

Mit. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 7 (1985) 229–234

Aus dem tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen (Komm. Dir. Prof. Dr. W. Höfler)

Wirkung von Ivermectin auf die Verteilung der Mikrofilarien in den Organen und auf die Embryogenese bei der Baumwollrattenfilarie *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea)*

* Mit Unterstützung der Firma Merck Sharp & Dohme

Einleitung

IVERMECTIN besitzt eine erstaunlich rasche und nach einmaliger Dosis auch gründliche therapeutische Wirkung bei der menschlichen Onchocerciasis (AZIZ et al. 1982).

Im Tierversuch wurde IVERMECTIN gegen *Dirofilaria immitis*, *Dipetalonema viteae*, *Litomosoides carinii*, *Brugia malayi*, *Seteria equina*, *Onchocerca*, spp. etc. getestet (CAMPBELL 1981).

Bei der Nagerfilarie *Litomosoides carinii* ist nach der Behandlung von Baumwollratten selbst mit einer Dosis von 0,001–0,1 mg IVERMECTIN pro kg Körpergewicht schon wenige Stunden später keine Parasitämie mehr im peripher zirkulierenden Blut nachweisbar. Es fragt sich, ob die Mikrofilarien so rasch abgebaut werden können, oder ob sie sich in den Kapillarsystemen bestimmter Organe ansammeln.

Um dies zu klären, wurden patente Baumwollratten mit IVERMECTIN per os behandelt und in zunehmenden Zeitabständen nach dem Verbleib der Mikrofilarien gefahndet.

Methodik

Für jeden Obduktionstermin wurden 15–20 Baumwollratten (BWR) (*Sigmodon hispidus*) mit je 30 metazyklischen Larven von *L. carinii* durch subcutane Injektion in eine Vorderextremität infiziert (modifiziert nach PETRANYI und MIETH 1972). Die BWR stammen aus hauseigener, konventioneller Zucht isogenetischer Tiere (TONCAR 1979).

Die metazyklischen Larven werden aus *Meriones unguiculatus* gewonnen, die zuvor als Pooltiere in eine Milbenzucht von infestierten *Ornithonyssus bacoti* gesetzt waren (MÖSSINGER 1984).

Zur Bestimmung der Parasitämie wurde den BWR am retroorbitalen Venenplexus (TILGNER und METZKE 1964) Blut abgenommen und die Mikrofilarämie mit Hilfe einer FUCHS-ROSENTHAL-Zählkammer (RAETHER und MEYERHÖFER 1967) ausgezählt. Zudem wurde bei den Tieren ein Test auf Mikrofilarien-agglutinierendes Serum durchgeführt (STÄB 1985).

Zur Behandlung wurde den Versuchstieren unter Äther-Narkose eine zweimalige Dosis von 0,1 mg IVERMECTIN pro kg Körpergewicht mittels einer Schlundsonde oral verabreicht. Die Kontrolltiere bekamen eine entsprechende Menge Placebo (Lösungsmittel).

Zur *Obduktion* wurden die BWR mit Äther tief betäubt, sodann Blut aus dem retroorbitalen Venenplexus zur Bestimmung der Parasitämie entnommen und die Tiere auf diesem Wege vollends ausgeblutet.

Danach wurden Herz, Lunge, Leber, Milz und Nieren entnommen und als Ganzes sowie ein später zu untersuchendes Teilstück auf 0,001 g genau abgewogen. Die Teilstücke wurden durch ein feines Metallsieb passiert und in einer definierten Menge von 1,5 bis 2 ml Medium TC199 aufgenommen. In einer Probe dieser Organsuspension wurden mittels einer FUCHS-ROSENTHAL-Zählkammer nativ bewegliche und auch unbewegliche Mikrofilarien ausgezählt (BAYER 1983). Auf diese Weise läßt sich die absolute Anzahl Mikrofilarien pro Organ sowie auch deren Dichte in dem betreffenden Organ berechnen.

Die Gesamtmenge Blut pro Ratte wurde auf 5 ml festgelegt.

Dieses erschien vertretbar, da es sich einerseits um einen in der Praxis bewährten Erfahrungswert handelt, andererseits es technisch unmöglich war, alle Ratten gleichmäßig gründlich auszubluten.

Von den Würmern wurden Embryogramme angefertigt. Dabei wurde nach den Kriterien von NIEMÖLLER (1971) und SCHULZ-KEY (1980) vorgegangen.

Versuche und Ergebnisse

Für die Versuche wurden nur solche Tiere verwendet, die 8 bis 13 Wochen p. i. eine ständig steigende Mikrofilarämie aufwiesen, die den Wert von 100 Mf/ μ l Blut mindestens erreicht haben mußte. Außerdem durften bei den Tieren vor der Behandlung keine spezifischen Antikörper nachweisbar sein, es sollte also sicher sein, daß die Tiere nicht schon auf dem Wege zur Postpatenz waren (STÄB, pers. Mitteilung).

