

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 5 (1983) 13—16

Robert Koch-Institut, Berlin

Xenodiagnose "in vitro" — Möglichkeit der Chagas-Diagnose

Christiane Merks und Hans Werner

Einleitung

Der zunehmende Trend gerade junger Menschen, in den Ländern Südamerikas unter einfachen Bedingungen zu reisen, um Land und Leute kennenzulernen, beinhaltet u. a. die Gefahr, sich die Chagas-Krankheit zuzuziehen. Besteht klinisch und anamnestisch der Verdacht einer Infektion mit *Tryp.cruzi*, so sollte die Diagnose durch serologische und möglichst auch parasitologische Untersuchungen gesichert werden. Dabei sind der indirekte Immunfluoreszenztest und der indirekte Hämagglutinationstest zwar spezifische und sensible serologische Methoden, sie haben aber den Nachteil, erst nach 20 bis 50 bzw. 60 bis 200 Tagen p.i. positiv auszufallen. Zur Absicherung der Diagnose "Chagas" wird daher auch der direkte Parasitennachweis mittels Frischblut-Untersuchung und der indirekte durch die Xenodiagnose angewandt, wobei der Schwerpunkt auf der Xenodiagnose liegt, da bei der Spärlichkeit der Trypanosomen im peripheren Blut die mikroskopische Durchmusterung von Blutproben oder gefärbten Blutaussstrichen besonders im frühchronischen Stadium in der Regel erfolglos bleiben.

Für die Anreicherung der Trypanosomen im Überträger benutzten wir bisher das 4. und 5. Nymphenstadium von infektionsfrei gezüchteten **Triatoma infestans** bzw. neuerdings auch **Dipetalogaster maximus**. Mindestens 10 Nymphen wurden in mit Gaze gespannten Holzkästchen dem Patienten zum Saugen angesetzt; **Abb. 1**. Diese "in-vivo" Methode der Xenodiagnose hat jedoch den Nachteil, daß die Stiche der Raubwanzen bzw. das Wissen, von diesen Tieren gestochen zu werden, bei einer Reihe von Patienten zu allergischen und psychischen Reaktionen führt, die eine Xenodiagnose unmöglich machen (LUMBRERAS et al. 1959, COSTA et al. 1981).

Methode

Seit kurzem führen wir die Xenodiagnose "in-vitro" durch. Hierzu werden dem Patienten 8 ml Blut aus der Armvene entnommen und mit Na-Citricum im Verhältnis 4 : 1 gut durchmischt (SULLIVAN 1944). Das auf diese Weise ungerinnbar gemachte Blut wird in einer flachen Glasschale auf konstant 38°C gehalten. Die Abdeckung des Blutes erfolgt durch eine Plastikfolie, die unter dem Handelsnamen "Frapan" bekannt ist (Hersteller: Kraft GmbH., 8998 Lindenberg/Allgäu) und üblicherweise im Haushalt zum Abdecken von Speisen verwendet wird. Diese Folie hat den Vorteil, daß sie sich aufgrund ihrer flexiblen Beschaffenheit sehr leicht der Form der Glasschale anpaßt und mit dem fallenden Flüssigkeitsspiegel nach unten sinkt, wodurch die Bildung von Luftblasen verhindert wird. Auf diese Folie wird dann das mit Gaze verschlossene Fütterungsgefäß, in dem sich 20 bis 30 Nymphen der Stadien 3, 4 und 5 befinden, gesetzt. Die

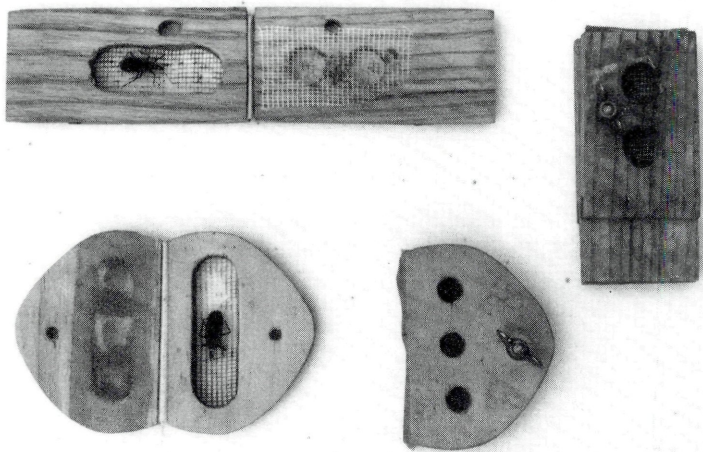


Abb. 1 Holzkästchen für die Xenodiagnose. (Diese wurden bereits vor etwa 80 Jahren von Robert Koch zur Fütterung von Fleckfieber-Läusen benutzt).

