

Rinderonchozerkose in Süddeutschland: Verteilung der Mikrofilarien in ihrem Wirtshabitat

Susanne Zahner, H. Schulz-Key

Einleitung

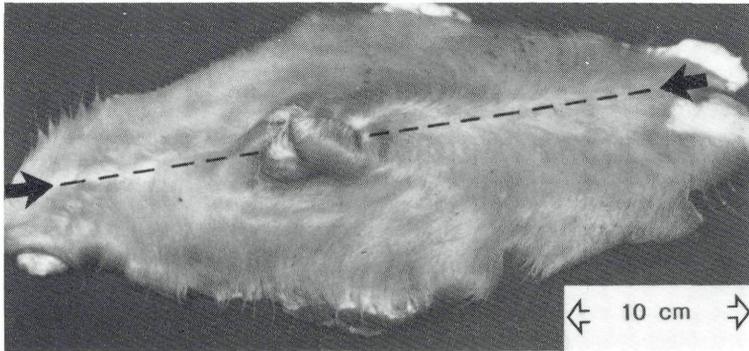
Filarien müssen in ihrem Entwicklungszyklus verschiedene kritische Phasen überstehen, bei denen es zu Engpässen und hohen Verlustraten des Parasiten kommen kann. Engpässe im Übertragungszyklus entstehen zunächst einmal wegen der geringen Wahrscheinlichkeit der Mikrofilarien, durch ihren Vektor bei der Blutmahlzeit überhaupt aufgenommen zu werden. Aber kritische Phasen durchlebt die Mikrofilarie selbst nach geglückter Aufnahme, denn im Überträger muß dann die schnell erhärtende peritrophische Membran rechtzeitig durchdrungen werden. Die Notwendigkeit, als infektiöse Larve wieder in den richtigen Endwirt zu gelangen, führt zu weiteren Verlusten. Umso erstaunlicher ist es, wie epidemiologisch stabil Filarien in endemischen Gebieten im allgemeinen sind. Nur wenn es bei den einzelnen kritischen Phasen zu einer Anpassung des Parasiten an die Eigenheiten des notwendigerweise spezifischen Überträgers kommt, können allzu hohe Verlustraten vermieden werden.

Filarien haben daher verschiedene Strategien entwickelt, mit Hilfe derer sie ihre Übertragungschancen verbessern. So konzentrieren sich zum Beispiel die Mikrofilarien der Gattung *Onchocerca* in charakteristischen Körperregionen des Wirtes, um durch einen spezifisch anfliegenden Vektor für eine larvale Weiterentwicklung um so sicherer aufgenommen zu werden (2, 4, 9). Eine weitere Voraussetzung für eine sichere Übertragung ist es auch, zum richtigen Zeitpunkt, d. h. während der Flugperiode des Überträgers präsent zu sein und sich dann direkt unter der Epidermis aufzuhalten. Es sind also räumliche und zeitliche Komponenten, die mit dem Auftreten und den Sauggewohnheiten des Überträgers korreliert sein müssen, um eine optimale zyklische Parasitenübertragung zu gewährleisten.

Ziel unserer Untersuchungen an Rinderfilarien, zu denen auch die beiden bei uns endemischen Arten *Onchocerca gutturosa* und *Onchocerca lienalis* gehören, ist es unter anderem, solche Anpassungsmechanismen der Mikrofilarien in ihren Wirten genauer zu untersuchen. Es sollen in der vorliegenden Arbeit Fragen über die spezifische Lokalisation der Mikrofilarien im Wirt, ihre genaue Verteilung im Habitat und ihr jahreszeitliches Vorkommen in verschiedenen Hautschichten geklärt werden.

