©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Mitt. Österr. Ges.
Tropenmed. Parasitol. 15 (1993)
51 – 60

Institut für Tropenmedizin der Universität Tübingen (Direktor: Prof. Dr. J. Knobloch) (1)
University of Strathclyde, Glasgow, UK (Head of Department: Prof. W. H. Stimson) (2)
Medical Research Station, Kumba, Cameroon (Chief of Station: R. Moyou) (3)
Fachgebiet Parasitologie der Universität Hohenheim (Leiter: Prof. Dr. R. Lucius) (4)

Onchozerkose in Mensch und Rind: Serologische Erkennung von artspezifischen und kreuzreaktiven Antigenen

Barbara Hoch[1], G. Wahl[1], P. Enyong[3], C. G. K. Lüder[1], W. Harnett[2], H. Schulz-Key[1], A. Renz[1, 4]

Einleitung

Onchocerca volvulus, der Erreger der menschlichen Onchozerkose, wird von Kriebelmücken der Gattung *Simulium* auf den Menschen übertragen. In weiten Teilen Afrikas findet man in diesen Überträgermücken jedoch nicht nur infektiöse Larven des Humanparasiten, sondern auch Entwicklungsstadien tierspezifischer Filarien (7, 17, 22, 23, 26). Diese stammen, soweit bekannt, hauptsächlich von *Onchocerca*-Arten der Rinder oder Filarien der Vögel und Wildtiere. Insbesondere in Rinderzuchtgebieten können über 90% der in den am Menschen anfliegenden Mücken gefundenen infektiösen Larven zu *Onchocerca ochengi,* einer in Zebu-Rindern weitverbreiteten Art, gehören (27). Da sowohl tierspezifische als auch humanpathogene *Onchocerca*-Larven vom gleichen Vektor übertragen werden, könnte dies die Epidemiologie und Immunpathologie der menschlichen Onchozerkose beeinflussen.

In den Rinderzuchtgebieten des Adamawa-Hochlandes in Nordkamerun ist die Onchozerkose zwar endemisch, jedoch findet man selten hohe Mikrofilariendichten in der Haut der Bewohner und kaum jemand leidet an onchozerkosebedingten Augenläsionen oder wird blind. Dies erstaunt angesichts der sehr hohen Simulidenanflugdichte am Menschen und des hohen Übertragungspotentials. Fast alle Rinder dieser Region sind mit *O. ochengi* infiziert (27, 28), und ganzjährig leben in diesem Gebiet vier bis zehnmal mehr Rinder als Menschen. In der weiter nördlich gelegenen Sudansavanne dagegen findet man viele Bewohner mit hohen Mikrofilarienlasten; Augenläsionen und Blindheit sind entsprechend häufig. Hier werden keine Rinder gehalten, lediglich in der Trockenzeit kommen nomadische Hirten mit ihren Rindern in dieses Gebiet, wobei das Verhältnis Rind zu Mensch dann etwa ausgeglichen ist. *Simulium damnosum s. l.* ist der Überträger von *O. ochengi* und von *O. volvulus.* Man kann davon ausgehen, daß sowohl die Rinderfilarie auf den Menschen als auch *O. volvulus* auf das Rind übertragen wird. *O. ochengi* entwickelt sich zwar vermutlich genausowenig im Menschen wie *O. volvulus* im Rind, dennoch könnte der ständige und überwiegende Kontakt mit infektiösen Larven von *O. ochengi* die dortige Bevölkerung durch Kreuzimmunität partiell gegen *O. volvulus* und somit vor chronischer und schwerer Onchozerkose schützen. Sowohl epidemiologische Befunde (24) als auch Immunisierungsexperimente mit Nagerfilarien (16) deuten darauf hin, daß in den Wirt eingedrungene dritte Larven eine heftige Immunantwort gegen später folgende Larven derselben Art hervorrufen und deren Entwicklung zum adulten Wurm bis zu über 90% verhindern (Prämunition).

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst *O. ochengi* und *O. volvulus* proteinbiochemisch verglichen und dann Patientengruppen aus einem Hochlandgebiet mit hohem Rinderbestand und einem Savannengebiet ohne Rinderzucht immunologisch untersucht. Dabei sollte

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

die Erkennung von *O. ochengi* und *O. volvulus* Antigenen durch Patienten und Rinderseren charakterisiert und die humorale Immunantwort von Hochlandbewohnern und Savannenbewohnern verglichen werden. Außerdem sollten Antigene von *O. ochengi* identifiziert werden, deren Erkennung durch Serumantikörper von Hochlandbewohnern auf den Kontakt mit *O. ochengi* hinweisen würde.

Material und Methoden

Parasiten

Adultwürmer von *O. ochengi* wurden von Schlachtrindern in Ngaoundéré (Hochland, Nordkamerun) gesammelt. Onchozerkome wurden entfernt und die Adultwürmer durch enzymatische Verdauung des Wirtsgewebes mit Kollagenase isoliert (25). *O. volvulus*-Adultwürmer stammten aus Knoten von Onchozerkosepatienten der Zentralregion von Togo/Westafrika. Onchozerkome wurden unter Lokalanaesthesie chirurgisch entfernt und die Würmer ebenfalls enzymatisch isoliert.

