

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 5 (1983) 49—53

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. J. Boch)

Kryptosporidiose bei Mensch und Tier: Nachweis und Intestinalentwicklung des Parasiten

Edward Göbel

Die klinische Diagnose Kryptosporidiose bezeichnet die durch das Protozoon *Cryptosporidium* (Sporozoa: Apicomplexa) hervorgerufene Krankheit bei Mensch und Tier. Den Erreger beschrieb erstmals TYZZER (1910) als streng wirtsspezifisch für die Maus. Untersuchungen der letzten Jahre haben ergeben, daß eine Wirtsspezifität weder für die bei Tieren vorkommenden *Cryptosporidien* noch bei den für den Menschen pathogenen Stämmen existiert (BOCH et al., 1982; REESE et al., 1982). Vorkommen und gegenseitige Übertragbarkeit des Parasiten bei Mensch, Säugetieren, Vögeln, Schlangen und Fischen weisen ihn als Zoonoseerreger aus. Bisher beobachtete *Cryptosporidien*-infektionen beim Menschen (NIME et al., 1976; MEISEL et al., 1976; LASSER et al., 1979; BIRD und SMITH, 1980; ANDERSON et al., 1982) zeigen, daß vorzugsweise Säuglinge, aber auch Erwachsene mit Immunschwäche bzw. Immundefizienz erkranken. Therapien mit Corticosteroiden oder Cyclophosphamid provozieren eine *Cryptosporidien*-infektion. Das klinische Bild der Krankheit ist charakterisiert durch Leibschmerzen, Erbrechen und Durchfall, daneben treten hohes Fieber und Kopfschmerzen auf.

Beim Haustier sind in der Regel Jungtiere betroffen, bei denen klinisch schwere Diarrhoen im Vordergrund stehen. Wegen der Therapieresistenz der Erreger werden Todesfälle häufig beobachtet. Bei Vögeln können neben den Darmschleimhäuten auch die des Respirationstraktes als Vermehrungsort für den Parasiten gelten (HOERR et al., 1978; MASON und HARTLEY, 1980). Dies führt klinisch zu Pneumonieausbrüchen.

Intestinalentwicklung:

Die infektiösen Sporozysten werden vom Wirt peroral aufgenommen (Nahrung, Schmierinfektion, Staub). Die bananenförmigen Sporozoiten von 5,6 μm Länge werden im Magen oder Dünndarm freigesetzt und sind dort nachweisbar. Sie nehmen mit den Epithelzellen Kontakt auf, indem sie sich über eine Haftzone mit ihnen fest verbinden. Anheftung und Lage der Parasiten stellen unter den Kokzidien eine Besonderheit dar. Die Pellikula des *Cryptosporidiums* berührt zunächst die inneren Membranen der sie umgebenden Mikrovilli, die schließlich eine parasitophore Vakuole um ihn herum bilden. Der Parasit liegt, da die Mikrovilli ein Bestandteil der Epithelzelle sind, intrazellulär. Die Haftzone verhindert jedoch den Kontakt mit dem Zytoplasma der Epithelzelle, d. h. *Cryptosporidien* liegen in der Epithelzelle, aber extrazytoplasmatisch (Abb. 2). In diesem Fall bleibt die gesamte Mikrovillioberfläche zunächst intakt und geht erst durch die Zerstörung der Epithelzelle zugrunde. Eine weitere Möglichkeit der Anheftung stellt die sofortige Auflösung der Mikrovilli nach Kontakt mit dem Parasiten dar. Die Epithelzelle repariert den entstandenen Defekt durch die Bildung von Mikroplicae. Diese umschließen ihrerseits den Parasiten und bilden so die parasitophore Vakuole. Dies bewirkt eine sofortige Verminderung der resorptiven Oberfläche der Darmmucosa. In dieser Lage läuft die gesamte weitere Entwicklung der *Cryptosporidien* ab (Abb. 1). Das erste Vermehrungsstadium stellen die Schizogonien dar (Abb. 2). Die Sporozoiten kugeln sich ab und formen so die Schizonten, in denen durch Kernteilungen 8 Merozoiten gebildet werden. Eine oder mehrere Wiederholungen der Schizogonie sind möglich.

