

Material und Methoden

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Acta Tropica**

Band (Jahr): **31 (1974)**

Heft 3

PDF erstellt am: **17.05.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Zellteilung, liegt also zwischen den Teilungen doppelt vor (Fig. 1, 3). Dadurch muß *H. muscarum* als eingeißlig betrachtet werden, wie dies in vielen älteren Arbeiten dargelegt wurde (PORTER 1909; PATTON 1910; MACKINNON 1910; WENYON 1910, 1911, 1913; BECKER 1923; BELLOSILLO 1937).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Ultrastruktur von *H. muscarum*, «*H. mirabilis*» und *C. luciliae* sind bisher kaum gemacht worden. Ein erstes Ziel der vorliegenden Arbeit ist deshalb die Abklärung der Ultrastruktur dieser drei Arten an den Darmformen, zum Teil auch an Kulturformen. Spezielle Aufmerksamkeit wird dem Kinetoplasten und seinen Transformationen gewidmet. Ein zweites Ziel ist die Abklärung des Zyklus dieser drei Flagellatenarten in *Chrysomya chloropyga*. Da diese Arten nebeneinander in derselben Fliege vorkommen können, muß auch die Möglichkeit einer gegenseitigen Beziehung untersucht werden. Dazu werden Infektionsversuche mit Kulturen und reinen Fliegen durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit wurde als Dissertation am Schweizerischen Tropeninstitut in Basel durchgeführt. An erster Stelle möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Geigy, herzlich danken für sein lebhaftes Interesse und seine unermüdliche Hilfe sowie für den Arbeitsplatz an der Elektronenmikroskopischen Station. Im weiteren gebührt mein Dank Dr. H. Hecker, der mich in die Technik der Elektronenmikroskopie eingeführt hat und mir in ultrastrukturellen Fragen viele Anregungen geben konnte. Zu danken habe ich auch Herrn Dr. R. J. Onyango, ehemaliger Direktor der E.A.T.R.O., Tororo/Uganda, für seine Gastfreundschaft, Dr. G. Riou und Dr. E. Delain für die DNS-Untersuchungen an den Kulturformen von *H. muscarum* sowie Prof. F. Zumpt (Johannesburg) für die Fliegenbestimmung. Mein Dank geht auch an Dr. R. Steiger, Dr. L. Jenni, Prof. Dr. S. Krassner sowie an alle Freunde und Bekannten, die mir in wertvollen Diskussionen Ideen und Anregungen gegeben haben.

Diese Arbeit wurde teilweise vom «Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung» finanziert.

II. Material und Methoden

1. Fixation für die Elektronenmikroskopie

Die Fliegen wurden unter einem Stereo-Mikroskop in physiologischer NaCl-Lösung seziert und die zu untersuchenden Darmabschnitte sofort in die Fixationslösung gebracht. Fixiert wurde während 1½ h bei 4° C in 2,5 % oder 3,0 % Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer, über Nacht bei 4° C in 0,2 M Cacodylatpuffer mit 5 % Saccharose gewaschen und während 1½ h bei 4° C in 2 % Osmiumtetroxid in 0,2 M Cacodylatpuffer nachfixiert.

Die so fixierten Organe wurden in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert (zum Teil mit «blockstaining» in 70 % Aceton mit 1 % Uranylacetat), in einer Propylenoxid-Epon-Mischung durchdrungen, in Epon eingebettet und während drei Tagen bei 60° C polymerisiert.

Kulturen wurden bei 1500 rpm zentrifugiert, das überstehende Kulturmedium abgeschüttet und die Flagellatenanreicherung mit der Fixierungslösung versetzt. Nach 1½ h Fixierungszeit in Glutaraldehyd wurde wieder zentrifugiert und die Flagellaten mit dem Waschpuffer versetzt. Nach erneutem Zentrifugieren wurde das Zentrifugat in wenig 2 % Agar, in Waschpuffer gelöst, aufgenommen und wie ein Darmstück weiterbehandelt.

Ultradünnschnitte wurden auf einem Reichert OmU₂ und einem LKB Ultratome III Mikrotom mit Glas- resp. Diamantmesser geschnitten und auf Parlodium/Kohle beschichtete Kupferträgernetze aufgenommen. Die Schnitte wurden

anschließend während 10 Minuten in 5% Uranylacetat (sofern kein «block-staining» in 70% Aceton erfolgte) und mit REYNOLDS (1963) Bleicitrat kontrastiert. Die Aufnahmen wurden auf einem ZEISS EM 9 gemacht. Die Primär-Vergrößerung variierte zwischen 1750 $\times$ und 40 000 $\times$.

2. Fliegenzucht

Die für die vorliegende Arbeit verwendete Fliegenart war die in Tororo und Ifakara vorwiegend vertretene *Chrysomya chloropyga*. Es wurden auch einzelne Exemplare der sehr großen Art *Chrysomya marginalis* untersucht, die sich gleich verhielten wie *C. chloropyga*. Die Fliegen, welche von der nahen Abfallstelle eines Schlachthofes stammten, wurden in den frühen Nachmittagsstunden an den Fenstern der E.A.T.R.O. (East African Trypanosomiasis Research Organization), in Tororo, Uganda, gefangen; in Ifakara wurden sie mit Hilfe eines toten Fisches angelockt. Für das Halten der Fliegen wurden speziell hergestellte Käfige aus Karton mit Gazefenstern von 15 $\times$ 20 $\times$ 25 cm verwendet, für Experimente meist kleinere Käfige. Die Fliegen wurden täglich mit frischem Wasser sowie mit einer Futtermischung aus Zucker-Milchpulver-Trockeneigeln 1:1:1 (oder Honig-Milchpulver-Pferdeserum 1:1:1) versorgt. Tote Fliegen wurden regelmäßig entfernt und die Käfige nach 7–10 Tagen gewechselt. Zum Ablegen der Eier wurde den Fliegen eine tote, aufgeschnittene Maus in den Käfig gelegt. Die ausgeschlüpften Larven wurden in feuchte Sägespäne mit gehacktem Fleisch oder Leber gebracht. Die Entwicklung von der Eiablage bis zum Schlüpfen dauerte bei ca. 25° C 10–12 Tage, konnte aber durch kühles Lagern der Puppen erheblich verlängert werden.

3. Kultur

Isolierte Stämme von *H. muscarum* und *C. luciliae* wurden in einem flüssigen Medium von folgender Zusammensetzung gezüchtet:

10,0 g	Protease Pepton	
5,0 g	Neopepton	
1,5 g	Yeast Extract	
1,5 g	Liver Infusion	
8,0 g	Glukose	
3,0 mg	Folsäure	
4,1 g	KH ₂ PO ₄	} Puffer
8,0 g	Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	
8,0 mg	Haemin	} zusammen lösen
0,7 ml	Triaethanolamin	
1,9 ml	H ₂ O dest.	
750 ml	H ₂ O dest.	

Den pH vor der Zugabe des Puffers mit 1N HCl auf 7,0 einstellen und bei 1 atü/cm² während 20 Minuten autoclavieren.

Pro cm³ Kulturmedium wurden 1000 Einheiten Penicillin G zugegeben. Die Kulturen wurden in «universal bottles» mit 2–15 ml Kulturmedium bei 25° C gehalten und Subpassagen nach 3–5 Tagen gemacht.