

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 8 (1986) 233–243

Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. W. Lang) (1)
Berufsgenossenschaftlicher Arbeitsmedizinischer Dienst in Bayern (2)

Gibt es latente Babesieninfektionen beim Menschen in Süddeutschland?

H. E. Krampitz¹, Heidi Buschmann¹, P. Münchhoff²

Einleitung und Problemstellung

Babesien sind intraerythrozytäre Protozoen der Ordnung Piroplasmida, die durch Schildzecken (Ixodidae) auf Säugetiere, aber auch auf Menschen übertragen werden können. Etwa 70 Arten sind bekannt (LEVINE 1971). In warmen Ländern bedingen Babesiosen, insbesondere bei Rindern, erhebliche wirtschaftliche Verluste. Regional kommen beim Rind aber auch in Mitteleuropa autochthone Babesieninfektionen vor (DENNIG et al. 1974; ULLMANN et al. 1984). Zwischen 1957 und 1977 mußten in Europa 6 Todesfälle bei entmilzten Menschen als Folge einer Infektion mit Rinderbabesien nach Zeckenstich registriert werden, und zwar in Jugoslawien, der Sowjetunion, Frankreich, Irland und Schottland. Zwischenzeitlich sind vier neue menschliche Todesfälle an Babesiose, vorwiegend durch Infektionen mit *B. divergens*, bekannt geworden: zwei in China 1984 durch LI et al., einer in Spanien 1985 durch CALVO DE MORA et al. und einer in Frankreich durch VARACHE et al. Seit 1969 liegen aus den USA zahlreiche Berichte über Infektionen und Erkrankungen des Menschen, hervorgerufen durch *Babesia microti*, einem Nagetierparasiten, vor. Sie verlaufen im allgemeinen nicht tödlich, auch kommt es zu Spontanheilungen (RUEBUSH et al. 1977). Obwohl *B. microti* auch in Europa bei wildlebenden Kleinsäugetieren weit verbreitet ist (ŠEBEK et al. 1977; KRAMPITZ und BÄUMLER 1978; WALTER und LIEBISCH 1980), konnte in der alten Welt bisher noch kein parasitologisch gesicherter Fall einer Infektion mit ihr beim Menschen beschrieben werden.

Der Nachweis latenter *B. microti*-Infektionen wurde in den USA durch serologische Reihenuntersuchungen erbracht (BENACH et al. 1979; RISTIC und HEALY 1982). Für Europa liegen bisher erst zwei derartige Versuche mit positivem Ergebnis vor (JADIN et al. 1977; SIXL 1980). Aus dieser Situation ergibt sich eine allgemeine Unsicherheit. Muß man bei uns vielleicht mit einer Dunkelziffer gelegentlicher Infektionen des Menschen rechnen, zumal die übertragende Zecke *Ixodes ricinus* sich oft auf uns verirrt? Gleichwohl fehlt es bisher im gesamten deutschen Sprachgebiet an Fundpunkten gesicherter Erkrankungen des Menschen an Babesiose.

Um weiter abklären zu helfen, ob hier eine allgemeine Erwartungshaltung aktuell gerechtfertigt ist (HESSE 1985), wurde eine serologische Reihenuntersuchung durchgeführt, deren Ergebnisse hier vorgelegt werden. Für diese standen die Seren von bayrischen Forstbediensteten zur Verfügung, also derjenigen Berufsgruppe, die bei ihrer Arbeit relativ am häufigsten Zeckenstichen ausgesetzt ist. Es galt auf einer repräsentativen, möglichst großräumigen Untersuchungsbasis arbeitsmedizinische Risiken abzuklären. Neben den bereits erfolgten Untersuchungen auf FSME-Virusantikörper (MÜNCHHOFF et al. 1984) und auf latente Borrelieninfektionen (WILSKE et al. 1984), oblag uns bei den Forstleuten die Prüfung auf etwaige serologische Indizien für eine immunologische Auseinandersetzung mit Babesien. Es ist bekannt, daß alle drei ge-

nannten autochtonen Infektionen durch dieselbe bei uns häufige Zeckenart *Ixodes ricinus* übertragen werden können. Bei deutlich positivem Befund wurde dessen Aussagekraft, also Empfindlichkeit und Spezifität des Indirekten Immunfluoreszenztestes (IFAT) und des Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bei der Diagnose menschlicher Babesieninfektionen vergleichend geprüft. Schließlich sind Versuche unternommen worden, auf Infektion verdächtige Probanden aufzusuchen, mit Hilfe der Hausärzte möglichst viel über sie in Erfahrung zu bringen und aus ihrem Blut lebende Babesien zu isolieren.

Material und Methoden

Die Seren

Insgesamt standen 798 Seren von Bediensteten aus 62 bayrischen Forstamtsbezirken zur Verfügung. 631 davon hat einer von uns (M.) systematisch zu sammeln in Auftrag gegeben, 167 überließ uns freundlicherweise Prof. Dr. E. Vanek/Ulm. 751 Personen (=94,1%) waren männlichen, 39 (=4,9%) weiblichen Geschlechts, bei 1% fehlten die Angaben. Alle Altersstufen von 17 bis 72 Jahren waren vertreten, das Durchschnittsalter der Probanden beiderlei Geschlechts lag bei Mitte 40. Um 80% erinnerten sich an wenigstens einen Zeckenstich in jüngster Vergangenheit, die meisten erwartungsgemäß an „zahllose“. Bei keinem Probanden fanden sich Angaben über vorausgegangene immunsuppressive Therapie, empfangene Bluttransfusionen oder Tropenaufenthalt. Zum Zeitpunkt der Gewinnung von Untersuchungsmaterial waren alle frei von Symptomen, die hätten als mögliche Folge einer Infektion durch Zeckenstich gedeutet werden können. Alle Seren waren von der Gewinnung an sachkundig behandelt und bis zur Untersuchung bei -20°C aufbewahrt worden.

