Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 20 (1998) 29 - 36 Abteilung für Medizinische Parasitologie (Leiter: Univ. Prof. Dr. H. Aspöck) des Klinischen Instituts für Hygiene (Vorstand: Univ. Prof. Dr. M. Rotter) der Universität Wien

Vergleichende Untersuchungen über Immunreaktionen mit Antigenen von Ascaris, Toxocara und Toxascaris bei ausgewählten Patienten und Probanden

Andrea Nicka, A. Obwaller, H. Auer, H. Aspöck

Einleitung

Unter dem Begriff "Larva migrans visceralis" (LMV), der von Beaver et al. (3) geprägt wurde, werden Krankheitserscheinungen beim Menschen zusammengefaßt, die durch die extraintestinale Wanderung verschiedenster Nematodenlarven, insbesondere der Spezies *Toxocara canis, T. cati, Ascaris suum, Capillaria hepatica, Dirofilaria* spp. und *Gnathostoma spinigerum* (1), hervorgerufen werden. Auch die Larven des Waschbärspulwurms, *Baylisascaris procyonis*, sind als humanpathogen beschrieben worden (4, 14). Der Hundespulwurm, *Toxocara canis*, ist aber wohl der häufigste Verursacher des LMV-Syndroms. Daß Infestationen des Menschen mit dieser Spulwurmspezies nicht nur auf Regionen mit geringem hygienischen Standard beschränkt sind, sondern auch in europäischen Ländern mit hohem Hygienestandard anzutreffen sind, belegen seroepidemiologische Studien, bei denen Seroprävalenzraten bis zu 7% gefunden wurden (13, 16, 22, 23, 24, 25).

Für die Nematoden aus der Familie der Ascarididae *Ascaris suum* (Schweinespulwurm), *Toxocara* spp. und *Toxascaris leonina* stellt der Mensch einen Fehlwirt dar. Die Infektion erfolgt durch die orale Aufnahme embryonierter Eier über kontaminierte Hände oder Nahrung. Die Larven schlüpfen im Dünndarm, penetrieren die Darmschleimhaut und können aktiv oder auf hämatogenem Weg grundsätzlich in alle Organe des Körpers gelangen und dort Schädigungen der Gewebe, sowie allergische Reaktionen hervorrufen (11). Auch die Larven von *Ascaris lumbricoides*, für den der Mensch den natürlichen Wirt darstellt, können durch die in ihrem Entwicklungszyklus obligatorische somatische Wanderung gesundheitliche Probleme, vor allem pulmonale Beschwerden, verursachen. Über Infestationen des Menschen mit *Toxascaris leonina*, einer Spulwurmspezies, die in Hunde- und Katzenartigen parasitiert, ist sehr wenig bekannt (13, 19). Die Larven können aber in Fehlwirten, wie z. B. bei experimentell infizierten Mäusen gezeigt wurde (21), durch die Gewebe wandern und einige Zeit lang am Leben bleiben. Die Humanpathogenität dieser Spulwurmart darf daher nicht ausgeschlossen werden.

Da der Mensch für *Ascaris suum, Toxocara canis* ebenso wie für *Toxascaris leonina* einen Fehlwirt darstellt, erreichen diese Spulwurmarten in ihm nie (oder so gut wie nie) die Geschlechtsreife. Das bedeutet, daß ein direkter Erregernachweis – z. B. durch die Eier im Stuhl – nicht durchgeführt werden kann; auch der histologische Nachweis der Larven ist eine Seltenheit (2).

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at Toxocara-Infestationen des Menschen bleiben meist unbemerkt, da die klinische Symptomatik des LMV-Syndroms (Bauchschmerzen, Fieber, Bronchitis und Übelkeit) unspezifisch ist und erst in Zusammenhang mit einer Eosinophilie und/oder Hypergammaglobulinämie an eine extraintestinale Helminthose denken läßt.

Die klinische Verdachtsdiagnose kann aber leicht durch den Nachweis von spezifischen Antikörpern – meist gegen die hochspezifischen exkretorisch/sekretorischen (E/S-) Antigene – bestätigt werden. Die nahe Verwandtschaft der erwähnten Ascarididen-Spezies bedingt natürlich zahlreiche Antigengemeinschaften. Sie erschweren durch immunologische Kreuzreaktionen die spezifische Diagnostik erheblich (8, 12, 17, 19).

