

Abteilung Parasitologie (Leiter: Univ. Prof. Dr. E. Hinz)
des Hygiene-Instituts (Geschäftsführender Direktor: Univ. Prof. Dr. H.-G. Sonntag)
und Institut für Tropenhygiene und öffentliches Gesundheitswesen (Leiter: Univ. Prof. Dr. H. J. Diesfeld)
am Südasien-Institut der Universität Heidelberg

Doppelinfektionen mit Metazestoden von *Echinococcus multilocularis* und *Mesocestoides corti* bei der NMRI-Maus und ihre Wechselwirkungen

E. Hinz, Christine Blattner, C. Schmitt

Einleitung

Homologe wie heterologe Belastungsinfektionen mit Bandwurmfinnen lassen in ihren Wechselwirkungen zwischen den Parasitenarten und in Abhängigkeit von der Applikationsart bisher kein einheitliches Bild erkennen. Für den Befall mit *Echinococcus multilocularis* konnte nachgewiesen werden, daß eine intraperitoneale Primärinfektion das Wachstum subkutan zeitlich später applizierter Parasiten unterdrückt (3). Die umgekehrte Infektionsfolge hat dagegen den gegenteiligen Effekt. Wird die Erstinfektion subkutan gesetzt, dann wirkt sich dies wachstumsfördernd auf später intraperitoneal verabreichte Metazestoden von *E. multilocularis* aus (4). Anders verhält es sich dagegen bei Infektion mit Tetrathyridien von *Mesocestoides corti* und Metazestoden von *Taenia crassiceps*; bei diesen Parasiten äußert sich eine subkutane Primärinfektion in einer Resistenz gegenüber einer homologen intraperitonealen Belastungsinfektion (7, 9). Für diese beiden Arten wurde darüberhinaus Kreuzresistenz beobachtet (8).

Die unterschiedlichen Reaktionsmuster von *Echinococcus multilocularis* und *Mesocestoides corti* waren Veranlassung, den Effekt heterologer Belastungsinfektionen mit diesen beiden Spezies zu untersuchen. Dabei sollte die Anwendung derselben wie auch unterschiedlicher Applikationsarten weitere Einblicke in das komplexe Infektionsgeschehen ermöglichen.

Material und Methode

Als Versuchstiere dienten weibliche NMRI-Mäuse (NMRI-Orig./Kisslegg SPF-Auszucht), die in Makrolonkäfigen (Typ III) auf konventionelle Weise bei $21 \pm 2^\circ \text{C}$, $55 \pm 5\%$ relativer Luftfeuchtigkeit und einem 12stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus gehalten wurden. Als Nahrung standen Altromin-Standarddiät und Leitungswasser ad libitum zur Verfügung. Die Tiere wiesen zu Versuchsbeginn ein Gewicht von 18-20 g auf.

Es wurden zwei voneinander unabhängige Versuche durchgeführt. Für den ersten Versuch bestand das Tierkollektiv aus 80 Mäusen, die auf acht gleich große Gruppen aufgeteilt und entsprechend der in Tabelle 1 angegebenen Infektionsfolge zeitgleich oder im Abstand von sechs Wochen intraperitoneal infiziert wurden. Der zweite Versuch umfaßte ebenfalls acht Tiergruppen (von jeweils elf bzw. zwölf Mäusen), bei denen die Infektionen zum gleichen Zeitpunkt, jedoch intraperitoneal und/oder subkutan erfolgten (Tab. 2).

TABELLE 1

Versuchsordnung der intraperitoneal zeitgleich oder im Abstand von 6 Wochen mit *E. multilocularis* (E) und/oder *M. corti* (M) infizierten NMRI-Mäuse (Versuch 1)

Gruppe	Infektionsfolge	
	Versuchsbeginn	nach 6 Wochen
1	E	—
2	M	—
3	E + M	—
4	M + E	—
5	E	M
6	M	E
7	—	M
8	—	M

TABELLE 2

Versuchsordnung und Zellenbesetzung der zeitgleich intraperitoneal und/oder subkutan mit *E. multilocularis* und/oder *M. corti* infizierten NMRI-Mäuse (Versuch 2)

Echinococcus multilocularis	Mesocestoides corti		
	∅	ip.	sc.
∅	X	11	11
ip.	11	12	12
sc.	11	12	12

Das Infektionmaterial entstammte intraperitoneal infizierten Spendermäusen. Eine injektionsfähige Suspension von *Echinococcus multilocularis*-Metazestoden wurde auf bereits früher beschriebene Weise hergestellt (2) und in einer Dosis von 0,8 ml/Maus intraperitoneal oder subkutan (je nach Versuchsansatz) appliziert. Für die *Mesocestoides corti*-Infektion wurden 0,05 ml Tetrathyridien-Sediment in 0,8 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und ip. oder sc. verabreicht.