Antigenpräparation

Für den IFAT wurde Antigen separat aus 6 zentraleuropäischen *B. microti*-Wildstämmen und einem autochtonen *B. divergens*-Stamm präpariert. Vergleichend wurden noch einige weitere, in gleicher Weise aufbereitete Nagetierbabesien aus dem Institutsvorrat hinzugezogen. Tabelle 1 gibt darüber Auskunft.

Die Babesienstabilate wurden in flüssigem Stickstoff aufbewahrt und in kleinen Versuchstieren, vor allem entmilzten *Meriones unguiculatus* eigener Zucht regeneriert. Wenn die Parasitämie in diesen den Höhepunkt erreicht hatte, wurden sie zur Antigenbereitung über den *Plexus venosus retroorbitalis* entblutet. Die parasitierten Erythrozyten wuschen wir mehrfach in isotonischer Pufferlösung, verdünnten je nach Notwendigkeit 1:4 oder 1:10, brachten das Material auf Antigenobjektträger und trockneten es ca. 24 Stunden. Hämolyse ist zu vermeiden. Das fertige Antigen wurde bei -20°C eingeschweißt in Plastikbeutel aufbewahrt.

Für den ELISA ist ein somatisches Antigen notwendig. Das hochparasitierte Blut des Experimentalwirtes wird zweimal gewaschen, dann 1 Minute osmotische Lyse der Wirtszellen, zentrifugieren und wiedereinstellen der Isotonie im Sediment mittels doppelt physiologischen Phosphatpuffers. Nach dem Abzentrifugieren wird das Sediment mehrfach gefroren und wiederaufgetaut, dann werden die Babesien durch Ultraschall zerstört. Abtrennung unlöslicher Bestandteile durch einstündiges Zentrifugieren bei 2000 U/min und Lagerung des portionierten Antigenproteins (im Überstand) bei -20°C .

Durchführung und Beurteilung der Teste

Die Ausführung des jeweiligen Tests erfolgte entsprechend den für die beiden Methoden bewährten Standardempfehlungen. Einzelheiten sind bei BUSCHMANN (1985)

detailliert beschrieben. Zur Absicherung der Testergebnisse lief wie üblich bei jeder Prüfungsreihe eine positives und ein negatives Kontrollserum mit. Das positive humane Referenzserum wurde uns freundlicherweise von Dr. J. L. Benach/New York überlassen. Vor dem transkontinentalen Flüssigversand zeigte es im IFAT gegen amerikanisches Antigen einen Titer von 1:2048 (BENACH 1984).

TABELLE 1: Übersicht über die als Antigene verwendeten Babesienstämme von Kleinsäufern sowie *B. divergens* nach ihrer Herkunft und Vorgeschichte

Babesienart	Stamm	geografische Herkunft	tierische Herkunft	Erstisolierung	Experimentalwirte	Isolierung durch
<i>B. microti</i>	München II	Reihermoos bei Grafrath	Erdmaus	1978	Gerbil, Hamster, Feldmaus	Krampitz, Bäumler 1978
<i>B. microti</i>	München IV	Reihermoos bei Grafrath	Erdmaus	1978	Gerbil, Hamster, Feldmaus	Krampitz, Bäumler, 1978
<i>B. microti</i>	Steiermark	Hochmoos bei St. Veit/Stm.	Erdmaus	1979	Gerbil, Hamster, Feldmaus	Sixl, (Persönl. Mitteilg.)
<i>B. microti</i>	Sylvenstein	Rötenbachalm, Ldkr. Bd. Tölz	Erdmaus	1981	Gerbil, Hamster, Feldmaus	Henkel et al., 1982
<i>B. microti</i>	Schweiz	Thun/Kant. Bern	Erdmaus	1977	Gerbil, Hamster, Feldmaus	Aeschlimann, (Pers. Mitteilg.)
<i>B. microti</i>	Berlin	Berlin-Glienicke	Nymphen von <i>I. ricinus</i>	1982	Gerbil, Hamster, Feldmaus	Schein (Persönl. Mitteilg.)
<i>B. microti</i>	MD	England	?	?	Labormaus, Gerbil	Dr. F. E. G. Cox
<i>B. microti</i>	Kings College K 311	England	?	?	Labormaus, Gerbil	Dr. F. E. G. Cox
<i>B. musculi</i>	–	Thadzhikistan	Hausmaus	1966	Labormaus	Muratov, 1966
<i>B. rodhaini</i>	–	Afrika	?	?	Labormaus	Alter Laborstamm
<i>B. divergens</i>	Sylvenstein	Rötenbachalm, Ldkr. Bd. Tölz	Jung-rind	1974	Gerbil	Dennig et al., 1974

Es stammte von einem an Nantucket's-Fieber erkrankten Patienten von Long Island, von dem keine weiteren Daten bekannt sind. Für die Suchteste wurde das einheimische *B. microti*-Antigen ausgewählt, welches in einem informativen Vorversuch die stärkste Antigenität gegenüber dem Positiv-Kontrollserum entwickelte. Erwartungsgemäß variierte nämlich der Antigenwert der einzelnen Stämme in der Größenordnung von bis zu 2 IFAT-Titerstufen. Die höchsten Titer erhielten wir mit der Antigenpräparation eines *B. microti*-Wildstammes, der aus einer Erdmaus im Bergwaldgebiet oberhalb des Sylvenstein-Stausees in den Bayrischen Alpen isoliert worden war (HENKEL et al. 1982). Er bewährte sich in beiden Serotests. Der als Antigen genutzte Stamm

