Zeitschrift: Acta Tropica

Herausgeber: Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)

Band: 28 (1971)

Heft: 2

Artikel: Miscellanea: Vereinfachter, kontaminationsfreier, kultureller Nachweis

von "Trypanosoma theileri" (Laveran, 1902) aus Rinderblut in

Norddeutschland: Isolation und Kultur

Autor: Fölsch, D.W.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-311724

Nutzungsbedingungen

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

Conditions d'utilisation

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

Terms of use

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

Download PDF: 17.11.2025

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

Vereinfachter, kontaminationsfreier, kultureller Nachweis von *Trypanosoma theileri* (Laveran, 1902) aus Rinderblut in Norddeutschland. Isolation und Kultur¹

D. W. FÖLSCH

Herrn Dr. med. Erik Undritz, Ehrendozent für Hämatologie an der Universität Basel, zum 70. Geburtstag in Hochachtung und Dankbarkeit gewidmet (25. Mai 1971)

Abstract

On 24.6.1970 blood samples were taken from a herd of black and white cattle in East Holstein (in the north of Germany) to prepare cultures of *Trypanosoma theileri* (Laveran, 1902) and demonstrate leucosis. A plastic tube "Venex", composed of a graduated test-tube and a hypodermic needle, which contains the culture medium NCTC-109, was used to puncture the vein and subsequently to culture the blood.

In 17 of a total of 91 head (= $19^{0}/_{0}$) *T. theileri* could be cultured. In one case leucosis was demonstrated simultaneously. After isolation a culture of *T. theileri* was produced on BHI-Agar supplemented by $10^{0}/_{0}$ rabbit blood.

Einleitung

Nach dem ersten in Deutschland bewiesenen Krankheitsfall durch *Trypanosoma theileri* im Juli 1908, wie er von Frank (1908/1909) und Frosch (1908/1909) beschrieben wurde, kam es nur sporadisch zur Berichterstattung weiterer, vereinzelter Fälle. Herbert (1964) erfaßt die Einzeldarstellungen über *T. theileri* und stellt eine Liste der Länder und Autoren auf, von denen dieser Erreger gefunden und beschrieben wurde.

Im Rahmen der Trypanosomen-Forschung ist es von Interesse, auch *T. theileri*-Untersuchungen vergleichend mit einzubeziehen. In Vorversuchen wurde das beim Schlachten von Rindern aus der Arteria carotis comm. herausspritzende Blut in sterilen Glasröhrchen mit Heparinzusatz aufgefangen und bei einer Temperatur von + 4° C innerhalb von 3 Stunden zum Institut gebracht. Nach dem Zentrifugieren wurde das Serum verworfen und aus dem Zentrifugat je 1,0 ml Erythrozytensediment unter sterilen Kautelen in 3 Reagenzröhrchen mit verschiedenen Medien verbracht und bei + 37° C bebrütet. Die verwendeten Nährmedien ² waren: NCTC-109, Medium 199 und Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) in Anlehnung an die Versuche von SPLITTER & SOULSBY (1967).

Bei der 1. Kontrolle nach 7 Tagen Bebrütung zeigten 69 von insgesamt 99 Blutproben (= $70^{\circ}/_{\circ}$) Wachstum von Schimmelpilz.

Somit schien es angezeigt, das Blut der zu untersuchenden Rinder direkt von der Vene in das Nährmedium gelangen zu lassen, um jede Möglichkeit der Kontamination auszuschalten.

¹ Die Untersuchungen wurden dank der Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Anschrift des Verfassers: D. W. Fölsch, Dr. med. vet., Zoologischer Garten, CH-4051 Basel.

² Produkte der Difco Laboratories, Detroit, Michigan.

Material und Methode

Isolation

In der Region Ostholstein wurde am 24.6.1970 in einer Milchviehherde schwarz-bunter Rinder von 91 Tieren, die älter als 2 Jahre waren, Blutproben genommen aus einer Vena jugularis oder V. subcutanea abdominalis für die routinemäßige Leukoseuntersuchung und die im folgenden beschriebene Trypanosomenanzüchtung.

Als Auffanggerät für das Blut diente eine Plastikvenüle (Venex ³), zusammengesetzt aus einem graduierten Reagenzrohr, einer aufsteckbaren Nadel und einer Schutzkappe für Kanüle und Reagenzrohr (Abb. 1).

Das Nährmedium, bestehend aus NCTC-109 = 175 ml, veal infusion broth (VIB) = 175 ml, newborn calf serum = 50 ml, Heparin (Vetren ⁴) = 40 ml, Penicillin = 100 000 I.E. und Streptomycin = 100 000 mg, wurde auf 100 nicht vorbehandelte Venex-Röhrchen unter sterilen Kautelen mittels einer Dosierpistole abgefüllt.

