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

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 6 (1984) 33–40

Institut für Tropenhygiene und öffentliches Gesundheitswesen am Südasien-Institut und Abteilung für Parasitologie des Hygiene-Instituts der Universität Heidelberg

Kreuzreaktionen von Nagetierseren mit Echinococcus-Antigen

Erhard Hinz und Hannelore Gehrig

Einleitung

Serologische Kreuzreaktionen können bei Helminthosen auch dann auftreten, wenn die Erreger nur einen geringen phylogenetischen Verwandtschaftsgrad aufweisen. Besonders häufig kreuzreagieren z. B. Seren von Filariose-Patienten mit Echinokokkenantigen (SPEISER 1980), wofür u. a. die auch im gereinigten Antigen vorhandenen Wirtskomponenten verantwortlich gemacht werden können (MANNWEILER et al. 1977). Solche, von uns mit den Seren von Dipetalonema viteae-infizierten Nagetieren ebenfalls beobachtete Kreuzreaktivität war jedoch im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) aufgrund der unterschiedlichen Lokalisation der Fluoreszenz klar gegen die homologe Reaktion abgrenzbar (HINZ et al. 1981): Die von uns verwandte Antigenpräparation (Paraffin-eingebettete histologische Schnitte von Echinicoccus multilocularis) führte im heterologen System zur Fluoreszenz des Protoskolex-Parenchyms, während sich im homologen System die Reaktion stets an der Peripherie der Protoscolices abspielt. In weiteren Untersuchungen, deren Ergebnisse hier vorgelegt werden, gingen wir der Frage nach, ob die Parenchymfluoreszenz filarienspezifisch ist oder auch die Abgrenzung anderer Helminthosen erlaubt. Die Anwendung weiterer Testverfahren (PHA, ELISA) diente der vergleichenden Bewertung.

Material und Methode

Als Prüfseren dienten die Seren von je 10 Tieren aus folgenden Parasit-Wirt-Kombinationen:

Echinococcus multilocularis – NMRI-Maus (56 Tage p. i.)
Taenia crassiceps – NMRI-Maus (70 Tage p. i.)
Mesocestoides corti – NMRI-Maus (70 Tage p.i.)
Hymenolepis diminuta – Wistar-Ratte (159 Tage p. i.)[1]
Fasciola hepatica – Wistar-Ratte (118 Tage p. i.)[1]
Schistosoma mansoni – B 10.D2-Maus (98 Tage p. i.)
Nematospiroides dubius – CSW-Maus (18 Tage p. i.)[1]
Nippostrongylus muris – Wistar-Ratte (9 Tage p. i.)[1]
Heterakis spumosa – Wistar-Ratte (73 Tage p. i.)[1]
Trichinella spiralis – CFW-Maus (18 Tage p. i.)[1]
Litomosoides carinii – Sigmodon hispidus (92 Tage p. i.)[1]

Als Prüfverfahren kamen folgende Tests zur Anwendung:

1. IIFT mit Paraffin-eingebetteten Metazestoden von Echinococcus multilocularis als Antigen (HINZ und KIRSTEN 1978)

[1]) Herrn Dr. D. Düwel, Helminthologie, Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt (M), danke ich für die Überlassung der Seren.

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

2. PHA mit E. granulosus-Antigen (Cellognost®-Echinococcosis, Behring-Institut)
3. ELISA mit E. multilocularis-Antigen
   Herstellung des löslichen Antigens aus Zystenbrei nach Mannweiler et al. (1977), weitere Durchführung nach Voller et al. (1974; Modifikation nach Lingelbach 1982); Messung bei 405 nm; Titerfestlegung für eine Serumverdünnung, die eine OD_{405} von mehr als 0,2 ergab.

Ergebnisse

Indirekter Immunfluoreszenztest

Lokalisation der Fluoreszenz an den Protoscolices und Höhe der Antikörpertiter differieren je nach dem Ursprung der Antiseren (Abb. 1). Die spezifische Reaktion mit deutlicher Fluoreszenz der peripheren Protoskolex-Schichten führt im homologen System

