

Serodiagnostik von Entamoeba histolytica-Infektionen mittels ELISA und Western Blot

Barbara Bauder, H. Auer, H. Aspöck

Einleitung Infektionen mit *Entamoeba histolytica* (Eh) stellen weltweit ein gesundheitliches Problem großen Ausmaßes dar, auch wenn man heute unter dem Gesichtspunkt der Differenzierung der morphologisch identischen pathogenen *Entamoeba histolytica* und der apathogenen *E. dispar* keine verlässlichen Zahlen angeben kann. Tatsache ist jedenfalls, daß weltweit alljährlich zumindest mehrere zehntausend Menschen an Infektionen mit *E. histolytica* zugrunde gehen, daß der Schwerpunkt des medizinischen Problems der Amöbeninfektionen selbstverständlich in den Tropen liegt und immer in den Tropen liegen wird, daß aber darüber hinaus durch den intensiven und immer intensiver werdenden Reiseverkehr Infektionen mit *E. histolytica* auch in Mitteleuropa längst einen hohen Stellenwert einnehmen.

Infektionen mit *E. histolytica* manifestieren sich grundsätzlich in zwei klinischen Formen: Einmal als intestinale Amöbose (die bei Invasivität zum klassischen Bild der Amöbenruhr führen kann) und zum anderen als extraintestinale Amöbose — sie betrifft vor allem die Leber (Amöbenleberabszeß/ALA), aber auch Lunge, ZNS und gelegentlich die Haut —, die sich im Anschluß an die Invasion des Darmepithels und nachfolgender hämatogener Streuung der Erreger entwickelt.

Während die Diagnostik der intestinalen Amöboseform nach wie vor — unter Einsatz mehrerer Methoden — grundsätzlich auf dem direkten Erregernachweis beruht, basiert die Diagnose einer extraintestinalen Manifestation — abgesehen von klinischen Hinweisen — im wesentlichen ausschließlich auf dem Nachweis spezifischer Antikörper. Hierfür stehen heute verschiedene käufliche Tests, insbesondere auf der Basis von Konjugatreaktionen (z. B. ELISA, IIFT), zur Verfügung, deren Sensitivität und Spezifität allerdings unterschiedlich sind und nicht selten zu unbefriedigenden Ergebnissen führen.

Im Rahmen unserer Echinokokkose-Diagnostik hat sich seit vielen Jahren ein System bewährt, das auf einem ELISA als Screening-Test und einem Western Blot (WB) als Bestätigungstest beruht (2). Von dieser Idee ausgehend haben wir zur schnellen und sicheren Abklärung von ALA-Verdachtsfällen ebenfalls ein zweistufiges Testsystem (ELISA und Western Blot) unter Verwendung einer Eigenpräparation von *Entamoeba histolytica*-Antigen, zum Nachweis Eh-spezifischer IgG-Antikörper, etabliert.

