

Medizinische Parasitologie

Lehrbehelf erstellt von

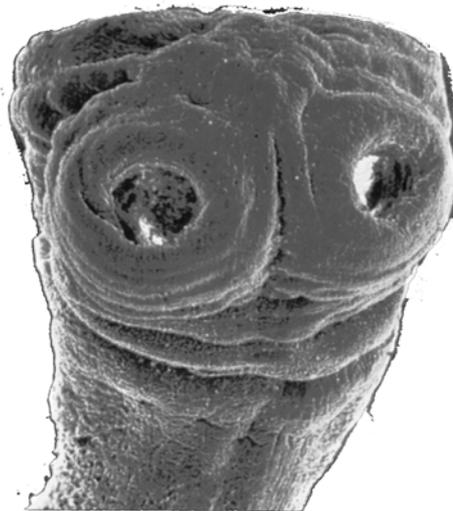
Andreas Hassl

nach der Vorlage des Skriptums

Medizinische Parasitologie

des Klinischen Instituts für Hygiene und Med. Mikrobiologie

der Universität Wien



Inhaltsverzeichnis:

Inhaltsverzeichnis:	2
Impressum:	2
Einführung und Überblick	3
Was sind Parasiten?	3
Begriffsdefinition:	4
System:	5
Protozoen – eine Müllhalde der Systematik	5
Helminthen – ein künstlicher Sammeltopf für endoparasitisch lebende Tiere	7
Arthropoden – Erreger und Überträger	7
Vielfalt der Parasiten – Vielfalt der Laboratoriumsdiagnostik	8
Laboratoriumsdiagnostik von Parasitosen:	9
Direkter Erregernachweis auf grund morphologischer Merkmale:	9
Indirekter Erregernachweis:	10
Nachweismethoden:	10
Praktikumsteil - Präparate	12
Nachweis und Bestimmung von Parasiten des Gastrointestinaltraktes	12
Zestoden (Bandwürmer):	12
Nematoden (Fadenwürmer):	13
Arthropoden:	13
Protozoen:	13
Trematoden (Saugwürmer):	14
Cestoden (Bandwürmer):	14
Nematoden (Fadenwürmer):	14
Parasitäre Infektionen des Blut- und Lymphgefäßsystems	15
Protozoen:	15
Trematoden:	16
Nematoden:	16
Nachweis und Bestimmung von Parasiten in anderen Organen	17
Protozoen:	17
Trematoden:	17
Nematoden:	18
Bestimmung wichtiger Arthropoden	18
Insekten:	18
Spinnentiere:	19
Literatur:	19

Impressum:

Dr. Andreas Hassl, ao Univ.-Prof.

Klinisches Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie

Kinderspitalgasse 15

A-1095 Wien

+43 664 2302413

andreas.hassl@univie.ac.at

www.hassl.at

Einführung und Überblick

Nach wie vor sterben alljährlich viele Millionen Menschen direkt oder indirekt an den Folgen eines Befalls durch Parasiten; daran wird sich auch in den nächsten Jahrzehnten kaum viel ändern. Der in Mitteleuropa tätige Arzt wird heute nicht nur mit den in den gemäßigten Breiten vorkommenden, sondern grundsätzlich auch mit allen tropischen Parasitosen konfrontiert.

Was sind Parasiten?

Von den infektiologischen Disziplinen ist die Medizinische Parasitologie gewiss jene, deren Aufgabenbereich die bunte Vielfalt von Erregern umfasst. Strenggenommen sind zwar – von den Prionen abgesehen - alle Erreger von Infektionen und Infestationen **Parasiten**, denn alle – ob Viren oder Bakterien, Pilze oder Protozoen, Würmer oder blutsaugende Arthropoden – **existieren durch Energieraub** (in der Regel Nahrungsraub), **ohne ihren Wirt** – in diesem Fall den betroffenen Menschen – **sogleich** (d.h. während des Energieraubes) **zu töten** – auch wenn sie eine Krankheit erregen, die letztlich oft genug zum Tod führt oder zumindest zum Tod führen kann. Längst haben sich aber Virologie, Bakteriologie und Mykologie selbständig gemacht, klar voneinander abgegrenzt und ein Sammelsurium – man möchte aus der Sicht der Systematik geradezu sagen: eine Müllhalde – von Erregern und Überträgern hinterlassen, die man in der Medizin als Parasiten (sensu stricto) bezeichnet und denen nichts anderes gemeinsam ist, als dass es sich durchwegs um eukaryote, heterotrophe Organismen ohne Zellwand handelt. Zu ihnen zählt man zahlreiche, sehr unterschiedliche Organismen-Gruppen, die – traditionsgemäß, einen andern Grund gibt es jedenfalls für die ersten beiden nicht - in drei großen Einheiten zusammengefasst werden: Protozoen, Helminthen, Arthropoden.

Die Zellen vieler Parasiten, vor allem die unter den Protozoen zusammengefassten einzelligen Organismen, besitzen über ihrer Zellmembran (= Zytoplasma-Membran) häufig dicke, mehrschichtige Auflagen hochmolekularer und als Antigene wirkender Substanzen. Diese Außenschichten sind indes nicht rigid, sondern in ihrer Form (mehr oder weniger) veränderbar; sie werden als Glykokalyx bezeichnet.