Die Sektion der Versuchstiere erfolgte in der 17. und 18. Woche p. i. Die Befallsstärke mit *Echinococcus multilocularis* wurde anhand des Gewichtes der resezierten Metazestoden bestimmt. Für den Befall mit *Mesocestoides corti* wurde das Volumen der mit 0,9%iger NaCL-Lösung ausgewaschenen und in einem Meßzylinder sedimentierten Tetrathyridien als Bemessungsgrundlage herangezogen.

Als Test für die Bestimmung der Antikörperkonzentration diente ein ELISA (Antigenherstellung und Durchführung vgl. 5). Die Berechnung der Antikörperereinheiten (AE, vgl. Abb. 3) erfolgte unter Hinzuziehung gemittelter Extinktionswerte von jeweils 3 bis 6 positiven und negativen Kontrollseren nach folgender Formel:

$$AE = \frac{100 (\text{Testserum} - \text{negatives Kontrollserum})}{\text{positives Kontrollserum} - \text{negatives Kontrollserum}}$$

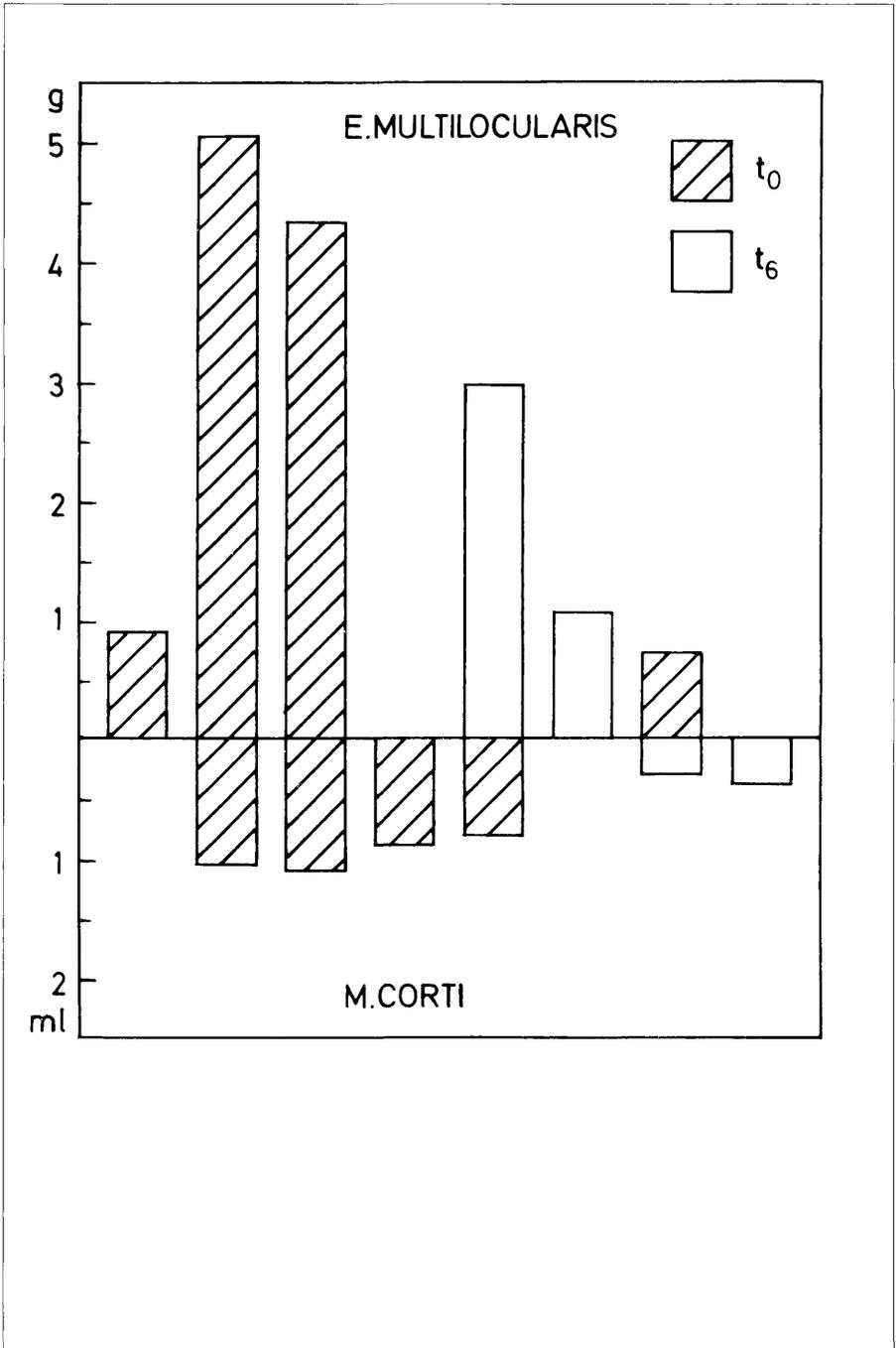


Abb. 1:

Intraperitonealer Befall von NMRI-Mäusen mit *Echinococcus multilocularis* (g) und *Mesocostoides corti* (ml) nach Einfachinfektion sowie gleichzeitiger oder im Abstand von 6 Wochen erfolgter Doppelinfektion.