Material und Methoden	Trophozoiten des pathogenen SFL ₃ -Stammes von <i>Entamoeba histolytica</i> wurden nach der Methode von Diamond (6) in monoxenischer Kultur gezüchtet. Für die Antigengewinnung wurden 72 Stunden-Massenkulturen in modifiziertem TYI-S33-Medium (10) herangezogen, die zu diesem Zeitpunkt Krithidien-frei waren.
Amöben	
Antigen	Um in den beiden Tests (ELISA, WB) eine möglichst hohe Sensitivität zu erreichen, wurde eine Rohantigen-Präparation verwendet, die folgendermaßen hergestellt wurde: Die Trophozoiten wurden zuerst einige Minuten bei 2000 rpm/20°C zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und verworfen, das Pellet in PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 7,2) aufgenommen und in PBS gewaschen. Nachdem der Bodensatz abermals in etwa 5 ml PBS aufgenommen worden war, wurden die Trophozoiten einer Ultraschallbehandlung unterzogen und das Sonikat über Nacht bei 4°C in PBS extrahiert. Anschließend erfolgte eine 12stündige Dialyse der nunmehr gelösten Parasitenantigene in 1:10 verdünntem PBS bei 4°C. Nach Zentrifugation bei 2000 rpm/20°C wurde der Überstand durch einen Spritzenaufsatzfilter mit 45 mm Porengröße gepreßt, aliquotiert und bei -20°C tiefgefroren. Für den Einsatz im ELISA wurde die Antigenpräparation 1:200 in Karbonat-Bikarbonat-Puffer (pH 9,6), für den Western Blot 1:5 in nicht reduzierendem Probenpuffer (pH 6,8) verdünnt.
Seren	Zur Etablierung der Tests wurden verschiedene Probandenkollektive herangezogen; insgesamt wurden im Screening mittels ELISA 1586 Seren, im anschließenden WB 173 dieser Proben getestet (Tab. 1, 2). Ein kleines Kollektiv umfaßte 20 Seren von 20 Patienten mit klinisch verifiziertem ALA. Weiters wurden Seren von Personen mit Verdacht auf Amöbose, die uns im Rahmen der Routinediagnostik zugewiesen wurden, untersucht. Darüber hinaus haben wir eine große Anzahl von Seren von „gesunden“ Blutspendern, von Patienten mit verschiedenen Helminthosen (Echinokokkose, Zystizerkose, Fasziole, Bilharziose, Toxokarose, Filariose, Trichinellose) oder durch Protozoen bedingten Parasitosen (Malaria, M. Chagas und Leishmaniose), aber auch von Personen mit anderen (Leber-)Erkrankungen (z. B. Hepatitis) getestet. Alle Seren stammten aus der institutseigenen Serothek. Als Positivkontrolle wurde einerseits das <i>Entamoeba histolytica</i> -Standardkontrollserum des Robert-Koch-Instituts Berlin (gepoolt aus Seren von Patienten mit klinisch verifiziertem ALA; Charge I, 3/94), andererseits das Serum eines Patienten mit klinisch bestätigtem ALA aus unserem Labor mitgeführt, als Negativkontrolle diente ein käufliches Negativserum (Behring).
ELISA	Der ELISA zum Nachweis <i>Eh</i> -spezifischer IgG-Antikörper wurde weitgehend unverändert nach der Methode von AUER, PICHER und ASPÖCK (1) bzw. AUER und ASPÖCK (3) durchgeführt, wobei die Seren nach Durchführung einer Schachbrett-Titration in 1:200-Verdünnung eingesetzt wurden und als Konjugat Peroxidase-gekoppeltes Anti-human-IgG (Jackson Immuno Research Laboratories, USA), als Substrat H ₂ O ₂ in Kombination mit 5-Amino-2-Hydroxy-Benzoesäure zur Anwendung gelangte. Die photometrische Auswertung erfolgte bei 450 nm. Als Positiv/negativ-Grenze wurde im ELISA ein Wert von 0,160 Extinktionseinheiten festgesetzt (= Mittelwert aus den gemessenen Extinktionen des Kollektivs der „gesunden“ Blutspender +3fache Standardabweichung). Die Reproduzierbarkeit des Tests wurde durch wiederholtes Testen innerhalb derselben und zwischen verschiedenen Ansätze(n) des Positivserums überprüft.
Western Blot	Für die elektrophoretische Auftrennung des Parasitenantigens in einer SDS-PAGE (Sodium-Dodecyl-Sulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese) wurden 5 µl Antigen pro cm Gel (Exelgel SDS 8-18%) aufgetragen, die Auftrennung erfolgte 90 Minuten bei 600 Volt/50 mA. Die separierten Proteine wurden durch anschließende Silberfärbung sichtbar gemacht. Die nun nach Molekulargewicht aufgetrennten Proteinbanden wurden durch das Anlegen von 10 Volt Spannung an die Elektrode einer Blotting-Kammer (Trans-Blot®SD Semi-Dry Transfer Cell,

Tabelle 1:
Ergebnisse des Screenings mittels ELISA —
Anzahl der positiven Seren pro Probandenkollektiv.