B. divergens war 1974 von DENNIG nahezu vom gleichen Ort aus einem kranken Almrind gesammelt worden und hatte sich bereits bei der Serodiagnostik von Rinderbabesiosen bewährt. Von *B. divergens* gibt es auch international kein menschliches Positiv-Kontrollserum. In beiden Testen wurde ein Befund als positiv bewertet, bei dem sich in Serumverdünnungen von 1:64 und höher deutliche Reaktionen ergaben. Titer von 1:32 (Grenztiter) und darunter galten als negativ.

Stammisolierungsversuche

Um vielleicht aus Positivreagenzien einen lebenden Babesienstamm menschlicher Provenienz gewinnen zu können, wurde von 2 suspekten Probanden frisches Zitratblut i.p. in Dosen von 0,5–1,3 ml auf Gerbils, Goldhamster, Feld- und weiße Mäuse verimpft. Da in *Microtus* ein postinfektionelles relatives Milzgewicht von > 1% für latente *B. microti*-Infektionen typisch ist (KRAMPITZ und BÄUMLER 1978) wurde dieses 43 Tage p.i. bestimmt. Zunächst versuchten wir die Babesiendiagnose beim Versuchstier im Blutausstrich zu sichern, zwei Monate nach der Verabfolgung von Patientenblut prüften wir final das Tiereserum im IFAT.

Ergebnisse

Ein Überblick über das Ergebnis der Reihenuntersuchung auf latente Babesieninfektionen ist in Abb. 1 und 2, sowie Tab. 2 gegeben. 719 Probanden blieben in allen geprüften Titerstufen ohne Befund. In den unterschwelligen Titern finden sich mehr als doppelt soviel Reaktionen gegen *B. divergens* als gegen *B. microti*. Keines der Seren aber erreichte einen zweifelsfrei positiven Titer gegen *B. divergens*. Nur bei 2 Probanden (=0,25%), im folgenden als A und B bezeichnet, wurde initial ein als klar positiv zu bezeichnender Titer von 1:128 gegen *B. microti* festgestellt. Die anamnestische Befragung von Probanden und Hausärzten erbrachte keinerlei Hinweise auf Erkrankungen oder Unpäßlichkeitsperioden, die man hätte zwanglos mit einer Babesieninfektion in Verbindung bringen können.

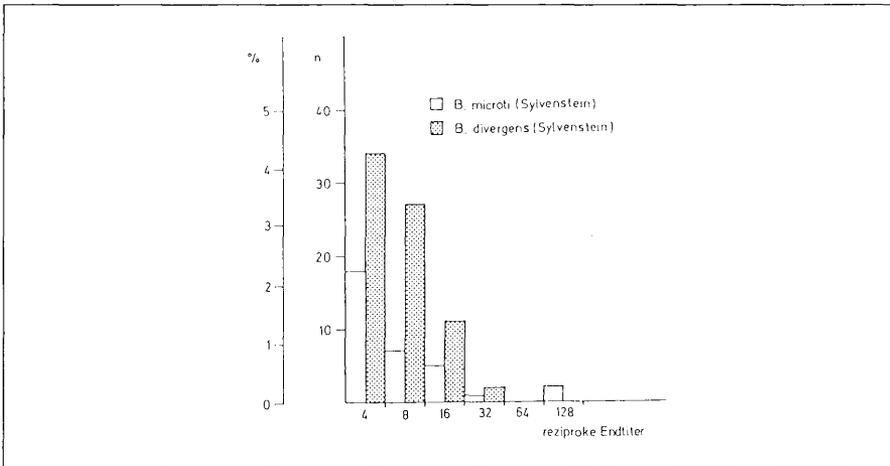


Abb. 1: Überblick über die im IFAT-Suchtest erhobenen Befunde. Auf der mit n bezeichneten Ordinate sind die Absolutzahlen, auf der mit % bezeichneten die auf 798 bezogenen Prozentzahlen der jeweiligen Reagenzien angegeben.

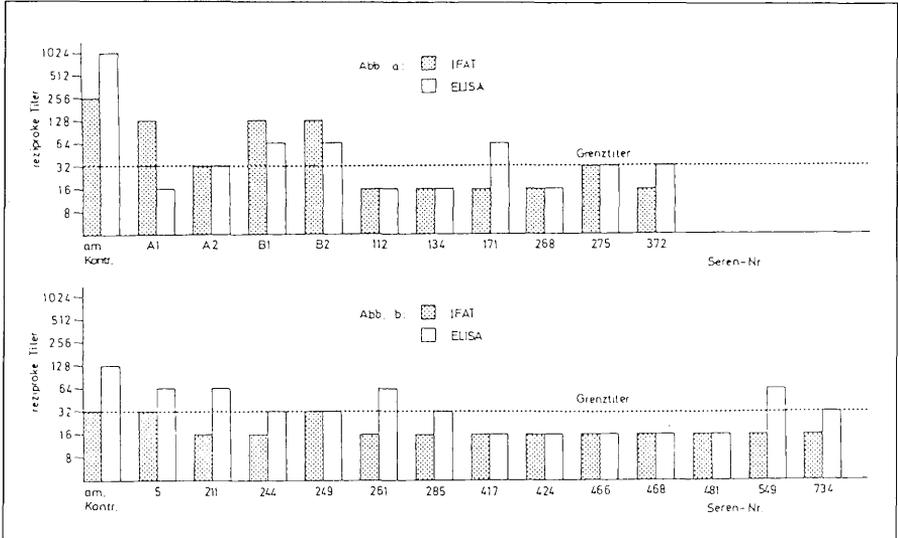


Abb. 2: Vergleich der ELISA-Ergebnisse mit denen in IFAT für alle Probanden mit IFAT-Titern von $> 1:16$ gegen *B. microti* (oben) und *B. divergens* (unten). Auf der Abszisse sind die Tagebuchnummern der Seren angegeben. Links jeweils das positive Kontrollserum. A 3 und B 3 sind noch nicht berücksichtigt.