t_0 = Infektion zu Versuchsbeginn · t_6 = Infektion 6 Wochen nach Versuchsbeginn

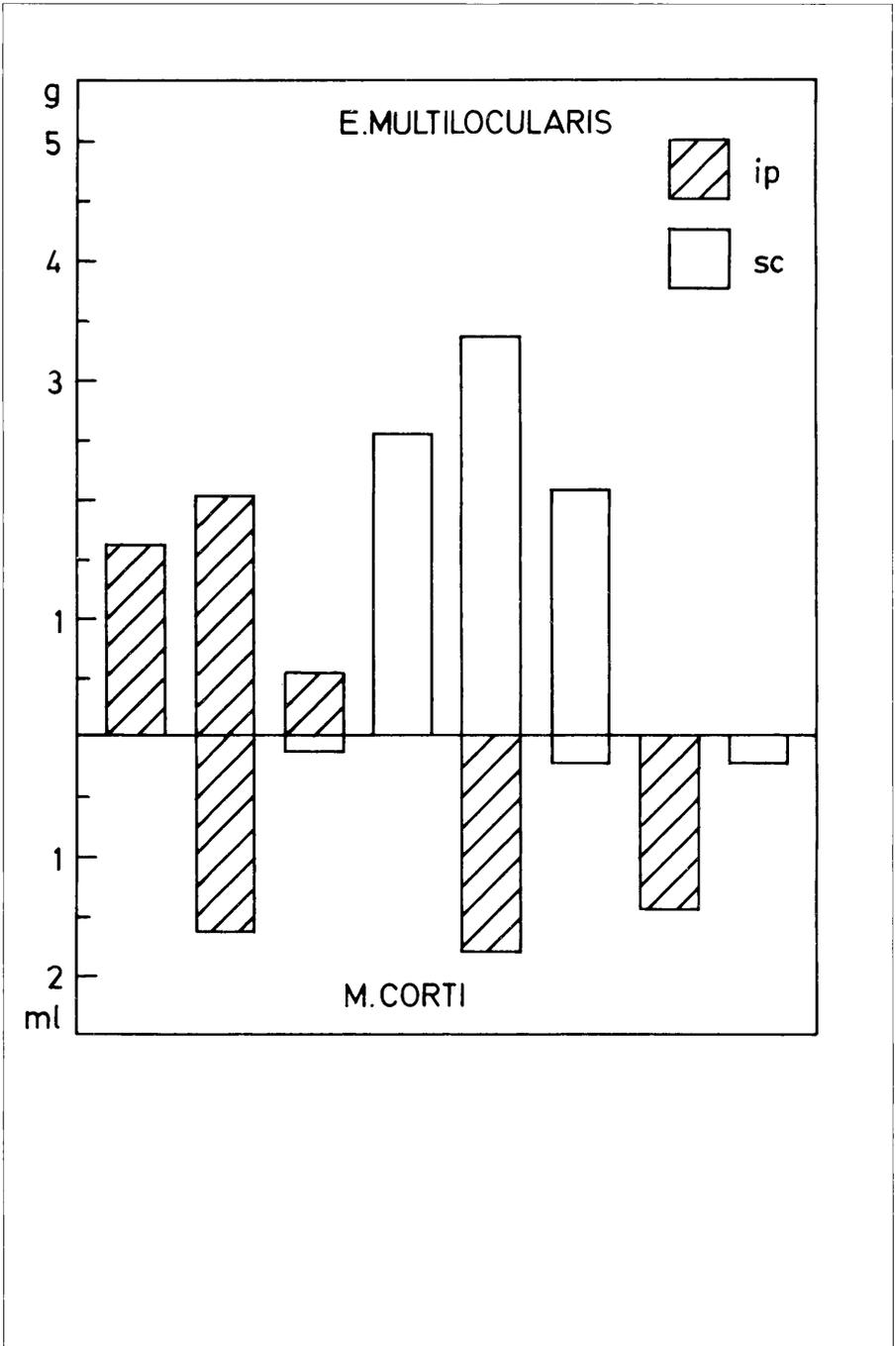


Abb. 2:

Befall von NMRI-Mäusen mit *Echinococcus multilocularis* (g) und *Mesocostoides corti* (ml) nach intraperitonealer (ip) und/oder subkutaner (sc) Einfach- oder Doppelinfektion.

