7.1. (Abb.68): Bei zwei Mäusen hatte die für den Stich eingesetzte Wanze Blutkontakt gehabt: Eines dieser Tiere hatte eine Präpatenz von 23 Tagen und verstarb an Tag 49, das andere hatte eine Präpatenz von 29 Tagen und verstarb an Tag 45.

A. zu Gruppe 7.2. (Abb. 69): Eine Maus mit der Präpatenz von 23 Tagen, die an Tag 34 mit 7000 FI/ μ l getötet wurde, hatte eine sehr starke Lähmung der Hinterbeine und zusätzlich eine Sekundärinfektion der Atemwege entwickelt. Bei einer anderen Maus mit der Präpatenz von 23 Tagen, die an Tag 45 mit 7000 FI/ μ l getötet wurde, trat eine Lähmung des Blasen-sphinkters auf.

Unabhängig von der Anwesenheit von Dipetalogaster-Speichel glich sich der Parasitämieverlauf in beiden Gruppen sehr.

Vergleich 5.6.3.B

Abb. 70 (=Abb. 25)

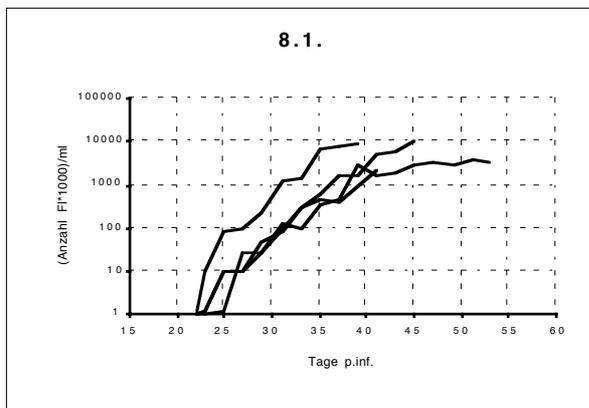


Abb. 71 (=Abb. 65)

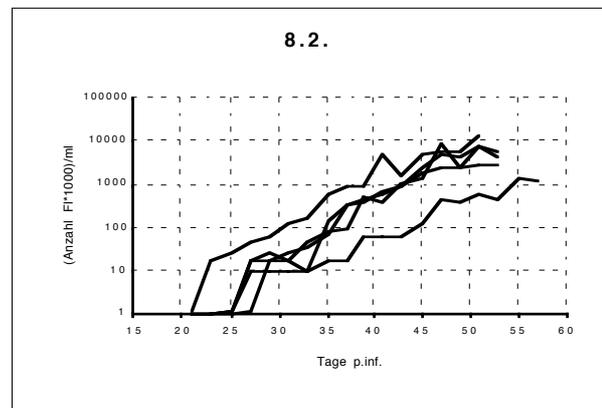


Abb.70 und 71: Weiblichen C57 Bl/6 Mäusen wurden 10^4 T. cruzi in Wanzenkot und -urin auf die Stichstelle von Dipetalogaster (L4) ohne Speicheldrüsen (Abb. 70) und Triatoma (L5) mit Speicheldrüsen (Abb.71) aufgetropft.

Die Infektion durch den Stichkanal von Dipetalogaster (L4) ohne Speicheldrüsen ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $24,5 \pm 1,9$ Tagen und eine Morbidität von 66% (4/6)

(Abb. 70). Die Kurven verliefen relativ einheitlich in leichten Wellen, bis die Mäuse mit Maxima von 3000-10.000 Fl/μl zwischen dem 38. und 54. Tag p. inf. starben. Ein Tier mit der Präpatenz von nur 22 Tagen zeigte einen etwas steileren Kurvenverlauf und starb mit 9000 Fl/μl schon an Tag 38 p. inf.

A.: Die zuletzt genannte Maus war zwischen Tag 25 und Tag 32 klinisch sehr krank. Sie erholte sich dann etwas, hatte aber zum Ende der Parasitämie starke Lähmungserscheinungen. Bei einer weiteren Maus dieser Gruppe hatte die Wanze bei ihrem Stich Blutkontakt gehabt, die Maus erkrankte jedoch nicht. Alle Mäuse wirkten am 25. Tag p. inf. klinisch schon sehr krank.