Die reifen Merozoiten befallen neue Epithelzellen. Dort bilden sie Mikro- und Makrogamonten (Abb. 1, I/J), die die geschlechtliche Vermehrung einleiten. Der runde Mikrogamont enthält nach Differenzierungsgrad mehr oder weniger randständig gelagerte Mikrogameten und einen Restkörper. Die 16 reifen Mikrogameten (Abb. 1, I) sind kurze plumpe Stäbchen; sie stellen sich im Lichtmikroskop als intensiv rot gefärbte Partikel dar und sind damit diagnostisch leicht mit Bakterien zu verwechseln. Die Mikrogameten von *Cryptosporidien* sind als einzige Kokzidienmikrogameten geißellos (GÖBEL und BRANDLER, 1982). Der Durchmesser der runden Makrogamonten beträgt $4,6 \mu\text{m}$. Ihr hellblau sich darstellendes Zytoplasma ist schaumig strukturiert, in Kernnähe findet sich ständig eine große Lipidvakuole. Bei der Befruchtung (Gametogamie) dringt der dem Makrogameten zunächst nur angelagerte Mikrogamet in diesen ein (Abb. 1, K). Nach Kernmaterialverschmelzung entsteht daraus die Zygote (Abb. 1, L). Sie ist ebenso wie die junge Oozyste von einer dünnen Hülle umgeben.

Weitere Hüllbildung und Zunahme der Reservestoffe charakterisieren die $6,2 \mu\text{m}$ große Oozyste (Abb. 1, M). Ihre dicke Hülle verhindert das Eindringen von Farbstoffen, so daß sich diese nur außen anlagern. Histologische Schnitte, Tupfpräparate der Darmschleimhaut und Untersuchungen des Darminhaltes beweisen, daß die Sporulation der Parasiten im Darm stattfindet. In der Oozyste bildet sich eine Sporozyste (Abb. 1, N) mit 4 Sporozoiten und einem Restkörper, der als typisches Merkmal einen Kristallkörper enthält. Eine dünne Sporozystenhülle mit mehreren Aufbruchstellen umschließt die Sporozyste. Sie ist deshalb leicht anfärbbar. Die mit den faeces ausgeschiedenen Sporozysten stellen die Infektionsquelle für andere Wirte dar. Werden die Sporozoiten bereits im Ileum des Wirtes frei, kann auf diesem Wege eine Reinfektion stattfinden.

Nachweisverfahren:

Für die Diagnose bieten sich grundsätzlich zwei Untersuchungsmaterialien an: die Dünndarmschleimhaut sowie die Faeces. Im folgenden soll auf die einzelnen Methoden kurz eingegangen werden.

I. Untersuchung von Darminhalt oder Fäzes.

1. **Ausstrichverfahren:** Dünnflüssiges Untersuchungsmaterial (bei fester Konsistenz ev. mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen) auf Objektträger austreichen, trocknen lassen und mit Methanol fixieren. Nach Giemsa 40 Min. lang färben (5 ml Giemsa-Stammlösung + 95 ml entsalztes Wasser), mit Leitungswasser abspülen, trocknen lassen und bei 40x oder 100x Ölimmersion mikroskopieren.

2. **Dicker Tropfen:** Einen Tropfen des wie oben beschriebenen Darminhaltes oder Fäzes (stecknadelkopfgroß) auf Objektträger geben und einen etwa gleich großen Tropfen Methylenblau in Borax (1 g Methylenblau in 100 ml Natriumtetraborat lösen) hinzufügen. Mit der Deckglaskante vermischen, nach ca. 30 sec. bei Ölimmersion mikroskopieren. Nicht eintrocknen lassen!

3. **Kombinationsmethode** (Färbung und Lichtbrechung): Wie vorher beschrieben werden Fäzes mit einer gleichgroßen Menge Karbolfuchsinlösung auf dem Objektträger vermischt, dünn ausgestrichen und sofort (!) nach der Trocknung mit Immersionsöl bedeckt und mit Immersionsobjektiven mikroskopiert. Nach HEINE (1982) werden die Oozysten/Sporozysten dabei durch Lichtbrechung besonders hervorgehoben.

Als Ergebnis von I werden die Oozysten aufgrund ihrer dicken Hülle nur durch Farbstoffanlagerung dargestellt, Sporozysten färben sich auch innen an. Dies ermöglicht eine Differenzierung beider Stadien.

Bei sehr geringem Befall ist eine **Anreicherung** ev. von Vorteil. Nach ANDERSON (1981) werden dazu 5 g Untersuchungsmaterial in 5—20 ml Wasser gelöst, filtriert, 10 Min. bei 500 g zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Das Sediment wird mit einer Zucker- oder Salzlösung (Spez. Gew. 1.27) und flüssigem Phenol versetzt und die Zentrifugation wiederholt. Die angereicherten Parasiten werden vom Meniskus mit einer Öse auf den Objektträger überführt und nach Giemsa gefärbt.