Antigenextrakte

Adulte, gravide Exemplare von *O. ochengi* und *O. volvulus* wurden in detergenzhaltigem Extraktionspuffer (1% [w/v] NaDOC in 10 mM Tris/HCl pH 8,0) in Gegenwart von Proteaseinhibitoren (50 µg/ml TLCK, 100 µg/ml PMSF und 1 mM EDTA) in einem Ten-Broek Gewebe-Homogenisator 30 min auf Eis homogenisiert. Danach wurden die Extrakte zweimal 10 min auf Eis mit einem Ultraschalldesintegrator (Modell 250, Branson) mit einem Intervallzyklus von 20% beschallt und anschließend 20 min bei 16.000 g und 4° C zentrifugiert. Der Proteingehalt des Überstandes wurde mit dem BCA-Test (Pierce, USA) entsprechend den Angaben des Herstellers bestimmt. Bis zur Weiterverwendung wurden die Proteinextrakte bei -70° C aufbewahrt.

Seren

Humanseren stammten von drei Patientengruppen von jeweils zehn Onchozerkosepatienten aus dem Adamawa-Hochland (Rinderzucht), der Sudansavanne und dem Regenwald in Kamerun. Die epidemiologische Situation der drei Gebiete ist in Tabelle 1 zusammengefaßt. Rinderseren stammten von *O. ochengi*-infizierten Zeburindern (Gudali-Rasse) aus dem Hochland von Nordkamerun.

Tabelle 1:

Epidemiologische Daten zu den Untersuchungsgebieten

	Hochland* (Rinderzucht)	**Savanne***	**Regenwald****
Onchozerkose-Prävalenz+	hypoendemisch 17%	hyperendemisch 67%	hyperendemisch 94%
Prävalenz von Augenläsionen++	4,5%	22%	14%
Onchocerca ssp. Übertragungspotential+++	7% *O. volvulus* 93% *O. ochengi*	50% *O. volvulus* 20% *O. ochengi* 30% *O. spec.*	keine *O. ochengi*
O. volvulus-Übertragungspotential	1800	270	88.000

* Wahl & Enyong, unveröffentlichte Resultate
** Duke et al. 1972
\+ in Personen im Alter über 5 Jahre
++ sklerotisierende Keratitis, Iritis, Atrophie d. opt. Nervs, u./o. Chorioretinitis in Personen über 5 Jahren
+++ Anzahl infektiöser Larven, die auf den Menschen in einem Jahr übertragen werden können

Die Daten wurden in den Dörfern Galim/Seoua (Hochland-Rinderzuchtgebiet), Karna/Vourney (Savanne) und Bolo (Regenwald) bestimmt.

Elektrophorese und Immunblotting

Polyacrylamid-Elektrophoresen in Gegenwart von Natriumdodecylsulfat (SDS) wurden in 5 - 17,5% (w/v) PAA-Gradientengelen in einer wassergekühlten Vertikalkammer (Modell 220, Biorad) durchgeführt (14). Die Molekulargewichte wurden anhand einer Standardkurve parallel aufgetrennter Markerproteine bestimmt (Sigma).

Zur Darstellung der Proteingesamtprofile wurden Proteinextrakte in einer Konzentration von 6 µg/cm Gelbreite aufgetrennt und die Gele anschließend silbergefärbt (4).

Für Antikörperbindungstests wurden die Adultwurm-

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

extrakte durch SDS-PAGE aufgetrennt (40 µg Protein/cm Gelbreite) und durch das Semi-Dry-Verfahren (13) auf Nitrozellulosemembran (Biotec-Fischer) transferiert. Diese wurde in 4 mm breite Streifen geschnitten, 15 min in TBS (0,9% NaCl, 10 mM Tris/HCl, pH 7,4) gewaschen und zur Absättigung unspezifischer Bindungsstellen in Blockierreagenz (5% Magermilchpulver, 0,2% Tween-20, 0,02% NaN_3 in TBS) über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach dem Waschen (3 × 5 min in 0,05% Tween-20 in TBS, 3 × 5 min in TBS) wurden die Streifen mit Human- bzw. Rinderserum (1 : 200) in 5% Magermilch, 0,05% Tween-20, 0,02% NaN_3 in TBS für zwei Stunden inkubiert. Nach erneutem Waschen wurde mit einem zweiten Antikörper in obigem Medium für weitere zwei Stunden inkubiert (Alkalische Phosphatase-konjugiertes Ziege-anti-Rind-IgG, Dianova; Ziege-anti-human-IgG, Sigma; Maus-anti-human-IgG3, Zymed), danach wie oben gewaschen und gebundene Antigen-Antikörper-Komplexe durch Zugabe von Substratlösung (0,033% (w/v) Nitroblautetrazoliumchlorid, 0,0165% (w/v) 5-Bromo-4-Chloro-3-Indoxylphosphat in 0,1 M Tris/HCl, pH 9,5 mit 0,1 M NaCl und 0,005 M $MgCl_2$) sichtbar gemacht.

Ergebnisse

Proteinbiochemische Charakterisierung

Durch eindimensionale SDS-PAGE und anschließende Silberfärbung ließen sich Gesamtproteinextrakte weiblicher *O. ochengi* und *O. volvulus* über einen Molekulargewichtsbereich von 205 - 10 kDA auftrennen (Abb. 1). Beide Filarienextrakte zeigten ein überwiegend identisches Proteinmuster, wobei eine Proteinbande von ca. 32 kDA nur bei *O. ochengi* auftrat und ein Protein von ca. 16 kDa nur bei *O. volvulus* nachzuweisen war. Deutliche quantitative Unterschiede in der Intensität einzelner Proteinbanden weisen auf eine unterschiedliche Zahl an Polypeptiden hin.