Erreger von Infektionen oder Infestationen des Menschen:		
Prionen = Proteine (vermutlich) ohne DNS oder RNS		Nicht lebende Organismen
Viren = DNS oder RNS + Proteine (+ Lipidhülle)		
Bakterien (inkl. Chlamydien, Rickettsien, Mycoplasmen) = Prokaryote (zumeist mit Zellwand)	Prokaryote	Lebewesen

Pilze = Eukaryote mit Zellwand		Eukaryote	
Protozoen	Parasiten s. str. = Eukaryote ohne Zellwand		
Helminthen			
Arthropoden			

Begriffsdefinition:

Infektion: Erreger dringt in Wirt ein (Invasion) **und** Erreger vermehrt sich im Wirt **und** Wirt reagiert mit seinem Immunsystem auf den Erreger

Infestation (deutsch: Befall): Mindestens eines dieser Kriterien trifft nicht zu

Erreger von Infektionen: alle Viren, die meisten Bakterien, alle Protozoen, nur wenige Helminthen (z.B. Strongyloides) und wenige parasitische Arthropoden (z.B. Sarcoptes)

Erreger von Infestationen: fast alle Helminthen und parasitischen Arthropoden (alle Ektoparasiten); die meisten Helminthen und Arthropoden vermehren sich nicht im oder am Menschen. Manche Ektoparasiten (z.B. Läuse) vermehren sich zwar am Menschen, dringen aber nicht ein.

Endwirt: In ihm wird der Parasit geschlechtsreif und produziert Nachkommen (Teilungsprodukte der Zygote, Eier, Larven). Beispiele: Mensch als Endwirt von *Taenia saginata*, *Fasciola hepatica*, *Ascaris lumbricoides*. Die Parasiten werden ausgeschieden und sind direkt nachweisbar.

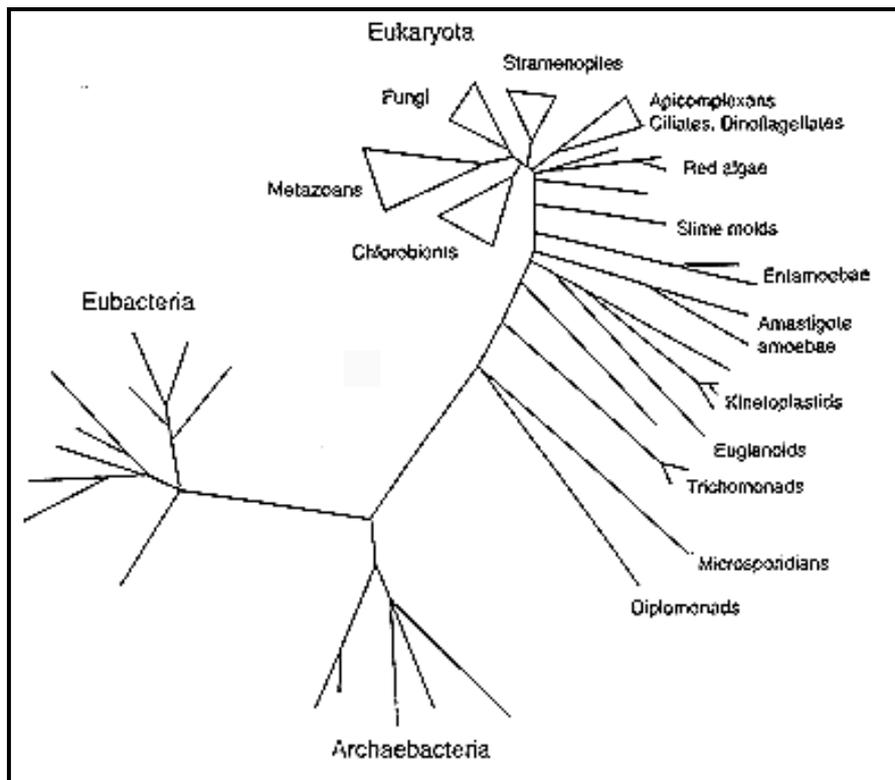
(Natürlicher) Zwischenwirt: In ihm setzt der Parasit seine Entwicklung fort, ohne die Geschlechtsreife zu erreichen. Der Parasit ist zumeist in einem bestimmten Stadium, in einem bestimmten Organ arretiert und gelangt in den Endwirt, indem dieser den Zwischenwirt frisst. Beispiele: Feldmaus als Wirt von Metazestoden des Fuchsbandwurms in der Leber der Maus, Zystizerken des Rinderbandwurms in der Muskulatur des Rindes. Wenn der Wirt im Blut seines Zwischenwirts kreist (Beispiel: Plasmodien im Menschen), fungieren blutsaugende Arthropoden als Endwirte; Parasiten werden nicht ausgeschieden, sind aber im Blut nachweisbar.

Falscher Zwischenwirt: Ein Wirt, in dem der Parasit zwar - wie in seinem natürlichen Zwischenwirt - seine Entwicklung fortsetzen kann, aber aus biologischen Gründen nicht in den Endwirt gelangt. Beispiele: Mensch als falscher Zwischenwirt von *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus granulosus* oder *Taenia solium*. Der Parasit wird meist nicht ausgeschieden und ist nur serologisch nachweisbar.

Fehlwirt: Ein Wirt, in dem die normale Entwicklung des Parasiten aus physiologischen Gründen nicht möglich ist. Beispiele: Mensch ist Fehlwirt von Toxocara-Larven oder Larven (Ple-rozerkoiden) von Spirometra-Arten. Die Parasiten werden nicht ausgeschieden und sind nur serologisch (oder ausnahmsweise durch chirurgische Intervention) nachweisbar.

Paratenischer Wirt = Sammelwirt = Stapelwirt: Eine Sonderform eines Zwischenwirts. Der paratenische Wirt nimmt durch seine Nahrungsgewohnheiten große Mengen von Larven eines Parasiten auf, die sich in ihm nicht weiterentwickeln, sondern in dem ursprünglichen Stadium infektionsbereit verharren. Beispiele: Raubfische nehmen mit ihren Beutefischen Plerozerkoiden des Fischbandwurms auf, diese Plerozerkoiden wandern in die Muskulatur des Räubers ihres ersten Fisch-Zwischenwirts und verharren dort als das, was sie sind. Im übertragenen Sinn ist der Mensch für Toxocara ein paratenischer Wirt, ebenso für Trichinella-Arten (für die er primär ohnehin auch End- und Zwischenwirt zugleich ist). Der Nachweis ist indirekt durch Nachweis der Antikörper möglich.