Kollektiv	Anzahl der Seren	davon im ELISA positiv
Patienten mit ALA	20	20
Verdacht auf Amöbose	325	104
Blutspender („Normalbevölkerung“)	883	17
Echinokokkose-Patienten	46	2
Fasziolose-Patienten	12	0
Zystizerkose-Patienten	16	1
Bilharziose-Patienten	35	1
Patienten mit Toxokara-Infestation	39	7
Filariose-Patienten	25	1
Trichinellose-Patienten	23	0
Verdacht auf Malaria, Morbus Chagas, Leishmaniose	123	1
Patienten mit anderen (Leber-)Erkrankungen	39	2

Tabelle 2:
Ergebnisse von ELISA und Western Blot —
Anzahl der positiven Seren pro Probandenkollektiv.

Kollektiv	positiv im ELISA	positiv im WB
Patienten mit ALA	20	20
Verdacht auf Amöbose	41	29
Blutspender („Normalbevölkerung“)	17	15
Echinokokkose-Patienten	2	0
Fasziolose-Patienten	1	0
Patienten mit Toxocara-Infestation	7	1
im ELISA neg. Seren (n=85)	0	0

BioRad, Richmond, USA) auf eine Nitrozellulosemembran (Porengröße 0,45 mm; BioRad, Richmond, USA) übertragen.

Als Blotting-Puffer gelangte folgende Lösung (Bierum-Puffer) zur Anwendung: 5,82 g Tris; 2,93 g Glycin; 0,0375 g SDS; 200 ml Methanol; Aqua dest. ad 1000 ml; pH 9,0-9,4).

Nach 36 Minuten wurde der Blotting-Vorgang beendet, die Nitrozellulosemembran in Streifen geschnitten und in Plastiktröge gelegt.

Um dem Auftreten von freien, nicht antigenabgesättigten Membranstellen vorzubeugen, wurde in jeden Trog 1 ml Puffer (3%ige Lösung von Rinderalbumin in PBS/Tween) pipettiert, 1 Stunde im Wasserbad bei 37°C inkubiert und anschließend wieder ausgeleert. Die zu testenden Patientenserum wurden 1:50 mit oben genanntem Puffer verdünnt in die Tröge eingebracht und über Nacht bei 4°C inkubiert.

Zur Entfernung von überschüssigem Serum-Puffergemisch wurden die Nitrozellulosemembranstreifen nach Entleerung der Tröge dreimal mit PBS/Tween gewaschen. Je 1 ml Konjugat-Puffergemisch (Peroxidasegekoppeltes Anti-human-IgG 1:300, Jackson Immuno Research Laboratories, USA) wurde in die Tröge eingebracht und über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach einem erneuten Wasch-Schritt wurde je 1 ml Substrat (10 ml Methanol, 30 mg Chlornaphthol, 50 ml PBS, 20 µl 30%iges H₂O₂) in die Tröge pipettiert und bis zum Sichtbarwerden der Proteinbanden etwa 10-30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert.

Die Ergebnisse des Western Blots wurden rein optisch beurteilt und galten als positiv, wenn das betreffende Serum mindestens 1 Bande aus den 3 verschiedenen, für *Eh*-typischen Clustern (s. u.) erkannte. Eine annähernde Bestimmung der Molekulargewichte der Proteinbanden wurde durch die elektrophoretische Auftrennung eines Markers, der aus einem Gemisch mehrerer Proteine unterschiedlicher Größe besteht (Rainbow®, Pharmacia), gewährleistet. Die Reproduzierbarkeit des Tests wurde durch wiederholtes Testen des Positivserums überprüft.