Die Obduktionen, je 4 bis 7 Tiere pro Termin, erfolgten 2 bis 4 Stunden, 2 Tage, eine Woche und 3 Wochen nach der in Woche 13 p. i. erfolgten Behandlung. Außerdem wurden Propandiol-behandelte Kontrolltiere obduziert.

Bei den patenten Kontrolltieren finden sich 66% der Mikrofilarien im zirkulierenden Blut. Die übrigen 34% verteilen sich in den Organen, wobei die Lunge die höchste Dichte und auch die höchste Anzahl an Mikrofilarien aufweist (Tab. 1,2).

Sofort nach der Behandlung mit IVERMECTIN fällt die Mikrofilarämie steil ab. Innerhalb von 2 bis 4 Stunden lassen sich nur noch 4% der ursprünglich vorhandenen Parasitämie im peripher zirkulierenden Blut nachweisen.

Die Mikrofilarien finden sich jetzt vor allem in der Leber wieder, aber auch in der Milz stauen sie sich in besonderem Maße. Die Absolutzahlen aber auch die Dichten der Mikrofilarien in diesen beiden Organen steigen gegenüber den Kontrolltieren fast um eine Zehnerpotenz an. Bezogen auf die Parasitämie vor der Behandlung entspricht der Wert der gefundenen dem Wert der erwarteten Anzahl Mikrofilarien. Nur ist die Verteilung der Mikrofilarien aus der Peripherie in die inneren Organe verschoben.

Tabelle 1:

Dichte der Mikrofilarien von **Litomosoides carinii** pro g Organ bzw. ml Blut von infizierten Baumwollratten (**Sigmodon hispidus**) zu unterschiedlichen Zeiten nach IVERMECTIN-Behandlung.

Letzte Zeile: Summe der insgesamt in den Organen und im Blut wiedergefundenen Mf.

	Kontrollen (n=7)	2–4 Std. (n=6)	2 Tage (n=4)	1 Woche (n=6)	3 Wochen (n=7)
	Mf pro g Organ x 1000	Mf pro g Organ x 1000	Mf pro g Organ x 1000	Mf pro g Organ x 1000	Mf pro g Organ x 1000
Herz (0,43 g)	65,9	53,1	1,7	7,9	99,6
Lunge (0,51 g)	1067,7	670,5	6,7	23,2	160,7
Leber (5,37 g)	35,4	234,9	2,3	0,5	10,4
Milz (0,13 g)	130,8	1183,4	0,4	1,2	37,1
Nieren (1,29 g)	68,4	56,7	1,3	1,4	18,1
Blut (ca. 5 g)	262,0	17,0	0,0	0,0	96,0
Summe absolut	2700,0	2200,0	20,0	18,0	700,5

Tabelle 1:

Absolute Anzahl und prozentuale Verteilung der wiedergefundenen **Litomosoides carinii**-Mikrofilarien in Organen und Blut infizierter Baumwollratten (**Sigmodon hispidus**) zu unterschiedlichen Zeiten nach IVERMECTIN-Behandlung. Die Prozentwerte der Einzelorgane beziehen sich auf die Organsumme. (n = Anzahl obduzierter BWR)

	Kontrollen (n=7)		2–4 Std. (n=6)		2 Tage (n=4)		1 Woche (n=6)		3 Wochen (n=7)	
	Absolute Anzahl x 1000	Anteil in %	Absolute Anzahl x 1000	Anteil in %	Absolute Anzahl x 1000	Anteil in %	Absolute Anzahl x 1000	Anteil in %	Absolute Anzahl x 1000	Anteil in %
Herz (0,43 g)	28,9	3	24,5	1	0,8	4	2,8	16	47,4	22
Lunge (0,51 g)	566,5	62	717,2	32	4,0	20	10,8	61	77,5	36
Leber (5,37 g)	196,3	21	1259,4	56,5	12,9	66	2,6	15	62,8	29
Milz (0,13 g)	17,0	2	157,8	7	0,1	0,5	0,1	1	5,2	2
Nieren (1,29 g)	110,8	12	77,2	3,5	1,9	9,5	1,2	7	24,4	11
Organe	919,5	34	2236,0	96	19,7	100	17,5	89	217,3	31
Blut (ca. 5 g)	1803,0	66	87,0	4	0,0	0	2	11	483,0	69

Normale Mikrofilarien sind sehr beweglich. 2 bis 4 Stunden nach der Behandlung sind jedoch fast alle Mikrofilarien immobil. Offenbar können sie die Organe nun nicht mehr selbstständig verlassen und werden in den Kapillarnetzen festgehalten. Auch können in verstärktem Maße Zelladhärenzen beobachtet werden. 2 Tage nach der Behandlung finden sich in den Organen nur noch vereinzelt immobile oder sogar nur noch in

Fragmenten erhaltene Mikrofilarien. Auch nach Giemsa-Färbung lassen sich mikroskopisch keine weiteren Mikrofilarien mehr nachweisen. Zu diesem Zeitpunkt sind auch in der Pleuraflüssigkeit nur irreversibel geschädigte bzw. tote z. T. mit Leukozyten (Makrophagen) behaftete Mikrofilarien festzustellen.