Species \ Titer 1:	< 10	10	20	40	80	160	320	640	1280
E. multilocularis							●●● ●●●	●	●●●
T. crassiceps					● ●●● ●●●	●●	●		
M. corti			●●●	●●●	●●●	●			
H. diminuta			++ ooo	+ ooo	+				
S. mansoni			++	oo+	+ o++	+			
F. hepatica	●●	●●●	●●●	●	●				
T. spiralis		+	++	+ +++		++	+		
L. carinii	++	++	++ +++	+					
H. spumosa	● ●●●	● ●●●	●●						
N. muris	●●● ●●● ●●●	●							
N. dubius	●●● ●●● ●●●●								

Abb. 1: Verteilung der Antikörpertiter bei Prüfung verschiedener Antiseren an E. multilocularis-Antigen im indirekten Immunfluoreszenztest.
Lokalisation der Fluoreszenz:
● Protoskolex-Peripherie
o Protoskolex-Peripherie und -Parenchym
\+ Protoskolex-Parenchym

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

(E. multilocularis) zu Titern von 1:320 bis 1:1280. Die gleiche Lokalisation, jedoch mit – z. T. deutlich – niedrigeren Titern ist bei Prüfung von Antiseren aus Tierinfektionen mit T. crassiceps, M. corti, F. hepatica und H. spumosa zu beobachten. In allen anderen Fällen kommt es niemals zur alleinigen Reaktion der Protoscolex-Peripherie; entweder ist das Parenchym mitbeteiligt (H. diminuta, S. mansoni), oder die Fluoreszenz beschränkt sich sogar auf die Innenstrukturen. Eine solche Parenchym-Fluoreszenz bei völlig fehlender Reaktion der peripheren Schichten ist das typische Ergebnis beim Test von Antiseren aus Tieren, die mit T. spiralis und L. carinii infiziert waren. Seren von N. muris- und N. dubius-infizierten Tieren bleiben praktisch ohne jegliche Kreuzreaktivität.

Passive Hämagglutination

In der PHA setzen sich die Titer im Echinococcus-System (1:1280 bis 1:5120) in ihrer Höhe deutlich von den kreuzreagierenden Seren ab (Abb. 2). Nur 22 von insgesamt 100 Proben bewirkten überhaupt einen positiven Testausfall, wobei die höchsten Titer bei Taenia crassiceps-Befall (max. 1:320) erreicht wurden. Befall mit Darmhelminthen wurde in keinem Fall angezeigt.

Species \ Titer 1:	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
E. multilocularis									●●●	●●	●●●
T. crassiceps	●●●			●●	●●	●	●●				
M. corti	●●●●		●	●	●						
H. diminuta	●●●●●										
S. mansoni	●●●●●	●●	●	●							
F. hepatica	●●●●●										
T. spiralis	●●●●●	●●		●●							
L. carinii	●●●●●		●	●	●●						
H. spumosa	●●●●●										
N. muris	●●●●●										
N. dubius	●●●●●										

Abb. 2: Verteilung der Antikörpertiter bei Prüfung verschiedener Antiseren an E. granulosus-Antigen in der passiven Hämagglutination (PHA)

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

Enzymtest

Im ELISA (vgl. Abb. 3) kommt es gegenüber IIFT und PHA (mit je 3 Titerstufen) im homologen System zu einer stärkeren Differenzierung, schwanken doch die Serumverdünnungen, die noch eine signifikante Extinktion bewirkten, zwischen 1:1000 und 1:32000. Im unteren Bereich (1:1000) sind Überschneidungen mit den Testseren aus Zestoden- und Trematodeninfektionen zu beobachten. Dagegen werden – anders als im IIFT und PHA – die extraintestinalen Nematodiasen im ELISA nicht angezeigt.