Material und Methoden

Am Schlachthof in Tübingen wurden im Laufe eines Jahres von 291 getöteten Weiderrindern aus der Nabelgegend 20 × 40 cm große Hautstücke entnommen (Abb. 1), aus ihnen kleine Biopsien zum Nachweis von Mikrofilarien ausgestanzt und in physiologischer Kochsalzlösung inkubiert. Um die genaue Verteilung der Mikrofilarien in zwei stark befallenen Hautstücken zu ermitteln, wurden in regelmäßigen Abständen von



(N a b e l)

➔	2	--	5	- 133*	- 22 -	223 -	114 -	89 -	21 -	23 -	- 6 -	298* -	19	➔
	36		164*	3	42	9	19	42	18	2	7	6	3	
	1		1	2	1	5	3	8	9	12	3	1	2	
	1		2	2	6	2	2	7	7	5	4	1		
	5		2	1	5	6	3	1	4	1				
	1		1	2	2	4	1	2	4					
					6	4	6							

Abb. 1:

Oben: Fellprobe vom Nabel eines geschlachteten Rindes. Die gestrichelte Linie stellt die mediane ventrale Mittellinie durch den Nabel dar. N: Nabel

Unten: Mikrofilariendichten (mf/mg) in der Nähe des Nabels. Der Einfachheit halber sind die Dichten nur für die Seite links von der medianen Mittellinie dargestellt. Die Mikrofilariendichten nehmen nach lateral schneller ab als nach cranial und caudal. * = „Mikrofilariennester“

zwei Zentimetern Biopsien von 0,5 cm Durchmesser ausgestanzt und mit einer Genauigkeit von 0,1 mg gewogen. Die Hautproben wurden für 24 Stunden bei 37° C inkubiert und dann die ausgetretenen Mikrofilarien ausgezählt. Die in den Biopsien verbliebenen Mikrofilarien wurden durch anschließende Kollagenaseverdauung bestimmt (0,5% Kollagenase in PBS, 0,4 mg/ml Natriumazid (3).

Um festzustellen, ob sich die Mikrofilarien in kleinen Hautproben gleichmäßig verteilen, wurden von einem Hautstück mit 1 cm Kantenlänge mit einer Hornhauttrephine (2 mm Ø) fünf Hautproben in kreisförmiger Anordnung und Abständen von etwa 3 mm entnommen und deren Mikrofilariendichten wie zuvor bestimmt (Abb. 2).

Zur quantitativen Erfassung der Mikrofilarien in verschiedenen Hauttiefen wurden mit den Hornhauttrephinen drei untereinanderliegende Hautproben eines alkoholfixierten Fellstückes ausgestanzt und das Wirtsgewebe mit Kollagenase verdaut (11) (Abb. 2).

