

P 11.42

Vergleich verschiedener Nährmedien für die Züchtung von *Toxoplasma gondii* in der Gewebekultur

C. Harmer, A. Hassl, H. Aspöck.

Abteilung für Medizinische Parasitologie des Klinischen Instituts für Hygiene der Universität Wien

Seit mehreren Jahren züchten wir kontinuierlich verschiedene Stämme von *Toxoplasma gondii* in humanen Karzinomzellen. Als Standardnährmedium verwendeten wir ursprünglich das Minimum Essential Medium Eagle (modified, Flow Lab., Irvine, GB) mit 2% Zusatz von fötalem Kälberserum (FCS, Flow Lab.). Da jedoch die Beschaffung von FCS, daß frei von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* ist, gelegentlich ein gravierendes Problem darstellt, haben wir versucht, eine serumfreie Kultivierung von *Toxoplasma gondii* in vitro zu etablieren.

Unter Verwendung des PC-1 Mediums (Ventrex, Portland, USA) züchteten wir Toxoplasmen des RH-Stammes in sich rasch vermehrenden Zellen (Hep-2, humane Larynxkarzinomzellen). Die Zucht erfolgte in Kulturflaschen (25 cm², Costar, Cambridge, USA) bei 37° C in einer 5 % CO₂ Atmosphäre. Die Hep-2 Zellen werden mit Toxoplasmen im Verhältnis 1:4 infiziert und nach 48 Stunden konnten nahezu reine Parasiten geerntet werden. Die Toxoplasmenausbeute ist mit dem PC-1 Medium gleich hoch wie bei der Verwendung des Standardmediums.

Neben den beiden bereits erwähnten Medien wurden noch das CO₂-Independent Medium (Gibco, Gaithersburg, USA); Mischungen des PC-1 Mediums und des CO₂-Independent Mediums im Verhältnis 4:1, 1:1, 1:4; das CG-Medium (Sebak, Suben, A) und schließlich das SF-900 serumfree Medium (Gibco), verwendet.

Im CO₂-Independent Medium und in den Mischmedien erfolgte die Zucht des Parasiten, da es sich um CO₂ unabhängige Medien handelt, ohne CO₂ Begasung. Im CO₂-Independent Medium vermehrten sich weder Toxoplasmen noch Zellen, es ist daher für unsere Zwecke ungeeignet. Bei den Mischmedien konnten beim Mischungsverhältnis 4:1 95 % der Toxoplasmenvermehrung des Standardverfahren erreicht werden, beim Verhältnis 1:1 89 % und beim Verhältnis 1:4 39%. Versuche mit dem CG-Medium und dem SF-900 Medium sind derzeit noch im Gange; vorläufige Ergebnisse zeigen jedoch, daß bei Verwendung dieser Medien nur ca. 60 % der Ausbeute des Standardverfahrens erreicht werden können.

Obwohl die besten Ausbeuten von in vitro gezüchteten Toxoplasmen bei der Verwendung von reinem PC-1 Medium erzielt werden konnten, zeigte eine Kosten-Nutzen Analyse, daß der Einsatz von Mischmedien (1:1) von PC-1 Medium und CO₂-Independent Medium, finanziell rentabler ist.