Im Rahmen dieser Untersuchung sollte die Frage geklärt werden, welche somatischen Antigene von den in Mitteleuropa autochthon vorkommenden Askariden Ascaris suum, Toxocara canis und Toxascaris leonina im Westernblot besonders immunreaktiv sind und wie sich die humorale Immunantwort, im IgG und den Subklassen IgG₁₋₄ manifestiert.

Material und Methoden

Antigene

Aus adulten Exemplaren von Ascaris suum, Toxocara canis und Toxascaris leonina wurden somatische Antigene hergestellt (18). Die Ascaris-Würmer stammten vom Schlachthof St. Marx, Wien, adulte Toxocara canis wurden freundlicherweise von der Veterinärmedizinischen Universität Wien und Toxascaris leonina von der Bundesanstalt für Viruskrankheiten der Tiere Wusterhausen, Deutschland, zur Verfügung gestellt.

Nach Entfernung der Uterusschläuche aus den weiblichen Tieren wurden die Würmer in kleinere Stücke zerteilt. Danach wurden je 5 g "Wurmstücke" in 20 ml phosphatgepufferter Saline (PBS, pH 7,2) aufgenommen und mit einer 0,2 M wasserlöslichen Protease-Inhibitoren-Lösung, bestehend aus Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz (EDTA), Ethylenglycolbis(2-aminoethylether)tetraessigsäure (EGTA), N-Ethylmaleimid (NEM), sowie mit einer 0,33 M Phenylmethylsulphonylfluorid-Lösung (PMSF), versetzt. Anschließend wurde dieses Gemisch mit einem Ultraturrax homogenisiert. Nach zwei Zentrifugationsschritten (12.000 g, 20 min.) wurde der Überstand abgehoben, aliquotiert und bis zur weiteren Verwendung bei –20°C eingefroren.

SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese (SDS-PAGE) Die somatischen Antigene wurden in einem Gradientengel (8 - 18%) unter Verwendung des Elektrophoresesystems Pharmacia Biotech (Schweden) aufgetrennt. Die Auftrennung der einzelnen Extrakte erfolgte bei 2 mA/cm Gel unter reduzierenden und unter nicht reduzierenden Bedingungen [SDS-Probenpuffer pH 6,8: 378 mg Tris, 2,3 g SDS, 5 ml Glyzin (87%), 1,25 ml Bromphenolblau (1% in Äthanol), auf 50 ml A. dest., beim reduzierenden Puffer zusätzlich 2,5 ml Merkaptoethanol]. Die Proteine wurden mittels Coomassie-Färbung sichtbar gemacht.

Die relativen Molekulargewichte der einzelnen Proteinbanden wurden nach den mitgeführten Proteinstandards (Amersham Life Science/England) bestimmt. Nach der Titration der somatischen Antigene von Ascaris suum, Toxocara canis und Toxascaris leonina, erwiesen sich folgende Konzentrationen pro cm Gel als am besten geeignet: Ascaris suum: 1,25 µl Antigen, Toxocara canis: 2,5 µl Antigen, Toxascaris leonina: 6 µl Antigen.

Westernblot-Verfahren

Die unter reduzierenden Bedingungen (pH 6,8) aufgetrennten Proteine von Ascaris suum, Toxocara canis und Toxascaris leonina wurden nach der SDS-PAGE auf Nitrozellulose (0,2 µm Porengröße, BioRad/USA) transferiert (10 V, 1,3 W und 36 min). Danach wurde die Nitrozellulose in ca. 4 mm breite Streifen geschnitten; unspezifische, freie Bindungsstellen wurden mit 3%igem Rinderalbumin in PBS blockiert (1 Stunde bei 37°C). Anschließend wurden die Nitrozellulosestreifen mit den Patientenseren (Tab. 1) überschichtet und über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach einem 15minütigen Waschvorgang (PBS/Tween 20) wurden die Streifen in die mit 3%igem Rinderalbumin verdünnte Sekundärantikörperlösung (Konjugat) gelegt. Getestet wurde auf reaktives IgG und die Subklassen IgG₁₋₄. Dafür wurden folgende Konjugate verwendet: Peroxidase-konjugiertes-Ziege-Antihuman-

Tabelle 1: Verwendete Serum- und Konjugatverdünnungen in der Westernblot-Testreihe nach Schachbrett-Titration.