Die Infektion durch den Stichkanal von *Triatoma* (L5) mit Speicheldrüsen ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $26,6 \pm 2,1$ Tagen und eine Morbidität von 83% (5/6) (Abb. 71). Die Kurven verliefen heterogener als in der Vergleichsgruppe, stiegen nicht so steil an und erreichten ihre Maxima von 2000-11.000 Fl/μl erst viel später als die der anderen Gruppe, die Tiere verstarben erst zwischen Tag 52 und 58 p. inf..

A.: Die Mäuse erschienen erst ab Tag 35-40 p. inf. krank.

Die Parasitämien verliefen nach der Infektion, bei der *Triatoma*-Speichel anwesend war, etwas gemäßiger. Die Präpatenzen waren 2 Tage länger, die Anstiege flacher und die Überlebensspanne um ganze 10 Tage länger als in der Vergleichsgruppe. Nur die Parasitämie-maxima lagen in etwa gleich hoch. Die Mäuse der Gruppe 8.2. waren erst wesentlich später in ihrem Allgemeinbefinden beeinträchtigt.

Bei der Durchführung dieser Versuche mit Nacktmäusen zeigten sich die gleichen Effekte:

Vergleich 5.6.3.C

Abb. 72 (=Abb. 22)

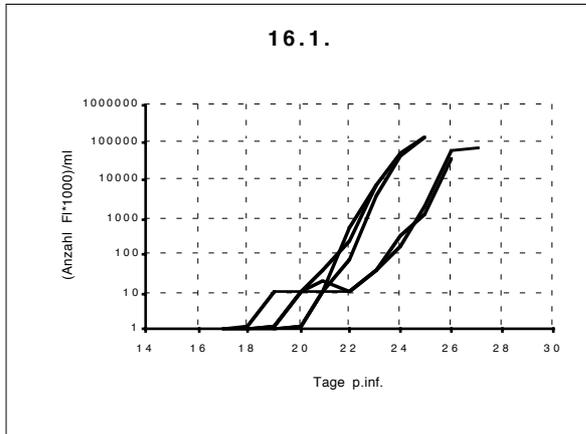


Abb. 73

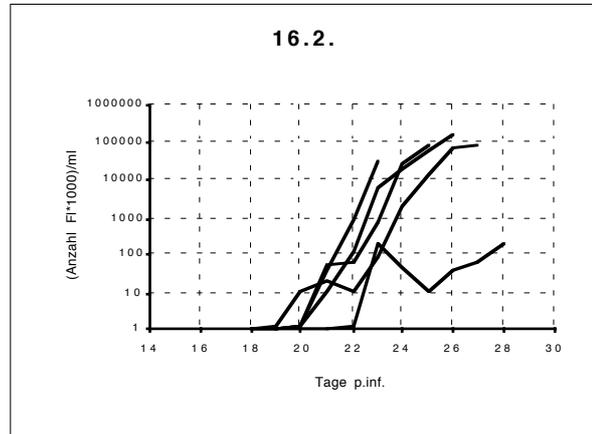


Abb. 72 und 73: Männlichen Balb/c nu/nu Mäusen wurden 10^4 aufgereinigte *T. cruzi* auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* (L4) ohne Speicheldrüsen (Abb. 72) und mit Speicheldrüsen (Abb.73) aufgetropft.

Bei der Infektion durch den Stichkanal von *Dipetalogaster* (L4) ohne Speicheldrüsen ergab sich eine durchschnittliche Präpatenz von $19,2 \pm 0,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 72). Die Parasitämieverläufe sind unter Abb. 22 beschrieben.

Die Infektion nach einem Stich von *Dipetalogaster* mit Speicheldrüsen resultierte in einer durchschnittlichen Präpatenz von $20,2 \pm 1,1$ Tagen und einer Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 73). Vier der Parasitämiekurven verliefen zwar kurz nacheinander, aber weitgehend parallel, die Mäuse verstarben mit Maxima von 50.000-200.000 Fl/ μ l zwischen Tag 23 und 27 p. inf.. Eine Maus hatte eine sehr flache und unregelmäßige Parasitämie, das Tier starb während des dritten Maximums mit nur 300 Fl/ μ l am 28. Tag p. inf..

