

A EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die afrikanische Trypanosomose des Menschen und der Tiere ist eine durch Protozoen des Genus *Trypanosoma* hervorgerufene Infektionskrankheit, welche von Tsetse-Fliegen (*Glossina* spp.) übertragen wird.

Trotz jahrelanger intensiver Forschung auf diesem Gebiet ist es bis heute nicht möglich, einen Impfstoff zur Prophylaxe der Krankheit herzustellen, und auch für die Behandlung stehen nur wenige Medikamente zur Verfügung. Diese Medikamente sind einander strukturell sehr ähnlich und zudem seit über 30 Jahren in unveränderter Form auf dem Markt, so dass der Erreger Resistenzen entwickeln konnte, was die Bekämpfungsmöglichkeiten der Krankheit weiter einschränkt. Aus diesen Gründen stellen Trypanosomeninfektionen bei Menschen und Nutztieren auch heute noch eines der Hauptprobleme für die gesundheitliche und wirtschaftliche Entwicklung der Bevölkerung Afrikas dar.

Es existieren verschiedene Spezies dieses Blutparasiten in Afrika, wobei nur eine davon, *Trypanosoma brucei*, die für den Menschen infektiösen Subspezies *T. b. rhodesiense* und *T. b. gambiense* beinhaltet.

Die Krankheit verläuft beim Menschen je nach Erreger-Unterart akut (*T. b. rhodesiense*) oder chronisch (*T. b. gambiense*) und wird unter dem Begriff „Afrikanische Schlafkrankheit“ zusammengefasst. Im Vordergrund des Krankheitsbildes stehen schwere zentralnervöse Störungen. Nach WHO-Schätzungen sind in den humiden und subhumiden Regionen Afrikas südlich der Sahara heute 300.000 bis 500.000 Menschen mit dem Erreger der Schlafkrankheit infiziert (CATTAND und JANNIN, 1998). Da die Krankheit ohne rechtzeitige Behandlung zum Tod führt, fällt ihrer Früherkennung und der Einschränkung begünstigender Faktoren eine große Bedeutung zu. Dabei ist die genaue Kenntnis der Epidemiologie Voraussetzung.

Wiederkäuer können als Reservoirwirte für die humaninfektiösen Subspezies *T. b. rhodesiense* und *T. b. gambiense* fungieren (HEISCH et al., 1958; ONYANGO et al., 1966; MEHLITZ et al., 1982 und 1985; WHO, 1998), welche sich auch in Tierblut vermehren und damit der Tsetse-Fliege zur Übertragung auf den Menschen zur Verfügung stehen. Zusätzlich können sie jedoch eine dritte, für den Menschen nicht infektiöse Subspezies beherbergen, *Trypanosoma brucei brucei*. Diese ruft zusammen mit *Trypanosoma congolense* und *Trypanosoma vivax* die Nagana-Viehseuche hervor. Sie verläuft in der Regel ohne zentralnervöse Symptome, und im Vordergrund stehen intermittierendes Fieber, Anämie, Immunsuppression und Kachexie.

Für alle genannten Trypanosomen-Spezies sind auch andere Haustiere wie Schafe, Ziegen, Schweine, Pferde, Esel, Hunde und Katzen empfänglich, und zahlreiche Wildtierarten sind, ohne selbst klinische Symptome zu zeigen, Reservoirwirte (GEIGY et al., 1971 und 1973; ROBSON et al., 1972; GIBSON et al., 1978; MEHLITZ et al., 1982 und 1985). Bei einer erfolgreichen Bekämpfung der Schlafkrankheit muss deswegen das Tierreservoir unbedingt in die Behandlung mit eingeschlossen werden, da sonst ein erneuter Ausbruch vorprogrammiert ist (HOLMES, 1997).

Die Diagnose der Schlafkrankheit bzw. der Nagana-Viehseuche wird durch den Nachweis des Erregers im peripheren Blut des Patienten gefestigt. Dabei kann man zwar eindeutig *Trypanosoma brucei*-Spezies von *T. vivax* und *T. congolense* unterscheiden, die *T. brucei*-Subspezies kann man morphologisch jedoch nicht voneinander trennen (HOARE, 1972). Diese Tatsache ist vor allem dann bedeutend, wenn es gilt, ein Erreger-positives Tier als Träger humaninfektiöser Stämme zu identifizieren.