II. Histologische und ultrahistologische Untersuchung:

Voraussetzung für die Gewebeuntersuchungen ist möglichst frisches Material, da durch autolytische Vorgänge die sehr oberflächlich sitzenden Parasiten entweder selbst zerstört oder in das Darmlumen hinein freigesetzt werden und somit der Untersuchung entgehen. Die Histologie bietet den Vorteil, daß einzelne Entwicklungsstadien differenziert, sowie der Befallsgrad und die Beteiligung anderer enteropathogener Organismen elektronenmikroskopisch ermittelt werden können. Die Präparation erfolgt nach den bekannten histologischen und elektronenmikroskopischen Methoden.

III. Mucosatupfpräparation:

Mit einem Skalpell Schleimhaut leicht abstreifen oder (bei kleinen Versuchstieren) direkt den Darm auf Objektträger abtupfen. Abgeschabtes Material mit einer Pinzette auf Objektträger abtupfen, trocken lassen, mit Methanol fixieren, nach Giemsa färben und unter Ölimmersion mikroskopieren.

Diese Methode ist sehr schnell durchgeführt, alle Entwicklungsstadien werden dargestellt (vergl. dazu Abb. 1).

Zusammenfassung

Kryptosporidien sind einwirtige Zoonoseerreger mit sehr großem Wirtsspektrum. Ihre Intestinalentwicklung vollzieht sich in Enterozyten extrazytoplasmatisch. Nach Schizogonie und Gamogonie führt die Gametogamie zur Bildung von Oozysten, die zu je einer Sporozyste mit 4 Sporozoiten sporulieren. Sie stellen das Infektionsstadium für die perorale Übertragung dar.

Zum Nachweis der Parasiten eignen sich sowohl gefärbte als auch mit Farbstoff vermischte Fäzes. Dabei sind aber lediglich Oozysten und Sporozysten differenzierbar. Dagegen eignen sich Schleimhautupfpräparate, histologische und ultrahistologische Schnitte zur Darstellung aller Entwicklungsstadien. Die einzelnen Methoden werden beschrieben.

E. Göbel: Cryptosporidiosis of humans and animals: microscopical examinations and the intestinal life cycle of the parasite.

Summary:

Cryptosporidia are agents of zoonosis with a wide host spectrum. Their intestinal development takes place in the enterocytes in one host extracytoplasmatically. After schizogony and gamogony the gametogamy leads to the formation of oocysts, which sporulate to one sporocyst each with four sporozoites. The sporocysts are the infective stages.

Stained smears of feces as well as smears mixed with colouring material are suitable for the microscopical examinations of the parasites. Thereby only oocysts and sporo-

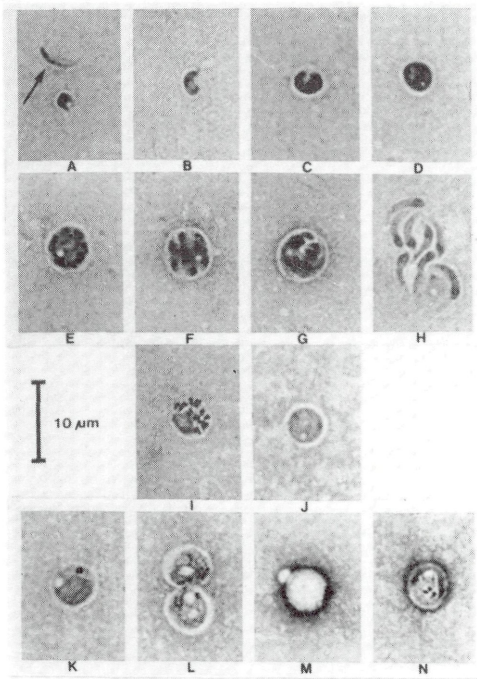


ABBILDUNG 1:

Intestinale Entwicklungsstadien von *Cryptosporidium* (Tupfpräparate nach Giemsa gefärbt).

A: Sporozoit; B—D: Abkuglung des Sporozoiten zum Schizonten; E—G: Kernteilungen und Differenzierung der Merozoiten; H: Reife Schizonten-Merozoiten; I: Mikrogamont mit Mikrogameten; J: Makrogamont; K: Gametogamie; L: Zygoten; M: Oozyste; N: Sporozyste mit Sporozoiten.