Antigenerkennung durch Rinderseren

Durch SDS-PAGE aufgetrennte und auf Nitrozellulose übertragene Proteinextrakte wurden mit Seren von *O. ochengi*-infizierten Rindern auf ihre Antigenität untersucht (Abb. 2). Immunglobuline aus Rinderseren banden eine Vielzahl von *O. ochengi*- und *O. volvulus*-Antigenen (Abb. 2 A und B), wobei bei den getesteten Seren weitgehend identische Antigenerkennungsmuster festgestellt wurden. Allerdings waren auch individuelle Unterschiede zu sehen (z. B. Abb. 2 B, Streifen 1 und 2). In beiden Filarienextrakten trat eine beträchtliche Zahl kreuzreaktiver Proteine auf. Die stärkste Kreuzreaktivität war zwischen 30 und 100 kDa zu sehen. Unterhalb von 30 kDa war die *O. ochengi*-Spezifität höher. Durchgehend von allen Rinderseren wurden *O. ochengi*-spezifische Antigene von 16, 14,5, 14 und 12 kDa erkannt, wobei ein *O. ochengi*-Bandenduplett von 28 kDa besonders auffallend war.

Antigenerkennung durch Humanseren

Humanseren aus der Savanne und dem Hochland (Rinderzucht) wurden durch Immunblotanalysen qualitativ auf ihre *O. ochengi*- und *O. volvulus*-spezifische IgG-Antwort untersucht (Abb. 3). Antikörper von Onchozerkose-Patienten banden eine Vielzahl von *O. ochengi*- und *O. volvulus*-Antigenen, wobei die Antigenerkennung bei den Patienten individuell stark variierte. Auch hier bestand eine intensive Kreuzreaktivität zwischen beiden Filarien-Extrakten, sodaß bei einigen Patienten fast identische Antigenerkennungsmuster zu beobachten waren (Abb. 3 A und B, Streifen 4).

Nur Patienten aus der Savanne erkannten einige niedermolekulare Antigene mit Molekulargewichten von 16, 15, 14,5 und 13,5 kDa (Abb. 3, 1-4). Darüberhinaus war bei diesen Patienten die Erkennung von *O. ochengi*-Antigenen schwächer als von *O. volvulus*-Antigenen (Abb. 3, 1-4). Patientenseren aus dem Rinderzuchtgebiet zeigten insgesamt eine deutlich schwächere Antigenerkennung als Seren von Savannenbewohnern (Abb. 3, 5-8). Antikörper von Patienten aus dem Rinderzuchtgebiet erkannten jedoch bevorzugt *O. ochengi*-Antigene im Molekulargewichtsbereich von ca. 20 - 30 kDa stärker als die entsprechenden *O. volvulus*-Antigene, was auf den Kontakt dieser Patienten mit der Rinderfilarie hinweist (Abb. 3, 5-8). *O. ochengi*-spezifische Antigene, die ausschließlich von Patientenseren aus dem Hochland erkannt wurden, konnten nicht identifiziert werden.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

IgG3-Reaktivität von Patientenseren

Um die IgG-Antwort von Patienten zu differenzieren, wurde die subklassenspezifische Reaktivität untersucht. Das auffälligste Ergebnis war in der IgG3-Antwort zu beobachten (Abb. 4). IgG3-Antikörper von Onchozerkosepatienten waren hauptsächlich gegen höhermolekulare *Onchocerca*-Antigene gerichtet, unterhalb von ca. 20 kDa wurden nur noch vereinzelt Antigene gebunden. Patienten aus dem Hochland (Abb. 4, 1-4) hatten auch hier eine auffallend schwächere Immunantwort als Patienten aus der Savanne (Abb. 4, 5-8) und dem Regenwald (Abb. 4, 9-12). Sie erkannten aber deutlich mehr Antigene von *O. ochengi* als von *O. volvulus* (Abb. 4, 1-4), während Humanseren aus der Savanne und dem Regenwald bei beiden Parasiten annähernd gleiche Antigene erkannten (Abb. 4, 5-12). Die deutlich vermehrte Erkennung von *O. ochengi*-Antigenen durch IgG3 weist somit auf den Kontakt von Hochlandbewohnern mit der Rinderfilarie hin.

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Antigene von *O. ochengi* und *O. volvulus* proteinbiochemisch und immunologisch charakterisiert und die durch diese Filarien induzierte Immunantwort bei Mensch und Rind verglichen.

In den Extrakten beider Filarien konnten weitgehend homologe Proteinmuster festgestellt werden. Diese Beobachtung dokumentiert die nahe Verwandtschaft dieser Filarien, die wahrscheinlich in Boviden einen gemeinsamen Ursprung haben (2). Diese hohe Homologie sehen wir als Voraussetzung für eine heterologe Schutzvermittlung, wobei die Effizienz dieser Kreuzimmunität wahrscheinlich vom ständigen und intensiven Kontakt mit *O. ochengi* abhängt. Hinweise auf eine mögliche protektive Immunität, die durch heterologe Spezies ausgelöst wird, liefern auch Versuche in Tiermodellen. In weißen Mäusen konnte durch Immunisierung mit *O. lienalis*-Mikrofilarien eine 96%ige Reduktion nachfolgend injizierter *O. volvulus*-Mikrofilarien erreicht werden (3).

Die große Ähnlichkeit beider Filarien führt auch zu einer starken serologischen Kreuzreaktivität, die immunologische Charakterisierungen erschwert und große Probleme bei der parasiten-spezifischen Diagnostik der Onchozerkose aufwirft (9, 15, 18).

