

## 6 Zusammenfassung

Die Haltung und Aufzucht von Fischen in Aquakulturen begünstigt das Auftreten von Infektionskrankheiten. Sind Parasitosen nicht unmittelbar für Mortalitäten verantwortlich, so verursachen sie durch Wachstumsdepression oder Deformation der Körperform der befallenen Fische erhebliche wirtschaftliche Schäden (STEFFENS 1981).

Um die Kenntnisse über Abwehrreaktionen von Karpfen während Parasiteninfektionen zu erweitern, wurden die Reaktionen lymphoider Organe untersucht. Als Modellorganismen dienten Parasiten von Karpfen, deren Biologie weitgehend bekannt ist, und die für die Nutzfischbestände in Europa und Nordamerika eine Gefährdung darstellen. Dies sind *Goussia carpelli*, Erreger der „Enteritis-Coccidiose“ der Karpfen, und *Trypanoplasma borreli*, Erreger der „Schlaffsucht“ der Karpfen.

In einer Reihe methodischer Versuche wurde die durchflußcytometrische Analyse von Karpfenleukocyten etabliert. Die parallel durchgeführte elektronenoptische und durchflußflußcytometrische Untersuchung fraktionierter Organsuspensionen ermöglichte eine Differenzierung der Karpfenleukocyten im durchflußcytometrischen Bild.

Es wurden bei beiden Infektionsversuchen die Zellpopulationen aus Kopfniere und Milz mit Hilfe der Durchflußcytometrie analysiert. Bei den Tieren des Infektionsversuches mit *Trypanoplasma borreli* wurden Gewebeproben dieser Organe zusätzlich mit dem Elektronenmikroskop untersucht.

Bei den mit *Goussia carpelli* infizierten Karpfen konnten keine signifikanten Verschiebungen der Zellpopulationen beobachtet werden. Da im Darm der Fische nur eine geringe Parasitenburde gefunden wurde, können diese Ergebnisse dadurch bedingt sein, daß die Infektion mit diesem Darmparasiten zu gering war.

Im Verlauf der Infektion mit *Trypanoplasma borreli* kam es zu einer hochgradigen Parasitämie. In beiden untersuchten Organen wurden hochgradige Veränderungen der zellulären Zusammensetzung festgestellt. Die durchflußcytometrischen Ergebnisse konnten durch die elektronenoptische Untersuchung bestätigt werden.

In Kopfniere und Milz wurde im Verlauf der Trypanoplasmeninfektion eine sehr starke Lymphocytenproliferation festgestellt. Zusätzlich wurde in der Kopfniere das Auftreten einer großen Population von Monocyten beobachtet, vermutlich waren diese Zellen in die Kopfniere eingewandert, nachdem sie in der Peripherie Antigen phagozytiert hatten.

Das Vorhandensein von Oberflächenimmunglobulin-tragenden Zellen ( Ig-positiv ) konnte durch die Markierung dieser Zellen mittels eines monoklonalen Antikorpers demonstriert werden. Es zeigte sich, daß der Anteil Ig-positiver Zellen bei gesunden Fischen in der Milz nur bei durchschnittlich ca. 8% lag, in der Kopfniere hingegen bei durchschnittlich ca. 18%. Eine signifikante Zunahme Ig-positiver Zellen im Verlauf der Trypanoplasmeninfektion konnte nur in der Kopfniere beobachtet werden, nicht jedoch in der Milz.

Sowohl bei den Kontrollfischen, als auch bei den infizierten Fischen wurden in der Milz nur sehr wenige Granulocyten gefunden. In der Kopfniere nahm im Verlauf der Trypanoplasmeninfektion der relative Anteil der Granulocyten dramatisch ab, wobei sich der Anteil der basophilen Granulocyten gegenüber dem der neutrophilen Granulocyten verringerte. Eine Population eosinophiler Granulozyten wurde weder bei den Kontrollfischen, noch bei den infizierten Fischen beobachtet.

Die Ergebnisse zeigen eindrucksvoll, daß durchflußcytometrische Untersuchungen am Modell *Trypanoplasma borreli* - *Cyprinus carpio* gut geeignet sind, Abwehrreaktionen von Fischen zu studieren.

## 7 Summary

**Iris Barckhausen-Kiesecker:**

### **Analysis of lymphoid organs from common carp ( *cyprinus carpio* ) during parasite infection**

Fish kept and bred in aquaculture systems run a greater risk of infectious disease. Even if parasitic diseases are not directly responsible for mortalities, they may cause financial losses due to growth depression or deformation of body form ( STEFFENS 1981 )

In order to further the study of defense mechanisms of carp during parasite infections, the reactions of lymphoid organs were analysed

Carp parasites, whose biology was thoroughly known and which may represent a danger for stocks of edible fish in Europe and Northamerica, served as model organisms. These parasites are *Goussia carpelli*, the causative agent of enteritis-coccidiosis of carp, and *Trypanoplasma borreli*, the cause of sleeping sickness of carp.

In a series of methodical experiments the flow cytometric characterisation of carp leucocytes was established. Cell suspensions from pronephros and spleen were separated by centrifugation on a continuous density gradient. Simultaneous examination of cells from each band by means of electronmicroscopy and flow cytometry allowed to correlate their morphological and flow cytometrical characteristics and thus to identify lymphocytes, monocytes, neutrophilic granulocytes and basophilic granulocytes

During the course of the parasite infections cell populations of the pronephros and the spleen were analysed by means of flow cytometry. In addition samples of these organs were taken from carp infected with *Trypanoplasma borreli* and were examined with the electron microscope

No significant changes could be detected in the cellular composition of those carp infected with *Goussia carpelli*. This may be explained by a very weak infection, because only a few parasites were found in the gut.

The infection with *Trypanoplasma borreli* provoked a very significant parasitemia. During the course of the parasitemia severe changes of the cellular composition of the organs examined could be detected by means of flow cytometry.

A remarkable proliferation of lymphocytes was discovered in the pronephros and in the spleen. In addition a large population of monocytes could be observed in the pronephros, which might have immigrated after antigen phagocytosis in the peripheral blood.

The existence of surface immunoglobulin expressing cells could be demonstrated with a monoclonal antibody reacting with immunoglobulins from carp serum. It was discovered, that the number of surface immunoglobulin expressing cells in the spleen of healthy fish was on average 8%, on the other hand the average level those of the pronephros was 18%. A significant increase in surface immunoglobulin expressing cells during the *Trypanoplasma borreli* infection could only be observed in the pronephros, not in the spleen.

In the spleen of control and infected fish only very few granulocytes were found. In the pronephros the proportion of granulocytes dropped dramatically during the *Trypanoplasma borreli* infection, whereas the proportion of basophilic granulocytes to neutrophilic granulocytes decreased. A population of eosinophilic granulocytes could not be detected, neither in the control fish, nor in the infected fish.

These results were confirmed by electron microscopy.

These examinations clearly prove that flow cytometric analysis is well suitable to study defense reactions of fish.