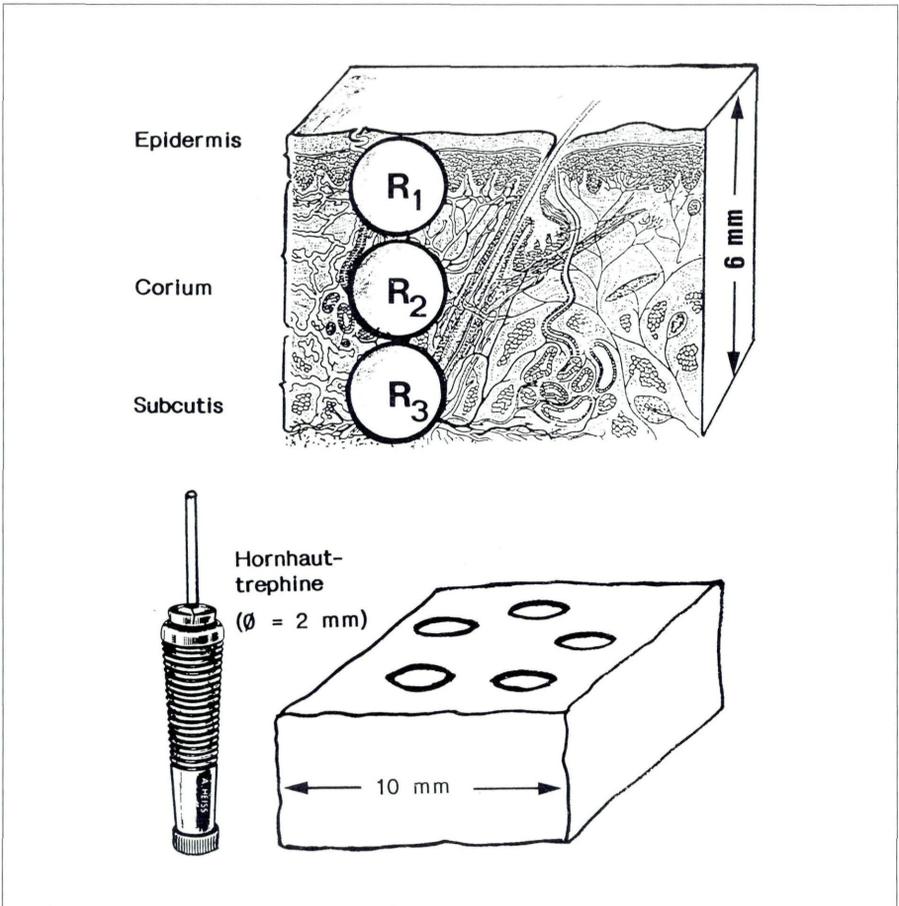


Abb. 2:

Oben: Lokalisation von Hautbiopsien, die mit Hornhauttrephinen ($\varnothing = 2 \text{ mm}$) zur Feststellung der Tiefenverteilung der Mikrofilarien in der Haut entnommen wurden (Schichten R₁, R₂ und R₃).

Unten: In einer Hautprobe von 1 cm Kantenlänge wurden in etwa 3 mm Abstand 5 kreisförmig angeordnete Biopsien entnommen, um die Verteilung der Mikrofilarien auf engem Raum zu zeigen.

Eine weitere Probe des gleichen Fellstückes wurde mit Bouin fixiert und in Kunststoff auf der Basis von Glykolphmethacrylat, Polyethylenglykol und Benzoylperoxid eingebettet. Die Schnittdichte der Präparate, die später mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt wurden, betrug 3-5 μm .

Ergebnisse

Verteilung der Mikrofilarien in der Haut

Etwa 41% aller untersuchten Weiderinder zeigten Mikrofilarien in den Nabelproben. In zwei genauer untersuchten stark befallenen Hautstücken fanden wir die höchsten Mikrofilariendichten im Nabelzentrum selbst, die nur wenige Zentimeter davon entfernt

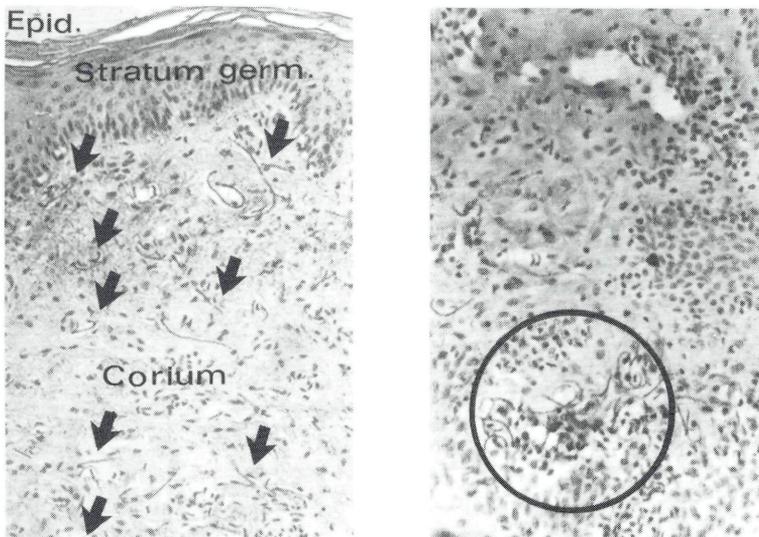
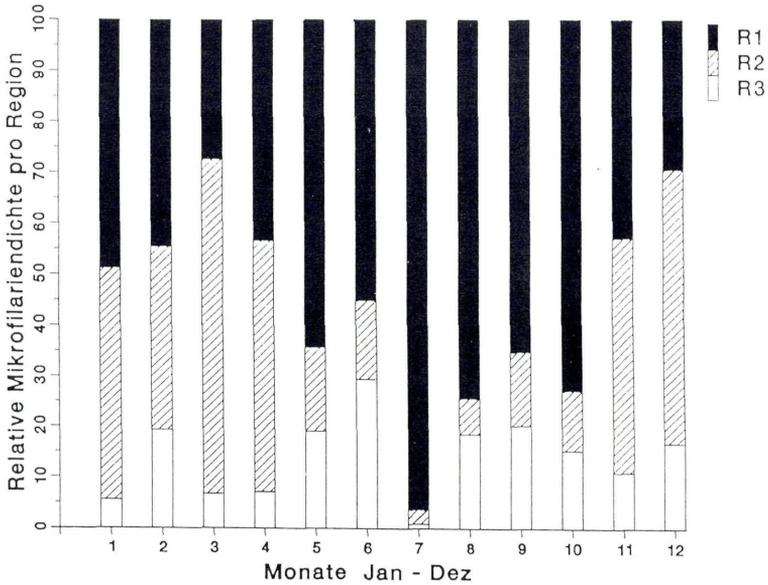