System:



Protozoen – eine Müllhalde der Systematik

Die Protozoen wurden lange Zeit und bis in die jüngste Vergangenheit – trotz häufig geäußerter Zweifel - als (richtiger vielleicht: wie) eine natürliche (monophyletische) Gruppe behandelt,

die man in 4 oder 5, ab 1980 manchmal in 7 Untergruppen (Unterstämme = Subphyla, später in eigene Stämme = Phyla) gliederte und als die “einzelligen Tiere” bezeichnete.

Eine monophyletische Gruppe (= Monophylum) umfaßt alle Nachkommen einer Stammart – und zwar nur diese. Gruppen, in denen nicht alle Nachkommen einer Stammart inkludiert sind und/oder die Teile der Nachkommen oder alle Nachkommen anderer Stammarten umfassen, sind paraphyletisch oder polyphyletisch und daher künstlich.

Bekannte und (auch heute noch) häufig verwendete Namen dieser Klassifikationen sind: Sarcodina (“Amöben” im weitesten Sinn, Rhizopoden = Wurzelfüßer), Sporozoa (Sporentierchen), Mastigophora oder Flagellaten (Geißeltierchen), Infusoria (Wimpertierchen im weitesten Sinn), später (ab 1964) Sarcomastigophora (Kollektivbezeichnung für Amöben i.w.S. und Geißeltierchen), Sporozoa, Cnidospora (in denen u.a. die Microsporidien Platz fanden) und Ciliophora (Wimpertierchen). In den 70er Jahren wurde zunehmend der Begriff Apicomplexa (im wesentlichen für Sporozoa) verwendet, den Microsporida wurde der Status eines eigenen Phylums zuerkannt.

Wir wissen heute, dass dem Begriff Protozoen ebenso wenig Realität zukommt wie dem Begriff Amöben oder dem Begriff Flagellaten; sie alle sind künstliche Gruppen die man auf Grund ins Auge springender, aber systematisch wertloser (weil sehr ursprünglicher = plesiomorpher) Merkmale (Einzelligkeit bei “Protozoen”; amöboide Fortbewegung bei “Amöben”; Besitz von Geißeln bei “Flagellaten” = “Geißeltierchen”) errichtet hatte. Was man unter dem Begriff Protozoen zusammengefaßt hat und – wissend, dass diese Subsumierung, phylogenetisch betrachtet, eigentlich ein Unsinn ist – der Einfachheit halber und für den täglichen Sprachgebrauch ruhig weiterhin unter diesem Begriff subsumieren kann, ist ein äußerst heterogenes Sammelsurium von sehr primitiven, ursprünglichen bis sehr abgeleiteten, hochentwickelten einzelligen Organismen ohne Zellwand.

Manche von diesen (z.B. Mikrosporidien, Giardia, Trichomonas) sind mitochondrienlos. In der Literatur der letzten Jahre wurde mehr und mehr die Meinung vertreten, dass diese Organismen primär mitochondrienlos und damit viel älter als die übrigen Protozoen sind; man faßt sie manchmal als “Archezoa” zusammen und stellt sie den übrigen “Protozoa” gegenüber. Jüngste Untersuchungen machen jedoch wahrscheinlich, dass zumindest die Microsporida, möglicherweise auch die übrigen mitochondrienlosen Protozoen ihre Mitochondrien doch erst sekundär im Verlauf der Evolution unter Anpassung an ihre Wirte verloren haben. Darüber hinaus gibt

es gewichtige Hinweise dafür, dass die Mikrosporidien mit den Pilzen näher verwandt sind als mit Protozoen.

Man schätzt, dass von den etwa 40.000 beschriebenen Protozoen-Arten ca. $\frac{1}{5}$ Parasiten sind, von denen etwa 70 beim Menschen parasitieren; nur etwa 40 können auch eine Krankheit hervorrufen.

Pneumocystis carinii: Zugehörigkeit dieses Erregers zu den Pilzen kann nunmehr als erwiesen betrachtet werden. Auch bei *Blastocystis hominis* – ein in der Regel apathogen im Darm lebender Mikroorganismus handelt es sich möglicherweise ebenfalls um einen Pilz.

Helminthen – ein künstlicher Sammeltopf für endoparasitisch lebende Tiere

Das Wort Helminthen ist ein rein parasitologischer Begriff, ist gleichbedeutend dem deutschen Wort “Eingeweidewürmer” und umfaßt alle jene endoparasitisch lebenden Metazoen (= vielzelligen Tiere), die nicht zu den Arthropoden gehören. Die Situation ist ähnlich wie beim Wort Protozoen: auch die Helminthen repräsentieren keine Verwandtschaftsgruppe, aber ihnen liegt immerhin eine gemeinsame biologische Eigenschaft, eben der Endoparasitismus, zugrunde. So wie Zimmerpflanzen, Alleebäume oder Haustiere sinnvolle Bezeichnungen sind, obwohl damit keine Verwandtschaft ausgedrückt wird, so ist es der Begriff Helminthen. Er beinhaltet Vertreter der Trematoden (Saugwürmer), Zestoden (Bandwürmer), Nematoden (Fadenwürmer) und Acanthocephala (Kratzer). Für diese Gruppen wird im Deutschen manchmal der Begriff “Würmer” (früher lat. Vermes) verwendet; doch sollte man darauf verzichten, weil sich dieser Begriff in keiner Weise sinnvoll definieren läßt. Gemeinsam ist ihnen lediglich, dass sie durchwegs Animalia (= Tiere) darstellen. Der Fuchsbandwurm ist mit dem Spulwurm mit Sicherheit weniger nahe verwandt als der Mensch mit einem Laubfrosch. (In der human- und veterinärmedizinischen Alltagssprache kann man “Würmer” allenfalls als saloppe Kurzform für “Eingeweidewürmer” tolerieren.)