Für den unmittelbaren Vergleich zwischen ELISA und WB wurden alle im ELISA positiven Seren der Kollektive „ALA“, „Verdacht auf Amöbose“, „Normalbevölkerung“ sowie der „einheimischen Parasitosen“ herangezogen (Tab. 2). Das letzte Kollektiv umfaßte im Sinn einer Negativkontrolle für den WB eine zufällige Auswahl von 85 Seren der Kollektive „Verdacht auf Amöbose“, „gesunde Normalbevölkerung“ sowie „einheimische Parasitosen“, die im ELISA negativ waren.

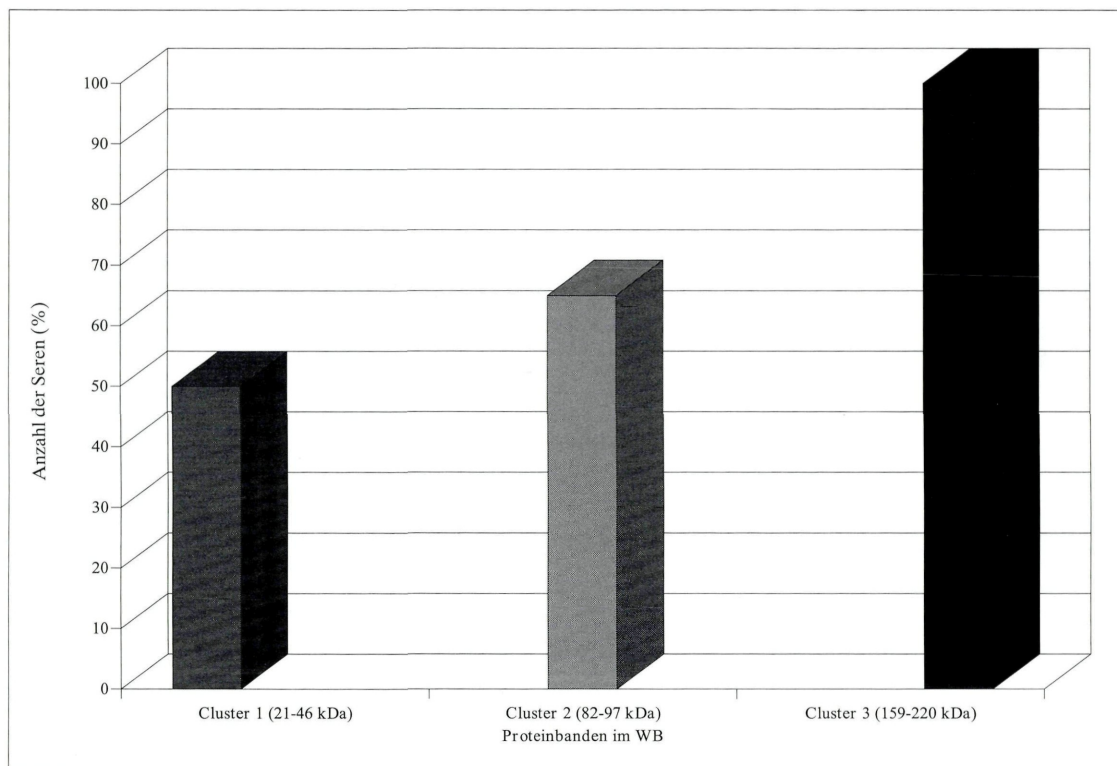


Abbildung 1:
Verteilung der ALA-Seren nach dem „Erkennen“ der Proteinbanden im WB.

mit 17,09% bzw. 13,8% als gut geeignet und für biologische Systeme durchaus typisch (9).

Western Blot

In der SDS-PAGE ließen sich mehr als 20 verschiedene Proteinbanden erkennen. Der Vergleich der silbergefärbten Proteinbanden im Gel und der Reaktion der Positivkontrollen im Western Blot zeigte, daß nicht alle im Gel vorhandenen Banden von den Antikörpern im Serum erkannt wurden.

