

Serodemstabilität von Trypanosomen in stationären Dama-Rindern West-Afrikas

F. Hörchner, F. Zapf

Einleitung Die afrikanischen Trypanosomen sind Erreger, die auch heute noch hohe wirtschaftliche Verluste bei den Haus- und Nutztieren im Tsetse-Gürtel Afrikas hervorrufen, die andererseits die fast in Vergessenheit geratene Schlafkrankheit des Menschen in den letzten 20 Jahren in den kriegsbedingten Flüchtlingsregionen zu einem bedeutenden Krankheitsproblem ansteigen ließen (3, 6).

Salivarische Trypanosomen exprimieren als Surface Coat jeweils unterschiedliche Oberflächenglykoproteine (VSG), die den variablen Antigentyp (VAT) bestimmen (4, 9). Die im Genom des Parasiten induzierte Umschaltung auf die Expression eines anderen variablen Oberflächenglykoproteins ermöglicht jeweils einer kleinen Minderheit innerhalb einer heranwachsenden Trypanosomenpopulation stets neue variable Antigentypen zu präsentieren und damit der Immunabwehr zu entgehen. Die maximale Anzahl verschiedener variabler Antigentypen, die im Verlauf einer Trypanosomeninfektion gebildet werden können, gilt als nahezu unbegrenzt, da mehr als 10% des Parasitengenoms für die Expression von Varianten Antigenen zur Verfügung stehen, und durch den Prozeß einer „gene conversion“ eine Vielfalt weiterer Variationsmöglichkeiten für die Kodierung neuer VSG's gegeben ist (2, 7). Die immer wieder auftretenden Hauptvariantentypen in einer begrenzten Region und Tierpopulation gelten als Serodem.

Unter Feldbedingungen kann vermutlich ein oder eine bestimmte Anzahl von Serodemen in einer Region oder Tierpopulation nur solange konstant bleiben, solange keine neuen Antigenvarianten aus heterologen Serodemen durch Wildtiere, fremde Haustiere oder Glossinenpopulationen hereingetragen werden (5).

Variable Oberflächenglykoproteine bzw. VAT's, aus denen Serodeme zusammengesetzt sind, können nur an lebenden Trypanosomen im komplementvermittelten Immunlysisstest nachgewiesen werden.

Für den quantitativen Lysistest (10, 11) benötigt man eine Mindestmenge von 2×10^6 Trypanosomen. Feldisolate von *T. brucei* oder *T. congolense* lassen sich nicht selten aufgrund niedriger Wachstumsraten auch nach Erst- oder Zweitpassagen in immunsupprimierten Nagern nur schwer vermehren. Es galt daher den Immunlysisstest in eine semiquantitative Testmethode mit kleinen Erregermengen pro Testansatz zu modifizieren.

Material und Methoden

Im Rahmen von Untersuchungen zur passiven Übertragung von protektiven Antikörpern gegen Trypanosomen mit der Milch wurden Seren von sogenannten trypanotoleranten Taurinrindern in Avetonou/Togo auf lytische Antikörper überprüft. Die Seren stammten von 18 N'Dama-Kühen und ihren Kälbern, die auf einer Farm (CREAT) unter geringem Tsetse-Druck gehalten wurden, und 36 hochträchtigen Rindern der Race locale, die auf einem fünf Kilometer entfernten Gebiet entlang einer Flußgalerie unter mittlerem Fliegendruck standen (PATAPAKOPE).

