

Mit. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 7 (1985) 93–99

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

Echinococcus multilocularis: Der Einfluß von Trächtigkeit und Laktation des Zwischenwirts auf den Infektionsverlauf¹⁾

Erhard Hinz und Hannelore Gehrig

¹⁾ Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Bernhard Rensch zum 85. Geburtstag

Einleitung

In vorangegangenen Untersuchungen zum Problemkreis „Trächtigkeit und Wurminfektionen“ hatten wir uns am Modell der experimentellen *Echinococcus multilocularis*-Infektion mit der Frage der Antikörperübertragung von der Mutter auf die Nachkommen sowie mit der Immunantwort und dem Befall der Nachkommen nach deren Infektion mit demselben Parasiten befaßt (HINZ 1978, HINZ und DOMM 1980, HINZ et al. 1984). Dabei hatte sich herausgestellt, daß auch gegen Echinococcen gerichtete Antikörper - der für die Maus generell geltenden Regel folgend - überwiegend mit Kolostrum und Milch auf die Nachkommenschaft übertragen werden. Daraus resultierte jedoch keine protektive Wirkung dieser Antikörper: Wenn selbst mit *E. multilocularis* infiziert, waren die Nachkommen infizierter Mütter sogar durch höhere Befallsstärke und geringere Konzentration von Serum-Antikörpern ausgezeichnet als diejenigen nicht infizierter Mütter. Als eine Ursache für diesen Befund war die Möglichkeit einer Antigenübertragung mit der Folge einer antigeninduzierten Immuntoleranz diskutiert worden. Für die Humanhelminthologie böte sich eine solche Interpretationsmöglichkeit ebenfalls für die spezifischen Verhältnisse bei den Turkana in Kenya an (vgl. HINZ 1985).

Die vorangegangenen Ergebnisse basierten auf einer Infektion der prospektiven Mütter im noch jugendlichen Alter von 3-4 Wochen. In weiteren Untersuchungen, über die hier berichtet werden soll, gingen wir der Frage nach, ob sich nach Infektion während der Trächtigkeit oder während der Laktation ähnliche Phänomene beobachten lassen.

Material und Methode

Als Versuchstiere dienten NMRI-♀♀ (NMRI-Orig./Kisslegg, SPF-Auszucht), die zu Versuchsbeginn ca 4 Wochen alt waren und unter standardisierten Bedingungen gehalten wurden (je nach Versuchsphase in Makrolonkäfigen Typ II oder III, auf Weichholzgranulat, bei 21 ± 2 °C, 55 ± 5 % relativer Luftfeuchtigkeit und einem 12stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus sowie Ernährung mit der Standarddiät Altromin und Leitungswasser ad libitum). Die Hälfte des Versuchstierkollektivs wurde 8 Wochen nach Versuchsbeginn verpaart (1 ♂:3 ♀♀), während die andere Hälfte der Tiere als nichtträchtige Kontrollgruppe vorgesehen war. Die intraperitoneale Infektion der für die Verpaarung vorgesehenen bzw. verpaarten Tiere mit einer Metacestoden-Suspension von *E. multilocularis* (ein von uns auf NMRI-Mäusen weitergeführtes Isolat der Abteilung für Parasitologie der Universität Hohenheim) erfolgte bei jeweils gleichgroßen Subgruppen zu Versuchsbeginn, in der zweiten Woche der Trächtigkeit oder am Ende der ersten Laktationswoche; eine Subgruppe diente als nicht infizierte Kontrolle. Zu den

gleichen Zeitpunkten wurden die nicht für die Verpaarung vorgesehenen bzw. nicht verpaarten Tiere infiziert (bei Berücksichtigung einer weiteren nicht infizierten Kontrollgruppe).

In die Auswertung konnten insgesamt 77 NMRI-♀♀ einbezogen werden (bei einer zwischen 8-11 Tieren schwankenden Subgruppengröße). Die in zweiwöchigen Abständen erhobenen Parameter waren: Antikörpertiter (indirekter Immunfluoreszenztest), Serumproteine, sowie rotes und weißes Blutbild. Hinzu kam die Befallsstärke (Zysten-gewicht in g), die aufgrund eines zeitlich gestaffelten Sektionsplans erhoben wurde (bei den zu Versuchsbeginn infizierten Tieren: 104 Tage p.i.; bei Infektion während der Trächtigkeit: 61 Tage p.i.; bei Infektion während der Laktation: 55 Tage p.i.).