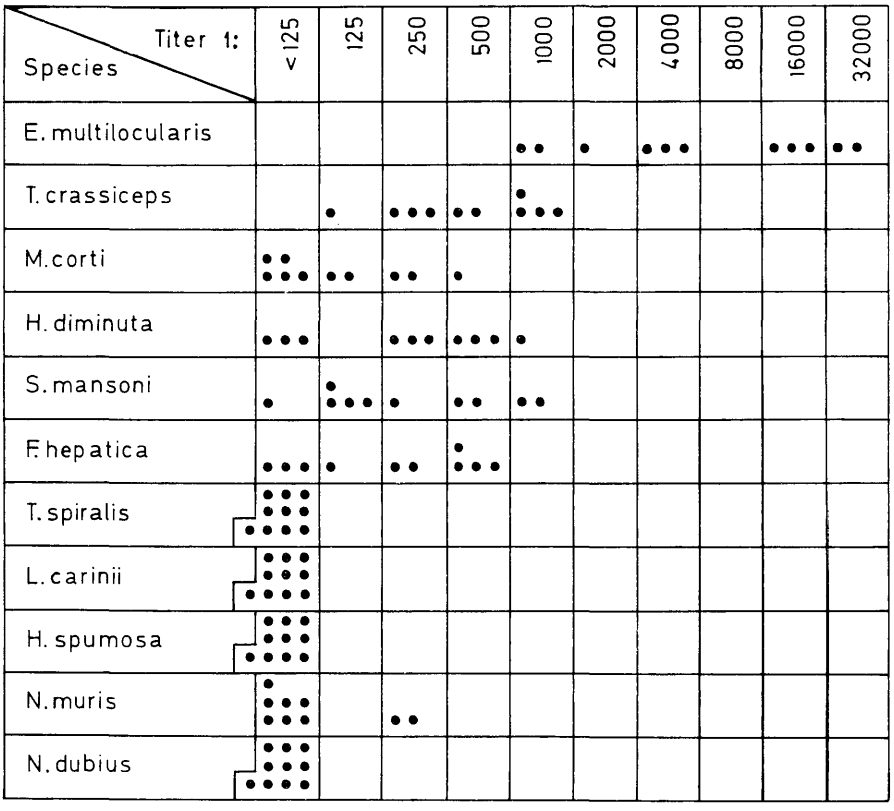

Abb. 3: Verteilung der Antikörpertiter bei Prüfung verschiedener Antiseren an E. multilocularis-Antigen im Enzymtest (ELISA)

Diskussion

Der Ausfall von Kreuzreaktionen in den drei Testverfahren gleicht sich insofern, als Titerhöhe und Verwandtschaftsgrad der Helminthen zum Enchinococcus korreliert sind (Abb. 1–3). Modifizierend wirkt sich hierbei aus, ob die Prüfseren von Infektionen mit extraintestinalen Gewebe- bzw. Organparasiten oder mit Bewohnern des Intestinaltrakts stammmen. Am deutlichsten reagieren in allen drei Testsystemen die Metazestoden-Antiseren der – wie der Echinococcus – zu den Taeniidae gehörenden Taenia crassiceps. Hier kommt es in IIFT und ELISA sogar zur Überschneidung der Titerspanne (beim Vergleich zu den Ergebnissen im homologen System). Liegen

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

Infektionen mit Vertretern anderer Zestodenfamilien vor, dann ist die Reaktion bei Finnenbefall (M. corti) deutlicher als bei Darmlumeninfektion (H. diminuta). Auch mit den in der Verwandtschaftsskala folgenden Trematoden (F. hepatica, S. mansoni) ist eine gewisse Reaktivität der Antiseren zu beobachten (wie auch für den Darmnematoden H. spumosa). Dies trifft jedoch eher für IIFT und ELISA, weniger für die PHA zu. Mit Ausnahme von S. mansoni- und H. diminuta-Antiseren ist in allen Fällen die Fluoreszenz – wie im homologen Testverfahren – auf die äußeren Protoscolex-Schichten beschränkt.

Eine Sonderstellung nehmen die extraintestinalen Nematoden ein; entsprechende Antiseren reagieren mit Echinococcus-Antigen im IIFT und z. T. auch in der PHA. Im IIFT weist die Fluoreszenz jedoch eine völlig andere Lokalisation auf wie im homologen System; sie ist ausschließlich auf das Parenchym der Protoscolices beschränkt. Dieser bereits früher am Beispiel der experimentellen Dipetalonema viteae-Infektion erhobene Befund (HINZ et al. 1981) kann somit auf den Befall mit den extraintestinalen Nematoden T. spiralis und L. carinii ausgedehnt werden.

Aus den gewonnenen Ergebnissen lassen sich – mit den für serologische Befunde erforderlichen Einschränkungen – für die hier geprüften Helminthiasen folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1. Im IIFT können gegen Zestoden, Trematoden und Darmnematoden gerichtete Anitkörper mit Echinococcus-Antigen durch spezifische Fluoreszenz der äußeren Protoscolex-Schichten reagieren. Die Titerhöhe ist positiv mit dem phylogenetischen Verwandtschaftsgrad zur Gattung Echinococcus korreliert. Seren von Tieren, die extraintestinale Nematodeninfektionen aufweisen, bewirken dagegen eine unspezifische Fluoreszenz des Protoscolex-Parenchyms.