Von den Positivkontrollen wurden Proteinbanden in etwa 3 Bereichen erkannt, und zwar ein Cluster im niedermolekularen Bereich (von 21 bis 46 kDa), eine weiteres Cluster im mittleren Bereich (82-97 kDa), sowie eine Gruppe von 4 Banden im hochmolekularen Bereich (159-220 kDa). Die Seren aller 20 ALA-Patienten waren auch im WB positiv. Analysiert man, wie oft die einzelnen Bandencluster von den Seren der ALA-Patienten erkannt wurden (Abb. 1), so sieht man, daß Banden im hochmolekularen Bereich (159-220 kDa) von allen Seren erkannt wurden, gefolgt von der Bandengruppe im mittleren Bereich (65% der Seren) und schließlich von dem Cluster im niedermolekularen Bereich (50% der Seren). Das negative KS zeigte überhaupt keine Banden.

Vergleich zwischen ELISA und WB

Von den 17 im ELISA positiven Seren aus der Normalbevölkerung ergab sich bei 15 Fällen auch im WB eine positive Reaktion, allerdings war im Unterschied zu den ersten beiden Kollektiven (nämlich ALA und Verdacht auf Amöbose), die immer mehrere Proteinbanden aufwiesen, jeweils nur eine einzige sehr schwache und verschwommene Bande im Bereich von etwa 159 kDa zu erkennen. In den Kollektiven der einheimischen Parasitosen konnte das positive Resultat des Screenings mittels ELISA nur in einem Fall bestätigt werden, aber auch hier handelte es sich um jene einzelne Bande im Bereich von etwa 159 kDa, die uns schon im Kollektiv der ELISA-positiven Normalbevölkerung aufgefallen war.

Erwartungsgemäß reagierten die im ELISA negativen Seren auch im WB negativ.

Ergebnisse

ELISA

Bei Betrachtung der Ergebnisse des Screenings mittels ELISA fällt auf, daß alle Fälle von ALA serologisch erkannt wurden; von den 325 Seren von Personen mit Verdacht auf Amöbose reagierten 104 positiv (Tab. 1).

Im ELISA erhielten wir innerhalb des Kollektivs der Normalbevölkerung 17 positive Testresultate, einige weitere auch in den Kollektiven der Patienten mit anderen Parasitosen.

Die Reproduzierbarkeit des Tests erwies sich durch Ermittlung des Variationskoeffizienten nach wiederholtem Testen der beiden Positivkontrollen

Diskussion Ziel der Studie war es, ein serologisches Testsystem zu entwickeln, das die schnelle und sichere Abklärung von ALA-Verdachtsfällen ermöglicht, wofür als Screening-Test ein ELISA, als Bestätigungstest ein WB unter Einsatz einer Antigen-Eigenpräparation aus Trophozoiten von *Entamoeba histolytica* etabliert wurde. Tatsächlich reagierten alle Seren von Patienten mit klinisch verifiziertem Amöbenleberabszeß im ELISA positiv, ebenso ein Teil jener von Personen mit Verdacht auf Amöbose (104 von 325 Seren), allerdings liegen uns von diesen zugewiesenen Patienten keine klinischen oder anamnestischen Daten vor. Die Tatsache, daß im ELISA auch 17 Seren des Kollektivs der Normalbevölkerung, einige weitere in den Kollektiven der Patienten mit anderen Parasitosen positiv waren, könnte entweder Kreuzreaktionen mit anderen (Parasiten?-)Antigenen darstellen oder auch auf einen tatsächlichen Kontakt mit *Entamoeba histolytica* zurückzuführen sein; wir denken hier besonders an Personen aus Gebieten, wo *Entamoeba histolytica* endemisch vorkommt und die dadurch einen „natürlichen“ höheren Antikörperspiegel aufweisen, was durch andere Untersuchungen bestätigt wird (8, 11).