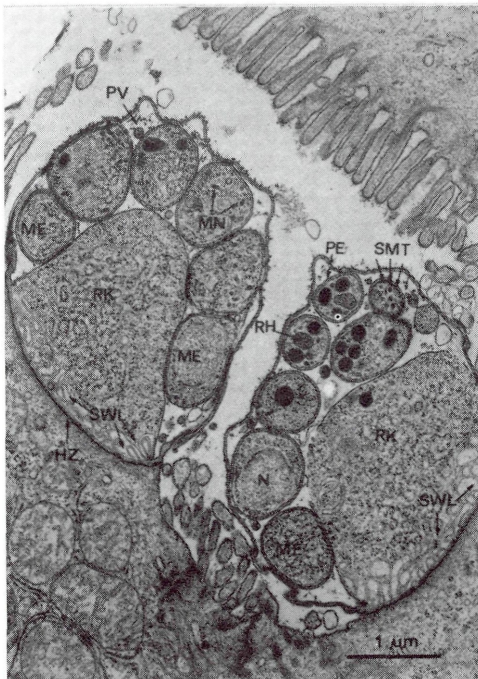


ABBILDUNG 2:

Schizonten von *Cryptosporidium*. Merozoiten (ME) in parasitophore Vakuole (PV) ausgeschleust; Restkörper (RK) und Stoffwechsellaemele (SWL) bleiben mit der Haftzone (HZ) verbunden. MN: Mikronemen; RH: Rhoptrien; N: Kern; PE: Pellikula; SMT: Subpellikuläre Mikrotubuli.

cysts can be differentiated. Push-preparations, histological- and ultrathin-sections of the intestinal mucosa are able to demonstrate all developmental stages of *Cryptosporidia*. The methods examinations are here described.

Danksagung: Für technische Assistenz danke ich Frau Hanna Meyer.

Literatur

- ANDERSON, B.C. (1981): Patterns of shedding of *Cryptosporidial* oocysts in Idaho calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 178, 982—984.
- ANDERSON, B.C., TH. DONNELLINGER, R. WILKINS, J. SMITH (1982): *Cryptosporidiosis* in a veterinary student. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 180, 408—409.
- BIRD, R.G., M.D. SMITH (1980): *Cryptosporidiosis* in man: Parasite life cycle and fine structural pathology. *J. Path.* 132, 217—233.
- BOCH, J., E. GÖBEL, J. HEINE, U. BRÄNDLER, L. SCHLOEMER (1982): Kryptosporidien-Infektion bei Haustieren. *Berl. Münchn. Tierärztl. Wschr.* 95, 361—367.
- GÖBEL, E., U. BRÄNDLER (1982): Ultrastructure of microgametogenesis, microgametes and gametogamy of *Cryptosporidium* sp. in the small intestine of mice. *Protistologica* 18, 331—344.
- HEINE, J. (1982): Eine einfache Nachweismethode für Kryptosporidien im Kot. *Zbl. Vet. Med. B* 29, 324—327.
- HOERR, F.J., F.M. RANCK, T.F. HASTINGS (1978): Respiratory *Cryptosporidiosis* in turkeys. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 173, 1591—1593.
- LASSER, K.H., K.J. LEWIN, F.W. RYNING (1979): *Cryptosporidial* enteritis in a patient with congenital hypogammaglobulinaemia. *Human Path.* 10, 234—240.
- MASON, R.W., W.J. HARTLEY (1980): Respiratory *Cryptosporidiosis* in a Peacock Chick. *Avian Dis.* 24, 771—776.
- MEISEL, J.L., D.R. PERERA, C. MELIGRO, C.E. RUBIN (1976): Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology* 70, 1156—1160.
- NIME, F.A., J.D. BUREK, D.L. PAGE, M.A. HOLSCHEER, J.H. YARDLEY (1976): Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology* 70, 592—598.
- REESE, N.C., W.L. CURRENT, J.V. ERNST, W.S. BAILEY (1982): *Cryptosporidiosis* of man and calf: A case report and results of experimental infections in mice and rats. *Am.J. Trop. Med. Hyg.* 31, 226—229.
- TYZZER, E.E. (1910): An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res.* 23, 487—509.

ANSCHRIFT DES AUTORS:

Dr. Edward Göbel

Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
der 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: 1983

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Göbel Edward

Artikel/Article: [Kryptosporidiose bei Mensch und Tier: Nachweis und Intestinalentwicklung des Parasiten. 49-53](#)