Serumver- dünnung	Konjugat- verdünnung
1: 200	1:500
1:1000	1:500
1: 400	1:500
1: 400	1:500
1: 400	1:500
	dünnung 1: 200 1:1000 1: 400 1: 400

IgG (Jackson Immuno Res. Lab./USA) und Peroxidase-konjugierte-Maus-Antihuman-Ig G_{1-4} (Zymed Lab. Inc./USA). Nach 2 Stunden Inkubation bei 37°C und einem abermals folgenden Waschvorgang wurden die Antigen-Antikörper-Komplexe durch die Farbreaktion des Substrates (10 ml Methanol, 30 mg Chlornaphtol, 50 ml PBS, 20 μ l 30%iges H_2O_2) sichtbar gemacht.

Patienten- und Probandenkollektive

Es wurden 24 verschiedene Seren von Patienten/Probanden auf spezifisches IgG und IgG_{1-4} getestet. Folgende Gruppeneinteilung wurde getroffen:

- Gruppe 1 Sechs Seren, die sich im *Toxocara*-E/S- und *Ascaris*-E/S-ELISA und Westernblot als negativ herausgestellt hatten, sollten als negative Kontrollgruppe dienen.
- Gruppe 2 Sieben Seren, in denen in Vorversuchen Antikörper gegen exkretorisch/sekretorische Antigene von Ascaris suum nachgewiesen worden waren.
- Gruppe 3 Acht Seren stammten von Patienten, bei denen in Vorversuchen *Toxocara*-E/S-spezifische Antikörper festgestellt worden waren. Diese Patienten zeigten außerdem mit LMV oder OLM (das Okuläre Larva migrans-Syndrom kann nach Invasion von Nematodenlarven in das Auge entstehen) assozierte Symptomatik.
- Gruppe 4 Bei drei Seren waren sowohl *Ascaris*-spezifische, als auch *Toxocara*-spezifische Antikörper festgestellt worden.

Ergebnisse

SDS-PAGE

Die elektrophoretische Auftrennung der nativen, somatischen Proteinextrakte von *Ascaris suum* und *Toxocara canis* erbrachte mehr als 30 Proteinbanden im Bereich von 10 kDa bis >200 kDa. Das somatische Antigen von *Toxascaris leonina* wies jedoch nur weniger als 10, zum Teil überdies schwache Banden auf (Abb. 1).

Ascaris suum-Westernblot

Die IgG- und IgG₁₋₄-Westernblot-Analysen ergaben insgesamt 12 immunreaktive Banden bzw. Bandencluster (10, 14, 22, 30, 33, 37, 42, 46, 50, 59, 152 und 190 kDa), wobei IgG₁ und IgG₂ die meisten Banden detektierten. Im IgG₁-Westernblot reagierten alle 24 Seren positiv, wobei die drei Seren von "LMV/OLM-Patienten" (Gruppe 3) das 59 kDa-große Protein nicht erkannten und auch 4 von den "Ascaris-positiven" Seren (Gruppe 2) nicht das gesamte Proteinprofil markieren konnten. Im IgG₂-Westernblot wurde das 12bändige Proteinprofil sogar von 21 der insgesamt 24 Seren erkannt. Die Subklassen IgG₃ und IgG₄ zeichneten sich durch eine wesentlich geringere Reaktivität aus. IgG₃-Antikörper bildeten nur mit den Proteinen im mittleren Molekulargewichtsbereich (59, 50, 46, 42, 37 und 33 kDa) Antigen-Antikörper-Komplexe. Im IgG₄-Westernblot wurde lediglich die 33 kDa-Bande detektiert. Dieses 33 kDa große Protein erwies sich in allen 5 durchgeführten Westernblots (IgG-, IgG₁₋₄) als das dominierende immunreaktive Protein (Abb. 2). In allen 24 Seren wurden Antikörper gefunden, die sich an das somatische Antigen von *Ascaris suum* binden konnten.