Die Nachkommen (74 ♂♂, 76 ♀♀) wurden im Alter von 3-4 Wochen ebenfalls intraperitoneal mit *E. multilocularis* infiziert. Ihre Sektion erfolgte zwischen dem 93. und 106. Tage p.i.

Ergebnisse

1. Antikörpertiter

Vergleichen wir die Verteilung der Antikörpertiter der zu verschiedenem Zeitpunkt infizierten trächtigen Tiere untereinander und mit den Werten der entsprechenden nicht-trächtigen Kontroll-♀♀ (Abb. 1), so läßt sich zweierlei feststellen: 1. Je früher der Infektionszeitpunkt gewählt wurde, desto mehr niedrigttrige Werte sind festzustellen, was offensichtlich mit der noch nicht voll ausgebildeten Immunkompetenz der jüngeren Tiere zusammenhängt. 2. Je später der Infektionszeitpunkt liegt, umso mehr verwischen sich die Unterschiede zwischen trächtigen und nichtträchtigen Tieren. Mitverantwortlich hierfür dürfte der quantitativ unterschiedliche oder - im Falle der erst während der Laktation infizierten Mäuse - praktisch ausbleibende Verlust von Antikörpern durch Ausschleusung via Kolostrum und Milch sein. Hinweise auf eine partielle Unterdrückung der Immunantwort während der Trächtigkeit lassen sich aus diesen Befunden jedenfalls nicht direkt ableiten.

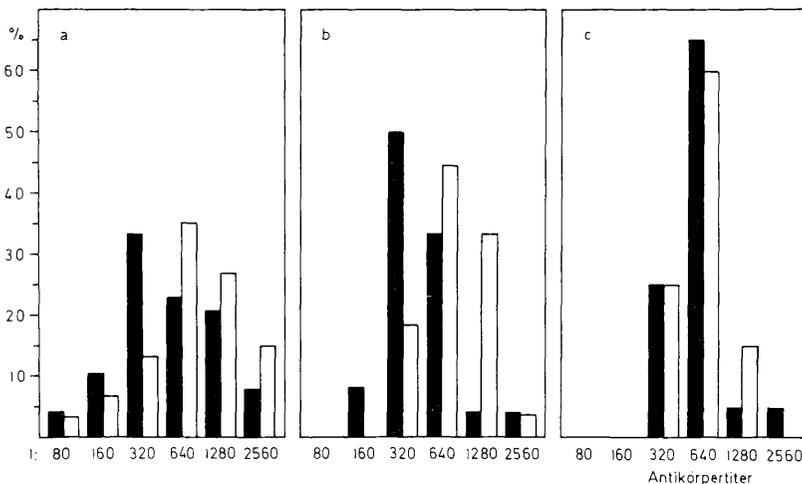


Abb. 1: *Echinococcus multilocularis*: Verteilung der Antikörpertiter bei trächtigen (■) und nichtträchtigen (□) NMRI-Mäusen
a-c: Infektion (a) 8 Wochen vor der Verpaarung, (b) während der Trächtigkeit und (c) während der Laktation

2. Serumproteine.

E. multilocularis-Infektion und Trächtigkeit verursachen deutliche Veränderungen und Umschichtungen in Serumgehalt und -Muster der Proteine. Dies läßt sich auf besonders eindrucksvolle Weise am Beispiel der acht Wochen vor der Verpaarung infizierten Tiere durch Darstellung der Differenzen zu den Kontrolltieren veranschaulichen (Abb. 2). Beginnend zwei Wochen p.i., steigt der Gesamtproteingehalt im Serum infizierter Tiere an und behält diese steigende Tendenz bis zum Versuchsabschluß bei, so daß schließlich infizierte nichtträchtige Tiere (71,7 g/l) gegenüber der Kontrollgruppe (59,9 g/l) einen um 11,8 g/l höheren Wert aufweisen. Die Periode der Trächtigkeit ist durch eine sowohl für infizierte als auch nichtinfizierte Mäuse geltende annähernd gleich große Abnahme der Proteinkonzentration von ca 8 g/l charakterisiert, an die bereits während der Laktationsperiode ein Wiederanstieg anschließt. An dieser Abnahme während der Trächtigkeit ist jedoch vorwiegend die Albuminfraktion beteiligt, während für die Globulinfraktion lediglich die für nichtträchtige infizierte Tiere typische weitere Zunahme ausbleibt. Dieser Befund gilt in gleicher Weise für die β - und γ -Globuline, während die nur in geringer Menge präsenten α_1 - und α_2 -Globuline leicht abnehmen. Hervorzuheben bleibt, daß während der Laktation keine signifikante Verminderung von γ -Globulinen stattfindet; der auf Ausschleusung von Antikörpern via Kolostrum und Milch zu erwartende Minderbetrag ist offensichtlich so gering, daß er sich unterhalb unserer methodischen Nachweisgrenze befindet.