Für den Immunlysisstest wurden vier verschiedene *T. congolense*-Stocks verwendet:

1. TC 4905/Togo wurde 1979 aus einem Rind auf der Farm CREAT isoliert. Die Erstpassage erfolgte auf *Mastomys coucha*, danach zyklische Passage über *Glossina palpalis* und NMRI Mäusen sowie Stabilatherstellung in flüssig CO₂.
2. TC CREAT/Togo wurde 1987 aus einem N'Dama-Rind auf der Farm CREAT isoliert. Die Weiterbehandlung bis zur Stabilatherstellung erfolgte wie oben.
3. TD 378/Elfenbeinküste wurde 1978 aus einem Hund in Cote d'Ivoire auf *M. coucha* primärisoliert, weitere Behandlung bis zur Stabilatherstellung wie oben.
4. TD 16/Liberia wurde aus einem Hund in Liberia auf *M. coucha* isoliert und bis zur Stabilatherstellung passagiert.

Der Immunlysisstest erfolgte in Terasakiplatten mit 3×10^5 Trypanosomen, die durch Ausfällung von Erythrozyten mit Pferdeserum aus Mäuseblut gewonnen wurden. Die Reaktionen wurden in RPMI 1640-Medium mit Zusatz von 10% fötalem Kälberserum und lyophilisiertem Meerschweinchenkomplement in verschiedenen Verdünnungen angesetzt. Die Bewertung der Lysis wurde unter einem Invertmikroskop semiquantitativ vorgenommen bzw. im Vergleich quantitativ in der Neubauer-Zählkammer ermittelt.

SEMIQUANTITATIVE METHODE

1. Vermehrung von *T. congolense* im Labornager
2. Isolierung der Parasiten aus dem Blut mittels Erythrozytenagglutination durch inakt. Pferdeserum
3. Herstellung der Trypanosomensuspensionen von 3×10^5 Tryp./ml in RPMI 1640-Medium mit 10% inakt. FCS
4. Testansätze in einer Terasaki-Platte von je:
 - 10 µl 3×10^5 Tryp./ml
 - 10 µl Komplement
 - 10 µl Testserum (inaktiviert)
5. Zentrifugation der Terasaki-Platte in Plattenzentrifuge
6. Bewertung des Anteils lysierter Parasiten:
 - keine (-), geringe (+), mittlere (++) , hohe (+++) , vollständige (++++) Lysis unter Invertmikroskop

Ergebnisse

Es wurden die lytischen Antikörperaktivitäten der 18 Kuhseren der Herde CREAT und der 36 Seren hochträchtiger Rinder der Herde PATAPAKOPE gegenüber Erregern der zwei autochthonen *T. congolense*-Stocks (TC CREAT/Togo und TC 4905/Togo) und der zwei heterologen *T. congolense*-Stocks (TC 378/Elfenbeinküste und TD 16/Liberia) ermittelt.

Die Seren der Kühe von der Farm CREAT lysierten die Erreger der beiden autochthonen Stocks TC CREAT zu durchschnittlich 37% als auch TC 4905 zu 35% vergleichbar hoch. Keine Lysis konnte mit den Seren gegen die beiden heterologen *T. congolense*-Stocks TD 16/Liberia und TD 378/Elfenbeinküste erzielt werden.

Seren der Rinder aus der Herde PATAPAKOPE lysierten, von wenigen Ausnahmen abgesehen, die Erreger beider autochthonen Stocks (TC CREAT und TC 4905) durchschnittlich höher als Seren aus der CREAT-Herde. Seren von 20 Tieren ergaben hohe oder fast vollständige Lysis der Trypanosomen (69 bis 100%), 16 Seren reagierten mit einer mittleren bzw. geringen Lysis der Parasiten zwischen 12 und 59%.

Die Antikörperaktivitäten gegen Erreger des TC 4905/Togo ergaben allerdings mit wenigen Ausnahmen bis zu 70% höhere Lysis als gegen Stock TC CREAT/Togo. Keines der Seren konnte Trypanosomen der beiden heterologen *T. congolense*-Stocks TD 16/Liberia und TD 378/Elfenbeinküste lysieren.