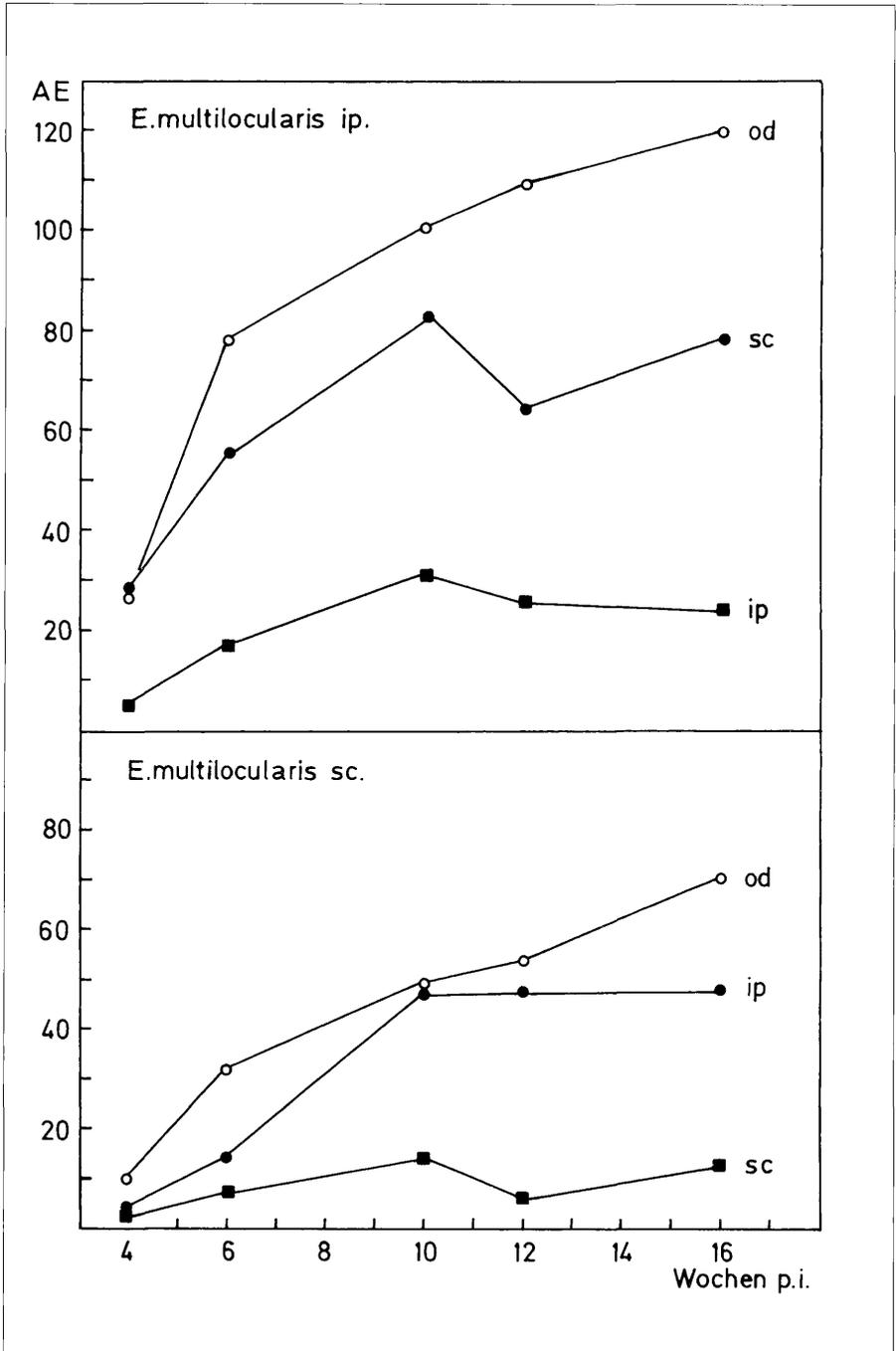


Abb. 3:

Verlaufskurven gegen *Echinococcus multilocularis* gerichteter Antikörper nach Einfachinfektion (od) und intraperitonealer oder subkutaner Doppelinfektion mit *Mesocostoides corti* (sc, ip) bei der NMRI-Maus.

AE = Antikörpereinheiten (vgl. Material und Methode)

Ergebnisse

1. Befallsstärke mit *E. multilocularis*

Die Sektionsbefunde von Versuch 1 (Abb. 1) ließen für den *Echinococcus*-Befall eine deutliche Wachstumsstimulation erkennen, wenn die Versuchstiere gleichzeitig mit Tetrathyridien von *M. corti* infiziert wurden. Gegenüber der Befallsstärke der ausschließlich mit *E. multilocularis* infizierten Mäuse (0,90 g) kam es nach gleichzeitiger Doppelinfektion mit *M. corti* zu einer Vervielfachung des Parasitengewichts (5,04 bzw. 4,33 g). Eine nach sechs Wochen vorgenommene Belastungsinfektion hatte dagegen keinen solchen Effekt (0,72 g). Dies gilt auch für Versuchstiere, denen zu Versuchsbeginn Tetrathyridien von *M. corti* und sechs Wochen später eine *Echinococcus*-Suspension appliziert worden war. Die Befallsstärke betrug dann 2,96 g, die der entsprechenden einfachinfizierten Kontrollgruppe 1,04 g.

In Versuch 2 ließ sich dieses Ergebnis für die ebenfalls intraperitoneal mit *E. multilocularis* infizierten Tiere nicht reproduzieren. Die durchschnittliche Befallsstärke von 1,38 g lag allerdings signifikant niedriger als bei Mäusen mit subkutanen Echinokokken (2,65 g; vgl. Abb. 2).

2. Befallsstärke mit *M. corti*