Oberhalb des durchscheinenden Mediums erhielten die Venülen eine deutliche Farbmarkierung, um die Grenze für die aufzufüllenden 1 ml Blut anzuzeigen. Bis kurz vor dem Gebrauch wurden die mit Nährmedium gefüllten Venülen bei + 4° C senkrecht gelagert, um dann bei der Blutentnahme Umgebungstemperatur zu haben.

Bei der einen Hälfte der Röhrchen wurden im Labor die Kanülen abgenommen, um eine Kontamination des Mediums durch die ausgestanzten Haar- und Hautpartikeln zu vermeiden und statt dessen die Plastikkappen aufgesetzt; bei der anderen Hälfte verblieb die Kanüle mit Schutzkappe auf dem Reagenzrohr. Die Röhrchen, in einen Drahtkorb gesteckt, wurden zur Erlangung einer großen Oberfläche der Nährflüssigkeit schräg gelagert (circa 15°) und bei + 37° C bebrütet.

Mittels ausgezogener Glaskapillaren wurde am 6., 9. und 12. Tag nach Beginn der Bebrütung vom Boden der Reagenzröhrchen Material auf Objektträger verbracht, mit einem Deckglas breit gedrückt und mit dem Trockensystem eines Mikroskops untersucht 5.

Kultur

Aus Reagenzröhrchen mit angezüchteten *T. theileri* wurden 3 Tropfen in Röhrchen mit 3 ml BHI-Agar ⁶ und 0,5 ml überschichteter NaCl-Lösung übertragen, und in Kolben von 10 ml BHI-Agar mit 1 ml NaCl kamen 0,2 ml des trypanosomenhaltigen Mediums. Dem BHI-Agar waren 10⁰/₀ heparinisiertes Kaninchenoder Rinderblut zugesetzt. Die Bebrütung erfolgte bei + 27°C.

Resultat

Von den 91 kontrollierten Rindern wiesen, wie Abb. 2 zeigt, 17 *T. theileri* auf, d. h. 19⁰/₀. Die Trypanosomen traten mit undulierender Membran und in der Crithidiaform auf.

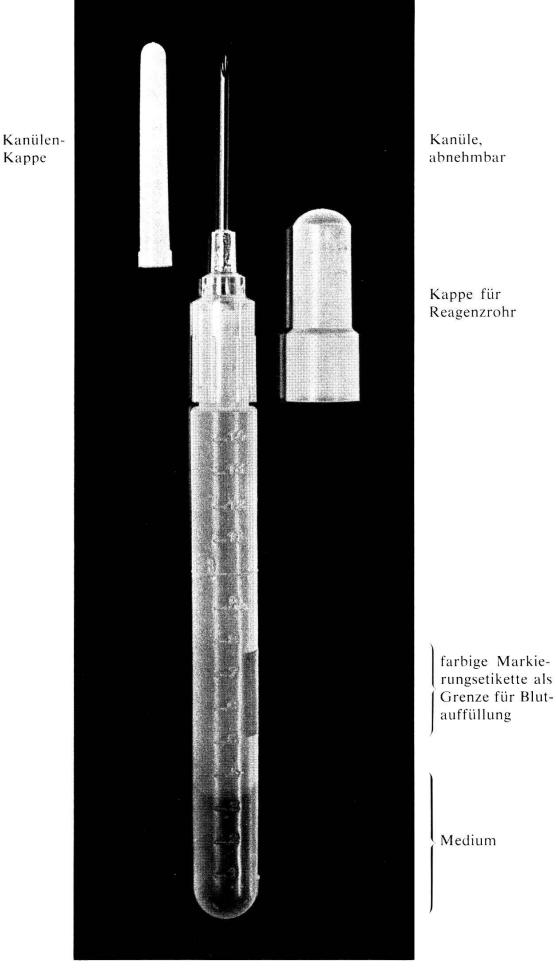
Mit dem Altern der Kulturen wurden Erythrozyten sichtbar, in denen schwarze, punktförmige Gebilde zitternd sich bewegten, die dann nach Auflösung der Ery-

³ Venex-Hersteller: Institut de sérothérapie de Toulouse. Vertrieb: Aesculap-Werke, 72 Tuttlingen.

⁴ Produkt der Firma Promonta, Hamburg.

⁵ Der technischen Assistentin Frau G. Schröder sei für die Mithilfe gedankt.

⁶ Produkt der Difco Laboratories, Detroit, Michigan.