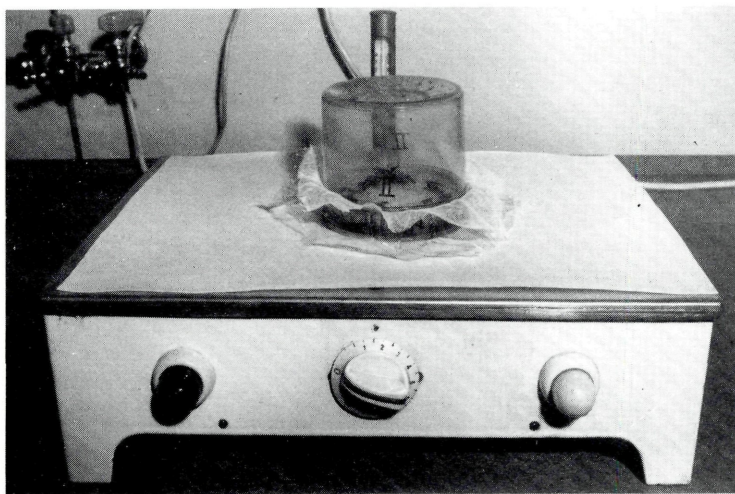


Abb. 2 Xenodiagnose "in-vitro": Fütterung von Reduviiden auf einer Wärmebank

thermotaktisch positiven Wanzen (HERTER 1942, WIESINGER 1956) durchstechen die Folie und saugen sich, auch bei vollem Tageslicht, innerhalb von 15 bis 20 Minuten voll.

Abb. 2.

Zur Prüfung der Brauchbarkeit der künstlichen Xenodiagnose wurden Blutproben von gesunden Spendern mit trypomastigoten Formen von *T. cruzi* Stamm B versetzt. Die Trypanosomenkonzentrationen des Blutes für die Fütterung der Wanzen wurden dabei immer so angesetzt, daß das Nymphenstadium 3, 4 oder 5 bei voller Blutmahlzeit im Mittel je 1 Trypanosom pro Wanze aufnahm. 21 Tage nach der Fütterung wurde der Wanzenkot auf das Vorhandensein von Trypanosomen untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Nach der beschriebenen Fütterung von *Triatoma infestans* mit *T. cruzi* Stamm B-haltigem Blut (i.M. 1 Trypanosom/Wanze) zeigten sich 3 Wochen p.i. folgende Infektionsraten:

| Stadium | Tiere insgesamt | Infektionsrate (%) | |
|---------|-----------------|--------------------|----|
| | | ausgewertet | |
| 3 | 70 | 35 | 57 |
| 4 | 49 | 38 | 39 |
| 5 | 53 | 37 | 76 |

Tab. 1: Infektionsrate in Prozent 21 Tage nach Infektion mit i.M. 1 Trypanosom/Wanze

Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß sich die Trypanosomen in der Blutflüssigkeit offenbar frei bewegen und sich nicht an der Membran oder am Gefäßboden absetzen, denn es wurden in parallelen Versuchsreihen auch die Entwicklungsstadien 1 und 2, die aufgrund ihres sehr kurzen Stechrüssels den Gefäßboden nicht erreichen können, erfolgreich infiziert. Außerdem wurde gezeigt, daß die bisher verwendeten tierischen (PIPKIN und CONNOR 1968, LAUER und SONENSHINE 1978) oder künstlichen Membranen (HARINGTON 1960, PIPKIN und CONNOR 1968, McGUIRE und HABOWSKY 1973, LANGLEY und PIMLEY 1978, KLUNKER und KIESOW 1981) durch eine besser zu handhabende und wesentlich billigere zu ersetzen sind. Ferner macht diese Versuchsanordnung deutlich, daß das Durchrühren des Blutes mit Magnetrührern (McGUIRE und HABOWSKY 1973) nicht erforderlich ist.

Weitere Versuche mit anderen Trypanosomen-Stämmen und Reduviidenarten sind geplant, um die Brauchbarkeit dieser Art des Nachweises erneut zu bestätigen. Diese Methode eignet sich sicher nicht im Feldversuch, sondern ist mehr für hiesige Gegebenheiten gedacht. Sie bietet darüberhinaus aber die Möglichkeit, von verdächtigen Chagas-Patienten ungerinnbar gemachtes Blut zur Xenodiagnose in-vitro in ein Labor zu schicken.