Der Befall mit *M. corti* wird weder durch eine gleichzeitige noch durch eine vorangehende oder nachfolgende Infektion mit *E. multilocularis* beeinflusst (Abb. 1 und 2). Es ließ sich lediglich eine höhere Vermehrungsrate der intraperitoneal gegenüber den subkutan angesiedelten Tetrathyridien feststellen (Abb. 2).

3. Nachweis von Antikörpern gegen *E. multilocularis*

In beiden Versuchsansätzen ergaben sich im ELISA deutlich höhere Antikörperkonzentrationen für die nur mit *E. multilocularis* infizierten Versuchstiere. Sie waren immer höher als nach Doppelinfektion mit *M. corti*, unabhängig von der zeitlichen Abfolge oder der Lokalisation der Parasiten. Für die Höhe der Differenz im Antikörpergehalt einfach- und doppelinfizierter Tiere spielt die Lokalisation der Parasiten allerdings eine wichtige Rolle. Sie ist immer dann am stärksten ausgeprägt, wenn beide Spezies am gleichen Ort angesiedelt sind (Abb. 3).

Befinden sich also *E. multilocularis* und *M. corti* in der Peritonealhöhle, so erreicht die Konzentration der gegen *Echinococcus* gerichteten Antikörper bei Versuchsabschluß nur ca. 20% der für einfachinfizierte Tiere gemessenen Werte. Bei der Kombination *E. multilocularis* ip./*M. corti* sc. erreicht der Endtiter mit etwa 65% einen Zwischenwert. Entsprechend verhält es sich bei subkutaner *Echinococcus*-Lokalisation: Ist *Mesocostoides* ebenfalls unter der Haut angesiedelt, dann weist das Serum nur einen geringen Endgehalt an Antikörpern auf (ca. 19%), während bei intraperitonealer Doppelinfektion mit *M. corti* 67% der Antikörperkonzentration einfachinfizierter Kontrolltiere erreicht wird.