In unserer Studie banden Antikörper von Patienten aus der Savanne und dem Regenwald bei beiden Filarien annähernd gleiche oder sogar mehr *O. volvulus*-Antigene, wohingegen Hochlandbewohner Antigene von *O. volvulus* schwächer erkannten als von *O. ochengi*. Dies deutet auf den Kontakt von Hochlandbewohnern mit der Rinderfilarie hin. Kreuzreaktivität allein kann diese Beobachtung nicht erklären, denn sonst müßte sich bei Savannen- und Regenwaldbewohnern ein ähnlicher Befund ergeben.

Unsere Untersuchungen zeigten Unterschiede in der IgG3-Antwort bei den einzelnen Patientengruppen. IgG3-Antikörper von Hochlandbewohnern banden mehr *O. ochengi*-Antigene als *O. volvulus*-Antigene. Auch dies sind Anzeichen für den Kontakt von Hochlandbewohnern mit dritten Larven von *O. ochengi* und erste Hinweise auf eine mögliche Schutzvermittlung. Eine verstärkte Antigenerkennung durch IgG3-Antikörper wurde auch bei mikrofilariennegativen Onchozerkosepatienten aus Guatemala beobachtet und dort ebenfalls mit einer schutzvermittelnden Funktion in Verbindung gebracht (5). In anderen Studien konnte gezeigt werden, daß eine differenzierte IgG3-Antwort gegen Filarienantigene mit bestimmten klinischen Manifestationen korreliert (12, 20).

IgG3-Antikörper von einigen Patienten aus der Savanne banden *O. ochengi*-Antigene stärker als *O. volvulus*-Antigene (Abb. 4, 6). Da in der Savanne in der Trockenzeit Rinder gehalten werden, können auch dort infektiöse Larven von *O. ochengi* auf den Menschen übertragen werden. Eine kreuzimmunisierende Wirkung erscheint angesichts des 100fach geringeren *O. ochengi*-Übertragungspotentials aber unwahrscheinlich.

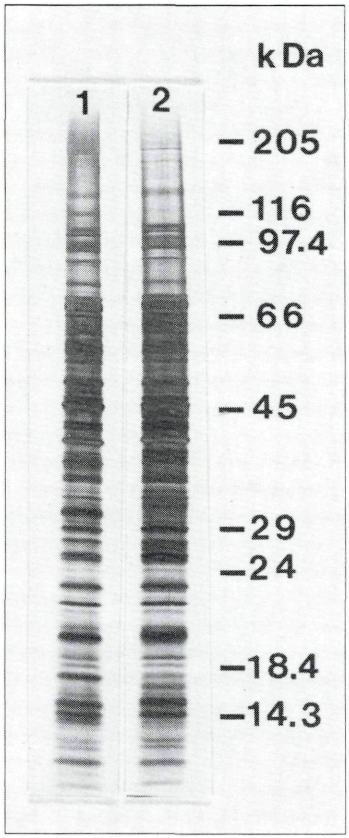

Abbildung 1:

Gesamtproteinprofil gravider *O. ochengi* (Spur 1) und *O. volvulus* (Spur 2). Proteinextrakte (3 µg/Spur) wurden durch SDS-PAGE (Porengradient 5-17,5% T) aufgetrennt und silbergefärbt.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

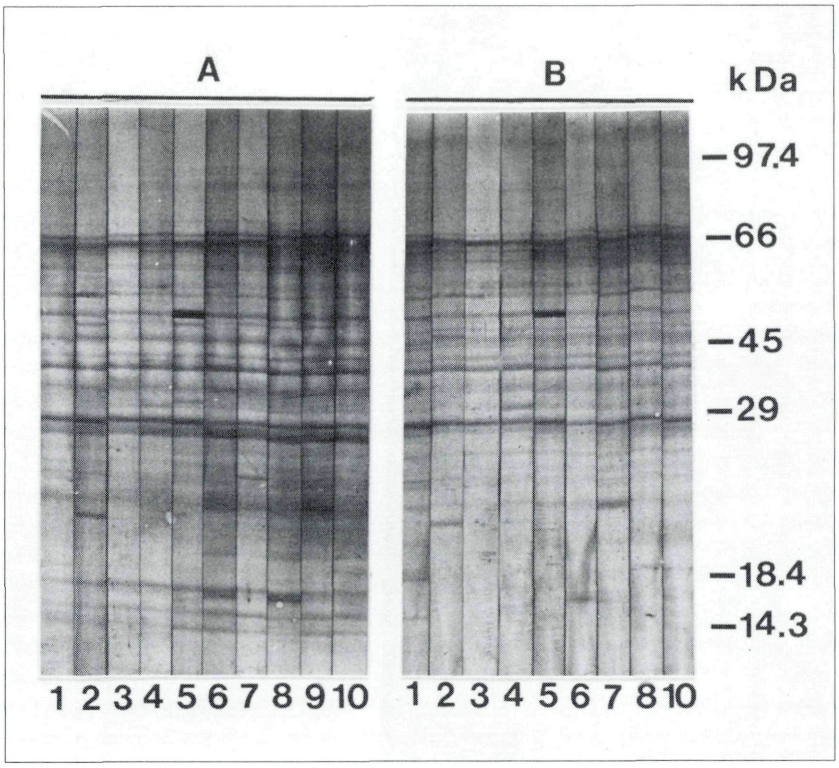

Abbildung 2:

Reaktivität von Rinder-IgG (*O. ochengi* infizierte Rinder, 1-10) mit *O. ochengi* (A)- und *O. volvulus* (B)-Adultwurmhomogenisat. Gesamtproteinextrakte gravider Würmer wurden durch SDS-PAGE aufgetrennt (30 µg/cm Gelbreite) und auf Nitrozellulose transferiert. Anschließend wurden die Blotstreifen mit individuellen Rinderseren inkubiert und die Antigen-Antikörper-Komplexe durch Inkubation mit einem Rind-IgG-spezifischen Antikörper (1 : 2500 verdünnt) und Farbreaktion nachgewiesen. Molekulargewichtsmarker (kDa) sind auf der rechten Seite der Abbildung angeführt.