Eine Woche nach der Behandlung finden sich wieder normale, bewegliche Mikrofilarien in den Organen, wenn auch ihre Anzahl sehr gering, ca. 1,2% des bezüglich der vorher vorhandenen Parasitämie erwarteten Wertes ist.

3 Wochen nach der Behandlung scheint der ursprüngliche Zustand hinsichtlich der Verteilung der Mikrofilarien sowohl im Blut als auch in den Organen ungefähr wiederhergestellt zu sein. Die Parasitämie und die absolute Anzahl Mikrofilarien erreichen jedoch erst wieder ein Drittel des ursprünglichen Wertes. Allerdings wird die vor der Behandlung vorhandene Höhe der Mikrofilariämie auch 30 Wochen p. i. nicht wieder voll erreicht.

Nach diesen Befunden werden die Mikrofilarien von *L. carinii* von IVERMECTIN nicht getötet, sondern nur insoweit „geschwächt“, daß sie in den Kapillarsystemen der inneren Organe abgefiltert und dann vom Abwehrsystem der BWR vernichtet werden können.

Dies geschieht innerhalb der ersten zwei Tage nach der Behandlung.

Die embryonalen Mikrofilarien in den Uteri der weiblichen Würmer bleiben dagegen beweglich und werden auch weiterhin ausgestoßen. Da IVERMECTIN verhältnismäßig rasch wieder ausgeschieden wird, bleiben diese Mikrofilarien relativ unbeeinflusst. Sie werden auch weiterhin in die Pleura ausgeschüttet und füllen die Zirkulation der BWR wieder auf. Die neuerliche Parasitämie beruht demnach ausschließlich auf neugeborenen Mikrofilarien.

Bei den Embryogrammen dagegen konnte zwischen den Kontrolltieren und den nach 3 Wochen obduzierten BWR ein Unterschied festgestellt werden. Zwischen dem 16-Zell-Stadium und kleiner Morula finden sich bei den IVERMECTIN-behandelten Tieren deutlich mehr pathologisch veränderte Embryonen. Während die kleinen Morulae bei den Kontrolltieren zum größten Teile kompakt und normal sind, finden sich 3 Wochen nach IVERMECTIN-Behandlung überwiegend pathologische Formen. Im 16-Zell-Stadium und der kleinen Morula wirken die Zellen der Embryonen wie „aufgelöst“ oder füllen die Eihülle nur zur Hälfte aus.

Bei den anderen Embryonalstadien konnte keine Veränderung gegenüber den Kontrolltieren festgestellt werden. Abschließende Ausarbeitungen dieser Ergebnisse stehen jedoch noch aus.

Zusammenfassung

Nach einer einmaligen peroralen Dosis von 0,1 mg IVERMECTIN pro kg Körpergewicht an patenten Baumwollratten wurden 2 bis 4 Stunden, 2 Tage, eine Woche und drei Wochen nach der Behandlung je 4 bis 7 Tiere obduziert.

Bei den unspezifisch behandelten Kontrollen befanden sich 66% der wiedergefundenen Mikrofilarien im peripheren Blut und 34% verteilten sich auf Herz, Lunge, Leber, Milz und Nieren. In der Lunge erreichten die Mikrofilarien die höchsten Dichten und auch die höchste absolute Anzahl. Bei den behandelten Tieren fiel innerhalb von 2 bis 4 Stunden die Anzahl der Mikrofilarien im peripheren Blut auf 4% der ursprünglich vorhandenen Menge ab.

Offenbar werden sie durch IVERMECTIN immobilisiert und sammeln sich vor allem in den Kapillarnetzen von Leber und Milz an. Nach 2 Tagen sind sie jedoch auch bei Giemsa-Färbung selbst dort mikroskopisch nicht mehr nachzuweisen. Die embryonalen Mikrofilarien in den Uteri der weiblichen Würmer bleiben relativ unbeeinflusst und werden auch weiterhin in die Pleurahöhle ausgeschüttet, so daß sich die ursprünglich vorhandene Parasitämie mit neugeborenen Mikrofilarien innerhalb von drei Wochen zu rund 33% wieder herstellt. Jedoch wird die vor der Behandlung gemessene Parasitämie bis zu 30 Wochen p. i. nicht mehr voll erreicht. Dies könnte durch eine Beeinträchtigung der Embryogenese (in den frühen Stadien) vielleicht aber auch durch Stimulierung des Abwehrsystems erklärt werden.