A, 53 Jahre alt, ist in den Forsten um Garmisch-Partenkirchen auch in Höhen von bis zu 1500 m über dem Meeresspiegel tätig. Zeckenstiche haben ihn nicht so beeindruckt, daß er sich ihrer spontan erinnerte. Nach seinen Angaben, die vom Hausarzt bestätigt werden, treten bei ihm in 2-jährigem Abstand febrile Episoden auf, die als grippale Infekte gedeutet werden. Auch kommt es zu rezidivierenden Erysipellen am Unterschenkel, die mit Fieber einhergehen. Der Patient ist seit Jahren Blutspender.

B, 46 Jahre alt und in den Forsten des Steigerwaldes tätig. Er will häufig von Zecken gestochen worden sein, wobei an der Stichstelle Rötungen bemerkt werden. Im übrigen war auch hier die Anamnese unauffällig, der Proband gibt an, kerngesund zu sein.

Zur Überprüfung der aktuellen Antikörperpräsenz und -persistenz wurde von A und B mehrfach Serum gewonnen. Die zweite Blutabnahme fand bei Proband A 15 Monate, bei B 6 Monate, die dritte bei A 36, bei B 15 Monate nach der ersten statt. Die Proben wurden gegen sämtliche verfügbaren Babesienantigene und gegen *Plasmodium falciparum* ohne Erfolg aber auch gegen *Nosema cucinuli*, *Mycoplasma* und 6 Rickettsienantigene getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gegenübergestellt. Die Titer des für die erste Nachuntersuchung gewonnenen Serums A 2 waren um den Faktor 4 oder mehr gegenüber der Erstuntersuchung abgefallen, das Serum B 2 hingegen hatte den ursprünglichen Titer von $1:128$ gegen *B. microti* Sylvenstein unverändert beibehalten. Es reagierte auch beim zweiten Mal nur gegen diesen Stamm. Überraschende Ergebnisse erbrachte die dritte Prüfung: A 3 zeigte wieder den ursprünglichen Titer von $1:128$, B 3 aber war auf $1:1024$ angestiegen. Das ist der höchste Titer, der je bei einem Menschen in Europa gefunden wurde. Im übrigen ergab die dritte Untersuchung das von den vorhergehenden bereits Bekannte. Für A ist das Mitreagieren von *B. muscui* bemerkenswert. Das positive Kontrollserum ergab gegen Sylvenstein zwar einen achtmal niedrigeren Titer als gegen den Gray-Stamm in den USA vor Versand, reagierte

aber gegen alle kontinentalen *B. microti*-Antigene mehr oder minder deutlich positiv. Gegen die zwei *B. microti*-Stämme aus England tat es das dagegen nicht, wohl aber zeigte es eine Reaktion gegen ein *Plasmodium falciparum*-Antigen mit 1:64. Alle gegen die nächsten Verwandten von *B. microti* und gegen die Fremdartigen erhaltenden Titer lagen klar und wiederholt im negativen oder unterschwelligem Bereich.

TABELLE 2: Reziproke IFAT-Titer der Probanden A und B bei Erst- und Nachuntersuchungen gegen homologe und heterologe Antigene und Kontrollseren

Antigen		Proband A			Proband B			Kontrollserum	
Art	Stamm	Untersuchung			Untersuchung			pos.	neg.
		1.	2.	3.	1.	2.	3.		
<i>Babesia microti</i>	Sylvenstein	128	32	128	128	128	1024	256	–
<i>Babesia microti</i>	Steiermark	128	32	128	–	–	64	256	–
<i>Babesia microti</i>	Berlin	128	32	64	–	–	–	128	–
<i>Babesia microti</i>	München II	128	12	32	–	–	–	128	–
<i>Babesia microti</i>	München IV	64	16	128	–	–	–	64	–
<i>Babesia microti</i>	Schweiz	128	64	128	–	–	–	128	–
<i>Babesia microti</i>	MD	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Babesia microti</i>	Kings College	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Babesia divergens</i>	Sylvenstein	–	–	–	–	–	–	32	–
<i>Babesia musculi</i>	Taschkent	64	4	128	–	–	–	32	8
<i>Babesia rodhaini</i>	Afrika	–	–	–	–	4	–	8	–
<i>Babesia canis</i>	Routine-Antigen	–	–	–	–	–	–	16	4
<i>Babesia bovis</i>	Routine-Antigen	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Babesia major</i>	Routine-Antigen	–	–	–	–	–	–	8	–
<i>Babesia gibsoni</i>	Routine-Antigen	–	–	–	–	–	–	8	–
<i>Babesia equi</i>	Routine-Antigen	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Babesia caballi</i>	Routine-Antigen	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Plasmodium falciparum</i>	Routine-Antigen	8	–	16	–	16	16	64	–

In Seren von insgesamt 7 an tropischer Malaria und eines an Tertiana erkrankten Patienten ergaben sich im IFAT gegen *B. microti*- und *B. divergens*-Antigene keine Titer. Gegen die jeweiligen homologen Antigene wurden dagegen Titer von 1:2024 (2), 1:512 (2) und 1:128 (1) ermittelt. Von einem konstanten Kreuzreagieren von *B. microti* und *Plasmodium falciparum* kann keine Rede sein.