Toxocara canis-Westernblot

In den Westernblots mit den somatischen Antigenen von *Toxocara canis* und den Konjugaten gegen IgG und IgG_{1-4} konnten 7 immunogene Banden mit den Molekulargewichten 14, 42, 53, 60, 90, 220 und >220 kDa detektiert werden. Die Reaktivität ist wiederum vom IgG_1 bis zum IgG_4 , im Hinblick auf die Detektion der 7 immunogenen Banden, abnehmend. Nur mit dem Gesamt-IgG-Konjugat konnten in I0 Seren die >200 kDa, bzw. mit 6 Seren die 220 kDa Bande detektiert werden. Die Seren stammten aus allen vier Patienten/Probanden-Gruppen. Im IgG_2 -Westernblot erkannten 6 Seren aus der OLM- bzw. LMV-Gruppe (Gruppe 3) ein I4 kDa großes Protein. In der kumulativen Darstellung des mit den einzelnen Subklassen reaktiven Antigens präsentierte sich die immundominante Bande im IEG_2 -Westernblot erkannten Bande im IEG_2 -Westernblot

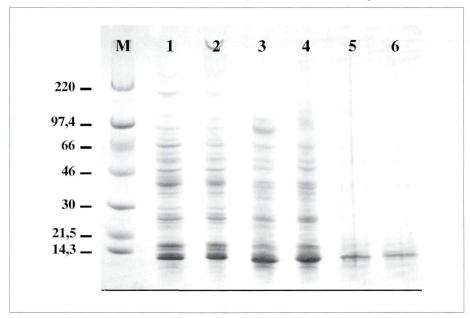


Abbildung 1:

SDS-PAGE der somatischen Antigene, gefärbt mit Coomassie-Blau. Ascaris suum-Antigen unter reduzierenden (1) und unter nicht reduzierenden Bedingungen (2), Toxocara canis-Antigen unter reduzierenden (3) und unter nicht reduzierenden Bedingungen (4), Toxascaris leonina unter reduzierenden (5) und unter nicht reduzierenden Bedingungen (6), Proteinstandard in kDa (M).

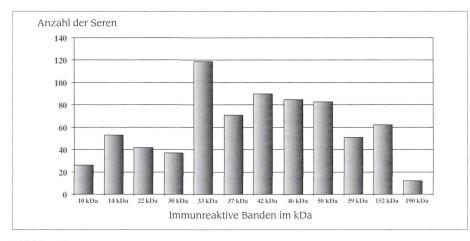


Abbildung 2:

Immunreaktive Proteine im somatischen Antigen von *Ascaris suum.* Auf der Y-Achse sind alle Seren, die die jeweiligen Proteine (X-Achse) erkannt haben, aus allen 5 Tests zusammengefaßt.

Toxascaris leonina-Westernblot

Auch im IgG-Westernblot mit dem Toxascaris-Antigen konnten 5 immunreaktive Banden mit den Molekulargewichten 23, 30, 34, 45 und 52 kDa gefunden werden. 13 von den insgesamt 24 Seren detektierten im IgG₁-Westernblot die 33 kDa-Bande, wobei sich unter diesen 13 Seren alle 11 Seren befanden, die zur Gruppe der "Toxocara-positiven" (Gruppe 3 und 4) gezählt wurden. Während vom IgG1 die 34 kDa erkannt wurde, detektierte das IgG2 aus 16 Seren (aus allen Gruppen) die 45 kDa-Bande. Die IgG₃- und IgG₄-Westernblots blieben ohne immunreaktive Banden. Als dominantimmunreaktives Protein stellte sich eine 34 kDa große Bande in der kummulativen Darstellung heraus (Abb. 4).

Diskussion

Aufgrund der engen Verwandtschaft und der daraus resultierenden Antigengemeinschaften zwischen einzelnen Nematodenarten ergeben sich Probleme in der Serodiagnostik. Vor allem die Spezies-spezifische Serodiagnostik von Toxocara spp. ist, abgesehen von anderen Faktoren, erschwert durch das Problem der immunologischen Kreuzreaktivität und zwar innerhalb des Genus Toxocara (19) oder zwischen Toxocara canis und Ascaris suum (5, 6, 7) oder Anisakis simplex, Toxocara canis und Ascaris suum (9). Diese Tatsache und die doch relativ große Häufigkeit von Nematodeninfestationen des Menschen - vor allem mit Toxocara-Larven (22, 23, 24) - veranlassen viele Arbeitsgruppen, sich näher mit Nematodenantigenen zu beschäftigen.

Ziel der Untersuchung war es, somatische Antigene der Nematoden Ascaris suum, Toxocara canis und Toxascaris leonina hinsichtlich ihrer Immunreaktivität im Westernblot zu untersuchen und sie zu charakterisieren.