2. In der PHA werden Kreuzreaktionen zwischen Echinococcus-Antigen und heterlogen Antiseren nur für Infektionen mit Metazestoden, S. manisoni und Gewebenematoden beobachtet. Ein Darmhelminthenbefall, auch wenn es sich um Zestoden handelt, wird nicht angezeigt.

3. Im ELISA kommt es zu Kreuzreaktionen bei allen Zestoden- und Trematodeninfektionen. Hervorzuheben ist das völlige Fehlen einer Kreuzreaktivität bei Vorliegen extraintestinaler Nematodiasen.

4. Eine Kombination der drei Verfahren erlaubt eine weitgehende Abgrenzung der Echinokokkose von anderen Helminthiasen. Dies läßt sich durch korrelative Anordnung der sich aus den jeweils drei individuellen Antikörpertitern ergebenden Schnittpunkte im dreidimensionalen System veranschaulichen (Abb. 4). Hierbei befinden sich sämtliche Werte der E. multilocularis-infizierten Mäuse im Quader B (rechts oben hinten), während die Schnittpunkte, die sich aus den Antikörpertitern von Tieren mit anderen Wurminfektionen ergeben, vom Quader A (links unten vorn) umschlossen werden.

Für die Prüfung auf Vorliegen einer experimentellen Echinokokkose gelang es also, mit der vorliegenden Untersuchung bei kombinierter Anwendung von IIFT, PHA und ELISA verschiedene Darmhelmintheninfektionen und den Befall mit einigen extraintestinalen Trematoden und Nematoden weitgehend auszuschließen, doch geht die Spezifität der Tests nicht soweit, daß diese es auch ermöglichen, sicher zwischen Metazestodenbefall anderen Ursprungs und der Echinokokkose zu differenzieren. Hierzu bedürfte es des Einsatzes weiterer Verfahren, insbesondere aber der Entwicklung eines species- oder doch wenigstens gattungsspezifischen Antigens.

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

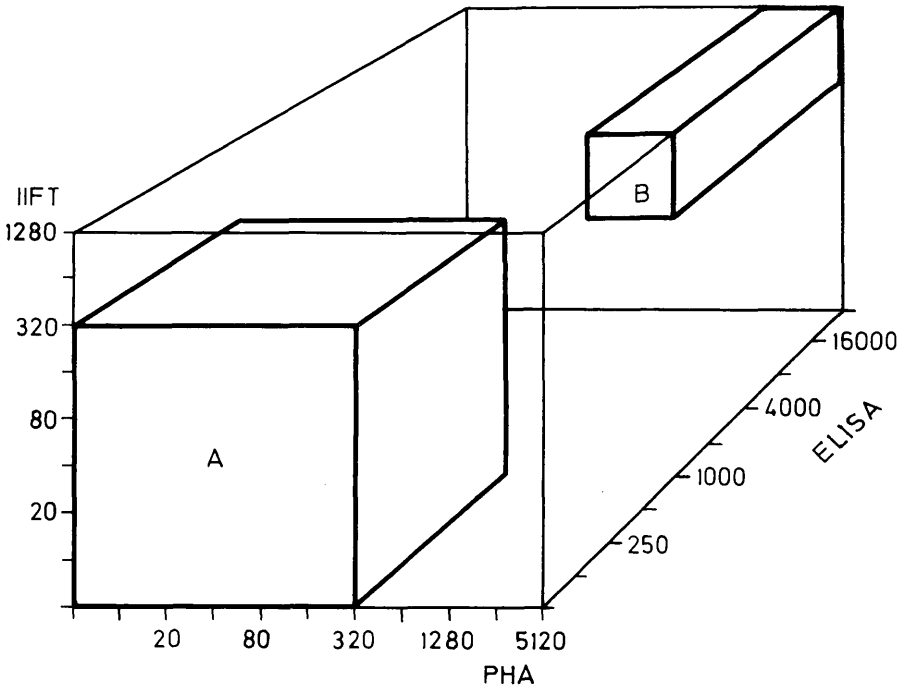

Abb. 4: Dreidimensionale Anordnung der mit Hilfe von IIFT, PHA und ELISA ermittelten Antikörpertiter
A Titerbereich kreuzreagierender Seren
B Titerbereich des homologen Systems

