

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 9 (1987) 37 - 44

Abteilung für Med. Parasitologie (1) und Abteilung für Bakteriologie (2)
des Hygiene-Instituts der Universität Wien (Vorstand: Univ. Prof. Dr. H. Flamm)
Institut für Geschichte der Medizin (Vorstand: Univ. Prof. Dr. H. Wyklicky) (3)
Bundesstaatliche bakteriologisch-serologische Untersuchungsanstalt, Wien (4)
Hôpital Rural de Doruma, Dzungu, Zaire (5)

Parasitologische und serologische Untersuchungen über das Vorkommen von *Trypanosoma*-Infektionen bei den Azande in Nordost-Zaire*

**K. Hermentin¹, H. Auer¹, Kebela-Ilunga⁵, O. Picher¹, A. Prinz³,
G. Stanek², G. Wewalka⁴, H. Aspöck¹**

Einleitung

Im Rahmen der bei den Azande in Nordost-Zaire durchgeführten epidemiologischen Studie wurden für parasitologische Untersuchungen Serumproben gesammelt sowie Blutausstriche und Dicke Tropfen angefertigt. Das mitgebrachte Material sollte vor allem einer serologischen Screening-Studie über das Vorkommen von Parasiten bei den Azande dienen und jene parasitologischen Untersuchungen ergänzen, die PRINZ et al. (11) bereits bei einer der früheren Reisen zu den Azande durchgeführt hatten. Ein Teilbericht der Untersuchungsergebnisse, nämlich jener über das Vorkommen von *Trypanosoma-brucei-gambiense*-Infektionen bei den Azande, sei hier vorgestellt.

Die Schlafkrankheit stellt für den Menschen in Zentralafrika die gefährlichste Parasitose dar. Dachte man noch vor einigen Jahren, daß diese Infektion in weiten Gebieten eingedämmt worden wäre, so hat sich die Situation in den letzten Jahren in vielen Regionen wieder verschlechtert. Die Bekämpfung ist schwieriger geworden, die Erkrankung ist weiter verbreitet, und Herde, in welchen seit 30 Jahren keine Schlafkrankheit mehr aufgetreten ist, sind wieder aufgeflackert.

Im Gebiet der Azande in Nordost-Zaire ist die Schlafkrankheit in einigen Landstrichen endemisch und stellt ein großes gesundheitliches Problem dar. Durch verbesserte und intensiviertere Untersuchungen und Bevölkerungskontrollen bis hin zu den entlegensten Dörfern der Region Doruma konnte in den letzten Jahren die Rate der aufgedeckten Schlafkrankheitsfälle stark verbessert werden: Waren in den Jahren 1979 - 1981 lediglich 138 Fälle von Schlafkrankheit bei über 36.000 Untersuchten registriert, so kamen im Jahr 1982 alleine 183 neue Fälle bei 28.340 Untersuchten (=0,6%) hinzu (3, 12). Diese Untersuchungen erstreckten sich jedoch lediglich auf die Kontrolle der Lymphknotenschwellungen im Halsbereich. Zieht man nun in Betracht, daß nur bei etwa 50% der Trypanosomiasis-Fälle eine Lymphadenopathie auftritt (13) und daß andererseits etwa 70 - 80% der Lymphadenopathien eine andere Ätiologie aufweisen als eine Trypanosomen-Infektion (13), so ist leicht zu ersehen,

*) Gefördert durch den Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (P 6060).

daß die Palpation und Punktion der Lymphknoten zur Kontrolle der Schlafkrankheit nicht ausreicht und ein recht unökonomisches Mittel darstellt. Zudem gelang es in mehreren Fällen trotz genauer Untersuchung von Lymphknotenpunktaten nicht, den Erreger nachzuweisen, sodaß — wäre diese Methode alleine ohne Serologie und nachfolgende Erregeranreicherungen aus dem Blut angewandt worden — die Erkrankung unerkannt geblieben wäre (14).

Im Gebiet der Azande ist bisher noch nie eine serologische Studie über die Häufigkeit der Trypanosomiasis durchgeführt worden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, erstmals mittels serologischer Methoden die Durchseuchungsrate zu ermitteln, sowie die im Handel befindlichen, einfach durchzuführenden serologischen Tests (Indirekter Hämagglutinationstest [IHA] und Direkter Agglutinationstest [DA]) auf ihre praktische Anwendbarkeit zu überprüfen.