Abb. 3:

Oben: Relative Verteilung der Mikrofilarien auf drei Hauttiefen im Laufe eines Kalenderjahres. R_1 ist 0 - 2 mm, R_2 2 - 4 mm und R_3 4 - 6 mm von der Hautoberfläche entfernt (siehe Abb. 2). Im Winter ziehen sich die Mikrofilarien in die tieferen Schichten R_2 und R_3 zurück.

Unten links: Relativ gleichmäßige Verteilung der Mikrofilarien im Corium einer Fellprobe vom August. Die Pfeile deuten auf einige der angeschnittenen Mikrofilarien.

Unten rechts: „Mikrofilariennest“ im Corium an einer anderen Stelle des gleichen Felles. Die Umgebung des Mikrofilariennests ist mikrofilarienarm oder gar mikrofilarienfrem.

nach allen Seiten sehr rasch abnehmen (Abb. 1). Etwa die Hälfte der Mikrofilarien des gesamten Hautstückes verteilte sich auf eine Fläche um den Nabel herum mit einem Radius von nur fünf Zentimetern. Die Mikrofilariendichten nahmen nicht radial, sondern entlang der ventralen Mittellinie nach vorn und hinten langsamer als nach lateral ab, d. h. sie verteilten sich nicht radial — sondern spiegelsymmetrisch. Die Abnahme der Mikrofilariendichten war jedoch nicht immer gleichmäßig, denn in verschiedenen Lokalisationen konnten gelegentlich auch einmal hohe Mikrofilariendichten in größerer Entfernung vom Nabel angetroffen werden. Es handelte sich um lokale Mikrofilarienanhäufungen, die wir Mikrofilariennester nannten (Abb. 1). Sie kamen vorwiegend entlang der ventralen Mittellinie vor. Auch in den kleineren Hautstücken von 1 cm Kantenlänge verteilten sich die Mikrofilarien nicht gleichmäßig. So zeigten in einem besonders krassen Beispiel drei dicht benachbarte Biopsien 12, 22 und 576 Mf/mg. Es handelt sich also um eine geklumpfte Verteilung der Mikrofilarien in der Haut, wie die statistische Auswertung ergab. Sie ließ sich auch in den histologischen Schnitten zeigen (Abb. 3).

Mikrofilariendichten in verschiedenen Hautschichten im Jahresverlauf

Die höchsten Mikrofilariendichten wurden in den Sommermonaten gefunden. Zu dieser Jahreszeit hielten sie sich überwiegend in den obersten Hautschichten in den Biopsien R_1 auf, die die Epidermis einschlossen (Abb. 2 und 3). In den Monaten Januar bis Mai fanden wir aber auch in den Biopsien R_2 und R_3 der tieferen Hautschichten ähnlich hohe Dichten wie in der obersten Schicht. Diese jahreszeitliche Abhängigkeit der Verteilung der Mikrofilarien auf die einzelnen Hautschichten ließ sich auch anhand der histologischen Schnitte zeigen.

Diskussion

Mikrofilarien von *O. lienalis* und *O. gutturosa* lassen sich morphologisch nur sehr schwer unterscheiden. Wie Infestationsversuche an Simuliiden und Ceratopogoniden gezeigt haben, finden wir in der Nabelgegend der Rinder nicht ausschließlich, aber doch überwiegend die Mikrofilarien von *O. lienalis* (1), die von *Simulium ornatum* übertragen werden. Diese gemischte Mikrofilarienpopulation dürfte aber die Aussagen unserer Untersuchung nicht einschränken.