In unserem Fall erbrachte die elektrophore-

tische Auftrennung in der SDS-Page der somatischen Extrakte von *Ascaris suum* und *Toxocara canis* zahlreiche Proteinbanden im Bereich von 10 kDa bis >220 kDa. Wie in Abbildung 1 zu sehen ist, konnten mit Coomassie-Blau weit weniger Proteine im Toxascaris-Antigen sichtbar gemacht werden als bei den beiden anderen Antigenen. Der Grund dafür könnte eine Degradation der nativen Proteine sein, denn die *Toxascaris leonina*-Würmer stammten aus Deutschland und befanden sich einige Tage lang auf dem Transportweg, so daß wahrscheinlich organismeneigene Proteasen Struktur- und andere Proteine abbauen konnten. Andererseits fanden auch Page und Mitarbeiter

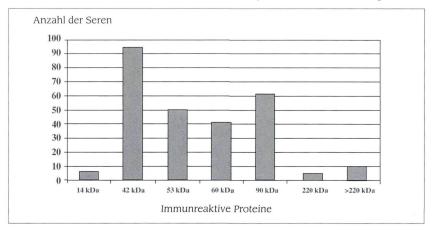


Abbildung 3:

Immunreaktive Proteine im somatischen Antigen von *Toxocara canis*. Auf der Y-Achse sind alle Seren, die die jeweiligen Proteine (X-Achse) erkannt haben, aus allen 5 Tests zusammengefaßt.

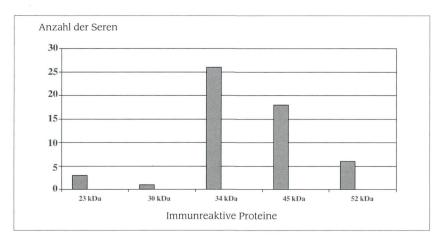


Abbildung 4:

Immunreaktive Proteine im somatischen Antigen von *Toxascaris leonina*. Auf der Y-Achse sind alle Seren, die die jeweiligen Proteine (X-Achse) erkannt haben, aus allen 5 Tests zusammengefaßt.

(19) ein geringeres somatisches Proteinprofil im *Toxascaris leonina*-Antigen als im *Toxocara canis*-Antigen. Ansonsten bestechen die somatischen Proteinextrakte der drei Nematodenarten durch ihre auffällige Ähnlichkeit.

In jeder Testreihe mit den Konjugaten gegen IgG und IgG₁₋₄ konnten zahlreiche Proteine von den humanen Antikörpern markiert werden. Die besonders immunogenen Proteine (33 kDa-Protein im Ascaris suum-Antigen, 42 kDa-Protein im Toxocara canis-Antigen und 34 kDa-Protein im Toxascaris leonina-Antigen) zogen sich wie ein roter Faden durch die Westernblot-Testreihe. Die stärksten Immunantworten stammten jedoch von den Subklassen IgG₁ und IgG2. Daß die Reaktivität der Subklassen IgG3 und IgG₄ so gering ausfiel, ist vielleicht auf ein Sensitivitätsproblem zurückzuführen. LILLYWHITE und Mitarbeiter (15) zeigten in ihrer Studie über die humorale Immunantwort gegen Trichuris trichiura, daß im Immunoblot mit verschiedenen Nematodenantigenen die IgG₁-Antikörper die breitesten Bandenprofile markierten, die Antworten auf niedermolekulare Antigene blieb auf IgG1 und IgG4 beschränkt und IgG₂-Antikörper reagierten eher mit höhermolekularen Antigenen.

Daß die Reaktivität im Westernblot mit dem *Toxascaris leonina*-Antigen so gering ausfiel, ist vielleicht auf die Tatsache zurückzuführen, daß das Antigen selbst kein so ausgeprägtes natives Bandenprofil zeigte, wie *Ascaris suum*- und *Toxocara canis*-Antigene. PAGE et al. (19) konnten auch zeigen, daß sich einige gleiche, konservative Banden im somatischen Antigen von *Toxocara canis* und *Toxascaris leonina* befanden.