Material und Methode

Probanden:

Untersucht wurden 430 Azande, die sich in Doruma und den "Dispensaires ruraux" Gurba, Gangala, Naparka, Kpanagbala und Diagbe freiwillig für Untersuchungen zur Verfügung gestellt hatten, sowie 95 Probanden verschiedener Stammeszugehörigkeit aus der Stadt Isiro, die sich zur Blutabnahme bereit erklärt hatten.

Direkter Erregernachweis:

Zur Herstellung von Blutausstrichen und Dicken Tropfen wurde Blut aus der Fingerbeere von 430 Azande entnommen. Die Blutausstriche und Dicken Tropfen wurden nach Giemsa gefärbt und bei 1000facher Vergrößerung mikroskopisch untersucht.

Indirekter Erregernachweis:

Zugeordnet zu den Blutausstrichen und Dicken Tropfen wurde für serologische Tests Blut aus der Armvene von 424 Azande aus den obengenannten Regionen entnommen; hinzu kamen 95 Proben verschiedener Stammesangehöriger aus der Stadt Isiro. Die Blutproben wurden an Ort und Stelle verarbeitet und anschließend bis zur weiteren Verwendung bei -20°C tiefgefroren.

Indirekter Hämagglutinationstest:

Testreagentien: Cellognost® — Trypanosomiasis (Behring, Marburg, BRD), Kontrollreagens und Absorptionszellen (Behring). Testdurchführung: nach den Angaben des Herstellers.

Direkter Agglutinationstest:

Testreagentien: Testryp® CATT Smith Kline-RIT, Rixensart, Belgien). Testdurchführung: nach den Angaben des Herstellers.

Ergebnisse und Diskussion

Die Anwendung des direkten Erregernachweises erbrachte weder mittels Dicken Tropfen noch mittels Blutausstriches den Nachweis von Trypanosomen. Dies war zu erwarten, da gerade bei Infektionen mit *Trypanosoma brucei gambiense* der Erreger oft nur schwer aus dem Blut oder aus Lymphknotenpunktaten zu isolieren ist (7) und es besonderer Anreicherungsverfahren wie "buffy coat" (1, 8, 15), Zentrifugation mit Silikonflüssigkeit (10) oder einer Ionenaustauschchromatographie (4) zum Nachweis der Parasiten bedarf.

Der indirekte Erregernachweis (IHA und DA) wurde in zwei Schritten durchgeführt. Im ersten Schritt wurde jeweils ein Screening-Test nach den Angaben der Hersteller durchgeführt, um die Anzahl der fraglichen Seren einzugrenzen. Im zweiten Schritt wurden dann die Seren quantitativ getestet. Der IHA-Screening-Test erwies sich in der vom Hersteller angegebenen Verdünnungskonzentration (konzentriertes Serum, 1 : 3 gegenüber quantitativem Test verdünnte Erythrozytenkonzentration) als wenig brauchbar, da zuviele Seren positiv bzw. fraglich positiv blieben und somit kaum eine Eingrenzung möglich war (Tab. 1). Außerdem war der Test schlecht ablesbar. Beim quantitativen Test wurde jeweils eine Kontrolle mit nicht-sensibilisierten Erythrozyten mitgeführt. Drei Seren reagierten positiv, sodaß vor der nochmaligen Austestung eine Absorption durchgeführt werden mußte. Insgesamt acht Seren erwiesen sich im IHA schließlich als positiv (Tab. 1).

TABELLE 1
Anzahl der positiven und fraglich positiven Seren im Indirekten Hämagglutinationstest (IHA) und Direkten Agglutinationstest (DA). n = 519

IHA-Screening-Test:	positiv: 36 ± positiv: 50 <hr/> 86	
IHA-Quantitativer Test:	positiv: 11 — 3 <hr/> 8	(Titer \geq 1 : 40) (Kontrolle pos., neg. nach Absorption)
DA-Screening-Test:	positiv: 14 ± positiv: 3 <hr/> 17	
DA-Quantitativer Test:	positiv: 16	