Unsere künstliche Xenodiagnose hat den Vorteil, daß weit mehr Wanzen als bei der herkömmlichen Methode verwendet werden können und damit die Wahrscheinlichkeit erheblich größer wird, daß wenigstens eine Wanze in der späteren Untersuchung positiv ausfällt. Außerdem wird der psychische Faktor beim Patienten und die Gefahr einer allergischen Reaktion oder einer späteren Entzündung an der Einstichstelle ausgeschlossen.

Darüberhinaus bietet diese Methode die Möglichkeit, Reduviiden in großem Umfang unter Laborbedingungen zu züchten. Wir füttern seit einem Jahr alle Stadien in-vitro

und erzielen bei der Verwendung von Rinderblut gute Zuchtergebnisse, sodaß wir auf herkömmliche Wirtstiere bei der Fütterung verzichten können.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die zur Diagnose der Chagaskrankheit übliche Xenodiagnose nun auch "in-vitro" durchgeführt werden kann. Hierzu wird durch Na-Citricum-Zusatz ungerinnbar gemachtes Patientenblut in einer flachen Glasschale auf eine 38°C-Wärmebank gestellt und mit dünner Plastikfolie abgedeckt. Auf diese Fütterungsvorrichtung werden die Reduviiden, die sich in einem mit Gaze verschlossenen Gefäß befinden, gesetzt. Die thermotaktisch positiven Raubwanzen saugen sich innerhalb von 20 Minuten mit dem trypanosomenverdächtigen Blut voll. 21 Tage nach der Fütterung wird der Wanzenkot auf Trypanosomen untersucht.

Summary

The report concerns that xenodiagnosis, a common method to reveal Chagas disease, can also be applied in-vitro. Citrated blood from the patient is filled in a Petri-dish, warmed up to 38°C and covered with a plastic foil. A jar containing the reduviids is placed with its gauze covered side to the feeding apparatus. Attracted by the warmth, the reduviids take a full blood meal within 20 minutes and can be examined for trypanosomes 21 days later.

Literatur

- COSTA, C.H.N., M.T. COSTA, J.N. WEBER, G.F. GILKS, C. CASTRO, P.D. MARSDEN (1981): Skin reactions to bug bites as a result of xenodiagnosis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75, Nr. 3, 405—408.
- HARINGTON, J.S. (1960): A simple apparatus for the artificial feeding of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). *Parasitol.* 50, 273—277.
- HERTER, K. (1942): Untersuchungen über den Temperatursinn von Warmblüterparasiten. *Zschr. Parasitenk.* 5, 552—591.
- KLUNKER, R., I. KIESOW (1981): Zur Entwicklung der afrikanischen Lederzecke *Ornithodoros moubata* bei in-vitro-Zucht. *Angew. Parasitol.* 22, 131—143.
- LANGLEY, P.A., R.W. PIMLEY (1978): Rearing triatomine bugs in the absence of a live host and some effects of diet on reproduction in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). *Bull. ent. Res.* 68, 243—250.
- LAUER, D.M., D.E. SONENSHINE (1978): Adaptions of membrane feeding techniques for feeding the squirrel flea, *Orchopeas Howarde*, and the squirrel louse, *Neohaematopinus Sciuropteris*, with notes on the feeding of the human body louse, *Pediculus Humanus* var. *corporis*. *J. Med. Entomol.* 14, Nr. 5, 595—596.
- LUMBRERAS, H., W. FLORES, A. ESCALLÓN (1959): Allergische Reaktionen auf Stiche von Reduviiden und ihre Bedeutung bei der Chagaskrankheit. *Trop. Med. Parasit.* 10, 6—19.
- McGUIRE, E.J., J.E.J. HABOWSKY (1973): An experimental approach to the study of drugs in invertebrate systems. I. Mass feeding of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera, Reduviidae). *Can. J. Zool.* 51, Nr. 3, 315—318.
- PIPKIN, A.C., T.J. CONNOR (1968): A temperature-controlled feeding apparatus for haematophagous arthropods. *J. Med. Entomol.* 5, Nr. 4, 507—509.
- SULLIVAN, T.D. (1944): Viability of *Tryp. cruzi* in citrated blood stored at room temperature. *J. Parasitol.* 30, 200.
- WIESINGER, D. (1956): Die Bedeutung der Umweltfaktoren für den Saugakt von *Triatoma infestans*. *Acta tropica* 13, Nr. 2, 97—141.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. H. Werner
Robert Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes
Nordufer 20, D-1000 Berlin 65

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: 1983

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Merks Christiane, Werner H.

Artikel/Article: [Xenodiagnose "in vitro" -Möglichkeit der Chagas-Diagnose. 13-16](#)