Onchozerkosepatienten aus dem Rinderzuchtgebiet hatten insgesamt eine schwächere humorale Immunantwort. Dies kann bedeuten, daß Hochlandbewohner zwar infiziert sind, ihre Parasitenlast jedoch niedriger ist als bei Savannen- oder Regenwaldpatienten, denn die parasitenspezifischen Antikörper-Titer korrelieren im Verlauf einer Filarieninfektion mit der Parasitenlast positiv (6). Bei einer Filarieninfektion ist die Immunabwehr zunächst gegen dritte und vierte Larven gerichtet. Da bei unserer Untersuchung Gesamthomogenisat adulter *O. ochengi* bzw. *O. volvulus* eingesetzt wurde, muß in Betracht gezogen werden, daß Hochlandbewohner möglicherweise einen höheren Immunglobulin-Titer gegen Antigene infektiöser dritter Larven aufweisen. Im Hochland-Rinderzuchtgebiet werden sehr viel häufiger infektiöse Larven beider Filarienspezies übertragen. Unterstützt wird diese Vermutung durch die Beobachtung, daß vermeintlich immune Personen larvale *Onchocerca*-Antigene erkennen, die von Antikörpern infizierter Personen nicht gebunden werden (19).

In hyperendemischen Filariosegebieten findet man bei vermeintlich immunen (infektionsfreien) Personen außerdem eine ausgeprägte zellvermittelte Immunantwort (11, 21) bei gleichzeitig niedrigen Titern von zirkulierenden parasitenspezifischen Antikörpern (29). Umgekehrt zeigen mikrofilarienpositive Personen eine supprimierte zelluläre Reaktivität bei höheren Antikörpertitern (10, 11). So betrachtet entspricht das Patientenkollektiv aus den Rinderzuchtgebieten Personen, die schwächer immunsupprimiert sind als die Patienten aus der Savanne und dem Regenwald.

Unsere Hypothese, daß die intensive Übertragung von *O. ochengi* durch den Vektor der menschlichen Onchozerkose im Hochland von Nordkamerun eine Kreuzimmunität (concomitant immunity) in den Hochlandbewohnern induzieren und sie so vor schwerer Onchozerkose schützen könnte, findet durch diese Untersuchungen Unterstützung.

Als nächstes wird die gegen infektiöse dritte Larven gerichtete Immunantwort und die zellvermittelte Immunantwort dieser Patienten untersucht werden, um die beteiligten Mechanismen näher zu charakterisieren.

Zusammenfassung

In Rinderzuchtgebieten von Nordkamerun ist die menschliche Onchozerkose endemisch, allerdings findet man trotz eines hohen Übertragungspotentials kaum schwere Onchozerkose in der dortigen Bevölkerung. *Simulium damnosum s. l.*, der Überträger von *O. volvulus*, überträgt hier auch *O. ochengi*, eine Rinderfilarie, mit der fast alle Rinder dort befallen sind. Die ständige und überwiegende Übertragung infektiöser Larven von *O. ochengi* auf den Menschen könnte eine Kreuzimmunität induzieren, denn im nördlicher gelegenen Savannengebiet ohne Rinderzucht findet man häufig onchozerkosebedingte Augenläsionen und Blindheit in der Bevölkerung.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