Diskussion Eine enge Übereinstimmung konnte zwischen dem semiquantitativen Lysis-Test in Terasakiplatten bei Verwendung einer 10er Potenz niedrigeren Anzahl von lebenden Erregern und der prozentual ermittelten Parasitenlysis in der Neubauer Zählkammer gegenüber den vier verschiedenen Trypanosomen-Stocks dargestellt werden.

Die hohe Spezifität des Serodems der beiden autochthonen *T. congolense*-Stocks aus dem Farmgebiet Avetonou gegenüber den *T. congolense*-Isolaten aus Elfenbeinküste und Liberia konnte anhand der eindeutigen Lysisunterschiede mit den Rinderseren bestätigt werden.

Auffällig war, daß die Seren der Rinder aus dem Dorf Patapakope, fünf Kilometer entfernt vom Farmgelände, durchschnittlich eine bedeutend höhere Lysis aufwiesen als die der Farmtiere, obwohl die beiden autochthonen Trypanosomen-Stocks von Farmrindern stammten. Eine Erklärung könnte der höhere Infektionsdruck auf den Weideflächen entlang der Flußgalerie sein.

Trotz der achtjährigen Zeitdifferenz zwischen der Isolierung der beiden Stocks, TC 4905 und TC CREAT, war in der Höhe der Parasitenlysis bei den Seren der N'Damas der Farm kein Unterschied zu beobachten, jedoch wiesen die Seren der Race locale aus dem Dorf eine durchschnittlich 70% höhere Lysis gegenüber dem acht Jahre früher isolierten Stock auf.

Beobachtungen über konstant bleibende Serodeme in Rinderherden wurden bisher nur über einen Zeitraum von mehreren Monaten gemacht. Den Angaben der Autoren war allerdings nicht zu entnehmen, ob in der Beobachtungsregion z. B. starke Viehbewegungen stattfanden.

In dem Untersuchungsgebiet um das Farmgelände von Avetonou kommen weder Fremdviehbewegungen vor noch ist mit Wildtieren zu rechnen, die heterologe Serodeme einschleppen könnten. Das kann die langzeitliche Stabilität des Serodems erklären, zumal Beobachtungen darauf hindeuten, daß bei chronischem Infektionsverlauf und unter Feldbedingungen Trypanosomen immer wiederkehrende dominante Antigentypen bilden. Bedenkt man, daß die taurinen Zwergrinderrassen Westafrikas aufgrund ihrer geringen Größe in der pastoralen Viehhaltung nicht für die weiträumige Transhumance geeignet sind, und deshalb von den seßhaften Ackerbauern bevorzugt werden, läßt sich die Ausbildung der Trypanotoleranz unter den vorgegebenen Bedingungen als Immunität gegenüber einer begrenzten Anzahl aber stabil bleibenden Antigenvariantentypen erklären. Diese labile Abwehr bricht, wie hinreichend bekannt, bei Dislokation von Tieren in andere Gegenden mit differenten Serodemen zusammen.

Zusammenfassung Um Untersuchungen lytischer Antikörperaktivitäten auch gegen Feldisolate von *T. congolense*, die sich teilweise nur schwer in Labornagern vermehren lassen, zu ermöglichen, wurde der quantitative komplementvermittelte Immunlysisstest zu einer semiquantitativen Testmethode unter Verwendung einer um das 10fach geringeren Erregermenge pro Testansatz (3×10^5) modifiziert.

Die Spezifität eines Serodems zweier auf einer Farm in Avetonou/Togo isolierter *T. congolense*-Stocks gegenüber zweier Stocks aus Liberia bzw. Elfenbeinküste konnte mit Seren von N'Dama-Rindern bzw. lokalen taurinen Zwergrindern vom Farmgebiet demonstriert werden.

Die nicht voneinander abweichenden Lysisergebnisse von Seren der Rinder gegenüber den beiden autochthonen *T. congolense*-Stocks, die im Abstand von acht Jahren ebenfalls aus Rindern der Farm isoliert wurden, bestätigen die langanhaltende Stabilität eines Serodems, wenn keine Fremdviehbewegung vorhanden ist.