Im ELISA wurde die Antikörperbestimmung bei denjenigen Seren wiederholt, die im IFAT einer der beiden Babesienarten Titer von > 1:16 gezeigt hatten. Die mit den beiden Seroreaktionen ermittelten Befunde sind in Abb. 2 gegenübergestellt. Es zeigte sich, daß die ELISA-Titer, von 3 Ausnahmen abgesehen, mindestens in gleicher Höhe oder um 1–2 Titerstufen höher lagen.

Dadurch erreichten im ELISA 5 weitere Seren, eines gegen *B. microti* und vier gegen *B. divergens*, den als schwach positiv zu bewertenden Titer von 1:64. Der Nachweis antinukleärer Antikörper (ANA) mißlang.

Weder bei dem Versuch in mit Patientenblut geimpften Versuchstieren Babesien direkt, noch in diesen indirekt über einen Serotiter nachzuweisen, ergab sich ein positives Resultat. Selbst die Probanden A und B können zum Zeitpunkt der Untersuchungen keine nennenswerte Parasitämie gehabt haben. Es gelang darum nicht, aus diesen Positivreagenten einen lebenden Stamm zu isolieren und damit die Diagnose endgültig zu sichern.

Diskussion

Das Hauptziel der Untersuchung war es, die in der Überschrift aufgeworfene Frage dadurch zu beantworten, daß die Ergebnisse eines Serosurveys vorgelegt werden, in dem Auseinandersetzungen des Menschen mit *B. microti* und *B. divergens* in Bayern aufgezeigt werden oder nicht. In einer Erörterung über offene Fragen und Forschungsprioritäten bei *B. microti* in Europa (KRAMPITZ 1979) wurde nahegelegt, die Arbeitshypothese zu prüfen, ob fehlende Infektiosität für den Mensch, sehr im Gegensatz zu den amerikanischen, nicht vielleicht ein typisches Merkmal altweltlicher Stämme des Parasiten sein könnte. Diese Vermutung hat sich inzwischen als irrig herausgestellt. Trotz der Allgegenwart des Antigens ist die Faktorenkonstellation, die den Menschen in Europa zu immunologischen Auseinandersetzungen mit *B. microti* zwingt, so selten, daß sie keiner gezielten prophylaktischen Maßnahmen bedarf. Auf diese Tatsache ist hier zum dritten Mal hingewiesen. JADIN et al. (1977) unterstrichen erstmals die Tatsache, daß unter 121 menschlichen Anti-Rickettsia-Seren aus Belgien 17 (=14%) auch mit einem Titer gegen *B. microti* reagierten. Der Gedanke einer immunologischen Beziehung zwischen Babesien und Rickettsien ist von JADIN und GIROUD (1981) immer wieder zu überdenken empfohlen worden. Wir können hier trotz großer einschlägiger Bemühungen keine dafür sprechenden Indizien beibringen. Repräsentativer und mit unseren Befunden gut übereinstimmend waren die Ergebnisse von SIXL (1980) aus der Obersteiermark. Er benutzte ein Fertigantigen aus den USA. Von etwa 1000 Patientenseren reagierten 3 mit Titern von zweimal 1:128 und einmal 1:256. Alle Probanden waren Landarbeiter, die wie unsere Positivreagenten gleichzeitig keine FSME-Titer zeigten. Die Inzidenz von etwa 3‰ wird durch unsere Ergebnisse bestätigt.

Bestätigt wird hier auch das gelegentliche Kreuzreagieren anderer Babesienantigene und vor allem von *Pl. falciparum* in niedrigen oder Grenztitern (RISTIC et al. 1971; LYKINS et al. 1975; HINKERTON und JONES 1981).

Das Mitreagieren heterologer Antigene dürfte zwar wesentlich von deren Auswahl und Präparationstechnik abhängen, zeigte bei uns aber keine Beziehungen zur Höhe des homologen Titers gegen *B. microti*. WERNSDORFER (1983) wies auf die mitunter schwierige Unterscheidung von *B. microti*- und *Pl. falciparum*-Infektionen hin und listete die Unterscheidungsmerkmale samt deren Unsicherheiten tabellarisch. Ein sehr zuverlässiges Differenzierungsmerkmal, nämlich die Vermehrungsfähigkeit von *B. microti* in Versuchstieren nach Verabfolgung von Patientenblut, wird leider meistens in Erinnerung zu bringen vergessen. Besonders peinlich ist diese Informationslücke in der ständig wachsenden Literatur über merkwürdige autochthone Infektionsfälle von tropischer Malaria, meist als Airport-Malaria gedeutet (GIACOMINI et al. 1984). Fast 20 derartige Fälle sind bisher bei Menschen publiziert, die selbst nie ein endemisches Malariagebiet besucht haben. Bedenklich ist bei diesen immer das

fehlende Bemühen um eine Differentialdiagnose zu Babesiosen. Die morphologische Unterscheidung kann für den Ungeübten in der Tat schwierig sein, gleichwohl begründen die Erfahrungen der Serologie keinen diagnostischen Pessimismus.