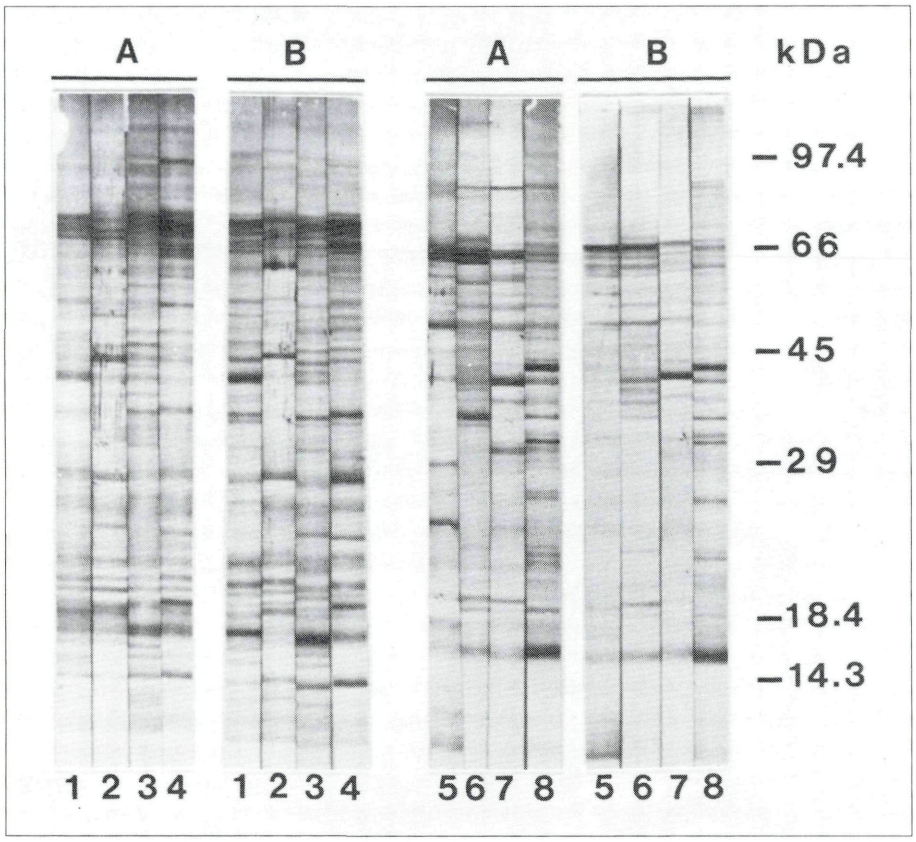

Abbildung 3:

Reaktivität von humanem IgG mit *O. ochengi* (A) -und *O. volvulus* (B) -Antigenextrakt. Onchozerkosepatienten stammten aus der Savanne (1-4) und dem Hochland (5-8) Nordkameruns. Gesamtproteinextrakte gravider Weibchen wurden in einer SDS-PAGE (5-17,5% T) aufgetrennt (14 µg Protein pro Blotstreifen) und auf Nitrozellulosemembran transferiert. Antigen-Antikörper-Komplexe wurden durch Inkubation mit einem zweiten Antikörper (1 : 5000) und Farbreaktion nachgewiesen.

Die serologische Reaktivität zweier Patientengruppen aus dem Hochland (Rinderzucht) und der Savanne, sowie *O. ochengi*-infizierter Rinder wurde untersucht. Nach SDS-PAGE und Immunblotting wurde eine hohe Homologie zwischen beiden Filarien im Proteingesamtprofil und in der Antigenerkennung deutlich. Der Vergleich zwischen der Antigenerkennung vom Patienten aus dem Hochland (Rinderzucht) und der Savanne ergab deutliche Unterschiede, was unter anderem in der Erkennung von niedermolekularen Antigenen ausschließlich durch Patienten aus der Savanne und der schwächeren Immunantwort von Patienten aus dem Hochland sichtbar wurde. Serum-Antikörper (IgG) von Patienten aus dem Hochland banden mehr Antigene von *O. ochengi* als von *O. volvulus*. Die hohe Homologie zwischen *Onchocerca ochengi* und *O. volvulus* und die Unterschiede in der serologischen Reaktivität zwischen Onchozerkosepatienten aus dem Hochland (Rinderzucht) und der Savanne unterstützen die Hypothese einer Kreuzimmunität, die durch infektiöse Larven der Rinderfilarie *O. ochengi* induziert sein könnte.

Schlüsselwörter

Onchocerca ochengi, Onchozerkose, Kreuzimmunität, Immunblotting, Antigenerkennung.

Summary

Onchocerciasis of cattle and man: Serological recognation of species specific and cross-reactive antigens

The endemicity of human onchocerciasis in North-Cameroon can be related to the presence of cattle. In areas of intensive cattle breeding, i. e. in the highland, human onchocerciasis is hypoendemic, although the transmission of infective third-stage larvae is ten times higher than in the hyperendemic savanna area, where cattle breeding is almost non existent. Despite this extremly high transmission rate severe onchocerciasis in the human population of the highland is rare. *Simulium damnosum s. l.,* the vector of human onchocerciasis in this area also transmits *O. ochengi,* a hyperendemic cattle filaria. It is thought, that the ongoing and high transmission of infective *O. ochengi* larvae might induce cross-protective immunity in man, since in the savanna region, without cattle breeding, onchocerciasis-associated eye lesions and blindness are more frequently found in the human population.

In this study we analysed the serological reactivity of patients living in the highland (cattle breeding) or savanna area, and of cattle infected with *O. ochengi.* In experiments using SDS-PAGE and immunoblotting the two filariae showed a high homology, as to their protein composition and pattern of antigen recognition. However, comparison of the patient groups