Kappe

Abb. 1. Plastikvenüle mit Medium als Auffanggerät für Blut und zur Kultivierung. Photo: J. Hess

Lfd. Nr.	Name	Blutproben, genommen am 24.6.70 Kontrolle der Kulturen am			Leukose
		30. 6. 70	3. 7. 70	6. 7. 70	
103	Meise	_	(+)	_	neg.
104	Gitta	_	(+)	_	neg.
105	Nelke	+++		_	neg.
110	Olga	(+)	£ 2	_	pos.
113	Netto	(+)	+	(+)	neg.
120	Leuchte	+++	(+)	=	neg.
125	Otter	+	(+)	-	neg.
132	Mamsel		(+)		neg.
136	Maiblom	+	8 - 2 - 2 - 2 - 2 - 2 - 2 - 2 - 2 - 2 -	(<u>1</u> _2)	neg.
141	Nixe	+	+		neg.
142	Mizar (Bulle)		(+)	<u> 2002</u>	neg.
157	Ketti		(+)	_	neg.
172	Norfa	(+)	(+)	<u></u> -	neg.
176	Neffe	(+)	(+)	_	neg.
177	Kaschmir	(+)	2 0 (<u>182-18</u>)	records	neg.
188	Nachtigall	(+)	_	_	neg.
190	Nashorn		(+)	-	neg.

Zeichenerklärung:

- negativ (d. h. in 25 Gesichtsfeldern kein Parasit)
- (+) = spärliche Infektion (d. h. Parasiten vorhanden, aber weniger als 1 pro Gesichtsfeld)
- + = 1-5 Trypanosomen pro Gesichtsfeld
- ++ = 6-10 Trypanosomen pro Gesichtsfeld
- +++ = 11-20 Trypanosomen pro Gesichtsfeld
- ++++ = mehr als 20 Trypanosomen pro Gesichtsfeld

Abb. 2. Trypanosoma theileri in 17 der 91 Blutproben von Rindern, die zur selben Zeit auf Leukose untersucht wurden.

throzytenmembran frei im Nährmedium zu sehen waren. Bakteriologische Untersuchungen solcher Kulturen verliefen stets negativ.

Die Kultivierung der isolierten *T. theileri* hatte Erfolg auf dem BHI-Agar unter dem Zusatz von 10⁰/₀ Kaninchenblut. In den Kolben vermehrten sich in 10 Tagen, bei den Röhrchen innerhalb 4–5 Tagen die Trypanosomen auf ++++ (s. Abb. 2, Zeichenerklärung).

Die vom Institut für Hygiene der Bundesanstalt für Milchforschung, Kiel, durchgeführte Leukoseuntersuchung ergab 1 positives Rind, das mit der laufenden Nummer 110 «Olga» (s. Abb. 2), aus deren Blut auch *T. theileri* angezüchtet werden konnte.

Diskussion

Werden die Ergebnisse des Vor- mit denen des Hauptversuches verglichen, so zeigt sich eindeutig, daß eine Kontamination besonders durch Pilze vermieden wird beim direkten Einströmen des Blutes von der punktierten Vene in das Nährmedium. Das Belassen der Kanüle und Kanülenkappe auf dem Reagenzrohr während der Bebrütung hat keinen negativen Einfluß auf das Medium oder das Wachstum der Trypanosomen gezeigt. Das vereinfacht gerade in bezug auf Reihenuntersuchungen den Arbeitsgang, soweit das überhaupt möglich ist.

Aus dem Blut von insgesamt 91 Rindern konnte bei 17, das sind 19⁰/₀, *T. theileri* angezüchtet werden. Dieser Prozentsatz entspricht dem Ergebnis anderer europäischer Autoren: Knuth & Rauchbaar (1910), Vrijburg (1912) und Wells et al. (1968).

Eine Abhängigkeit oder Beeinflussung der Leukose durch T. theileri läßt sich nicht ableiten, da nur 1 der 91 Rinder Leukose-positiv ist.

Literatur

- Frank, G. (1908/1909). Über den Befund von Trypanosomen bei einem in Stein-Wingert (Westerwald, Regierungsbezirk Wiesbaden) verendeten Rinde. Z. Infekt.-Kr. Haustiere 5, 313–315.
- FROSCH, P. (1908/1909). Ätiologische Ermittlungen über das Trypanosoma Frank. Z. Infekt.-Kr. Haustiere 5, 316–329.
- HERBERT, I. V. (1964). *Trypanosoma theileri*, Laveran, 1902. A cosmopolitan parasite of cattle. Vet. Bull. 34, 563–570.
- KNUTH, P. & RAUCHBAAR, G. (1910). Weitere Nachforschungen nach Trypanosomen beim Rinde nebst einem Beitrag zur Kenntnis der in deutschen Stechfliegen (*Tabanus* und *Haematopota*) parasitierenden Flagellaten. Z. Infekt.-Kr. Haustiere 8, 140–154.
- SPLITTER, E. J. & SOULSBY, E. J. L. (1967). Isolation and continuous cultivation of *Trypanosoma theileri* in media containing tissue culture fluids. Exp. Parasit. 21, 137–148.
- VRIJBURG, A. (1912). De *Trypanosoma transvaliense* bij hollandse runderen. Tijdschrift voor Veeartsenijkunde *39*, 803–812.
- Wells, E. A., Lumsden, W. H. R. & McNeillage, G. J. C. (1968). Isolation of Trypanosomes of the section Stercoraria from cattle in Nigeria and the United Kingdom. Brit. vet. J. 124, 382–392.