A.: Zwei der Mäuse litten ab Tag 18 an Darmvorfällen. Eine hatte eine Präpatenz von 20 Tagen und verstarb an Tag 23, die andere hatte eine Präpatenz von 22 Tagen und verstarb an Tag 28. Das Allgemeinbefinden der Maus mit einer Präpatenz von 20 Tagen, die am 26. Tag mit 200.000 Fl/ μ l verstarb, war bis zu ihrem Tod erstaunlich gut.

Präpatenzen und Parasitämieverläufe und Maxima weisen auch bei diesen beiden Gruppen keine deutlichen Unterschiede auf.

Vergleich 5.6.3.D

Abb. 74 (=Abb. 12)

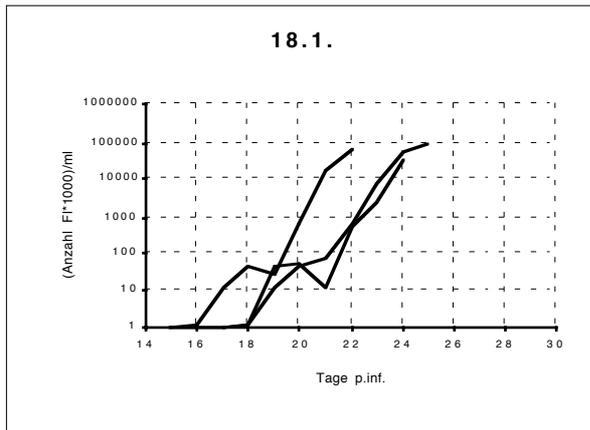


Abb. 75 (=Abb. 13)

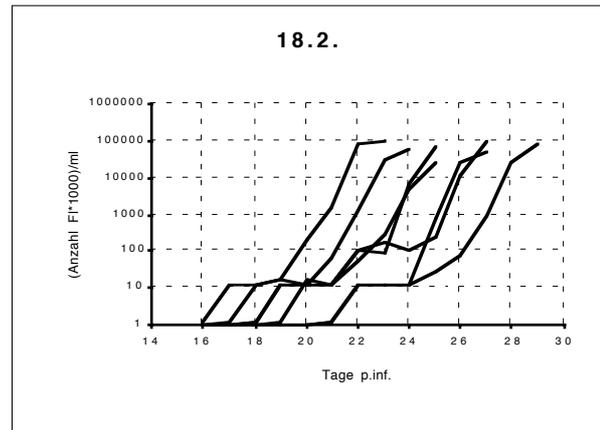


Abb. 74 und 75: Männlichen Balb/c nu/nu Mäusen wurden 10^4 T. cruzi in Wanzenkot und -urin auf die Stichstelle von Dipetalogaster (L4) ohne Speicheldrüsen (Abb. 74) und Triatoma (L5) mit Speicheldrüsen (Abb.75) aufgetropft.

Die durch den Stichkanal von Dipetalogaster (L4) ohne Speicheldrüsen infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $17,3 \pm 0,9$ Tagen und eine Morbidität von 75% (3/4) (Abb. 74). Alle Parasitämien wurden 2 Tage nach Beginn wieder etwas flacher, um dann bis zu Maxima von 50.000-90.000 Fl/ μ l anzusteigen. Die Mäuse verstarben zwischen Tag 22 und 25 p. inf..

Die in Anwesenheit von Triatoma-Speichel infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $18,6 \pm 1,8$ Tagen und eine Morbidität von 100% (7/7) (Abb. 75). Auch ihre Kurven flachten nach einigen Tagen noch einmal ab und stiegen dann etwas weniger steil an als die der Vergleichsgruppe. Die Mäuse starben zwischen Tag 23 und 29 mit Maxima von 40.000-90.000 Fl/ μ l.

Ähnlich wie in Abb. 70 und 71 hatten auch hier die Parasitämieverläufe der "Triatoma-Gruppe" etwas längere Präpatenzen und verliefen weniger steil, die Maxima der Gruppen entsprachen sich jedoch.

Die Ergebnisse der Gruppen 7 (Abb.68/69) und 18 (Abb.74/75) verhielten sich bei gleichem Versuchsansatz mit Mäusen des jeweils anderen Geschlechtes genauso (Diagramme dazu s. Kap. 5.1.4, Abb. 6 und 8, 11 und 14).