Der Vergleich zwischen der Zahl der separierten Proteine im Gel und der Reaktionen der Positivkontrollen im WB zeigte, daß nicht alle im Gel vorhandenen Banden von den Antikörpern in den Seren erkannt wurden, d. h. daß viele Proteine nicht immunreaktiv sind, z. B. auch nicht die bei weitem prominenteste Bande im Gel mit einem Molekulargewicht von 65 kDa. Diese Beobachtung wird durch Studien anderer Arbeitsgruppen unterstützt (4, 5, 7). Daß von den Positivkontrollen Proteinbanden in drei Bereichen (21-46 kDa, 82-97 kDa, 159-220 kDa) erkannt wurden, steht in erstaunlich guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von MORENO et al. (12), die die Antikörperantwort gegen *Entamoeba histolytica*-Antigene im Tiermodell analysierten und Bandengruppen von 14-16, 41-43, 84-93, 134-150 und 200-220 kDa identifizierten.

Wichtig erscheint besonders, daß alle Seren von ALA-Patienten auch im Western Blot erkannt wurden, genauso wie ein Großteil der Fälle mit Verdacht auf Amöbose, die uns aus der Routinediagnostik zur Verfügung standen (Tabelle 2).

Die innerhalb des Kollektivs der Normalbevölkerung und der einheimischen Parasitosen in einigen Fällen auftretende schwache Bande bei 159 kDa dürfte eher eine unspezifische Reaktion darstellen als eine *Eh*-Infektion anzeigen, da von den positiven Kontrollseren und von jenen der ALA-Patienten immer mehrere Banden in mindestens einem der drei beschriebenen Cluster detektiert wurden.

Die von den Kontroll- und ALA-Seren am häufigsten erkannte Bandengruppe im hochmolekularen Bereich könnte das als hoch immunogen charakterisierte 220 kDa-Oberflächenprotein (L220) des Parasiten, das Lectin-bindende Aktivität aufweist und für die Adhäsion der Trophozoiten verantwortlich zu sein scheint, beinhalten (13). Eine ähnliche Beobachtung konnte auch bei der Auswertung der im WB positiv reagierenden Fälle mit Verdacht auf Amöbose gemacht werden, was die Vermutung nahelegt, daß es sich bei diesen Proben tatsächlich um Seren von Patienten mit ALA handeln könnte.

Ob es zwischen dem unterschiedlichen Ausmaß, mit dem die einzelnen Proteine von den ALA-Seren erkannt wurden, und dem klinischen Status der Patienten einen Zusammenhang gibt oder ob dies auf individuelle Unterschiede in der humoralen Immunantwort gegen *Entamoeba histolytica* zurückgeführt werden kann, können wir zumindest zum jetzigen Zeitpunkt nicht abschätzen.

Als wichtigstes Ergebnis dieser Studie betrachten wir die Tatsache, daß es uns mit diesem Testsystem gelungen ist, alle Seren der Patienten mit Amöbenleberabszeß zu erkennen; sowohl mittels ELISA als auch WB konnten wir in allen Seren der ALA-Patienten gegen *Entamoeba histolytica* gerichtete IgG-Antikörper nachweisen.

Obwohl diese Untersuchung nur die Basis für weitere Arbeiten darstellt und unser Testsystem noch in nachfolgenden Studien überprüft werden muß, hoffen wir, damit ein geeignetes Werkzeug zur raschen und sicheren Abklärung von ALA-Verdachtsfällen in der Hand zu haben.