Arthropoden – Erreger und Überträger

Die Arthropoden endlich stellen ein Monophylum, also eine natürliche Gruppe dar, der man heute den Status eines Stammes (Phylum) innerhalb der Animalia (Tiere) zubilligt. Zu ihnen gehören unter anderem die medizinisch wichtigen Gruppen der Zungenwürmer (Pentastomida), der Krebstiere (Crustacea), der Spinnen (Araneae), der Milben (Acari) (einschließlich der Zecken = Ixodoidea) und der Insekten. Nur die erste und die letzten beiden stellen insgesamt

zahlreiche (mehrere hundert) Parasiten des Menschen, während die anderen beiden als Zwischenwirte (Crustacea) oder als Gifttiere (Araneae) Bedeutung haben.

Neuerdings werden die Zungenwürmer (als Unterklasse) zu der Klasse der Krebstiere gestellt.

Die Spinnen (eigentlich Webspinnen) und die Milben bilden zusammen mit einigen anderen Gruppen (Ordnungen) – z.B. Skorpione – die Klasse der Spinnentiere (Arachnida).

Vielfalt der Parasiten – Vielfalt der Laboratoriumsdiagnostik

Es gibt kaum eine Parasitose, die ohne den Einsatz laboratoriumsdiagnostischer Methoden, also nur durch klinisch-diagnostische Untersuchungen, sicher identifiziert werden könnte. Dass der parasitologisch erfahrene Kliniker oft genug Verdachtsdiagnosen stellen kann, die sich im Laboratorium bestätigen lassen, steht außer Zweifel. Wer etwa nach einem Tropenaufenthalt ohne Malaria-Prophylaxe im Abstand von 48 Stunden Fieberanfälle hat, wird vermutlich eine Malaria tertiana haben. Und bei einem Patienten, der sich längere Zeit in Ägypten aufgehalten und im Nil gebadet hat und der nun nach seiner Rückkehr blutigen Harn feststellt, wird man mit gutem Grund an eine Blasenbilharziose denken. Und wenn schließlich ein Patient die Ordination aufsucht, der mehrere Jahre im Sudan war, sich nun krank fühlt, unter rezidivierenden Fieberschüben leidet, der bei den ersten klinischen Untersuchungen eine ausgeprägte Hepatosplenomegalie zeigt und dessen Blutbefund durch Leukopenie auffällt und bei dem sich womöglich zudem eine Hypergammaglobulinämie und eine Hypalbuminämie nachweisen läßt, dann wird man, ja muß man an eine viszerale Leishmaniose denken. Aber in allen drei beispielhaft genannten und in vielen anderen möglichen Fällen muß der ausgesprochene Verdacht durch die parasitologische Untersuchung verifiziert werden, und zwar nach Möglichkeit, ehe mit der Therapie begonnen wird. Es ist keine Frage, dass in lebensbedrohlichen Situationen (Malaria tropica!) eine Chemotherapie allein auf Grund einer Verdachtsdiagnose gerechtfertigt, ja geradezu notwendig ist. Aber eine unnötig überstürzt eingeleitete Chemotherapie kann manche Parasitose verschleiern und das weitere diagnostische Procedere in die Irre lenken.

Wichtige Basis-Parameter für laboratoriumsdiagnostisches Procedere bei Verdacht auf Parasitosen:

Geographische Anamnese (Exposition?)

Fieber? Fiebertyp?

Diarrhoe? (blutig – schleimig?)

Diarrhoe/Obstipation?

Nausea?

Inappetenz/Heißhunger?

Müdigkeit, Leistungsabfall?

Gewichtsverlust?
Hämaturie? Miktionsbeschwerden?
Exantheme? Pruritus?
Furunkulöse oder ulzeröse Hautveränderungen?
BSR beschleunigt?
Differentialblutbild: Anämie?
Leukozytose?
Leukopenie?
Eosinophilie?
Immunglobuline: IgG-Erhöhung?
IgM-Erhöhung?
IgE-Erhöhung?
Hepatosplenomegalie?
Ikterus?
Neurologische Symptomatik?
Augenveränderungen?
Muskelschmerzen?
Lymphadenopathie?
Röntgenologische, szintigraphische, sonographische u.a. Befunde? (Zysten?)
Immunschwäche? Immunsuppression? Transplantationspatient?
HIV-positiv?
Antiparasitäre Chemoprophylaxe oder Chemotherapie?

Die sichere Diagnosestellung erfolgt auf Grund der Identifizierung des Parasiten durch direkte oder indirekte Nachweismethoden Grundsätzlich sollte – wo immer möglich – der direkte Nachweis des Parasiten angestrebt werden. Bei vielen Parasitosen ist dies jedoch aus verschiedenen Gründen nicht möglich, der Parasit kann nicht gefunden, isoliert, dargestellt und somit weder optisch noch sonst irgendwie erfaßt werden: Der Erreger kann irgendwo im Körper verborgen sein und nicht aufgespürt werden (z.B. Toxoplasmen) oder er ist zwar enzystiert oder abgekapselt im Gewebe lokalisierbar, aber eine Punktion der Zyste oder Kapsel wäre mit allzu großen Risiken verbunden (z.B. Echinokokkus-Zysten, Amöben-Leberabszeß) oder die Nachweisbarkeit im Blut, Stuhl oder Harn ist auf mehr oder weniger kurze Perioden beschränkt (z.B. Trypanosoma cruzi, Leishmanien, Filarien, Schistosoma spp.), weshalb indirekte Nachweismethoden – in erster Linie Tests zum Nachweis spezifischer Antikörper – eingesetzt werden müssen.

