

## 6. Zusammenfassung

*Babesia equi* und *Babesia caballi*-Stämme aus dem United States Department of Agriculture wurden nach der MASP-Kulturtechnik (Microaerophilous Stationary Phase) gezüchtet. Aus den Kulturen wurden Antigene gewonnen, deren Eignung für den indirekten Test mit fluoreszierenden Antikörpern (IFAT) und die Komplementbindungsreaktion (KBR) mit den aus Pferden gewonnenen Antigenen verglichen wurden. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

- 1) Fünfmal wurden MASP-Kulturen von *Babesia equi* angelegt. Als Ausgangsmaterial wurde *B. equi*-infiziertes Blut mit Parasitämien von 1,1 bis 2,2 % verwendet. Eine kontinuierliche Kultur dieser Babesienart gelang nicht.
- 2) Ausgehend von einer Parasitämie von 0,6 % wurde *Babesia caballi* 53 Wochen lang und über 86 Subkulturen nach der MASP-Methode gezüchtet. Dabei betrug die maximale Befallsrate der Erythrozyten 3,85 %. Eine kontinuierliche Kultur von *B. caballi* ist möglich.
- 3) In MASP-Kulturen mit *Babesia caballi* wurden Befallsraten erzielt, die stark variierten und selten höher als 2% waren. Das Wachstum von *B. caballi* war in verschiedenen, komplexen Zellkulturmedien ähnlich.
- 4) Ein Wachstum von *Babesia caballi* wurde auch in komplexen Zellkulturmedien beobachtet, denen 40 % kommerzielles Pferdeserum zugesetzt worden war.

Allerdings traten unterschiedliche Wachstumsraten von *Babesia caballi* je nach Erythrozytenspender auf. Am besten wuchs *B. caballi* in Kulturen mit negativen Erythrozyten eines von 4 Ponys und kommerziellem Pferdeserum. Dabei wurden Befallsraten von > 2 % erzielt.

5) Aus Zellkulturen mit *Babesia caballi* wurden Antigene für die KBR und den IFAT gewonnen und mit Antigenen aus dem Pferd verglichen. Die Zellkulturantigene könnten im IFAT die erythrozytären Antigene aus dem Tier ersetzen. Dagegen sollten KBR-Antigene aus Zellkulturen erst bei höheren Befallsraten der Erythrozyten hergestellt werden.

Obwohl mit der *in vitro*-Kultur von *Babesia caballi* höhere Parasitämien als *in vivo* erzielt werden können, bereitet die MASP-Kultur von Pferdebabesien im Vergleich zu Rinderbabesien noch größere Schwierigkeiten. Es wird empfohlen, verschiedene Parasitenstämme hinsichtlich ihres Wachstums *in vitro* zu testen und Seren und Erythrozyten von mehreren Spendertieren zu prüfen. Für die Kultur von *Babesia equi* sind zusätzliche Untersuchungen der Kulturbedingungen und der Mediumzusammensetzung erforderlich.

## 7. Summary

CISSOKO, A. (1989): *In vitro* cultivation of erythrocytic stages of *Babesia caballi* and *Babesia equi* and production of antigen for serotesting.

Med. vet. Thesis, School Vet. Med., Hanover, West Germany.

*Babesia equi* and *Babesia caballi* (United States Department of Agriculture strains) cultures were initiated using the micro-aerophilous stationary phase (MASP) culture technique. Crude antigens were prepared from culture and their suitability for the indirect fluorescent antibody test (IFAT) and the complement fixation test (CFT) was assessed by comparison with antigen prepared from experimentally infected horses. The following results were obtained:

- (1) Five attempts were made to establish MASP cultures of *Babesia equi*, with initial parasitaemias ranging from 1.1 % to 2.2 %. Continuous cultures could not be established.
- (2) A continuous culture of *Babesia caballi* could be established from an initial parasitaemia of 0.6 %. It continued for 53 weeks through 86 subcultures. The maximum percentage of parasitized erythrocytes (PPE) was 3.85 %.
- (3) The PPE varied widely in MASP cultures of *Babesia caballi* and rarely exceeded 2 %. Growth rates were similar using different, complex tissue culture media.
- (4) *Babesia caballi* was cultivated in medium supplemented with two batches of commercial serum. Growth rates differed with different erythrocyte donors. Best growth was obtained with a combination of negative erythrocytes from one of 4 Ponies and commercial serum. With this combination PPE often exceeded 2 %.

(5) Antigens for CF test and IFA test were prepared from *Babesia caballi* cultures and compared with antigens prepared from experimentally infected ponies. The cell culture antigen for the IFA test was as efficient as the antigen prepared from ponies. CF antigen from cell culture could only be prepared from cultures with parasitaemias > 2 %.

Although it is possible to obtain higher parasitaemias with *Babesia caballi* *in vitro* as compared to *in vivo* infections, growth rates in *Babesia caballi* cultures are not as satisfying as those of cattle babesia. Attempts should be made to establish cultures using various strains of equine *Babesia* species. Serum and erythrocytes from several donors should be tested for suitability.

Additional studies of culture conditions and of composition of culture media are required for developing *B. equi* cultures.