Aus Tabelle 2 ging hervor, daß das positive Kontrollserum aus Amerika mit allen kontinentaleuropäischen *B. microti*-Stämme mit positiven Titern reagiert, nicht aber mit den beiden Stämmen desselben Parasiten von den britischen Inseln. Den ersten Hinweis auf diese Sonderstellung der Stämme aus England verdanken wir HENKEL et al. (1983). Wir bestätigen diese Beobachtungen. Unsere mitteleuropäischen *B. microti*-Stämme weisen engere antigenetische Beziehungen zu den Erregern des Nantucket-Fiebers in Nordamerika auf, als zu allen anderen Nagetierbabesien, die uns für den Vergleich zur Verfügung standen. Die hochgradige mikromorphologische Konvergenz ist bereits bekannt (GÖBEL et al. 1978). Das nahezu geschlossene Mitreagieren aller als Antigene verfügbaren kontinentalen *B. microti*-Stämme in verwertbaren Titerhöhen bei Proband A läßt kaum Zweifel, daß es sich hier tatsächlich um eine Infektion mit der Mäusebabesie gehandelt haben muß. Diese Beobachtung spricht auch für weitgehende antigenetische Homogenität der geprüften Isolate, die immerhin ein repräsentatives Nord-Süd-Profil der europäischen Populationen dieser Babesienart darstellen. Proband B erschütterte die Überzeugung, indem alle 3 seiner Serumproben, entnommen binnen 15 Monaten, signifikant positiv nur mit einem einzigen Antigen reagierten.

Die Titer der beiden Probanden müssen von unterschiedlicher immunbiologischer Struktur sein. Sie läßt uns an der Opportunität der alleinigen Verwendung nur eines lokalen Antigens, wenngleich auch eines sehr guten, für den Screening-Test auf *B. microti* zweifeln. Vielleicht ließen sich prinzipiell mit einem Breitspektrum von Teilantigenen mehr individuell nur gegen eines von ihnen positiv reagierende Probanden herausfinden.

Die Erwartungshäufigkeit von beweisenden Titern für eine latente Infektion des Menschen mit *B. divergens* lokalisierten wir a priori in der Nähe von Null. Die Testergebnisse bestätigen die Richtigkeit dieser Vermutung. Relativ oft reagierten Probanden mit Grenztitern, wobei allerdings der Verdacht nicht zu entkräften ist, daß es sich dabei um spezifische Residualtiter handelte. Reh-, Dam- und Rotwild ist nach ENIGK und FRIEDHOFF (1962) für die experimentelle Infektion mit *B. divergens* empfänglich, auch agiert bei uns *Ixodes ricinus* sicher als Vektor. Asymptomatische Piroplasmenerkrankungen fand HINAIDY (1985) in einem Drittel aller österreichischen Rehe und in zwei Drittel der geprüften Rothirsche. Das Antigen kann also auch im Wild vorhanden sein. Während die natürliche Verbreitung von *B. microti* in ihren Vorzugswirten kleinerherdförmig über den gesamten süddeutschen Raum und nahezu alle Höhenlagen unterhalb der Vegetationsgrenze zu beobachten ist, waren der Tiermedizin dort immer nur wenige Naturherde des „Weiderots“ beim Rind bekannt (DENNIG et al. 1974; ULLMANN et al. 1984). Zunehmende Intensivhaltung und Sinn für Weidehygiene haben manchen dieser alten Herde von *B. divergens* in Bayern zum Erlöschen gebracht. Am ehesten ist noch im Bereich der Almwirtschaft mit Restvorkommen zu rechnen. Aus einem dieser Biotope stammt auch unser Antigen.

Abschließend sei unterstrichen, daß alle unsere Anstrengungen, die beiden deutlichen Antibabesientiter als „falsch positiv“ zu entlarven, ebenso fehlgeschlagen sind wie alle Versuche, den lebenden Erreger zu isolieren oder ein klinisches Bild zu beschreiben. Trotzdem steht einer Bejahung der Überschriftsfrage bis jetzt nichts entgegen. Wir empfehlen sogar, sich bei uns auch weiterhin auf die Möglichkeit vereinzelter klinisch apparenter Verlaufsformen vorzubereiten und diese vor allem nicht im Rahmen der Immunsuppression aus dem Spektrum differentialdiagnostischer Erwägungen nach Zeckenstich zu entlassen.

Anmerkung

We would like to thank Dr. J. L. Benach for sending us the antiserum. Wir danken den zahlreichen Kollegen vom Arbeitsmedizinischen Dienst, die sich um das Sammeln von Seren verdient gemacht haben. Ferner danken wir den Herren Professoren Aeschlimann/Neuchâtel, Schein/Berlin und Sixl/Graz für die Überlassung von *Babesia microti*; Herrn Prof. Vanek/Ulm für die Serumsammlung. Sehr dankbar sind wir auch den Herren Kollegen Dr. Weiss/Garmisch-Partenkirchen und Dr. Hasiba/Eltmann für ihre große Kooperationsbereitschaft. Frau S. Wegert und Frau A. Schmerber danken wir für ihre unermüdliche und sachkundige technische Assistenz.