Laboratoriumsdiagnostik von Parasitosen:

Direkter Erregernachweis auf grund morphologischer Merkmale:

In/aus Stuhl, Blut, Harn, Sputum, Bronchiallavage-Material, Vaginal-, Anal-, Nasenschleimhaut-Abstrichen, Sternalpunktat, Abstrichen von Hautläsionen, anderen Punktaten (Liquor, Gewebe) durch mikroskopische Untersuchungen von nativem Material, nach Anreicherung,

nach Färbung, durch Fluoreszenz, nach Isolierung, Kultur auf Nährböden, in Gewebekulturen oder in Versuchstieren

Direkter Erregernachweis durch immunologische, molekularbiologische oder biochemische methoden: (grundsätzlich in allen obengenannten Untersuchungsmaterialien)

Direkter Immunfluoreszenztest zum Nachweis von ganzen Parasiten oder Teilen von Parasiten (z. B. *Toxoplasma gondii*)

Enzymimmuntests und Immunoblots zum Nachweis von Parasiten-Antigenen. (z. B. *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*)

DNS-Nachweis durch Hybridisierung: (dzt. keine routinemäßige Anwendung)

DNS-Nachweis durch Amplifikation (PCR): (z. B. *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii*)

Isoenzym-Bestimmung und Erstellung Spezies-spezifischer Isoenzym-Muster (Zymogramme) (z. B. *Entamoeba histolytica*)

Indirekter Erregernachweis:

In Serum, Liquor, Kammerwasser durch zahlreiche Tests (Indirekter Immunfluoreszenztest, Enzymimmuntests, Immunoblot, Indirekter Hämagglutinationstest, Komplementbindungsreaktion u.v.a.) zum Nachweis spezifischer Antikörper

Tests zum Nachweis spezifischer zellulärer Effektoren des Immunsystems (dzt. keine routinemäßige Anwendung)

Nachweismethoden:

Sodiumacetate-Acetic Acid-Formalin-Konzentrationsverfahren (SAF) zum Nachweis von Wurmeiern und von Archezoenzysten:

Reagenzien:

SAF Stammlösung beinhaltet: 15 g Natriumacetat, 20 ml Eisessig, 40 ml Formalin (40%) und 925 ml Wasser.

Durchführung:

Eine haselnußgroße Stuhlprobe in 10 ml Stammlösung gebracht und gut verrühren.

Die SAF – fixierte Stuhlprobe aufschütteln und durch Gaze in ein Zentrifugenrohr filtrieren.

Bei ca. 2000 Umdrehungen / Minute zwei Minuten zentrifugieren.

Überstand absaugen, den Bodensatz neuerlich mit 10 ml Stammlösung aufschwemmen und unter gleichen Bedingungen zentrifugieren.

Überstand absaugen, bei Bedarf mit 0,9 %iger Kochsalzlösung verdünnen.

Einen Tropfen auf Objektträger geben, mit Deckglas eindecken und bei 100-facher Vergrößerung auf Wurmeier und Archeozoen untersuchen.

Heidenhain-Färbung zum Nachweis von Zysten von Archezoen und Protozoen

Die Heidenhain-Färbung ist eine zeit- und arbeitsaufwendige Färbung, ermöglicht aber eine sehr gute Auflösung und Differenzierung der Erregerspezies.

Reagenzien und Durchführung:

Noch feuchte Stuhlausstriche (auf Objektträger) werden in Sublimatalkohol für mindestens 30 Minuten fixiert. Danach :

10 Minuten Jodalkohol (70% Äthanol mit Jodtinktur oder Lugol'scher Lösung versetzen - Gemisch soll „kognakfarben“ sein).

5 Minuten in 70%igem Äthanol waschen.

Kurz in Wasser spülen.

20 bis 25 Minuten 4%iger Eisenammoniumalaun-Lösung.

Kurz in Wasser spülen.

1 Stunde Heidenhain'sches Hämatoxylin (1 g Hämatoxylin in 10 ml 96%igem Äthanol und 90 ml Aqua dest.; Reifezeit dieser Lösung: unter Luftzutritt mindestens 4 Wochen.)

Kurz in Wasser spülen.

2 bis 4 Minuten Differenzieren unter bewegen in 2%iger Eisenammoniumalaunlösung.

In fließendem Wasser gut spülen.

Einschließen .

Dicker Tropfen (Blutuntersuchung bei geringem Parasitenbefall):

Reagenzien, Materialien: Gut entfettete Objektträger, Wasser, Giemsa-Lösung (Verdünnung 1:10 mit Puffer)

Durchführung:

Ein Blutstropfen wird auf einem entfetteten Objektträger auf etwa 1,5 cm Durchmesser mit einer Nadel etc. verrührt, um Koagulation zu verhindern und das Fibrin zu entfernen. Nach der Lufttrocknung wird dieser Objektträger zur Hämolyse in Wasser gelegt, bis die rote Farbe völlig verschwunden ist. Nach dem Trocknen wird der „Dicke Tropfen“ nach Giemsa gefärbt.

Blutausstrich:

Reagenzien, Materialien: Gut entfettete Objektträger, Methylalkohol, Giemsa-Farbstoff (Verdünnung 1:10 mit Puffer).

Durchführung:

Ein kleiner (!) Blutstropfen wird mit einem Deckglas oder Objektträger auf einem sauberen Objektträger ausgezogen (Abbildung) und an der Luft getrocknet.