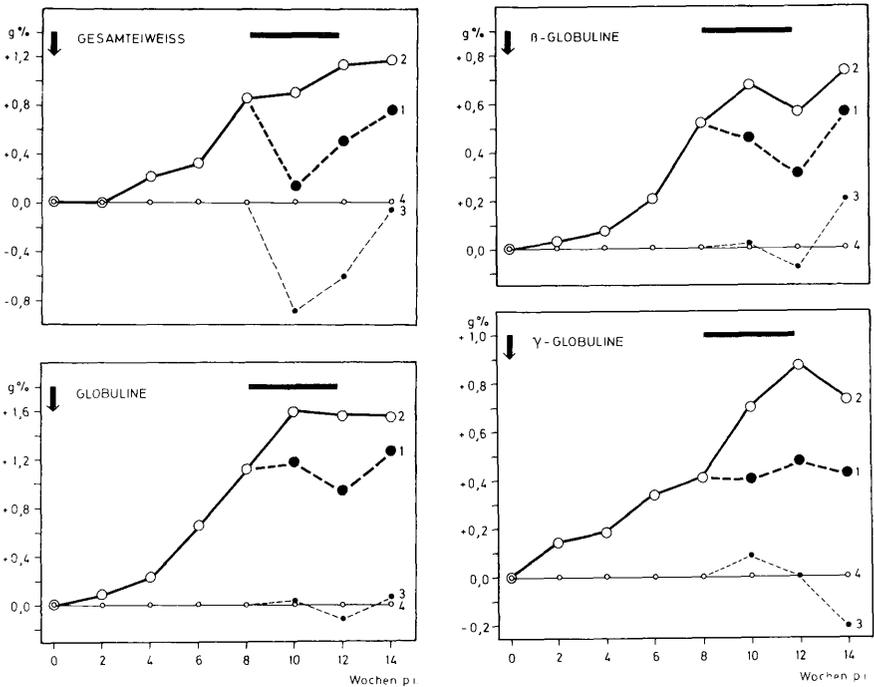


Abb. 2: *Echinococcus multilocularis*: Abweichungen der Serumproteinwerte bei trächtigen und/oder infizierten NMRI-Mäusen von den Werten der Kontrollgruppe

1 trächtig und infiziert

3 trächtig

2 infiziert

4 Kontrolle

↓ Infektionszeitpunkt

■ Dauer der Trächtigkeit

3. Rotes und weißes Blutbild

Erythrozyten-, Hämoglobin- und Hämatokritwerte werden sowohl durch die Echinococcus-Infektion als auch durch die Trächtigkeit beeinflusst. Wie am Beispiel der 8 Wochen vor der Verpaarung infizierten Tiere dargestellt (Abb. 3), macht sich die möglicherweise auf Blutungsanämien beruhende Abnahme ab der 4. Woche p.i. bemerkbar. Diese erhält während der Trächtigkeit einen zusätzlichen Schub und erreicht zwischen 2 und 2,5 g% gegenüber nichtinfizierten und nichtträchtigen Kontrollen schwankenden Minderwerte, wirkt sich insgesamt aber kaum stärker aus als die Trächtigkeit allein.