Der Direkte Agglutinationstest, CATT (6), ist erst seit Anfang der 80er Jahre im Handel, sodaß noch relativ wenige Erfahrungen vorliegen. Die Sensitivität und Spezifität wird als sehr gut beschrieben (5). In etwa 5% der untersuchten Seren (13, 16) können unspezifische Reaktionen auftreten, zum Beispiel dann, wenn im Patientenserum Antikörper gegen tierische Trypanosomen vorliegen (2, 9). Dies kann durchaus der Fall sein, da mehrere tierische *Trypanosoma*-Spezies bei einer Übertragung durch Insekten auf den Menschen zwar in diesem nicht vermehrungsfähig sind, jedoch einen Antigenreiz setzen, sodaß es zur Antikörperbildung kommen kann. Bei einer Vergleichsstudie zwischen Hämatokrit-Zentrifugationstechnik, Ionenaustauschchromatographie, Indirektem Immunfluoreszenztest und CATT-Test wurde letzterer gegenüber den anderen Methoden als gleichwertig befunden (16). In unseren Untersuchungen erwies sich der DA-Screening-Test wie auch der quantitative DA-Test als gut ablesbar, einfach und in sehr kurzer Zeit (5 min.) durchführbar. Von den 17 im Screening positiven Seren konnten im quantitativen Test 16 bestätigt werden (Tab. 1). Allerdings werden im quantitativen Test kaum höhere Titerstufen erreicht als im Screening-Test.

In jedem Fall eines serologisch positiven Ergebnisses ist natürlich der Beweis der *Trypanosoma*-Infektion erst durch den direkten Erregernachweis (meist nur durch Anreicherungsverfahren) zu erbringen. Im Falle der vorliegenden Studie werden daher aufgrund der erhobenen Befunde die in Frage kommenden Azande zur Durchführung des direkten Erregernachweises in das Gebietskrankenhaus Doruma bzw. in die "Dispensaires" einberufen werden.

Betrachtet man die serologisch positiven Fälle genauer (Tab. 1 und 2), so ist zu erkennen, daß zwischen den beiden Tests fast keine Übereinstimmung besteht. Insgesamt 21 Seren erwiesen sich als positiv. Nur drei Seren waren sowohl im IHA als auch im DA positiv, 13 Seren waren im DA, nicht aber im IHA, fünf Seren im IHA, nicht aber im DA positiv. Obwohl kaum eine Übereinstimmung zwischen den Tests vorliegt, kann dennoch keine Aussage über Spezifität oder Unspezifität einer der beiden Tests getroffen werden. Einerseits werden in den Tests unterschiedliche Antigene — hochimmunogene, variable Oberflächenantigene bestimmter *Trypanosoma*-Stämme im DA, eine Mischung verschieden stabiler und verschieden immunogener Antigene im IHA — verwendet, andererseits stehen uns zuwenig gesicherte Fälle von Schlafkrankheit zur Verfügung. Unter den 519 Seren stammten lediglich fünf von Patienten, die in der Vergangenheit eine Infektion mit *Trypanosoma brucei gambiense* durchgemacht hatten und behandelt worden waren (Tab. 3). Von diesen reagierte ein Serum sowohl im IHA als auch im DA negativ; zwei Seren reagierten im IHA positiv, im DA negativ, zwei im DA positiv, hingegen im IHA negativ. Auch hier ist ein direkter Vergleich nicht zulässig, da bekannt ist, daß der DA nach behandelter Trypanosomiasis schneller wieder negativ wird als der IHA (14). Aus Tabelle 3 ist weiters ersichtlich, daß nur bei einem geringen Prozentsatz der serologisch positiven Azande zum Zeitpunkt der Blutabnahme eine Lymphknotenschwellung auftrat.

TABELLE 2
Verteilung der im IHA und/oder DA positiven und negativen Seren. n = 519
DA = Direkter Agglutinationstest · IHA = Indirekter Hämagglutinationstest

		IHA	
		+	—
DA	+	3	13
	—	5	498

Betrachtet man die geographische Verteilung der serologisch positiven Fälle (Tab. 4), so zeigt sich, daß alle Fälle im bekannten Endemiegebiet liegen. Kein Fall war beispielsweise im Gebiet um Kpanagbala, das nicht zum Endemiegebiet zählt, nachzuweisen. Die mittels serologischer Methoden (IHA und DA) ermittelte Durchseuchungsrate im Gebiet der Azande beträgt 4,0% (1,5% im IHA; 3,0% im DA). Sie ist somit deutlich höher als die durch Palpation und Punktion der Lymphknoten im selben Untersuchungsgebiet ermittelten Rate von 0,6%, sie liegt aber im Bereich jener Prävalenzzahlen, die in anderen Ländern (z. B. in verschiedenen Gebieten des Sudans: 6,9%, 2,2%, 1,5%, 4,5%) mittels Serologie **und** Direkten Erregernachweises ermittelt wurden (14).