Danach erfolgt:

- a) Fixieren des luftgetrockneten Ausstrichs für ca. 3 min mit absolutem Methanol
- b) Trocknen des Ausstrichs an der Luft
- c) Färbung nach Giemsa für 30 Minuten
- d) Abspülen der Färbelösung mit scharfem Pufferstrahl aus der Spritzflasche
- e) Trocknen des Ausstrichs an der Luft, ohne Eindecken mit Immersionsöl mikroskopieren.

Giemsafärbung:

Material: Gewebeschnitte, Abstriche (Vaginalabstrich) und Punktate (Knochenmark), Abklatschpräparate.

Reagenzien, Materialien: Objektträger, Methylalkohol, Giemsa-Farbstoff (Verdünnung 1:10 mit Puffer), Färbeschalen.

Durchführung: Material wird auf Objektträger dünn ausgestrichen und luftgetrocknet

Fixieren des luftgetrockneten Ausstrichs für ca. 3 min mit absolutem Methanol

Trocknen des Ausstrichs an der Luft

Färben nach Giemsa für 30 Minuten

Abspülen der Färbelösung mit weichem Pufferstrahl aus der Spritzflasche

Trocknen des gefärbten Ausstrichs an der Luft ohne Eindecken mit Immersionsöl.

Mikroskopieren

Praktikumsteil - Präparate.

Nachweis und Bestimmung von Parasiten des Gastrointestinaltraktes

Makroskopische Untersuchung (Determination):

Zestoden (Bandwürmer):

Taenia saginata („Rinderbandwurm“) Bandwurmglieder (Proglottiden):

Morphologische Merkmale:, Größe: variabel (1cm bis 3cm), Die Proglottiden werden meist einzeln gefunden. Der Uterus hat mehr als 16 Uterusäste.

Taenia solium („Schweinebandwurm“) Bandwurmglieder (Proglottiden):

Morphologische Merkmale:, Größe: variabel (1cm bis 3cm), Die Proglottiden werden meist vereinigt zu kurzen Proglottidenketten gefunden. Der Uterus hat weniger als zehn Uterusäste.

Hinweis: (Zystizerkose!)

Nematoden (Fadenwürmer):

Enterobius vermicularis (Madenwurm) (adulte Würmer):

Morphologische Merkmale:, Größe: 10 bis 12 mm, Hinweis: einzelne Würmer werden auf dem Stuhl aufgelagert gefunden (nur Weibchen).

Ascaris lumbricoides (Spulwurm) (adulte Würmer):

Morphologische Merkmale: regenwurmformig, aber keine Borsten! Größe: 10 bis 40cm lang (weibliche Würmer größer als männliche). Hinweis: Der Spulwurm hat eine Lebensdauer von einem Jahr. Im Darmtrakt bewegt er sich aktiv und versucht, besonders, wenn er irritiert wird, in Öffnungen einzudringen (z.B. Ductus choledochus, Operationswunden im Bereich des Darmes.....).

Arthropoden:

Fliegenmaden (als Myiasis-Erreger):

Morphologische Merkmale:, Größe: variiert zwischen verschiedenen Arten sehr stark (3 bis 10mm). Hinweis: Rektale und vaginale Myiasis.- Bei Hautlokalisation oft nur Stigmenplatte als dunkler Punkt erkennbar.

Mikroskopische Untersuchung:

Protozoen:

Giardia lamblia (Zyste):

Morphologische Merkmale: ovale Form; 4 Kerne (mit Nucleolus); eingeschlagene Geißeln; Parabasalkörper, Größe: 10 - 20 µm (Mikroskopieren: SAF mit 10 - 40fach - Objektiv; Heidenhain mit 100fach - Objektiv) Hinweis: Duodenalsaft muss unmittelbar nach Entnahme mikroskopiert werden. Untersuchungsmaterial der Wahl ist der Stuhl.

Entamoeba histolytica (Zyste):

Morphologische Merkmale: 1 - 4 Kerne (prominente Kernkontur mit 1 Kernkörperchen); manchmal sog. Chromidialkörper nachweisbar (nur in der Heidenhain-Färbung sichtbar), Größe: 15 - 20 µm (Mikroskopieren: SAF mit 10 - 40fach - Objektiv; Heidenhain mit 100fach -

Objektiv), Hinweis: Nachweis von vegetativen Stadien von *Entamoeba histolytica* (Amöbenruhr) nur im frischen, warmen Stuhl bzw. beigemengten Schleim und Blut (ca. 20 bis 30 mm groß) möglich.

Cryptosporidium parvum (Oozysten):

(Ziehl - Neelsen - Färbung), Größe: 5 bis 6 µm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv).

Trematoden (Saugwürmer):

Fasciola hepatica (Großer Leberegel) (Ei):

Morphologische Merkmale: Deckel, Eizelle im Zentrum. Größe: 140 X 80 µm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: *Fasciola hepatica*-Eier frühestens 6 bis 8 Wochen nach Infektion nachweisbar. (Serologische Methoden sind hilfreich.)

Schistosoma mansoni (Ei):

Morphologische Merkmale: „Seitenstachel“, Größe: 160 X 70 µm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: „Mirazidienschlupfversuch“; Serologische Methoden sind hilfreich.

Cestoden (Bandwürmer):

Diphyllobothrium latum (Fischbandwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: Deckel, Eizelle im Zentrum. Größe: 60 X 45µm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: Vitamin B₁₂-Anämie, keine serologischen Methoden verfügbar.

Hymenolepis nana (Zwergbandwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: Die Eier sind rund bis rundoval, farblos und von zwei zarten Hüllen umgeben. Größe: 50 X 40 µm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv)

Taenia saginata/*T. solium* (Rinderbandwurm / Schweinebandwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: Rund bis rundoval, radiäre Struktur der Hülle, Häkchen. Größe: 35 µm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: Die Unterscheidung zwischen den beiden Arten erfolgt ausschließlich durch Untersuchung der Proglottiden.