4. Nachweis von Antikörpern gegen *M. corti*

Was die Produktion von Antikörpern, die gegen *M. corti* gerichtet sind, anbetrifft, so lassen sich keine statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den verschiedenen Tiergruppen nachweisen. Hier spielt weder die Lokalisation der Tetrathyridien noch diejenige der Metazestoden von *E. multilocularis* eine Rolle für die Immunantwort des Zwischenwirts.

Diskussion

Bisher mit *Mesocestoides corti* durchgeführte homologe oder heterologe Belastungs- bzw. Doppelinfektionen ergaben unterschiedliche Ergebnisse. Eine subkutane Applikation von Tetrathyridien führte zu einer ausgeprägten Resistenz gegenüber einer intraperitonealen Infektion mit demselben Parasiten (7). Ein bestehender oder gleichzeitiger *M. corti*-Befall unterdrückt aber auch Vermehrung und Reproduktionsfähigkeit anderer Parasiten. Dies wurde für *Taenia crassiceps* nachgewiesen, deren Metazestodenbildung sich dann als supprimiert erweist (6, 8). Dabei beobachtete JOYSEY (6) mit zunehmender Dauer einer Infektion mit *M. corti* eine Zunahme der Suppression, während andere Untersuchungen eher den gegenteiligen Effekt hatten (8).

Gehören die Parasiten, die zur Belastungsinfektion eingesetzt werden, dagegen zu einer anderen systematischen Gruppe, dann scheint der Effekt von *M. corti* nur wenig ausgeprägt zu sein, resultiert eine gleichzeitige oder nachfolgende subkutane Infektion mit *Schistosoma mansoni* doch lediglich in einer Verminderung der Bildung von Eigranulomen in der Leber (1), was auf eine Beeinträchtigung der Fekundität der Schistosomen hinweist. In diesem Falle wirkt sich der Doppelbefall in erster Linie negativ für *M. corti* aus, dessen Tetrathyridien-Bildung dann deutlich unterdrückt ist.

Zu diesen recht unterschiedlichen Befunden steuern die eigenen Untersuchungen eine weitere Facette bei, da sich ein gleichzeitiger Befall von Mäusen mit *M. corti* und *E. multilocularis* in einer Wachstumsbeschleunigung der *Echinococcus*-Metazestoden bei unbeeinträchtigter Tetrathyridien-Vermehrung äußert. Als Erklärung für die eigenen Ergebnisse muß in erster Linie an eine durch *M. corti* verursachte Immunsuppression gedacht werden. Dieses Argument stützt sich zum Teil auf die hier vorgelegten serologischen Befunde, die für doppelinfizierte Tiere eine deutliche Herabsetzung der Konzentration gegen *E. multilocularis* gerichteter Antikörper ergaben. Erhärtet wird die Annahme eines immunsuppressiven von *M. corti* ausgelösten Effekts durch noch nicht publizierte Ergebnisse, die durch Untersuchungen mit Hilfe des Western Blotting erzielt wurden (BLATTNER, unveröff.). Welche Mechanismen der angenommenen Immunsuppression allerdings zugrundeliegen, bleibt eine offene Frage. Dies gilt aber auch für den entgegengesetzten Einfluß, den ein *M. corti*-Befall auf simultane Infektionen mit den Metazestoden von *T. crassiceps*, die zur gleichen Familie (Taeniidae) gehört wie *E. multilocularis*, ausübt.

Zusammenfassung

Die gleichzeitige Infektion von NMRI-Mäusen mit Metazestoden von *Echinococcus multilocularis* und Tetrathyridien von *Mesocestoides corti* führt zu einer Stimulation des Echinokokkenwachstums, das in einer fünffach höheren Befallsstärke als bei einfachinfizierten Tieren resultiert. Eine im Abstand von sechs Wochen vorangegangene oder darauffolgende intraperitoneale Infektion mit *M. corti* bleibt dagegen ohne Effekt auf die Metazestoden von *E. multilocularis*. Der Befall mit *M. corti* wird weder durch eine gleichzeitige noch durch eine vorangegangene oder darauffolgende Infektion mit *E. multilocularis* beeinflusst.