EICHLER (2) konnte durch Feldversuche einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Lokalisation des Mikrofilarienhabitats im Rind und den Sauggewohnheiten der Überträgermücken herstellen. Auch für andere Filarien werden ähnliche Anpassungen an das Verhalten ihrer Vektoren beschrieben (7, 9, 12). Es bleibt aber offen, auf welchem Wege die Mikrofilarien ihr Habitat erreichen, das vom Sitz der adulten Würmer teilweise weit entfernt liegt, und vor allem, wie sie es finden. Die spiegelsymmetrische, d. h. nicht radialsymmetrische Verteilung der Mikrofilarien von *O. lienalis* entlang der ventralen Mittellinie und das Auftreten von Mikrofilariennestern lassen rein mechanische Techniken bei der Habitatfindung wie z. B. einen Einfluß der Schwerkraft ausschließen. Ein Temperaturgefälle als Gradient, wie er für die Mikrofilarien von *Onchocerca tarsicola* wegen deren besonderen Lokalisation in den Ohrmuscheln für möglich gehalten wird (9), kommt bei den Rinderfilarien eigentlich auch nicht in Frage.

Die Mikrofilarien von *Onchocerca cervicalis* im Pferd finden wir ebenfalls vorwiegend entlang der ventralen Mittellinie, allerdings ohne sich wie bei den Rindern am Nabel zu konzentrieren (4). Dies liegt vermutlich daran, daß *Culicoides nubeculosus*, der Überträger von *O. cervicalis*, wesentlich kleiner ist als *Simulium ornatum*, sich zwischen den Haaren besser bewegen kann und seine Saugaktivitäten nicht auf den spärlich behaarten Nabel beschränken muß.

Die Behaarung der Rinder und die Größe der Mücke spielt für das Saugverhalten offensichtlich eine große Rolle und könnte indirekt ein wesentlicher Grund für die Konzentration der Mikrofilarien von *O. lienalis* auf das Nabelzentrum und wenige Zentimeter davon entfernt sein. Nach EICHLER (3) saugten über 90% der anliegenden *S. ornatum* entlang der ventralen Mittellinie zwischen den Vorderbeinen und dem Nabel, dem Nabel selbst, dem Euter und den Zitzen. Bei mittlerer Saugaktivität flogen am Nabelzentrum selbst annähernd 80% der Mücken an. Erst wenn der Nabel während höchster Saugaktivität ganz besetzt war, verteilten sich die Mücken auch auf die anderen drei Regionen.

Entlang der ventralen Mittellinie wachsen wenige kurze Haare, wie in Nabelnähe und am Nabel selbst, der häufig aus kurzen Haarkronen und Haarwirbeln besteht (Abb. 1). In lateraler Richtung zu den Flanken hoch nimmt die Haaranzahl und Haarlänge ziemlich schnell zu, umgekehrt proportional zur Mikrofilariendichte. Für die relativ großen Simuliiden, die nur kurze Mundwerkzeuge besitzen und damit die Haut anritzen und das herausfließende Blut aufnehmen, scheint somit der Nabel die am besten geeignete Anflugstelle zu sein. Bei älteren Rindern kommt es oft durch die vielen Insektenstiche am Nabel zur Narbenbildung, so daß hier gar keine Haare mehr wachsen können. So könnten auch physiologische Veränderungen durch die Simuliidenbisse einen Gradienten darstellen und die Mikrofilarien anziehen. Möglicherweise wirken mehrere Faktoren zusammen, die sich im Laufe der Evolution im Parasit-Wirt-Verhältnis entwickelt haben (7).