Zusammenfassung

Antiseren von experimentell mit Metazestoden (Echinococcus multilocularis, Taenia crassiceps, Mesocestoides corti) oder adulten Helminthen (Hymenolepis diminuta, Fasciola hepatica, Schistosoma mansoni, Nematospiroides dubius, Nippostrongylus muris, Heterakis spumosa, Trichinella spiralis, Litomosoides carinii) infizierten Nagetieren wurden im indirekten Immunfluoreszenztest, in der passiven Hämagglutination sowie im Enzymtest (ELISA) auf serologische Kreuzreaktionen an Echinococcus-Antigen geprüft. Die Anzahl der kreuzreagierenden Seren und der Grad der Reaktion (Antikörpertiter, Enzymaktivität) waren positiv mit dem phylogenetischen Verwandtschaftsgrad der Helminthenarten mit der Gattung Echinococcus korreliert. Gegen Darmnematoden gerichtete Antiseren verursachten nur in einigen Fällen eine Kreuzreaktion mit sehr niedrigen Antikörpertitern. Andere Nematoden- und Trematodeninfektionen sowie H. diminuta-Befall ließen sich bei kombinierter Anwendung der drei Verfahren wegen sehr niedriger Titer und/oder unspezifischer Fluoreszenz des Protoscolex-Parenchyms als falsch positive Befunde ausschließen. Die Infektionen mit den Metazestoden anderer Bandwurmarten waren gegenüber einer experimentellen Echinokokkose dagegen nicht klar abzugrenzen.

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

Summary

Cross reactions of rodent sera with Echinococcus antigen

Antisera from experimentally with metacestodes (Echinococcus multilocularis, Taenia crassiceps, Mesocestoides corti) or adult helminths (Hymenolepis diminuta, Fasciola hepatica, Schistosoma mansoni, Nematospiroides dubius, Nippostrongylus muris, Heterakis spumosa, Trichinella spiralis, Litomosoides carinii) infected rodents have been tested for cross reactions against Echinococcus antigen using the indirect immunofluorescent antibody test, the passive hemagglutination test and the enzyme-linked immunosorbent assay.

The number of cross-reacting sera and the degree of reaction (antibody titre, enzyme activity) were positively correlated with the phylogenetic relationship of the different helminth species to the genus Echinococcus. Antisera directed against intestinal nematodes gave only poor or no cross reactions at all. Other nematode, trematode and H. diminuta infections could be excluded as false positives by the combined application of the three serological methods because of very low titres and/or unspecific fluorescence of the protoscolex parenchyma. However, it was not possible to differentiate with certainty between Echinococcus and other metacestode infections.

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

Literatur

HINZ, E., H. J. DIESFELD, H. GEHRIG, C. KRISTEN (1981): Serologische Kreuzreaktionen zwischen experimentell mit Echinococcus multilocularis oder Dipetalonema viteae infizierten Nagetieren. Tropenmed. Parasit. 32, 247–249

HINZ, E., KIRSTEN (1978): Der indirekte Immunfluoreszenztest mit paraffineingebetteten histologischen Schnitten als Antigen bei der experimentellen Echinococcose. Tropenmed. Parasit. 29, 278–280

LINGELBACH, K. (1982): Darstellung von Parasitenproteinen und Identifizierung von Parasitenantigenen am Modell der Echinococcus multilocularis-Infektion. Diplomarbeit, Fak. Biol., Univ. Heidelberg

MANNWEILER, E., A. THÖLE, I. LEDERER (1977): Beiträge zum Immundiagnostik der Echinokokkose des Menschen. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 238, 494–502

VOLLER, A., D. BIDWELL., G. HULDT, E. ENGVALL (1974): A microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay and its application to malaria. Bull. Wld. Hlth. Org. 51, 209–211

SPEISER, F. (1980): Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of filariasis and echinococcosis. Tropenmed. Parasit. 31, 459–466

ANSCHRIFT DER AUTOREN:

Prof. Dr. Erhard Hinz und Hannelore Gehrig
Abteilung für Parasitologie des Hygiene-Instituts
Im Neuenheimer Feld 324
D-6900 Heidelberg

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: 1984

Band/Volume: 6

Autor(en)/Author(s): Hinz Erhard, Gehrig Hannelore

Artikel/Article: Kreuzreaktionen von Nagetierseren mit Echinococcus-Antigen. 33-40