TABELLE 3:
Übersicht der seropositiven Probanden (mit oder ohne Lymphknotenschwellung) und der Patienten mit angeblicher Schlafkrankheitsanamnese

(IHA = Indirekter Hämagglutinationstest · DA = Direkter Agglutinationstest · n. Abs. = nach Absorption)

Probanden	Serologische Ergebnisse		Schwellung der Lymphknoten	angeblich nachgewiesene und behandelte Trypanosomiasis
	Titer IHA	Titer DA		
1	1 : 64	neg.		
2	neg.	1 : 1		
3	1 : 128	neg.		
4	neg.	1 : 5		
5	≥ 1 : 256	1 : 5		
6	≥ 1 : 256	1 : 5	+	
7	neg.	1 : 1	+	
8	neg.	1 : 1		
9	neg.	1 : 1	+	
10	1 : 64	neg.		+
11	neg.	1 : 5		+
12	neg.	1 : 5		+
13	≥ 1 : 256	neg.		
14	neg.	1 : 5		
15	neg.	1 : 5		
16	neg.	neg.		+
17	1 : 128	1 : 5		
18	neg. (n. Abs.)	1 : 5		
19	neg.	1 : 10		
20	neg.	1 : 5	+	
21	neg.	1 : 1	+	
22	1 : 128	neg.		+
ges. pos.:	8	16	5	5

Der deutliche Unterschied in den Prävalenzzahlen sowie die bereits eingangs erwähnte schlechte Aufklärungsrate der Schlafkrankheit bei alleiniger Kontrolle der Lymphknoten zeigen, daß der Serologie bei der Überwachung der Trypanosomiasis in nächster Zeit sicherlich breiterer Raum zuzumessen ist, zumal mit dem DA nun ein auch im Feld sehr einfach in kurzer Zeit durchzuführender Test zur Verfügung steht.

TABELLE 4
Anzahl der seropositiven Probanden in den verschiedenen Regionen der Azande
und in der Stadt Isiro.

Gebiet	Probanden	serolog. positiv	davon	
			im IHA	im DA
DORUMA	140	8 (5,7%)	3	6
GURBA	25	4 (16%)	3	3
GANGALA	64	2 (3,1%)	0	2
NAPARKA	119	4 (3,3%)	0	4
KPANAGBALA	63	0	0	0
DIAGBE u. a.	13	0	0	0
ISIRO	95	3 (3,1%)	2	1
gesamt	519	21 (4%)	8 (1,5%)	16 (3,0%)

Zusammenfassung

Im Rahmen einer infektiologischen Screening-Studie bei den Azande in Nordost-Zaire wurden je 430 Blutausstriche und Dicke Tropfen angefertigt sowie 519 Seren gewonnen. Das Material wurde mittels verschiedener Methoden zum direkten bzw. indirekten Erregernachweis (Indirekter Hämagglutinationstest [IHA], Direkter Agglutinationstest [DA]) auf das Vorkommen von *Trypanosoma-brucei-gambiense*-Infektionen untersucht. Im direkten Erregernachweis gelang in keinem Fall der Nachweis einer *Trypanosoma*-Infektion. Serologisch reagierten 21 Probanden positiv, wobei keine Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen im IHA und DA erzielt werden konnte. Die durch IHA und DA ermittelte Durchseuchungsrate von 4,0% (1,5% im IHA; 3,0% im DA) liegt deutlich höher als jene, im selben Untersuchungsgebiet nur durch Palpation und Punktion der Lymphknoten ermittelten Rate von 0,6%, fügt sich jedoch in den Rahmen der in Nachbarländern ermittelten Prävalenzraten.

Schlüsselwörter

Trypanosomiasis, Azande, Serologie, Indirekter Hämagglutinationstest, Direkter Agglutinationstest, CATT.

Summary

Parasitic and serological investigations on the prevalence of *Trypanosoma* infections in the Azande region of northeast Zaire

In the course of a screening study on infectious diseases occurring among the Azande in northeast Zaire thin and thick blood films were prepared and 519 sera drawn. The material was tested in a direct and indirect test on the prevalence of *Trypanosoma brucei gambiense* infections. No *Trypanosoma* infections could be detected by direct identification. By the use of an indirect hemagglutination assay (IHA) and a direct agglutination (DA) test 21 sera reacted positive. No correlation could be found

between the two tests. The prevalence rate of 4.0%, determined by IHA and DA (IHA: 1.5%; DA: 3.0%), is obviously higher than that determined previously by palpation and puncture of lymphnodes only (0.6%), but is well within the scope of prevalences found in neighbouring countries.

Key words

Trypanosomiasis, Azande, serology, indirect hemagglutination assay, direct agglutination test, CATT.