Danksagung Die Amöbenkulturen wurden uns vom Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin (Vorstand: Univ. Prof. Dr. Gerhard Wiedermann) der Universität Wien freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Auch an dieser Stelle sei herzlich dafür gedankt.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	ALA	Amöbenleberabszeß
	<i>Eh</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
	ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
	WB	Western Blot
	PBS	Phosphate Buffered Saline
	SDS-PAGE	Sodium-Duodecyl-Sulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese

Zusammenfassung Für die Diagnostik der Amöbose (Infektionen mit *Entamoeba histolytica*, *Eh*), vor allem des Amöbenleberabszesses (ALA), stehen neben klinischen Methoden besonders serologische Verfahren zur Verfügung. Aufgrund der Tatsache, daß wir im Rahmen unserer routinediagnostischen Tätigkeit, die bislang auf der kombinierten Durchführung eines indirekten Immunfluoreszenztests unter Verwendung käuflichen Antigens und eines kommerziell erhältlichen Enzymimmuntests (ELISA) basierte, immer wieder mit klinisch und anamnestisch nicht erklärbaren positiven serologischen Testergebnissen konfrontiert wurden, haben wir einen eigenen ELISA als Screening-Test und einen Western Blot als Bestätigungstest etabliert.

In beiden Tests wurde eine Antigenpräparation aus dem pathogenen SFL₃-Stamm von *Entamoeba histolytica* verwendet. Überprüft wurde die Brauchbarkeit beider Testmethoden durch die Untersuchung von Seren verschiedener Probandenkollektive („gesunde“ Normalbevölkerung, Patienten mit Amöbenleberabszeß, Patienten mit Verdacht auf eine Amöben-Infektion, Patienten mit anderen Parasitosen) auf die Anwesenheit spezifischer, gegen *E. histolytica* gerichteter IgG-Antikörper.

In allen Blutproben, die von Patienten mit gesichertem Amöbenleberabszeß stammten, konnten sowohl im *Eh*-ELISA als auch im *Eh*-Western Blot spezifische IgG-Antikörper nachgewiesen werden.

Die Analyse des Bandenmusters im Western Blot ergab 3 Bandencluster, die von den Seren der Amöbose-Patienten in unterschiedlichem Ausmaß erkannt wurden; am immunreaktivsten erwies sich dabei eine Gruppe von 4 Banden im hochmolekularen Bereich (ca. 159-220 kDa).

Obwohl unser Testsystem noch in weiteren Untersuchungen überprüft werden muß, hoffen wir, damit ein geeignetes Werkzeug mit ausreichender Sensitivität und Spezifität zur Serodiagnostik von *Entamoeba histolytica*-Infektionen in der Hand zu haben.

Schlüsselwörter *Entamoeba histolytica*, Amöbenleberabszeß/ALA, ELISA, Western Blot, Serodiagnostik.

Summary *Serodiagnosis of infections with Entamoeba histolytica using ELISA and Western Blot*

Serologic tests like ELISA and Western Blot are essential for the diagnosis of infections with *Entamoeba histolytica* (*Eh*) and particularly important in cases of amoebic liver abscess (ALA) and other extraintestinal manifestations. Since we have been regularly confronted with doubtful positive test results when routinely using commercially available test kits, we established a special ELISA screening and a confirmatory Western Blot. For both tests we used our own preparation of trophozoite antigen of *Entamoeba histolytica* SFL₃-strain. Sera from patients with ALA, with suspected but not specified diagnosis of amoebosis, sera from healthy individuals and from patients with other

parasitoses, respectively, were tested for specific IgG antibodies. *Eh*-specific IgG antibodies could be detected in all sera from patients with ALA in ELISA as well as in Western Blot. By analysing the banding patterns in Western Blot we could identify three clusters of protein bands recognized by patients' sera with the most frequent positive reactions in the high molecular range of 159 to 220 kDa. Although the test system has to be evaluated in further studies, we believe that the principle strategy – one test with high sensitivity followed by another test with high specificity – represents an essential improvement of the serodiagnosis of extraintestinal amoebiasis.