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

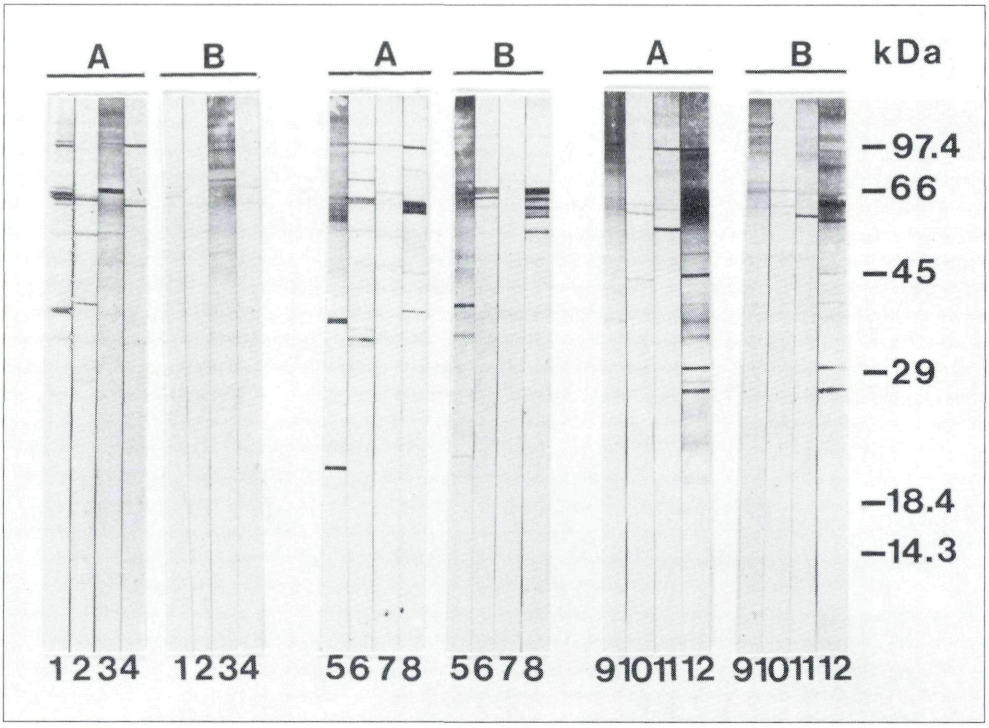

Abbildung 4:

Reaktivität von humanem IgG3 mit Gesamtextrakt gravider *O. ochengi* (A) und *O. volvulus* (B). Onchozerkosepatienten stammten aus dem Hochland (1–4), der Savanne (5–8) und dem Regenwald (9–12) Nordkameruns. Proteine wurden durch SDS-PAGE (5–17,5% PAA) aufgetrennt, auf Blotmembranen übertragen und gebildete Antigen-Antikörper-Komplexe durch einen enzymgekoppelten zweiten Antikörper (1 : 850) und Farbreaktion nachgewiesen.

revealed distinct differences in respect to their antigen recognition; low molecular weight antigens were only recognized by patients from the savanna and not by those from the highland, who had generally a weak humoral immune response. Serum-antibodies (IgG) of patients from the highland cattle breeding area bound more *Onchocerca ochengi* antigens than *O. volvulus* antigens. The high homology between *O. ochengi* and *O. volvulus* and the differences in the serological reactivity between patients from the cattle breeding area and the savanna support our hypothesis of cross-protective (concomitant) immunity, induced by infective larvae of the filarial cattle parasite *O. ochengi*.

Key words

Onchocerca ochengi, onchocerciasis, cross-protection (concomitant immunity), immunoblotting, antigen recognition.

Danksagung

Für die Mitwirkung bei der Beschaffung der Seren danken wir Dr. H. Tubbesing, Dr. P. Soboslay für seine Diskussionsbereitschaft und für die kritische Durchsicht des Manuskripts, sowie dem kameruner Forschungsministerium für die Erteilung der Forschungserlaubnis.

Mit finanzieller Unterstützung durch die Kommission der Europäischen Gemeinschaften (TS2/0184-D und TS3*CT 92-0056).

Literatur

1. ANDERSON, J., FUGLSANG, H., HAMILTON, P. J. S., MARSHALL, R. F. de C. (1974): Studies of onchocerciasis in the United Cameroon Republic II. Comparison of onchocerciasis in rain-forest and Sudan-savanna. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 68, 209–222.

2. BAIN, O. (1981): Le genre Onchocerca: hypothèses sur son évolution et le dichotomique des espèces. Ann. Parasit. Hum. Comp. 56, 503–562.

3. BIANCO, A. E., LUTY, A., WHITWORTH, J., TAYLOR, D. (1991): Immunity to Onchocerca volvulus microfilariae in mice and the induction of cross-protection with O. lienalis. Trop. Med. Parasitol. 42, 188–190.

4. BLUM, H., BEIER, H., GROSS, H. J. (1987): Improved silverstaining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamid gels. Electrophoresis 8, 93–99.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

5. BOYER, A. E., TSANG, V. C. W., EBERHARD, M. L., ZEA-FLORES, G., HIGHTOWER, A., PILCHER, J. B., ZEA-FLORES, R., ZHOU, W., REIMER, C. B. (1991):
Guatemalan human onchocerciasis. II. Evidence for IgG3 involvment in acquired immunity to Onchocerca volvulus and identification of possible immune-associated antigens.
J. Immunol. 146, 4001-4010.

6. DAFA'ALLA, T. H., GHALIB, H. W., ABDELMAGEED, A. WILLIAMS, J. F. (1992):
The profile of IgG and IgG subclasses of onchocerciasis patients.
Clin. exp. Immunol. 88, 258-263.

7. DUKE, B. O. L. (1967):
Infective larvae, other than Onchocerca volvulus in Simulium damnosum.
Ann. Trop. Med. Parasit. 61, 200-205.

8. DUKE, B. O. L., MOORE, P. J., ANDERSON, J. (1972):
Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. VII. A comparison of the Onchocerca volvulus transmission potentials of Simulium damnosum populations in four Cameroon rain-forest villages and the pattern of onchocerciasis associated therewith.
Ann. Trop. Med. Parasit. 66, 219-234.

9. FORSYTH, K. P., COPEMAN, D. B., ANDERS, R. F., MITCHELL, G. F. (1981):
The major radionated cuticular antigens of Onchocerca gibsoni microfilariae are neither species nor Onchocerca specific.
Acta Tropica 38, 343-352.

10. GALLIN, M., EDMONDS, K., ELLNER, J. J., ERTTMANN, K. D., WHITE, A. T., NEWLAND, H. S., TAYLOR, H. R., GREENE, B. M. (1988):
Cell-mediated immune responses in human infection with Onchocerca volvulus.
J. Immunol. 140, 1999-2007.