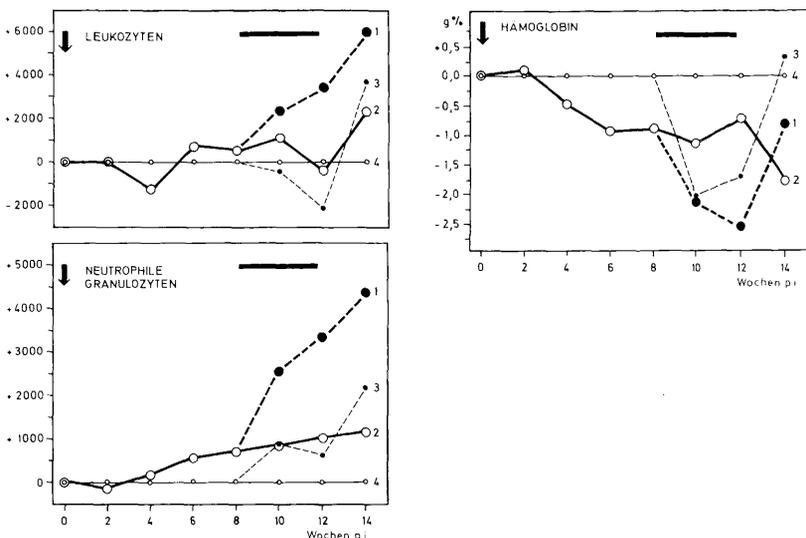


Abb. 3: Echinococcus multilocularis: Abweichungen der Leukozytenwerte und des Hämoglobingehaltes bei trächtigen und/oder infizierten NMRI-Mäusen von den Werten der Kontrollgruppe (Erklärungen s. Abb. 2)

Veränderungen im weißen Blutbild sind durch die Trächtigkeit deutlich stärker bedingt als durch den Parasitenbefall. Während sich z.B. bei nichtträchtigen zu Versuchsbeginn infizierten Tieren ($16,9 \times 10^9/l$) eine signifikante Erhöhung der Leukozytenzahl gegenüber nichtinfizierten Mäusen ($14,6 \times 10^9/l$) erst bei Versuchsabschluß abzeichnet (Abb. 3), zeigen die Verhältnisse bei infizierten trächtigen Tieren mit Beginn der Trächtigkeit eine ständig ansteigende Tendenz, die sich bis in die zweite Laktationswoche hinein erstreckt und dann einen Wert von $20,6 \times 10^9/l$ erreicht. Wesentlichen Anteil haben hieran die neutrophilen Granulozyten (z.B. $2,4 \times 10^9/l$ bei nichtinfizierten nicht trächtigen Mäusen gegenüber $6,7 \times 10^9/l$ bei infizierten trächtigen Tieren 14 Wochen p.i.); in geringem Maße tragen auch die Monozyten zu dieser Entwicklung bei, wohingegen die eosinophilen Granulozyten durch eine Abnahme während der Trächtigkeit charakterisiert sind.

4. Befallsstärke

Obwohl gegenüber dem Befall der Kontrolltiere erhöht, erweist sich die Gewichtsdivergenz zu den aus trächtigen Mäusen gewonnenen Cysten nicht als signifikant. Statistisch gesicherte Unterschiede bestehen jedoch in der Befallsstärke der Nachkommen (Tab. 1): Erfolgte die Infektion der Mütter 8 Wochen vor der Verpaarung, dann weisen die Nachkommen mit 2,12 g nach Infektion mit demselben Parasiten eine annä-

hernd dreimal so hohe Befallsstärke auf wie die Nachkommen nichtinfizierter Mütter (0,76 g). Auch Tiere, deren Mütter während der Laktation infiziert wurden, waren bei einem durchschnittlichen Cystengewicht von 1,39 g signifikant stärker als die Kontrollen befallen. Lediglich eine Infektion der Mütter während der Trächtigkeit blieb ohne Auswirkung auf das Parasitenwachstum in den Nachkommen.

TABELLE 1

Echinococcus multilocularis: Befallsstärke bei trächtigen und nichtträchtigen NMRI-Mäusen und ihren Nachkommen

Infektionszeitpunkt	Befallsstärke (Cystengewicht in g)		
	Muttermäuse	Kontrollen	Nachkommen
8 Wochen vor der Verpaarung	5,16	4,47	2,12
während der Trächtigkeit	0,38	0,32	0,72
während der Laktation	0,62	0,38	1,39
Kontrolle (nicht infiziert)	—	—	0,76

Diskussion

Veränderungen von Blut-Serum-Parametern während der Trächtigkeit und Laktation werfen als erstes die Frage auf, ob diese absoluter oder nur relativer Natur sind. Infolge der Zunahme des Blutvolumens trächtiger Tiere ist für solche Kriterien, die während dieses Abschnitts der Reproduktionsphase einen Anstieg verzeichnen, diese Frage eindeutig zu beantworten. Im umgekehrten Falle einer Abnahme müssen jedoch die Meßwerte zum Blutvolumen in Beziehung gesetzt werden, ehe eine exakte Aussage möglich ist. Da keine eigenen Messungen des Blutvolumens zur Verfügung stehen, müssen wir zur weiteren Abklärung der Situation auf Angaben in der Fachliteratur zurückgreifen, die zwar nicht für das Versuchstier Maus, wohl aber für Ratten vorliegen.