Summary

Effects of IVERMECTIN on the distribution of microfilariae in the internal organs of cotton rats and on the embryogenesis of *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea)

After a single peroral dose of 0,1 mg IVERMECTIN per kg body weight a postmortem examination was carried out with 4—7 cotton-rats respectively at increasing time intervals, 2—4 hours, two days, one week and three weeks after treatment. In the unspecifically treated control cotton rats 66% of the microfilariae were found in the peripheral blood and 34% divided up in heart, lung, liver, spleen and kidneys. The highest density and absolute level was estimated in the lung. In the IVERMECTIN-animals within 2—4 hours after treatment the amount of microfilariae in the peripheral blood is reduced to 4% of the original value. Obviously the microfilariae are immobilised by IVERMECTIN and accumulate in the capillary systems of liver and spleen. 48 hours after treatment they are no longer to be identified microscopically even not when stained by Giemsa.

The embryonic microfilariae in the uteri of female worms are only slightly influenced by the treatment and are continuously delivered into the pleural cavity. Hence three weeks after treatment the parasitemia rises again up to 33%, exclusively due to newborn microfilariae. However, even 30 weeks p. i. the initially measured level is never reached again. This might be due to a hampered embryogenesis (in the early stages) or even to a stimulation of the defence system.

Literatur

- AZIZ, M. A., DIALLO, S., DIOP, I. M., LARIVIÈRE, M. (1982): Efficacy and tolerance of ivermectin in human onchocerciasis. *Lancet*, 171—173.
- BAYER, M. (1983): Versuche zu einer gekreuzten Immunität zwischen *Dipetalonema viteae* und *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea) nach Injektion von Mikrofilarien in *Meriones unguiculatus*. Dipl.-Arb. Univ. Tübingen
- CAMPBELL, W. C. (1981/1982): Efficacy of the avermectins against filarial parasites: a short review. *Vet. Res. Communications*, 5, 251—262.
- MÖSSINGER, J. (1984): Embryonenproduktion von *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea) in vivo und in vitro. Dipl.-Arb. Univ. Tübingen.
- NIEMÖLLER, K. (1971): Prüfung von Mel D auf embryotoxische Wirkung bei *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea) Med. Diss. Univ. Tübingen.
- PETRANYI, G., MIETH, H. (1972): Eine rationelle Methode zur quantitativen Infektion adäquater Labortiere mit *Litomosoides carinii*. *Tropenmed. Parasit.* 23, S 2—9.
- RAETHER, W., MEYERHÖFER, W. (1967): Quantitative Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Mikrofilarien (*Litomosoides carinii*) mit Hilfe der Zählkammern nach Fuchs-Rosenhal und Jessen sowie Anreicherungsverfahren. *Tropenmed. Parasit.* 18, 99—108.
- SCHULZ-KEY, H., JEAN, B., ALBIEZ, E. J. (1980): Investigations on female *Onchocerca volvulus* for the evaluation of drug trials. *Tropenmed. Parasit.* 31, 34—40.

- STÄB, F. (1985): Isolierung und Charakterisierung eines funktionellen Immunglobulins und Nachweis einer spezifischen Immunsuppression bei der Nagetierfilarie *Litomosoides carinii* (Nemato-
da: Filarioidea). Diss. biol. Univ. Tübingen (in Vorbereitung)
- TILGNER, S. METZKE, H. (1964): Die Blutentnahme aus den Venen der Orbita. Z. Versuchstierk. 5,
59—77
- TONCAR, G. (1979): Nachweis der Isogenität einer Kolonie der Baumwollratte *Sigmodon hispidus* mit-
tels Transplantation von Haut und Knochenmark. Dipl. Arb. Univ. Tübingen.

ANSCHRIFT DER AUTOREN:

Jacqueline Söffner
Diplombiologin
Inst. f. Immunologie
Im Neuenheimer Feld 305
D-6900 Heidelberg

Prof. Dr. P. Wenk
Tropenmedizinisches Institut Universität Tübingen
Wilhelmstraße 27, D-7400 Tübingen

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: 1985

Band/Volume: [7](#)

Autor(en)/Author(s): Söffner Jaqueline, Wenk Peter

Artikel/Article: [Wirkung von Ivermectin auf die Verteilung der Mikrofilarien in den Organen und auf die Embryogenese bei der Baumwollrattenfilarie Litomosoides carinii \(Nematoda: Filarioidea\) 229-234](#)