Abschließend wurden kleinere Larvenstadien von *Dipetalogaster maximus* verwendet, um zu überprüfen, ob die geringen Größenunterschiede der Mundwerkzeuge (s. Kap. 5.3.2) einen Einfluß auf die Infektionsdosis und damit auf den Parasitämieverlauf haben und dadurch zu einer falschen Interpretation anderer Versuchsergebnisse führen könnten:

Vergleich 5.6.3.E

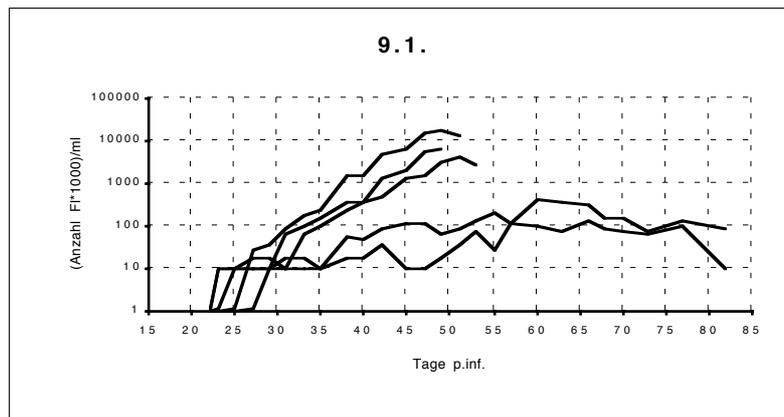


Abb. 76

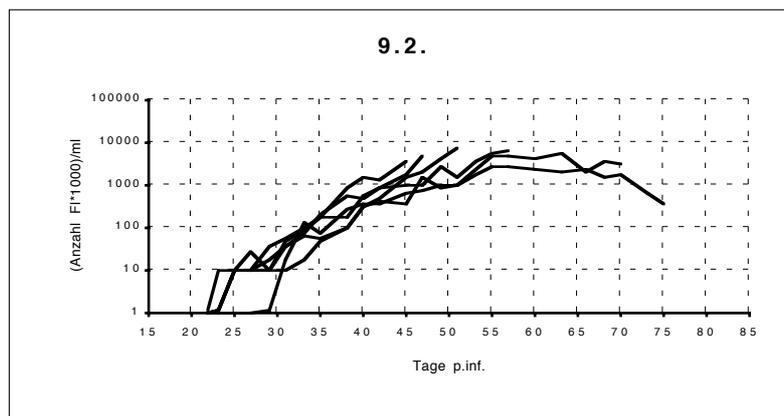


Abb. 77

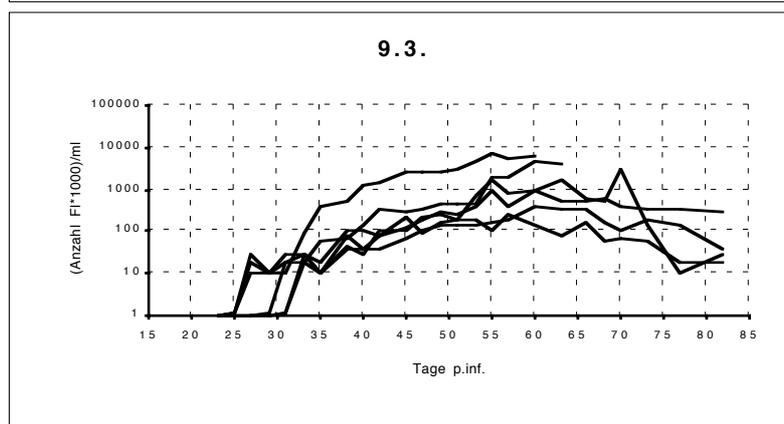


Abb. 78

Abb. 76-78: Weiblichen C57 Bl6 Mäusen wurden 10^4 *T. cruzi* vom Stamm Chile5 in Wanzenfäzes auf die Stichstelle von *Dipetalogaster* (L3) ohne Speicheldrüsen (Abb. 76), von *Dipetalogaster* (L3) mit Speicheldrüsen (Abb. 77) und auf die Stichstelle von *Triatoma* (L5) mit Speicheldrüsen (Abb. 78) aufgetropft.