Obwohl nicht völlig übereinstimmend in den Ergebnissen (z.B. SCOTT 1928, BOND 1948, BROWN und PIKE 1960), kann man doch davon ausgehen, daß das Blutvolumen während der Trächtigkeit direkt proportional mit dem Körpergewicht ansteigt, d.h. zu jeder Zeit einen annähernd konstanten Anteil am Körpergewicht ausmacht. Zur Feststellung der Gesamtmenge im Blute zirkulierender Bestandteile bedürfen die von uns gemessenen Werte daher einer entsprechenden Korrektur. Erst dann kann entschieden werden, ob Minderwerte eine reale Abnahme darstellen oder nur Folge eines Verdünnungseffektes sind. Daß Haemodilution bzw. Hypervolämie Hauptursache für „Anämie“ und „Hypoproteinämie“ während Trächtigkeit und Laktation sein können, ist bekannt und wurde auch durch Untersuchungen an normalen Ratten belegt (z.B. BEATON et al. 1954, REMESAR et al. 1981).

Für die hier vorgelegten Befunde stellt sich darüberhinaus jedoch auch die Frage, ob die niedrigere Konzentration von Serumantikörpern bei trächtigen und laktierenden Mäusen auf einen ebensolchen Verdünnungsvorgang zurückzuführen ist oder nicht. Da es sich bei der Bestimmung von Antikörpern nicht eigentlich um eine Erhebung von Meßwerten handelt, läßt sich allerdings nur eine grobe Kalkulation vornehmen. Diese legt dann aber nahe, die bei trächtigen und laktierenden Tieren niedrigeren Titer auf das höhere Blutvolumen zurückzuführen.

Demgegenüber dokumentiert sich die bei infizierten Tieren während Trächtigkeit und Laktation beobachtete Stagnation verschiedener Parameter - wie z.B. der β - und γ -Globulinwerte - dann aber auch als eine Zunahme. Unter Berücksichtigung des höheren Blutvolumens erreicht die Gesamtmenge dieser Serumproteine durchaus einen Umfang, wie er für den nichtträchtigen Organismus gilt.

Was nun den Parasiten und sein Wachstum betrifft, so ließen sich beim Vergleich mit den Kontrollen nicht für die Muttertiere, wohl aber für deren Nachkommen Unterschiede anhand der Befallsstärke feststellen. Damit bestätigen sich bereits früher gewonnene Ergebnisse (HINZ und DOMM 1980). Die Tatsache, daß eine *Echinococcus multilocularis*-Infektion der Mutter nicht nur keinen Schutz gegen eine Infektion der Nachkommen mit demselben Parasiten darstellt, sondern sogar zu dessen lebhafterer Proliferation bei verminderter Immunantwort führt, grenzt diese Helminthiasis deutlich von anderen Wurminfektionen ab. Wir hoffen, durch derzeit laufende Untersuchungen zur weiteren Abklärung der hierfür in Frage kommenden Ursachen beitragen zu können. Ob die verminderte Immunantwort, wie wir sie bei den Nachkommen Echinococcon-infizierter Tiere beobachten, auch für den Menschen in Endemiegebieten zutrifft und das teilweise Versagen serologischer Nachweismethoden erklärt, auf diese Frage können nur zukünftige Untersuchungen eine Antwort geben.

Zusammenfassung

Anhand hämatologisch - serologischer und parasitologischer Kriterien wurde der Einfluß von Trächtigkeit und Laktation auf den Verlauf einer experimentellen *Echinococcus multilocularis*-Infektion der NMRI-Maus untersucht.