Nematoden (Fadenwürmer):

Ascaris lumbricoides (Spulwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: Gelblichbraun, meist von doppelter, skulpturierter Hülle umgeben.- Achtung: Es gibt hüllenlose und unbefruchtete Eier. Größe: 60 X 40 mm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: Ein Befall mit ausschließlich männlichen Würmer: keine Eier im Stuhl. Serologie möglich (wandernde Larve während Entwicklung).

Trichuris trichiura (Peitschenwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: „Tönnchenform“, hyaline Kappen. Größe: 50 X 20mm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: Direkte Entwicklung.

Ancylostoma duodenale / *Necator americanus* (Hakenwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: Hülle und Zellen sind glasig hell. Größe: 60 X 40 mm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: Grubenwurm! -- Artdifferenzierung auf Grund der Eier nicht möglich.

Enterobius vermicularis (Madenwurm) (Ei):

Morphologische Merkmale: Ei enthält Larve, ist asymmetrisch und ist von einer dünnen mehrschichtigen Hülle umgeben. Größe: 50 x 25 mm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv)

Hinweis: In einer Stuhlprobe werden die Eier nur ausnahmsweise zu finden sein. Weibchen legt Eier in Analfalte ab! Klebestreifenmethode!!

Parasitäre Infektionen des Blut- und Lymphgefäßsystems

Protozoen:

Trypanosoma gambiense/rhodesiense (Erreger der Schlafkrankheit):

Morphologische Merkmale: schlank, spindelförmig mit einer langen, frei endenden Geißel;

Größe: ohne Geißel ca 15 mm , mit Geißel bis zu 40 mm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv), Hinweis: Auch im Nativpräparat bei schwacher Vergrößerung (100 bis 400fach) durch lebhaftige Bewegung erkennbar.

Plasmodium falciparum (Erreger der Malaria tropica):

Morphologische Merkmale: Mehrfachbefall, hohe Parasitendichte. Größe: 2 bis 2,5 µm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv), Hinweis: „maligne tertiana“

Plasmodium vivax (Erreger der Malaria tertiana):

Morphologische Merkmale: Erythrozyten vergrößert, Tüpfelung (nicht immer gut zu erkennen).
Größe: 2 bis 2,5 µm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv)

Plasmodium malariae (Erreger der Malaria quartana):

Morphologische Merkmale: Erythrozyten verkleinert, keine Tüpfelung, geringe Parasitendichte. Größe: 2 bis 2,5 µm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv)

Trematoden:

Schistosoma mansoni (Ei):

Morphologische Merkmale: „Seitenstachel“, Größe: 160 x 70 µm (Mikroskopieren mit 10 - 40fach – Objektiv), Hinweis: „Mirazidienschlupfversuch“; Serologische Methoden sind hilfreich.

Schistosoma haematobium (Ei):

Morphologische Merkmale: „Endstachel“, Nachweismethode: Harnsediment (! Mittagsharn nach körperlicher Anstrengung !), Größe: 140 x 60 µm, Hinweis: „Mirazidienschlupfversuch“; Serologische Methoden sind hilfreich.

Nematoden:

Wuchereria bancrofti: (Lymphangitis und -adenitis, “Elephantiasis”)

Nachweismethode: Mikrofilarien im nach Giemsa gefärbten Blutaussstrich oder nach Anreicherung im Sediment einer haemolysierten Blutprobe. Morphologische Merkmale: Die Mikrofilarien sind gescheidet (Reste der Eihülle) - treten nur Nachts im peripheren Blut auf. Größe: Die gescheidete Mikrofilarie hat eine Länge von 230 bis 290 µm, Hinweis: Die adulten Filarien leben in Lymphbahnen und Lymphknoten, Überträger sind Culiciden. Geographische Verbreitung: Afrika, Amerika, Asien.

Brugia malayi: (Lymphangitis und -adenitis, “Elephantiasis”)

Nachweismethode: Mikrofilarien im nach Giemsa gefärbten Blutaussstrich oder nach Anreicherung im Sediment einer haemolysierten Blutprobe. Morphologische Merkmale: Die Mikrofilarien sind gescheideten (Reste der Eihülle) - treten nur Nachts im peripheren Blut auf. Größe: Die gescheidete Mikrofilarie hat eine Länge von 170 bis 260 µm, Hinweis: Die adulten Filarien leben in Lymphbahnen und Lymphknoten, Überträger sind Culiciden, Geographische Verbreitung: Asien.

Loa loa: (Calabar- oder Kamerunschwellung)

Die unter der Haut wandernden Filarien rufen oft starken Juckreiz hervor. Nachweismethode: Mikrofilarien im nach Giemsa gefärbten Blutausschrieb oder nach Anreicherung im Sediment einer haemolysierten Blutprobe. Beweisend ist das Erscheinen einer Filarie unter der Augenbindehaut. Morphologische Merkmale: Die Mikrofilarien sind gescheideten - treten oft in geringer Anzahl tagsüber auf. Größe: Die gescheidete Mikrofilarie hat eine Länge von 250 bis 300 µm. Überträger Bremsenarten der Gattung Chrysops. Verbreitung West- und Zentralafrika

Nachweis und Bestimmung von Parasiten in anderen Organen

Protozoen:

Trichomonas vaginalis:

Nachweismethode: Vaginalabstrich nach Giemsa gefärbt oder nativ. Morphologische Merkmale: Schleppgeißel in undulierende Membrane eingebaut. Größe: 15 x 7 µm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv). Hinweis: *T. vaginalis* bildet keine Zysten!!. Untersuchungsmethode der Wahl: Nativuntersuchung.