Mikrofilarien von *O. cervicalis* zeigen eine auffällige Anhäufung oder „Nesterbildung“ hauptsächlich in der Nähe von Schweißdrüsen oder Haarfollikeln (8). EICHLER und NELSON (4) beobachteten eine solche Ansammlung in Gruppen direkt unter der Epidermis in den Frühjahrs- und Sommermonaten auch für *O. gutturosa*, jedoch ohne daß sich die Mikrofilarien dabei an irgendwelche besonderen Strukturen banden. Diese Ansammlung von Mikrofilarien lösten in unmittelbarer Nachbarschaft Gewebsreaktionen aus, dabei traten vor allem eosinophile Granulozyten und Makrophagen auf. Ein auf diese Weise entstandener physiologischer Gradient könnte auch die Ursache für eine sekundäre Anhäufung der Mikrofilarien in Nestern sein. Dies könnte zum Beispiel der Insektenspeichel bewirken, der beim Blutsaugen in die Wunde gelangt und so die Mikrofilarien veranlaßt, sich auf diese Stelle hinzubewegen (6). Die biologische Erklärung für dieses Phänomen könnte darin liegen, daß die Mikrofilarien an eine Einstichstelle wandern, die dort liegt, wo der Vektor schon einmal angefliegen ist, erfolgreich blutgesaugt hat und dadurch die Wahrscheinlichkeit für eine Übertragung höher ist als an anderen Stellen. Jedenfalls scheint die Anhäufung der Mikrofilarien in Nestern eine weitere Eigenart der Rinderfilarien zu sein und ist unabhängig davon zu sehen, daß sich die Mikrofilarien beim Rind im Nabelzentrum konzentrieren.

Eine jahreszeitlich unterschiedliche Verteilung der Mikrofilarien auf verschiedene Hautschichten wird auch für einige andere *Onchocerca*-Arten beschrieben (5). Sie werden mit dem saisonalen Auftreten der Überträgermücken in Einklang gebracht, d. h. die Mikrofilarien halten sich während der Flugsaison der Vektoren in den oberen Hautschichten auf und wandern in der kalten Jahreszeit in tiefere Schichten ab. Die Ursachen und die Steuerung dieses dritten Phänomens sind uns ebenfalls nicht bekannt. Die niedrige Außentemperatur im Winter kann hierfür nicht als alleiniger Faktor gesehen werden, denn EICHLER versuchte vergeblich, durch Auflegen einer Wärmeflasche die Mikrofilarien aus den unteren Schichten in die oberen Schichten zu locken (3).

Schlußfolgerung: Wir können für die aufgezeigten Phänomene der Mikrofilarienverteilung im Wirt eine biologische Bedeutung klar erkennen, über ihre Steuerungsmechanismen können wir aber weiterhin nur Vermutungen anstellen.

Zusammenfassung

Bei Rindern im süddeutschen Raum wurde mit verschiedenen Techniken die genaue Verteilung der Mikrofilarien in der Haut mit der Kollagenasetechnik untersucht. — Die Hälfte aller Mikrofilarien in 20×40 cm großen Hautstücken vom Nabel infizierter Rinder (die Infektionsrate bei den untersuchten Weiderindern lag bei 41%), konzentrierten sich auf einer Fläche von 10 cm Durchmesser um den Nabel. Die Mikrofilarien verteilten sich spiegelsymmetrisch zur medianen Mittellinie des Wirtes und nahmen nach lateral schneller ab als nach cranial und caudal. In kleinen Biopsien verteilten sich die Mikrofilarien keineswegs gleichmäßig, sondern kumulierten in kleinen Nestern (geklumpte Verteilung). — Eine jahreszeitlich unterschiedliche Verteilung der Mikrofilarien auf verschiedene Hautschichten ließ sich eindeutig feststellen. In den Sommermonaten waren sie überwiegend in den obersten Hautschichten zu finden, während sie im Winter in tiefere Schichten abwanderten. Während die biologische Bedeutung dieser Phänomene eindeutig erklärt werden kann, gibt es über die Steuerungsmechanismen und über die Orientierung der Mikrofilarien nur Vermutungen.

Schlüsselwörter

Parasit-Wirt-Beziehung, saisonale Übertragung, Kollagenasetechnik, *Onchocerca lie-nalis*, *Simulium ornatum*.

Summary

Bovine onchocerciasis in southern Germany: Distribution of microfilariae in the skin

Umbilical skin samples (20×30 cm) from 291 pasture cattle were examined at the abattoir of Tübingen over a period of 12 months. The prevalence of *Onchocerca microfilariae* was 41% on average. The distribution pattern of skin microfilariae and their localization in different skin layers was assessed with the collagenase technique and in histological sections. About half of the microfilariae found in the skin sample concentrated near the umbilicus on an area of 10 cm diameter with a maximum at the umbilicus itself. Microfilariae densities decreased rapidly and symmetrically to the *linea alba* with a slighter decline towards cranial and caudal. Even in small samples of one square centimetre microfilariae were not regularly distribution but aggregated in irregular nests. — Seasonal variations of the vertical distribution of skin microfilariae were apparent: during summer most microfilariae were found in the uppermost skin layer of 2 mm, while during winter they predominated in layers deeper than 2 mm.