Bis jetzt konnte noch keine Methode entwickelt werden, um aus Tieren isolierte, humaninfektiöse Trypanosomen schnell und zuverlässig identifizieren zu können. Die bereits existierenden Tests basieren entweder auf Tierversuchen, wie der Blutinkubations-Infektiositätstest (BIIT) nach RICKMANN und ROBSON (1970a/b), oder auf der *in vitro*-Kultivierung der Trypanosomen, wie der Humanserum-Resistenztest (HSRT) nach JENNI und BRUN (1982). Beide Tests sind sehr zeit- und kostenaufwendig, ganz abgesehen von der tierschützerischen Forderung, Tierversuche möglichst einzuschränken.

Versuche, die Humaninfektiosität mit Hilfe von biochemischen und molekularbiologischen Methoden zu bestimmen, gelangen nur teilweise. So können durch Isoenzymelektrophorese (BAGSTER und PARR, 1973; GODFREY und KILGOUR, 1976; GIBSON et al., 1978 und 1980; MEHLITZ et al., 1982; TAIT et al., 1984; GODFREY et al., 1987 und 1990; MIHOK et al., 1990; STEVENS et al., 1992), Restriktions-Enzymanalyse (RFLP) (PAINDAVOINE et al., 1986 und 1989; HIDE et al., 1994), DNA-Sondenhybridisierung (PAINDAVOINE et al., 1986; HIDE et al., 1991; SCHARES und MEHLITZ, 1996) und zufällig amplifizierte polymorphe DNA (RAPD-PCR) (WAITUMBI und MURPHY, 1993; KANMOGNE et al., 1996; MELMS, 1996) zumindest *T. b. gambiense* von nicht-*gambiense* unterschieden werden. In bestimmten Schlafkrankheitsgebieten können sogar *T. b. rhodesiense*-Stämme anhand ihrer spezifischen RFLP-Muster identifiziert werden (HIDE et al., 1994). Eindeutige, auf andere

Schlafkrankheitsgebiete übertragbare Aussagen über die Humaninfektiosität von *T. brucei*-Isolaten kann man mit diesen Methoden bisher allerdings nicht treffen.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob die Pulsfeld-Gel-Elektrophorese (PFGE) nach SCHWARTZ und CANTOR (1984), eine molekularbiologische Methode, als weiteres Hilfsmittel zur Unterteilung aus Tieren isolierter *Trypanosoma brucei*-Stämme eingesetzt werden kann.

Mit der PFGE ist es möglich, Chromosomen anhand ihrer Größe und Ladung aufzutrennen und durch Anfärben als Banden sichtbar zu machen. Für jeden Trypanosomen-Stamm entsteht so ein eigenes Bandenmuster, welches sich mit den Mustern anderer Stämme vergleichen lässt. Dabei soll nach Wiederholungen gesucht werden, die sich mit der Humaninfektiosität der Stämme in Verbindung bringen lassen.

MAJIWA et al. (1985) können mit Hilfe der PFGE *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* in zwei unterschiedliche Karyotyp-Gruppen einteilen, welche morphologisch identisch sind, jedoch nicht mit gegenseitiger DNA kreuzhybridisieren. WAITUMBI und YOUNG (1994) identifizieren mit Hilfe der PFGE Medikamenten-resistente *Trypanosoma evansi*-Stämme, die bei der kDNA-Analyse keine Unterschiede zeigten. Damit stellt die PFGE eine wichtige Methode zur Aufdeckung erst kürzlich aufgetretener evolutionärer Unterschiede dar (ARBEIT et al., 1990).

Für die Untersuchungen wurden Trypanosomen-Referenzstämme und -klone aus Nigeria, Kenia, Somalia, der Elfenbeinküste, Liberia, Zaire, Uganda und Tansania sowie Feldstämme und -klone aus Tieren und Menschen in Bulutwe, einem Schlafkrankheits-Endemiegebiet im Südosten Ugandas, ausgewählt und zunächst auf ihre Humaninfektiosität untersucht. Dies geschah mit Hilfe des *in vitro*-Humanserum-Resistenztests (JENNI und BRUN, 1982). Bei 8 ausgewählten Feldstämmen wurde zusätzlich der Blutinkubations-Infektiositätstest (RICKMANN und ROBSON, 1970a/b); modifiziert nach HAWKING, 1976b und MEHLITZ, 1978) durchgeführt. Im Anschluss wurden die Stämme durch die PFGE charakterisiert.