Besonders deutliche Veränderungen ergaben sich, wenn die intraperitoneale Infektion 8 Wochen vor der Verpaarung erfolgte; sie waren weniger stark ausgeprägt bei Infektion während der Trächtigkeit und wiesen die geringste Abweichung auf, wenn die Versuchstiere während der Laktationsperiode infiziert wurden. Die beobachtete Abnahme von Antikörpertiter, Erythrocytenzahl, Hämoglobingehalt und Hämatokrit sowie die Stagnation der Globulinwerte, insbesondere bei den β - und γ -Globulinfraktionen, läßt sich jedoch weitüberwiegend, wenn nicht sogar ausschließlich, auf das während Trächtigkeit und Laktation höhere Blutvolumen zurückführen. Damit bedeutet die während der Reproduktionsphase pro Volumeneinheit beobachtete Zunahme weißer Blutzellen, vor allem der neutrophilen Granulozyten, aber auch der Monozyten, eine deutlich stärkere Vermehrung der Gesamtzahl, als dies in den Zählwerten zum Ausdruck kommt.

Die Befallsstärke der Muttertiere zeigte bei Vergleich mit nichtträchtigen Kontrollen keine signifikanten Unterschiede. Ein signifikant höherer Befall wurde dagegen bei den Nachkommen beobachtet, wenn diese ebenfalls mit *E. multilocularis* infiziert wurden und von Müttern abstammten, die ihrerseits entweder 8 Wochen vor der Verpaarung oder während der Laktationsperiode infiziert worden waren.

Summary

***Echinococcus multilocularis*: The influence of pregnancy and lactation of the intermediate host upon the course of the infection**

Hematological, serological and parasitological criteria were used to study the influence of pregnancy and lactation upon the course of an experimental *Echinococcus multilocularis*-infection in NMRI-mice.

Especially significant changes were seen in animals infected intraperitoneally eight weeks prior to pairing; changes were less pronounced, if the infection took place during pregnancy, and least after infection during the lactation period. But the observed

decrease of antibody titre, of number of erythrocytes, of hemoglobin content and of PCV as well as the stagnation in globulin values, especially those of the β - and γ -globulin fractions, were by far if not totally due to the higher blood volume during pregnancy and lactation. On the other hand the increase of the white blood cells, especially of neutrophils but also of monocytes, during the reproduction phase represents by far a higher total number than it finds expression in the counts.

The worm burden showed no significant differences between mother and control mice. But if infected also with *E. multilocularis* a significant higher parasite weight was found in the offspring originating from mothers infected 8 weeks prior to pairing or during lactation than in the young of non-infected mothers.

Literatur

- BEATON, G.H., J. BEARE, M.H. RYU, E.W. McHENRY (1954): Protein metabolism in the pregnant rat. J. Nutrition 54, 291-304.
- BOND, C.F. (1948): The nature of the anemia of pregnancy in the rat. Endocrinology 43, 180-186.
- BROWN, M.L., R.L. PIKE (1960): Blood volume and serum protein in the deoxyripyridoxine-fed rat during pregnancy. J. Nutrition 71, 191-199.
- HINZ, E. (1978): Transfer of antibodies from mother to offspring in secondary echinococcosis. VII. Int. Congr. infect. parasit. Dis. 1978, Varna, Bulgaria. Reports III, 340-343.
- HINZ, E. (1985): Echinococcus multilocularis: Weitere Untersuchungen über die Bedeutung von Superinfektionen bei der experimentell infizierten Maus. Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 7, (in Druck).
- HINZ, E., S. DOMM (1980): Die experimentelle Echinococcus multilocularis-Infektion von Muttermäusen und ihre Bedeutung für die Nachkommen. Tropenmed. Parasit. 31, 135-142.
- HINZ, E., K. LINGELBACH, H. GEHRIG (1984): Echinococcus multilocularis-Infektionen bei trächtigen und laktierenden Mäusen: Konzentration von Serumantikörpern und Abschätzung ihrer Beeinflussung durch die Milchleistung. Z. Versuchstierk. 26, 81-88.
- REMESAR, X., L. AROLA, A. PALOU, M. ALEMANY (1981): Body size and composition during the breeding cycle of rats (*Rattus norvegicus*). Lab. Anim. Sci. 31, 67-70.
- SCOTT, J.M.D. (1928): Pregnancy anemia in rats. Am. J. Physiol. 85, 405.

ANSCHRIFT DER AUTOREN:

Prof. Dr. Erhard Hinz und Hannelore Gehrig
Abteilung für Parasitologie des Hygiene-Instituts
Im Neuheimer 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: 1985

Band/Volume: [7](#)

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

Artikel/Article: [Echinococcus multilocularis: Der Einfluß von Trächtigkeit und Laktation des Zwischenwirts auf den Infektionsverlauf. 93-99](#)