Key words

Parasite-host-relationship, seasonal transmission, southern Germany, *Onchocerca lie-nalis*, *Simulium ornatum*.

Danksagung

Den Angestellten des Schlachthof Tübingen danken wir für ihre Unterstützung bei der Gewinnung der Hautproben.

Literatur

1. BLINN, J., DOHNAL, J., WAHL, G. (1990):
Empfänglichkeit von *Culicoides nubeculosus* und *Simulium ornatum* für Mikrofilarien von *Onchocerca gutturosa* und *Onchocerca lienalis*.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 12.
2. EICHLER, D. A. (1971):
Studies on *Onchocerca gutturosa* (Neumann 1910) and its development in *Simulium ornatum* (Meigen 1818). 2. Behaviour of *Simulium ornatum* in relation to the transmission of *Onchocerca gutturosa*.
J. Helminthol. 45, 259-270.
3. EICHLER, D. A. (1973):
Studies on *Onchocerca gutturosa* (Neumann 1910) and its development in *Simulium ornatum* (Meigen).
3. Factors affecting the development of the parasite in its vector.
J. Helminthol. 47, 73-88.
4. EICHLER, D. A., NELSON, G. S. (1971):
Studies on *Onchocerca gutturosa* (Neumann 1910) and its development in *Simulium ornatum* (Meigen 1818). 1. Observations on *Onchocerca gutturosa* in cattle in South-East England.
J. Helminthol. 45, 245-258.
5. FOIL, L. D., KLEI, T. R., MILLER, R. I., CHURCH, G. E., FOIL, C. S., FRENCH, D. D., SMITH, J. N. (1987):
Seasonal changes in density and tissue distribution of *Onchocerca cervicalis* microfilariae in ponies and related changes in *Culicoides varipennis* populations in Louisiana.
J. Parasit. 73, 320-326.
6. FUGLSANG, H., ANDERSON, J., MARSHALL de, C. T. F., AYONGE, S., FISYI, C. (1976):
Seasonal variation in the concentration of *Onchocerca volvulus* microfilariae in the skin?
Tropenmed. Parasit. 27, 365-369.
7. MELLOR, P. (1973):
Studies on *Onchocerca cervicalis* RAILLIET and HENRY (1910). 1. *Onchocerca cervicalis* in british horses.
J. Helminthol. 47, 97-110.
8. SCHMIDT, G. M., COLEY, S. C., LEID, R. W. (1985):
Onchocerca cervicalis in horses: dermal histopathology.
Acta Tropica 42, 55-61.
9. SCHULZ-KEY, H. (1975):
Untersuchungen über die Filarien der Cerviden in Süddeutschland. 2. Die Filarien des Rorhirsches (*Cervus elaphus*).
Tropenmed. Parasit. 26, 348-458.
10. SCHULZ-KEY, H. (1978):
A simple technique to assess the total number of *Onchocerca volvulus* microfilariae in skin snips.
Tropenmed. Parasit. 29, 51-54.
11. SCHULZ-KEY, H., KARAM, M. (1984):
Quantitative assessment of microfilariae and adults of *Onchocerca volvulus* in ethanol-fixed biopsies and nodules.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 78, 157-159.
12. WEINMANN, C. J., ANDERSON, J. R., LONGHURST, W. M., CONOLLY, G. (1973):
Filarial worms of columbian black tailed deer in California. 2. Observations in the vertebrate host.
J. Wildlife Dis. 9, 213-220.

KORRESPONDENZADRESSE:

Priv. Doz. Dr. Hartwig Schulz-Key
Tropenmedizinisches Institut der Universität Tübingen

Wilhelmstraße 31
D-7400 Tübingen · Bundesrepublik Deutschland

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1990

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Zahner Susanne, Schulz-Key Hartwig

Artikel/Article: [Rinderonchozerkose in Süddeutschland: Verteilung der Mikrofilarien in ihrem Wirtshabitat. 87-94](#)