Literatur

1. BENNET, G. F. (1962): The haematocrit centrifuge for the laboratory diagnosis of haematozoa. *Can. J. Zool.* 40, 124-125.
2. HÖRCHNER, F. (1986): Persönliche Mitteilung.
3. KEBELA-ILUNGA (1983): Plan des soins de santé primaires de la zone de santé rurale de Doruma 1983. Unveröffentlichtes Manuskript.
4. LAHNHAM, S. M., GODFREY, D. G. (1970): Isolation of salivarian trypanosomes from man and other animals using DEAE-cellulose. *Exp. Parasitol.* 28, 521-534.
5. LIVEYNS, R., CROOY, P. (1983): Historique du développement et caractéristiques d'un test de dépistage de la maladie du sommeil. Symposium sur le dépistage de la maladie du sommeil à T. gambiense, Anvers 16 - 17. 11. 1983, Comptes-rendus, Smith Kline-RIT, Rixensart, Belgien, 51-54.
6. MAGNUS, E., VERVOORT, T., VAN MEIRVENNE, N. (1978): A card-agglutination test with stained trypanosomes (C.A.T.T.) for the serological diagnosis of T. b. gambiense trypanosomiasis. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* 58, 169-176.
7. MULUMBA, P. M., WERY, M. (1983): Méthodes de détection des trypanosomes chez l'homme pour le diagnostic de certitude. Symposium sur le dépistage de la maladie du sommeil à T. gambiense, Anvers 16 - 17. 11. 1983, Comptes-rendus, Smith Kline-RIT, Rixensart, Belgien, 59-63.
8. MURRAY, M., MURRAY, P. K., MCINTYRE, W. I. M. (1977): An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 71, 325-326.
9. NOIREAU, F., GOUTEUX, J. P., TOUDIC, A., SAMBA, F., FREZIL, J. L. (1986): Importance épidémiologique du réservoir animal à *Trypanosoma brucei gambiense* au Congo. 1. Prévalence des trypanosomes animaux dans les foyers de maladie du sommeil. *Trop. Med. Parasitol.* 37, 393-398.
10. OGBUNUDE, P. O. J., MAGAJI, Y. (1982): A silicone centrifugation technique for the detection of low parasitaemias of salivarian trypanosomes. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76, 317-318.
11. PRINZ, A., HINRAINER-WILFING, C., RENOLDNER, K. (1979): Parasitologische Ergebnisse einer medizinisch-anthropologischen Untersuchung bei den Azande Nordost-Zaires. *Wien. Med. Wschr.* 23, 674-678.
12. RUPPOL, J. F., KAZYUMBA, G. L. (1983): La trypanosomiase au Zaïre: un problème préoccupant. Symposium sur le dépistage de la maladie du sommeil à T. gambiense, Anvers 16-17. 11. 1983, Comptes-rendus, Smith Kline-RIT, Rixensart, Belgien, 67-69.
13. STANGHELLINI, A. (1983): Contrôle et surveillance de la trypanosomose humaine africaine. Symposium sur le dépistage de la maladie du sommeil à T. gambiense, Anvers 16-17. 11. 1983, Comptes-rendus, Smith Kline-RIT, Rixensart, Belgien, 77-80.
14. VAN NIEUWENHOVE, S., DECLERCQ, J. (1983): Mass serodiagnosis and treatment of serological positives as a control strategy in trypanosomiasis gambiense. Symposium sur le dépistage de la maladie du sommeil à T. gambiense, Anvers 16-17. 11. 1983, Comptes-rendus, Smith Kline-RIT, Rixensart, Belgien, 71-75.
15. WOO, P. T. K. (1971): Evaluation of the haematocrit centrifuge and other techniques for the field diagnosis of human trypanosomiasis and filariasis. *Acta Trop.* 28, 298-303.
16. ZILLMANN, U., ALBIEZ, E. J. (1986): The Testryp® CATT (Card Agglutination Test for Trypanosomiasis): A field study on gambiense sleeping sickness in Liberia. *Trop. Med. Parasitol.* 37, 390-392.

KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. Kurt Hermentin
Abteilung für Med. Parasitologie
Hygiene-Institut der Universität Wien

Kinderspitalgasse 15
A-1095 Wien

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: 1987

Band/Volume: [9](#)

Autor(en)/Author(s): Hermentin Kurt, Auer Herbert, Kebela-Ilunga , Picher O., Prinz Armin, Stanek Gerold, Wewalka Günther, Wewalka Günther, Aspöck Horst

Artikel/Article: [Parasitologische und serologische Untersuchungen über das Vorkommen von Trypanosoma-Infektionen bei den Azande in Nordost-Zaire. 37-44](#)