Schlüsselwörter Serodemspezifität, *Trypanosoma congolense*, Taurine Zwergrinder, Immunlysistes

Summary *Stability of a Trypanosoma congolense serodem of Westafrican N'Dama cattle*

To investigate the activity of lytic antibodies even against field isolates of living *T. congolense* difficult to reproduce in laboratory animals the quantitative complement dependant lysis test was modified in a semiquantitative screening test using a 10 fold smaller amount of parasites (3×10^5) per test. With sera of N'Dama's and local taurine dwarf cattle of a farm in Avetonou/Togo the specificity of a serodeme of 2 *T. congolense* stocks isolated from farm animals were demonstrated against 2 *T. congolense* stocks from Ivory Coast and Liberia. The long-lasting stability of a serodeme of *T. congolense* was documented by the corresponding results of complement lysis of 2 autochthonous stocks isolated in an 8 year interval at the farm with sera of N'Dama's and local cattle.

Key words Serodeme specificity, *Trypanosoma congolense*, taurine dwarf cattle, immunlysis test.

Literatur

1. AUTHIE, E. (1994):
Trypanosomiasis and trypanotolerance in cattle: A role of congopain.
Parasitology Today 10, 360-364.
2. BORST, P., CROSS, G. A. M. (1982):
Molecular basis of trypanosome antigenic variation.
Cell 29, 291-303.
3. FAO (1993):
A systematic approach to tsetse and trypanosomiasis control, meeting of panels of experts on African animal trypanosomiasis.
Report, FAO Rome.
4. FREVERT, U., REINWALD, E. (1990):
Trypanosoma congolense bloodstream forms evade complement lysis invitro by shedding of immune complexes.
Eur. J. Cell Biol. 52, 264-269.
5. HÖRCHNER, F. (1983):
Neue Erkenntnisse über Pathogenese und Bekämpfung der Trypanosomiasis der Haustiere.
Blaue Hefte Tierarzt 67, 329-333.
6. ILRAD (1990):
ILRAD's research approaches to improved trypanosomiasis control.
Annual report of ILRAD, Nairobi, Kenya, POB 30709.
7. MANSFIELD, I. M. (1994):
T-cell responses to the trypanosome variant surface glycoprotein: A new paradigm.
Parasitology Today 10, 267-270.
8. PAYS, E., VAN ASSEL, S., LAURENT, M., DARVILLE, M., VERVOORT, T., VAN MEIRVENNE, N., STEINERT, M. (1983):
Gene conversion as a mechanism for antigenic variation in trypanosomes.
Cell 34, 371-381.
9. REINWALD, E., GEISER-WILKE, I., ARTAMA, W., RISSE, H. J., MÖLLING, K. (1987):
Characterization of epitopes on a variant surface glycoprotein from *Trypanosoma congolense* by six monoclonal antibodies.
Eur. J. Biochem. 167, 525-532.
10. VAN MEIRVENNE, N., JANSSENS, P. G., MAGNUS, E. (1975a):
Antigenic variation in syringe passaged populations of *Trypanosoma (Trypanozoon) brucei*. I. Rationalisation of the experimental approach.
Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 55, 1-23.
11. VAN MEIRVENNE, N., JANSSENS, P. G., MAGNUS, E., LUMSDEN, W. H. R., HERBERT, W. J. (1975b):
Antigenic variation in syringe passaged populations of *Trypanosoma (Trypanozoon) brucei*. II. Comparative studies on two antigenic-type collections.
Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 55, 25-30.

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. F. Hörchner
Königsweg 67
D-14163 Berlin · 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: 1995

Band/Volume: [17](#)

Autor(en)/Author(s): Hörchner Franz, Zapf F.

Artikel/Article: [Serodemstabilität von Trypanosomen in stationären Dama-Rindern West-Afrikas. 1-6](#)