Acanthamoeba comandoni:

Acanthamöbenbefall der Cornea (bevorzugt bei Kontaktlinsenträgern). Größe: Zyste 18 bis 25 µm (Nativpräparat mikroskopieren mit 40fach - Objektiv mit Phasenkontrast).

Naegleria gruberi:

Naeglerienbefall des Gehirns (über Geruchsnerve). Größe: Zyste 5 bis 16 µm (Nativpräparat mikroskopieren mit 40fach - Objektiv mit Phasenkontrast)

Leishmania donovani / L. infantum (amastigote Formen):

Morphologische Merkmale: Kern und Kinetoplast, Größe: 2 bis 3 µm (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv), Hinweis: Material der Wahl: Knochenmark; Serologie hilfreich.

Toxoplasma gondii:

Trophozoit: (Größe: 3 bis 5 µm) (mikroskopieren mit 100fach - Objektiv). Hinweis: Diaplazentare Übertragung! Serologische Nachweismethoden.

Trematoden:

Echinococcus multilocularis (Fuchsbandwurm):

Morphologische Merkmale: Wächst infiltrativ in das umliegende Gewebe. Hinweis: Gefahr der Verschleppung bei invasiven Untersuchungsmethoden. Nachweismethode der Wahl: Serologie.

Echinococcus granulosus (Hundebandwurm):

Morphologische Merkmale: Bildet gut abgegrenzte Zysten. Hinweis: Gefahr der Ruptur bei invasiven Untersuchungsmethoden und chirurgischer Entfernung. Nachweismethode der Wahl: Serologie.

Nematoden:

Larva migrans visceralis (Larven von *Toxocara canis*, *Toxocara cati* oder *Baylisascaris procyonis*):

Symptomatik: unterschiedlich, abhängig von Organlokalisation Größe: unterschiedlich, abhängig von Artzugehörigkeit. Nachweismethode der Wahl: Serologie.

Trichinella sp.:

Morphologische Merkmale: Larven eingerollt in der Muskulatur (in manchmal verkalkten Kapseln eingeschlossen) zu finden. Größe der Kapsel ca 0,5 x 0,3µm, Länge der Larve ca 1mm. Nachweismethode der Wahl: Serologie.

Bestimmung wichtiger Arthropoden

Insekten:

Anopheles sp. (Stechmücke):

Morphologische Merkmale: typisches Insekt, Diptere, Halteren. Größe: 8 mm. Hinweis: Endwirt der menschlichen Malaria-Parasiten!

Cimex lectularius (Bettwanze):

Morphologische Merkmale: dorsoventral abgeflacht. Größe: 6 bis 12 mm. Hinweis: Saugt in der Nacht Blut; „Wanzenstraße“ charakteristischer Geruch nach „Himbeermarmelade“.

Ctenocephalides canis / *C. cati* (Hunde-/Katzenfloh):

Morphologische Merkmale: seitlich abgeflacht. Größe: 1,5 bis 3,2 mm. Hinweis: Für optimale Fortpflanzung ist spezifischer Wirt nötig, aber es saugen grundsätzlich alle Flöhe am Menschen. Die Flöhe erwachen aus der Puppenruhe durch Bodenerschütterung.

Pediculus humanus capitis (Kopflaus):

Morphologische Merkmale: dorsoventral abgeflacht. Größe: 2 bis 2,5 mm. Hinweis: Läuse sind wirtsspezifisch, Übertragung durch direkten Kontakt (auch durch gemeinsames Benutzen von Kämmen u.s.w.)

Phthirus pubis (Filzlaus):

Morphologische Merkmale: dorsoventral abgeflacht. Größe: 1,3 bis 1,6 mm. Hinweis: Übertragung durch direkten körperlichen Kontakt. Beim Mann auch in Körperbehaarung (Bart, Augenbrauen). Bei Kindern nur auf den Wimpern.

Spinnentiere:

Ixodes ricinus (Holzbock)

Morphologische Merkmale: typische Schildzecke, Größe: je nach Entwicklungs- und Sättigungsgrad 1,5 bis 14 mm, Hinweis: „poolfeeder“, Übertragung von Virus und Bakterienerkrankungen.

Literatur:

Auswahl deutschsprachiger medizinisch-parasitologischer Lehrbücher, Kompendien und zusammenfassender Übersichten:

Eckert, J. (1998). Parasitologie. - In: Kayser, H., Bienz, K. A., Eckert, J. & Zinkernagel, R. M. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie. G. Thieme Verlag, Stuttgart: 483--640.

Janitschke, K., Kimmig, P., Seitz, H.M., Frosch, M., Groß, U., Hlobil, H. & Reiter-Owona, I. (1998): Parasitosen. – In: Mauch, H., Lüttichen, R. & Gatermann, S. (Hrsg.): Qualitätsstandards in der mikroparasitologisch-infektiologischen Diagnostik. G. Fischer, Stuttgart.

Lucius, R. & Loos-Frank B. (1997): Parasitologie. Grundlagen für Biologen, Mediziner und Veterinärmediziner. – Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin: 370 pp.

Mehlhorn, H., Eichenlaub, D., Löscher, T., Peters, W. (1995). Diagnostik und Therapie der Parasitosen des Menschen. 2. Auflage. G. Fischer Verlag. Stuttgart, Jena, New York: 452 pp.

Mehlhorn, H. & Piekarski, G. (1995): Grundriß der Parasitenkunde. 4. Auflage. – UTB 1075. G. Fischer, Stuttgart, Jena: 452 pp.

Piekarski, G. (1987). Medizinische Parasitologie in Tafeln. Dritte, vollständig überarbeitete Auflage. Springer-Verlag, Berlin: 364 pp.