Die Infektion durch den Stichkanal von *Dipetalogaster* (L3) ohne Speicheldrüsen ergab eine durchschnittliche Präpatenz von $25,4 \pm 2,6$ Tagen und eine Morbidität von 100% (5/5) (Abb. 76). Die Parasitämien dreier Mäuse stiegen nur wenig steil, aber in gleichmäßigen flachen Wellen bis auf Maxima von 5000-12.000 Fl/ μ l an, die Tiere verstarben zwischen Tag 49 und 53 p. inf.. Die Kurven der anderen beiden Mäuse verliefen wesentlich flacher und stärker gewellt, erreichten an Tag 55 und 60 Maxima von 300 und 600 Fl/ μ l und fielen danach wieder etwas ab. Beide Tiere überlebten die Versuchsdauer von 80 Tagen, sie wurden dann mit 50 und 100 Fl/ μ l getötet.

A.: Bei vier Mäusen dieses Versuches hatten die Wanzen beim Anstich Blutkontakt gehabt: Es waren die beiden Mäusen mit Präpatenzen von 26 und 30 Tagen, die schließlich die Versuchsdauer überlebten, die Maus mit einer Präpatenz von 24 Tagen, die an Tag 48 verstarb und die Maus mit einer Präpatenz von 28 Tagen, die an Tag 52 verstarb. Das letztgenannte Tier war bei Ansatz des Versuches sehr zerstoßen worden, bis eine Wanze die geforderte Zeit (10 min) an derselben Stelle probiert hatte.

Bei der Infektion durch den Stichkanal von *Dipetalogaster* (L3) mit Speicheldrüsen entwickelte sich eine durchschnittliche Präpatenz von $25,7 \pm 2,7$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 77). Die Kurven dieser Gruppe stiegen ebenso flach, aber einheitlicher als in der vorherigen Gruppe an und erreichten Maxima von 5000-8000 Fl/ μ l. Vier Tiere verstarben an diesem Punkt zwischen dem 45. und 57. Tag p. inf., bei den anderen beiden fielen die Parasitämien zunächst wieder etwas ab und die Mäuse starben an Tag 70 und 75 p. inf. mit Werten von 4000 und 600 Fl/ μ l.

A.: Die Maus mit einer Präpatenz von 25 Tagen, die erst an Tag 75 getötet wurde, zeigte am Ende ihrer Parasitämie eine Lähmung des Analsphinkters. Die Maus, die an Tag 45 verstarb, zeigte um den 26. Tag auffällige motorische Störungen bei der Fortbewegung, die wenig später wieder verschwanden.

Die in Anwesenheit von *Triatoma*-Speichel infizierten Mäuse hatten eine durchschnittliche Präpatenz von $29,3 \pm 3,1$ Tagen und eine Morbidität von 100% (6/6) (Abb. 78). Ihre Parasitämien verliefen noch flacher als die der anderen Gruppen, nur zwei Mäuse erreichten Maxima von 7000 Fl/ μ l und starben an Tag 60 und 64 p. inf.. Eines dieser Tiere hatte anfangs einen wesentlich steileren Kurvenanstieg als der Rest der Gruppe. Die Kurven der anderen vier Tiere erreichten zwischen Tag 55 und 70 p. inf. nur Maxima von 300-3000 Fl/ μ l und fielen wieder ab. Die Mäuse wurden nach 82 Tagen mit 30-300 Fl/ μ l getötet.

A.: Alle vier Mäuse, die an d 70 noch lebten, waren noch bei gutem Allgemeinbefinden und überlebten die Versuchsdauer von 80 Tagen.

Bei Durchführung dieses Versuches herrschte ein sommerliches, sehr warmes Klima im Infektionsbereich.

Die Präpatenz der Gruppe 9.3. (Abb. 78) war ca. vier Tage länger als die der anderen beiden Gruppen. Ihre Parasitämien blieben flacher an als die der anderen Mäuse, fielen deutlicher wieder ab und es überlebten vergleichsweise die meisten Tiere die Versuchsdauer. Auch klinisch wirkten die Tiere dieser Gruppe während des gesamten Versuchszeitraumes weniger krank als alle anderen.

Wie schon bei den vorher besprochenen Versuchen verliefen die Infektionen in Anwesenheit von *Triatoma*-Speichel weniger aggressiv.