Die vorgenommenen Doppelinfektionen wirken sich negativ auf die Bildung *Echinococcus*-spezifischer Antikörper aus, während die Antikörperantwort gegen *M. corti* unbeeinflusst bleibt. Das Ausmaß der Unterdrückung gegen *E. multilocularis* gerichteter Antikörper hängt von der Lokalisation der Parasiten ab. Es ist dann am deutlichsten ausgeprägt, wenn beide Helminthenspezies dieselbe Lokalisation (ip. oder sc.) aufweisen, und geringer, wenn eine Art intraperitoneal, die andere subkutan angesiedelt ist.

Schlüsselwörter

Echinococcus multilocularis, *Mesocestoides corti*, Doppelinfektion, Befallsstärke, Immunantwort.

Summary

Concurrent infections with metacestodes of *Echinococcus multilocularis* and *Mesocestoides corti* in NMRI-mice and their mutual effects

Simultaneous intraperitoneal infections of NMRI-mice with metacestodes of *E. multilocularis* and tetrathyridia of *M. corti* stimulate the growth of *Echinococcus* cysts resulting in a five times higher worm burden than in singly infected control animals. But there is no effect on the metacestodes of *E. multilocularis*, if the intraperitoneal inoculation of *M. corti* tetrathyridia precedes or follows the injection of alveolar hydatid material by six weeks. The propagation of *M. corti* tetrathyridia is not influenced by a concurrent *E. multilocularis* infection.

Concurrent infection of mice with *E. multilocularis* and *M. corti* results in a suppression of the formation of *Echinococcus* specific antibodies while the concentration of antibodies directed against *M. corti* shows no differences if compared with singly infected control animals. The degree of suppression depends on whether both parasites have the same location or not. It is highest if both grow either intraperitoneally or subcutaneously and is less if one species is located intraperitoneally and the other subcutaneously.

Key words

Echinococcus multilocularis, *Mesocestoides corti*, concurrent infection, worm burden, immune response.

Literatur

1. CHERNIN, J., MC LAREN, D. J., MORINAN, A., JAMIESON, B. N. (1988):
Mesocestoides corti: parameters of infection in CBA/Ca mice and the effect of introducing a concomitant trematode infection.
Parasitology 97, 393-402.
2. HINZ, E. (1972):
Die Entwicklung des sekundären *Echinococcus multilocularis* in der experimentell infizierten Maus. Eine quantitative Analyse.
Z. Tropenmed. Parasit. 23, 256-265.
3. HINZ, E. (1979):
Echinococcus multilocularis: Superinfektionen bei der experimentell infizierten Maus.
Tropenmed. Parasitol. 30, 387-390.
4. HINZ, E. (1985):
Echinococcus multilocularis: Weitere Untersuchungen über die Bedeutung von Superinfektionen bei der experimentell infizierten Maus.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 7, 85-91.
5. HINZ, E., GEHRIG, H. (1984):
Kreuzreaktionen von Nagetierseren mit *Echinococcus*-Antigen.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 10, 33-40.
6. JOYSEY, H. S. (1986):
Suppression of *Taenia crassiceps* during concurrent infection with *Mesocestoides corti* in mice.
Parasitology 92, 199-207.
7. KAZACOS, K. R. (1976):
Immunization of mice against *Mesocestoides corti* by subcutaneous inoculation of living tetrathyridia.
J. Parasitol. 62, 161-163.
8. NOVAK, M. (1984):
Cross-protection between the Metacestodes of *Mesocestoides corti* and *Taenia crassiceps* in mice.
Int. J. Parasitol. 14, 497-501.
9. SIEBERT, A. E., GOOD, A. H., SIMMONS, J. E. (1978):
Kinetics of primary and secondary infections with *Taenia crassiceps* metacestodes (Zeder, 1800) Rudolphi, 1810 (Cestoda: Cyclophyllidae).
Int. J. Parasitol. 8, 39-43.

KORRESPONDENZADRESSE:

Prof. Dr. Erhard Hinz
Abteilung für Parasitologie des Hygiene-Instituts der Universität Heidelberg

Im Neuenheimer Feld 324
D-6900 Heidelberg · Bundesrepublik Deutschland

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1990

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Hinz Erhard, Blattner Christine, Schmitt C.

Artikel/Article: [Doppelinfectionen mit Metazestoden von Echinococcus multilocularis und Mesocestoides corti bei der NMRI-Maus und ihre Wechselwirkungen. 141-150](#)