Interessant ist aber jedenfalls, daß alle Seren im Immunoblot mit allen drei Antigenen reagierten, auch diejenigen die als negative Kontrollgruppe (Gruppe 1)

angenommen wurden, ebenso diejenigen, bei denen Antikörper gegen nur eine Spezies im E/S-ELISA bzw. E/S-Westernblot festgestellt worden waren (Gruppe 2 und 3). Mit diesen Westernblots, bei denen somatische Antigene verwendet wurden, können keine Einteilungen in Patienten mit oder ohne Nematodeninfestationen getroffen werden. Es konnte auch nicht festgestellt werden, ob einzelne immunreaktive Proteine ganz spezifisch einem der 4 Serumkollektive zugeordnet werden können, da die Kollektive insgesamt viel zu klein waren. Da alle 24 Seren mit den Nematodenantigenen reagierten, liegt der Schluß nahe, daß alle 24 Patienten und Probanden schon irgendwann in ihrem Leben mit irgendeiner Ascarididen-Spezies infiziert gewesen sind. Außerdem ist es wahrscheinlich, daß die einzelnen Antigene zahlreiche immunologisch kreuzreaktive Proteine enthielten und daß deshalb so zahlreiche immunreaktive Banden gefunden wurden. Eine weitere Möglichkeit wäre, daß es in den Westernblots zu unspezifischen Protein-Proteinbindungen gekommen ist und deshalb so viele immunreaktive Banden auftraten.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at Von Seiten der Serodiagnostik wird mit Recht weitaus mehr Augenmerk auf die metabolischen (E/S-) Antigene gelegt, da sie zur Zeit das beste Werkzeug sind, um extraintestinale Helminthosen zu erkennen. Neuere Methoden, wie z. B. PCR (10) ermöglichen die Speziesbestimmung auf genomischem Niveau, das entscheidende Problem dabei ist aber, daß die Larven nur ausnahmsweise aus humanen Geweben isoliert werden können.

Die somatischen Extrakte von Nematoden beinhalten ein großes Sammelsurium an Makromolekülen und darunter sind, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde, zahlreiche immunreaktive Proteine. Die Isolierung und anschließende molekulare Charakterisierung der einzelnen Moleküle wäre dabei von großer Bedeutung. Ein gutes Beispiel dafür sind Allergene, die in somatischen Extrakten von Nematoden gefunden wurden (11). Auch Hitze-Schock-Proteine, die bei einer Reihe von Bakterien und Parasiten als Antigene identifiziert worden sind, könnten bei extraintestinalen Helminthosen eine gewisse Rolle in der immunologischen Abwehr spielen (20). Da einige Proteine vermutlich immunbiologische Vorgänge, Pathomechanismen und die Klinik von Infestationen mit Nematodenlarven beeinflussen, wäre es interessant mehr über die somatischen Proteine von Ascarididen in Erfahrung zu bringen.

Zusammenfassung

Gewebsinvasive Nematodenlarven können beim Menschen schwere gesundheitliche Schäden hervorrufen. Das klinische Bild ist meist sehr uncharakteristisch. Hinweise auf eine Infestation gibt letztendlich der Nachweis von spezifischen Antikörpern durch verschiedene serologische Testverfahren. Die nahe Verwandtschaft der verschiedenen Nematodenarten kann durch Antigengemeinschaften und immunologische Kreuzreaktionen die serodiagnostische Abklärung erschweren. Ziel dieser Untersuchung war es, somatische Antigene von drei in Mitteleuropa autochthon vorkommenden Nematodenarten aus der Familie der Ascarididae - Ascaris suum, Toxocara canis und Toxocaris leonina – im Westernblot-Verfahren auf ihre Immunreaktivität zu überprüfen.

Die Antigene wurden in der SDS-PAGE aufgetrennt und mit Coomassie-Blau sichtbar gemacht. Mit Hilfe von 24 verschiedenen Patienten- und Probandenseren wurden Westernblots durchgeführt, bei denen nach reaktivem IgG und den Subklassen IgG₁₋₄ gesucht wurde.

Bei jedem der drei Antigene wurden mehrere immunogene Proteine gefunden, wobei eine deutliche Dominanz in der Häufigkeit der immunogenen Proteine nachweisbar war (bei Ascaris suum: 33 kDa; bei Toxocara canis: 42 kDa; bei Toxascaris leonina: 34 kDa). Die größte Anzahl immunreaktiver Proteine konnte im Ascaris suum-Antigen festgestellt werden. Bei den Immunglobulinsubklassen zeigte sich generell, daß die Reaktivität des IgG1 und IgG2 wesentlich höher war als die des IgG₃ und IgG₄. Interessanterweise reagierten auch alle Seren der negativen Kontrollgruppe mit manchen Teilantigenen aller drei Helminthen; ob es sich dabei um anamnestische Reaktionen früherer Infestationen handelt und in welchem Ausmaß diesen immunreaktiven Proteinen immunbiologische und/oder immunpathologische Bedeutung zukommt soll in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Schlüsselwörter

Antigengemeinschaften, Ascaris suum, Toxocara canis, Toxascaris leonina, immunreaktive Proteine.