Zusammenfassung

798 Seren von in Bayern tätigen Forstbediensteten wurden im Indirekten Immunfluoreszenz-Antikörpertest (IFAT) auf Antikörper gegen *Babesia microti* und *B. divergens* untersucht. Die Screening-Antigene wurden aus Stämmen beider Babesienarten präpariert, die in den Bayerischen Alpen aus ihren tierischen Vorzugswirten gesammelt werden konnten. Als Positivkontrolle diente das Serum eines Patienten mit Nantucket-Fieber von Long Island N. Y. Es reagierte deutlich mit 6 kontinentaleuropäischen, nicht aber mit 2 *B. microti*-Stämmen aus England. Nur 2 Probanden (0,25%), wohnhaft weit voneinander entfernt, reagierten positiv mit Titern von 1:128 gegen *B. microti*-Stamm Sylvenstein. Die Seren weiterer Probanden erreichten gegen *B. divergens* unter-schwellige Titerwerte von maximal 1:32. Bei je zwei weiteren serologischen Prüfungen in mehrmonatlichem Abstand erwiesen sich die Titer als persistierend. Bei einem Probanden ergab sich schließlich ein Titeranstieg auf 1:1024, die stärkste Reaktion, die bisher beim Menschen in Europa ermittelt wurde.

Beide Probanden waren gesund und voll arbeitsfähig. Auch die anamnestische Exploration verlief bezüglich einer möglicherweise durchgemachten Babesiose unergiebig. Durch Abimpfung von Blut gelang es nicht, aus den Probanden einen Babesienstamm im Versuchstier zu entwickeln. Alle Seren, die im IFAT mit Titern von $> 1:16$ reagierte hatten, wurden erneut im Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA) getestet. Die Ergebnisse waren nicht einheitlich, bestätigen aber das Positivreagieren im IFAT teils mit höheren, teils mit niedrigeren Titern. Kreuzreaktionen mit *Plasmodium falciparum*, *Nosema cuniculi*, Rickettsien- und Mykoplasmen-Antigenen konnten ausgeschlossen werden oder erwiesen sich als unerheblich. Es wird empfohlen, die in der Überschrift gestellte Frage zu bejahen.

Summary

Are asymptomatic human *Babesia* infections occurring in Southern Germany?

798 sera from forestry officers and wood workers employed in Bavaria and frequently exposed to tick bites have been proved by means of IFAT and ELISA for antibodies against *Babesia microti* and *B. divergens*. Both piroplasmids are known to be occurring in their natural animal carrier hosts in Southern Germany. The sera to be tested were collected and stored during an one year period and were coming from all parts of Bavaria. As a positive control we used the serum from a patient with Nantucket's fever from Long Island, N. Y. This serum reacts with 6 different wild strains from the continental Europe but not with two strains deriving from Great Britain. The screening antigen we prepared from a *B. microti* strain found in a Bavarian rodent some years ago. Since the antigenicity within our European *B. microti* strain collection may vary up to

several titer steps, we elect the best for testing. The *B. divergens* antigen was prepared from a wild strain isolated from a heifer in Bavaria too. We cultivated the Babesias in Mongolian jirds (*Meriones unguiculatus*). The sera of only two forestry workers react 1:128 *B. microti* positive in the IFAT screening. No cross reactions have been observed with heterologe antigens as *Plasmodium falciparum*, *Nosema cuniculi*, *Mycoplasma* and diverse members of the order Rickettsiales. Never a serum reacts positive against the cattle parasite *B. divergens*. The titers received in the ELISA test confirmed the screening titers in the IFAT. No clinical symptoms of a babesiosis were observed in seropositive persons in the past and present. Their antibody levels have been proved three times within 2–3 years. During this period we found the positive titers always present with a top value of 1:1024. Attempts to isolate Babesia strains from the seropositive persons in suitable laboratory animals failed. Nevertheless the titers are thought to be specific. A constellation of factors with results in an infection with *B. microti* occurs in Europe but seems very rare even in a group of persons frequently bitten by *Ixodes ricinus*, the local Babesia vector.

Literatur

- BENACH, J. L., WHITE, D. J., MCGOVERN, J. P., JACOVINA, M. M. (1979): Immunological relationship of Long Island isolates of *Babesia microti*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28, 643–648.
- BENACH, J. L. (1984): Persönliche Mitteilung.
- BUSCHMANN, H. (1985): Untersuchungen zum Auftreten von Babesieninfektionen beim Menschen in Bayern. *Vet. Med. Diss. Nr. 3363 München.*
- CALVO DE MORA, A., GARCIA CASTELLO, J. M., HERRERA, C., JIMENES-ALONSO, J. (1985): Human babesiosis: a report of a fatal case. *Med. Clin.* 85, 515–517.
- DENNIG, H. K., LEHNER, M., TEUBNER, F. (1974): Ein Beitrag zum Vorkommen der Rinder-Babesiose im südbayerischen Raum. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 87, 190–193.
- ENIGK, K., FRIEDHOFF, K. (1962): Zur Wirtsspezifität von *Babesia divergens* (Piroplasmida). *Z. Parasitenk.* 21, 238–256.
- GIACOMINI, T., PRUMPT, L. C., PETITHORY, J. C. (1984): Le paludisme des aeroports. Critères diagnostiques et consequences médico-legales. *Méd. Mal. Inf.* 14, 376–388.
- GÖBEL, E., PATZIG, F. M., KRAMPITZ, H. E. (1978): Die Feinstruktur der intraerythrozytären Formen von *Babesia microti* (Stamm München und Thun) unter Berücksichtigung von Vermehrung und Ernährung. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 91, 439–445.
- HENKEL, G., CENTURIER, C., WEILAND, G. (1983): Isolierung einer Nagerbabesie in Süddeutschland und deren Charakterisierung. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 96, 242–244.
- HESSE, F. (1985): Droht uns bald die Babesiose? In den USA neuer Herd entdeckt? *Ärztl. Praxis* 37, 3358.
- HINAIDY, H. K. (1985): Piroplasmids of wildliving ruminants in Austria. *Abstr. 7. Internat. Congr. Protozool. Nairobi*, Nr. 181 p. 98.
- HINKERTON, J. P., JONES, T. W. (1981): The serological differentiation of *Babesia rodhaini*, *B. microti* and *B. muratovi* with a fluorescent antibody staining technique. *Am. J. Trop. Med. Parasit.* 75, 473–474.
- JADIN, J. B., GIROUD, P., VERY, M., HENRY, M. C., TIMPERMAN, G. (1977): Au sujet des piroplasmes et des Rickettsiales. *J. Protozool.* 24, 60 A Ref. 73.
- JADIN, J. B., GIROUD, P. (1981): Babesioses et Rickettsioses. *Parasitological topics: Presentation Volumen to PCC Garnham. Zool. Spec. Publ. Allen Press Ins. Kansa City* 132–135.
- KRAMPITZ, H. E. (1979): *Babesia* (Nuttallia) *musculi* in Europa. Offene Fragen und Forschungsprioritäten. III. *Internat. Arbeitskoll. Naturh. Inf. Krh. Zentraleurop. Graz-Seggau.*