Key words *Entamoeba histolytica*, amoebic liver abscess/ALA, ELISA, Western Blot, serodiagnosis

Literatur

1. AUER, H., PICHER, O., ASPÖCK, H. (1986):
Erfahrungen bei der Serodiagnostik der Echinokokkosen mittels ELISA.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 8, 17-22.
2. AUER, H., ASPÖCK, H. (1985):
Studies on Antigens from in vitro Cultivated Protoscolices of *Echinococcus multilocularis* and their Possible Use in the Serodiagnosis of Human Echinococcosis.
Proc. Sec. Int. Symp. Taeniasis/Cysticercosis & Echinococcosis/Hydatidosis: 7-15.
3. AUER, H., ASPÖCK, H. (1993):
Optimierung serologischer Befunde durch die Verwendung von Milchpulver.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 15, 129-134.
4. DAS, P., SENGUPTA, K., PAL, S., DAS, D., PAL, S. C. (1993):
Biochemical and Immunological Studies on Soluble Antigens of *Entamoeba histolytica*.
Parasitol. Res. 79, 365-371.
5. DE LA TORRE, P., ORTIZ-ORTIZ, L., LAMOYI, E. (1995):
Carbohydrate Epitopes of *Entamoeba histolytica* Cell Surface Glycoproteins Are Major Targets of the Human Humoral Response.
Acta Trop. 60, 59-71.
6. DIAMOND, L. S., HARLOW, D. R., CUNICK, C. C. (1978):
A New Medium for the Axenic Cultivation of *Entamoeba histolytica* and Other *Entamoeba*.
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 72, 431-432.
7. DITRICH, O., VORKURKOVA, N., GIBODA, M., KOPACEK, P. (1988):
Analysis of Soluble *Entamoeba histolytica* Antigen Using Enzyme-Linked Electroimmunotransfer Blots.
Folia Parasit. 35, 300-315.
8. ESPITIA, C., CERVERA, I., GONZALES, R., MANCILLA, R. (1989):
A 38 kDa *Mycobacterium tuberculosis* Antigen Associated with Infection. Its Isolation and Serological Investigation.
Clin. Exp. Immunol. 77, 373-377.
9. HÄDER, D. P., HÄDER, M. (1993):
Moderne Labortechniken: Geräte und Methoden.
1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart . New York.
10. KOLLARITSCH, H. et al. (1989):
Entagnost®: Vergleich eines kommerziell verfügbaren Amöbiasis-Testkits mit serologischen Standardmethoden.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 11, 25-33.
11. LARRALDE, C. et al. (1989):
Deciphering Western Blots of Tapeworm Antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus* and *Taenia crassiceps*) Reacting with Sera from Neurocysticercosis and Hydatid Diseases Patients.
Am. J. Med. Hyg. 40, 282-290.
12. MORENO-FIERROS, L., DOMINGUEZE-ROBLES, M. C., ENRIQUEZ-RINCON, F. (1996):
Immunodominant *Entamoeba histolytica* Antigens Recognized by Serum and Intestinal Antibodies after Local or Systemic Immunization of Mice with Glutaraldehyde Fixed Trophozoites.
Life-Sci. 59 (16), 1283-1295.
13. TALAMAS-ROHANA, P., SCHLIE-GUZMAN, M. A., HERNANDEZ-RAMIREZ, V. I., ROSALES-ENCINA, J. L. (1995):
T-Cell Suppression and Selective in Vivo Activation of TH2 Subpopulation by the *Entamoeba histolytica* 220-Kilodalton Lectin.
Infect. Immun. 63 (10), 3953-3958.

Korrespondenzadresse Mag. Barbara Bauder
Abt. Med. Parasitologie
Klinisches Institut für Hygiene der Universität Wien
Kinderspitalgasse 15
A-1095 Wien · Austria

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: 1997

Band/Volume: [19](#)

Autor(en)/Author(s): Bauder Barbara, Auer H., Aspöck Horst

Artikel/Article: [Serodiagnostik von *Entamoeba histolytica*-Infektionen mittels Elisa und Western Blot 105-112](#)