Summary

Comparative studies on the immune reaction of selected patients and probands to antigens of Ascaris, Toxocara and Toxascaris.

Tissue-invasive nematode larvae can be the cause of serious disease in human beings. However, the clinical signs are usually not characteristic. Reliable diagnosis of an infestation is achieved by the detection of specific antibodies in various serological tests. Serodiagnosis often is quite difficult because of immunological cross-reactivities resulting from the close interrelationship among nematodes.

The aim of this study was to investigate the immune-reactivity of somatic antigens of three ascaridid species (*Ascaris suum, Toxocara canis, Toxascaris leonina*) occurring autochtonically in Central Europe. The antigens were separated by SDS-PAGE and the proteins were stained with Coomassieblue. In order to detect reactive IgG and IgG_{1-4} 24 different sera were screened using Westernblot technique.

Each of the three antigens revealed numerous immunogenic proteins and each antigen showed one immune-dominant protein (*Ascaris suum*: 33 kDa; *Toxocara canis*: 42 kDa; *Toxascaris leonina*: 34 kDa). The largest number of immune-reactive proteins were found in the *Ascaris suum*-antigen. Generally, the reactivity of IgG_1 and IgG_2 was significantly higher than those of IgG_3 and IgG_4 . Interestingly enough, all sera of the negative control-group also reacted with some of the somatic antigens of all three helminths; wether these were merely anamnestic reactions of previous infestations and to which extent these immune-reactive proteins are of immunbiological and/or immunpathological significance will be established in future studies.

Key words

Antigenic relationship, *Ascaris suum, Toxocara canis, Toxascaris leonina,* immune reactive proteins.

Literatur

- 1. AREAN, V. M., CRANDALL, C. A. (1971):
 - Toxocariasis. In: Marcial-Rojas, R.A., (Hrsg.): Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases. R.E.Krieger Publishing Co., New York.
- AUER, H., BENKE, T., MAIER, H., RUSSEGGER, L., SCHMUTZHARD, E., ASPÖCK, H. (1990): Toxokarose des Rückenmarks. Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 12, 61-68.
- 3. BEAVER, P. C., SNYDER, C. H., CARRERA, G. M., DENT, J. H., LAFFERTY, J. W. (1952): Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. Report of 3 cases. J. Pediatr., 9, 7-19.
- 4. CONRATHS, F. J., BAUER, C., CSEKE, J. & LAUBE, H. (1996): Arbeitsplatzbedingte Infektionen des Menschen mit dem Waschbärspulwurm Baylisascaris procyonis. Arbeitsmedizin Sozialmedizin Umweltmedizin 31, 13-17.
- CUÉLLAR, C., FENOY, S., GUILLÉN, J. L. (1992): Cross-reactions of sera from Toxocara canis-infected mice with Toxascaris leonina and Ascaris suum antigens. Int. J. Parasitol. 22, 301-307.
- CUÉLLAR, C., FENOY, S., GUILLÉN, J. L. (1995): Cross-reactions of sera from Toxascaris leonina and Ascaris suum infected mice with Toxocara canis, Toxascaris leonina and Ascaris suum antigens. Int. J. Parasitol. 25, 731-739.
- 7. GRELCK, H., HÖRCHNER, F., UNTERHOLZNER, J. (1981):
 Zur serologischen Differenzierung von Ascaris suum und Toxocara canis Infektionen beim Schwein.
 Z. Parasitenk. 65, 277-282.
- 8. HASWELL-ELKINS, M., KENNEDY, M. W., MAIZELS, R. M., ELKINS, D. B., ANDERSON, R. M. (1989): The antibody recognition profiles of humans naturally infected with Ascaris lumbricoides. Parasite Immunol. 11, 615-627.
- IGLESIAS, R., LEIRO, J., UBEIRA, F. M., SANTAMARINA, M. T., NAVARRETE, I., SANMARTIN, M. L. (1996): Antigenic cross-reactivity in mice between third-stage larvae of Anisakis simplex and other nematodes. Parasitol. Res. 82, 378-381.
- JACOBS, D. E., ZHU, X., GASSER, R. B., CHILTON, N. B. (1997): PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat. Acta Tropica 68, 191-200.
- 11. KAYES, S. G. (1997): Human toxocariasis and the visceral larva migrans syndrome: correlative immunopathology. Chem. Imunol. 66, 99-124.