- KRAMPITZ, H. E. (1979): *Babesia microti*: Morphology, distribution and host relationship in Germany. *Zbl. Bakt. I. Org.* 1, 244, 411–415.
- KRAMPITZ, H. E., BÄUMLER, W. (1978): Vorkommen, Saisondynamik und Wirkkreis von *Babesia microti* (França, 1912) in einheimischen Nagetieren. *Z. Parasitenk.* 58, 15–33.
- LEVINE, N. D. (1971): Taxonomy of the piroplasms. *Trans. Am Microscop. Soc.* 90, 2–33.
- Li, J. F., MENG, D. B., WANG, Q. F., DONG, X. R., WANG, J. Y. (1984): The discovery of human babesiosis. *Chin. J. Vet. Med.* 10, 19–20.
- LYKINS, J. D., RISTIC, WEISINGER, R. M. (1971): *Babesia microti*: pathogenesis of parasites of human origin in the hamster. *Exper. Parasit.* 37, 388–397.
- MÜNCHHOFF, P., ROGGENDORF, M., ZOULEK, G. (1984): Zur Topographie der FSME. Studie zur Durchseuchung der Waldarbeiter in Oberbayern an der Bestimmung der Antikörper gegen den Erreger der FSME. *Arbeitsmed.* 19, 277–279.
- MURATOV, E. A. (1966): Blood parasite of the house mouse (*Mus musculus* Lin.) Belonging to the genus *Nuttallia* Franca. *DoKI. Acad. Nauk Tadzh. SSR* 9/5, 34–37.
- RISTIC, M., CONROY, J. D., SIVE, S., HEALY, R. G., SMITH, A. R., HUXSOLL, D. L. (1971): *Babesia* species isolated from a woman with clinical babesiosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 20, 14–22.
- RISTIC, M., HEALY, G. R.: Babesiosis. In J. H. Steel (Ed.): *Handbook Series, in Zoonoses Sect. C. Parasitic Zoon.* CRC. Press Inc. I, 151–156, 1982.
- RUEBUSH, R. K., JURANEK, D. D., CHISHOLM, E. S., SNOW, P. C., HEALY, G. R., SULZER, A. J. (1977): Human babesiosis in Nantucket Island. Evidence for self-limited and subclinical infections. *New Engl. J. Med.* 297, 285–287.
- ŠEBEK, Z., ROSICKI, B., SIXL, W. (1977): The occurrence of babesiosis affecting small terrestrial mammals and the importance of this zoonosis in Europe. *Folia parasit.* 24, 221–228.
- SIXL, W. (1980): Die Bedeutung von Babesien-Naturherden. *Vortr. 17. Jahrest. Österr. Ges. Hyg. Klosterneuburg* (darüber persönliche Mitteilung).
- ULLMANN, B., CENTURIER, C., WEILAND, G., BOCH, J. (1984): Ein Beitrag zur Rinderbabesiose im westlichen Allgäu. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 97, 265–269.
- VARACHE, C., DELILLE, F., GORENFLOT, A., MARMONIER, A. (1986): Un nouveau cas de babésiose humaine au Mans. *Méd. Mal. Inf.* 16, 93–94.
- WALTER, G., LIEBISCH, A. (1980): Untersuchungen zur Ökologie einiger Blutprotozoen bei wildlebenden Kleinsäugetieren in Norddeutschland. *Acta. Trop.* 37, 31–40.
- WERNSDORFER, G. (1983): Differentialdiagnose von Malaria und Babesiose beim Menschen. *Kurzref. Nr. 31, Gem. Tg. Tropenmed. Ges. Garmisch-Partenkirchen.*
- WILSKE, B., MÜNCHHOFF, P., SCHIERZ, G., PRAK-MURSIC, V., RODDENDORF, M., ZOULEK, G. (1985): Epidemiologie der *Borrelia burgdorferi*-Infektion. *Münch. Med. Wschr.* 127, 171–172.

KORRESPONDENZADRESSE

Prof. Dr. Heinz E. Krampitz
Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin
Universität München
Leopoldstraße 5
D-8000 München 40

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: 1986

Band/Volume: [8](#)

Autor(en)/Author(s): Krampitz Heinz Eberhard, Buschmann Heidi, Münchhoff P.

Artikel/Article: [Gibt es latente Babesieninfektionen beim Menschen in Süddeutschland? 233-243](#)