11. GREENE, B. M., FANNING, M. M., ELLNER, J. J. (1983):
Non-specific supression of antigen-induced lymphocyte blastogenesis in Onchocerca volvulus infection in man.
Clin. exp. Immunol. 52, 259-265.

12. HUSSAIN, R., GROGL, M., OTTESEN, E. A. (1987):
IgG antibody subclasses in human filariasis: differential subclass recognition of parasite antigens correlates with different clinical manifestations of infection.
J. Immunol. 139, 2794-2798.

13. KYHSE-ANDERSON, J. (1984):
Electroblotting of multiple gels: a simple apparatus without buffer tank for rapid transfer of proteins from polyacrylamide to nitrocellulose.
J. Biochem. Biophys. Methods. 10, 203-209.

14. LAEMMLI, U. K. (1970):
Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.
Nature 227, 680-685.

15. LOBOS, E., WEISS, N. (1986):
Identification of non-cross-reacting antigens of Onchocerca volvulus with lymphatic filariasis serum pools.
Parasitology 93, 389-399.

16. LUCIUS, R., TEXTOR, G., KERN, A., KIRSTEN, C. (1991):
Acanthocheilonema viteae: Vaccination of jirds with irradiation-attenuated stage-3 larvae and with exported larval antigens.
Experimental Parasitology 73, 184-196.

17. NELSON, G. S., PESTER, F. R. N. (1962):
The identification of infective larvae in Simuliidae.
Bulletin of the WHO 27, 472-481.

18. NEPPERT, J. (1974):
Cross-reacting antigens among some filariae and other nematodes.
Tropenmed. Parasitol. 25, 454-463.

19. NUTMAN, T. B., STEEL, K., WARD, D. J., ZEA-FLORES, G., OTTESEN, E. A. (1991):
Immunity to onchocerciasis: Recognition of larval antigens by humans putatively immune to Onchocerca volvulus infection.
J. Infect. Diseases 163, 1128-1133.

20. PARKHOUSE, R. M. E., CABRERA, Z., HARNETT, W. (1987):
Onchocerca antigens in protection, diagnosis and pathology.
In: Filariasis (Ciba Foundation Symposium 127), pp. 125-145, Wiley, Chichester.

21. PIESSENS, W. F., RATIWAYANTO, S., TUTI, S., PALMIERI, J. H., PIESSENS, P. W., KOIMAN, I., DENNIS, D. T. (1980):
Antigen-specific suppressor cells and suppressor factors in human filariasis with Brugia malayi.
N. Engl. J. Med. 302, 833-837.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

22. OMAR, M. S., GARMS, R. (1981):
Histochemical differentiation of filarial larvae found in Simulium damnosum s. l. in Westafrica.
Trop. Med. Parasitol. 32, 259–264.

23. RENZ, A. (1987):
Studies on the dynamics of transmission of onchocerciasis in a Sudan-savanna area of North Cameroon III.
Infection rates of the Simulium vectors and Onchocerca volvulus transmission potentials.
Ann. Trop. Med. Parasit. 81, 239–252.

24. RENZ, A., WENK, P., ANDERSON, J., FUGLSANG, H. (1987):
Studies on the dynamics of transmission of onchocerciasis in a Sudan-savanna area of North Cameroon V.
What is a tolerable level of Annual Transmission Potential?
Ann. Trop. Med. Parasit. 28, 428–430.

25. SCHULZ-KEY, H., ALBIEZ, E. J., BÜTTNER, D. W. (1977):
Isolation of living adult Onchocerca volvulus from nodules.
Tropenmed. Parasit. 28, 428–430.

26. VOELKER, J., GARMS, R. (1972):
Zur Morphologie unbekannter Filarienlarven aus dem Onchozerkoseüberträger Simulium damnosum und aus S. kenyae in Liberia und zur Frage der möglichen Endwirte.
Trop. Med. Parasit. 23, 285–301.

27. WAHL, G. (1991):
Die Onchocerca Arten der Rinder in Nord-Kamerun und ihre Bedeutung für die Epidemiologie der menschlichen Onchozerkose.
Dissertation Universität Tübingen.

28. WAHL, G., RENZ, A. (1989):
Onchocerca species of cattle and game in North Cameroon.
Trop. Med. Parasitol. 40, 387.

29. WARD, D. J., NUTMAN, T. B., ZEA-FLORES, G., PORTOCARRERO, C., LUJAN, A., OTTESEN, A. E. (1988):
Onchocerciasis and immunity in humans: Enhanced T cell responsiveness to parasite antigen in putatively immune individuals.
J. Infect. Dis. 157, 436–543.

30. YADJI, M. (1983):
Etude clinique et épidémiologique de l'onchocercose dans l'arrondissement de Ngaoundéré.
Dissertation Universität Yaoundé, Kamerun.

Korrespondenzadresse: Dr. Alfons Renz
Fachgebiet Parasitologie der Universität Hohenheim

Emil-Wolff-Straße 34
D-70599 Stuttgart 70 · Bundesrepublik Deutschland

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

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: 1993

Band/Volume: 15

Autor(en)/Author(s): Hoch Barbara, Wahl G., Enyong P., Lüder Carsten G. K., Harriett W., Schulz-Key Hartwig, Renz Alfons

Artikel/Article: Onchozerkose in Mensch und Rind: Serologische Erkennung von artspezifischen und kreuzreaktiven Antigenen. 51-60