- 12. KENNEDY, M. W., QURESHI, F., FRASER, E. M., HASWELL-ELKINS, M., ELKINS, D. B., SMITH, H. V. (1989): Antigenic relationships between the surface exposed, secreted and somatic materials of the nematode parasites Ascaris lumbricoides, Ascaris suum and Toxocara canis. Clin. Exp. Immunol. 75, 493-500.
- KIMMIG, P., NASER, K., FRANK, W. (1991): Seroepidemiologische Untersuchungen zur Toxokariasis des Menschen. Zbl. Hyg. 191, 406-422.
- 14. KÜCHLE, M., KNORR, H. L. J., MEDENBLIK-FRYSCH, S., WEBER, A., BAUER, C., NAUMANN G. O. H. (1993): Diffuse unilateral subacute neuroretinitis syndrome in a German most likely caused by the racoon roundworm, Baylisascaris procyonis. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophtalmol. 231, 48-51.
- 15. LILLYWHITE, J. E., BUNDY, D. A. P., DIDIER, J. M., COOPER, E. S., BIANCO, A. E. (1991): Humoral immune response in human infection with the whipworm Trichuris trichiura. Parasite Immunol. 13, 491-507.
- LUNGSTROM, I., VAN KNAPEN, F. (1989):
 An epidemiological and serological study of Toxocara infection in Sweden.
 Scand. J. Infect. Dis. 21, 87-93.
- 17. LYNCH, N. R., WILKES, L. K., HODGEN, A. N., TURNER, K. J. (1988): Specifity of Toxocara ELISA in tropical populations. Parasite Immunol. 10, 323-337.
- MAIZELS, R. M., BLAXTER, M. L., ROBERTSON, B. D., SELKIRK, M. E. (1991):
 Parasite Antigens, Parasite Genes A Laboratory Manual for Molecular Parasitology. Cambridge University Press,
 Cambridge.
- PAGE, A. P., RICHARDS, D. T., LEWIS, J. W., OMAR, H. M., MAIZELS, R. M. (1991): Comparison of isolates and species of Toxocara and Toxascaris by biosynthetic labelling of somatic and ES proteins from infective larvae. Parasitology 103, 451-464.
- 20. POLLA, B., S. (1991): Heat shock proteins in host-parasite interactions Immunol. Today 12, A38-A41.
- PROKOPIC, J. & FIGALLOVÁ V (1982): Migration of some roundworm species in experimentally infected white mice. Folia Parasitolgica 29, 309-313.
- 22. STÜRCHLER, D., BRUPPACHER, R., SPEISER, F. (1986): Epidemiologische Aspekte der Toxokariasis in der Schweiz. Schweiz. Med. Wschr. 116, 1088-1093.
- 23. WALDER, M., ASPÖCK, H. (1988):
 Untersuchungen über Häufigkeit und Bedeutung von Toxocara-Infektionen des Menschen in Österreich.
 Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 10, 159-174.
- 24. VAN KNAPEN, F., VAN LEUSDEN, J., POLDERMAN, A. M., FRANCHIMONT, J. H. (1983): Visceral larva migrans: examinations by means of enzyme-linked immunosorbent assay of human sera for antibodies to excretory-secretory antigens of the second stage larvae of Toxocara canis. Z. Parasitenk. 69, 113-118.
- 25. VAN KNAPEN, F., BUJIS, J., KORTBEEK, L. M., LUNGSTROM, I. (1992): Larva migrans syndrome: Toxocara, Ascaris or both? Lancet 340, 29.

Korrespondenzadresse

Andrea Nicka

Abteilung für Medizinische 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: 1998

Band/Volume: 20

Autor(en)/Author(s): Nicka A., Obwaller A., Auer A., Aspöck Horst

Artikel/Article: Vergleichende Untersuchungen über Immunreaktionen mit Antigenen von *Ascaris, Toxocara* und

Toxascaris bei ausgewählten Patienten und Probanden 29-36