

Zur Frage einer möglichen Partialantigen-Gemeinschaft zwischen der menschlichen Ig-Allotyp-Struktur und ubiquitären Keimen, untersucht am Beispiel von *Escherichia coli*

J. Henke¹, C. Boes², A. J. Driesel³, H. Schweitzer² und Z. Sagan⁴

¹Laboratorium für forensische Blutgruppenkunde, Otto-Hahn-Straße 39, D-4000 Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland

²Institut für Rechtsmedizin der Universität, Moorenstraße 5, D-4000 Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland

³Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität, Universitätsstraße 1, D-4000 Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland

⁴Katedra i Zakład Medycyny Sadowej, Pomorskiej Akademii Medycznej, Al. Powstancow Wlkp. 72, PL-70-111 Szczecin

Possible Common Antigenic Structures in Bacteria and Human Immunoglobulin Allotypes: Investigation of *Escherichia coli*

Summary. As can be learned from the literature, bovine serum may contain antibodies directed against human immunoglobulin allotypes. This gave rise to the question of what the origin of those antibodies is. We tested bacteria (*E. coli*) by means of the haemagglutination inhibition assay, which is used to type either Gm or Km factors. Anti-Glm(2) and anti-G3m(10)-specific antibodies were inhibited by the bacteria in a clear-cut manner, as was anti-Km(1), albeit less significantly. In contrast, the bacteria tested almost totally failed to inhibit anti-G3m(21) serum. The results lead to the assumption that *E. coli* may carry both Gm- and Km-like antigenic structures, which are presumably the antigenic material leading to immunization of cattle. Furthermore, new attention is drawn to a mechanism for immunization which is discussed regarding the genesis of either AB0 isoagglutinins in man or other "naturally occurring" antibodies.

Key words: Allotype-like structures – Blood groups, common antigenic structures

Zusammenfassung. Zur Klärung der Frage warum einige Rinderseren Antikörper gegen menschliche Immunglobulin-Allotypen aufweisen, wurden Bakterien (*E. coli*) im Agglutinationshemmtest untersucht. Seren der Spezi-

fitäten Anti-Glm(2) und Anti-Gm(10) wurden von den untersuchten Stämmen deutlich gehemmt. Weniger deutlich fiel die Hemmung des Serums Anti-Km(1) aus. Serum der Spezifität Anti-G3m(21) wurde hingegen fast gar nicht gehemmt. Die Untersuchungsergebnisse legen die Vermutung nahe, daß *E. coli*-Bakterien Gm- bzw. Km-Antigene oder diesen Antigenen ähnliche Strukturen aufweisen können. Somit kann *E. coli* für die Immunisierung von Rindern „verantwortlich“ sein. Es muß an einen ähnlichen Immunisierungsmechanismus gedacht werden, wie er für die Entstehung menschlicher AB0-Isoagglutinine (oder auch für sog. „natürliche“ Antikörper) diskutiert wird.

Schlüsselwörter: Blutgruppen, Partialantigen-Gemeinschaft – Ig-Allotyp-ähnliche Strukturen

Sagan machte die Beobachtung, daß in Seren von Rindern gelegentlich Antikörper gegen menschliche Immunglobulin-Allotypen vorkommen [6, 7]. Kirst [3] sowie Henke et al. [1] konnten diese verblüffende Mitteilung bestätigen. Zur Frage der Genese dieser Antikörper diskutierten Henke et al. [1] zwei Möglichkeiten:

1. tierärztliche Medikation,
2. mögliche Antigengemeinschaft der menschlichen Ig-Allotypstruktur mit ubiquitären Keimen.

Nach unseren bisherigen Untersuchungen scheidet Medikation als antigener Stimulus aus [2]. Somit blieb u. E. nur noch die inapparente Infektion als Ursache der Antikörperbildung übrig. Die inapparente Infektion könnte ebenso eine Ursache von Gm-Antikörpern bei Personen ohne Immunisierungsanamnese sein. Ähnliche Gedanken diskutierten Luczkiewicz-Mulczykowa et al. [4], als es ihnen gelang, Tiere in der Weise mit Bakterien zu immunisieren, daß sie Antikörper mit Gm-Eigenschaft bildeten!

Die vorliegende Studie beschreibt die Untersuchung dreier *E. coli*-Stämme auf Gm- bzw. Km-„Eigenschaften“.

Material und Methoden

Untersucht wurden bis zu 11 Proben von drei *E. coli*-Stämmen (0 17:77, 0 18:K1, 0 83:K1)*. 2 ml Bakteriensuspension wurde mit 1 ml Saccharoselösung (1%ig) versetzt und anschließend lyophilisiert. Zur Testung wurde das jeweilige Lyophilisat mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung rehydriert.

Zum Nachweis der bei den Bakterien vermuteten Ig-Allotyp-Strukturen diente der Agglutinationshemmtest: Erythrozyten der Blutgruppe 0, Rhesus positiv (D+) wurden mit 6 verschiedenen Anti-D-Seren (Anti-D-Glm(1), Anti-D-Glm(2), Anti-D-Glm(3), Anti-D-G3m(10), Anti-D-G3m(21) und Anti-D-Km(1) beladen (sensibilisiert).

Ein Tropfen der rehydrierten Bakterienprobe wurde mit je einem Tropfen Testserum (Anti-Glm(1), Anti-Glm(2) usw.) vermischt; die Antiseren wurden in einer Titerreihe bis zur Stufe 1:64 verdünnt. Anschließend wurden die sensibilisierten Erythrozyten den entsprechenden Ansätzen zugefügt und 30 Minuten bei 4°C inkubiert. Danach konnte das Ergebnis makroskopisch abgelesen werden. Als Referenzreaktionen dienten bekannte (positive und negative) Kontrollseren, die bei jedem Versuch in direktem Vergleich mitgeführt wurden,

* Wir danken Herrn Prof. Dr. H. Rosin (Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf) für wertvolle Unterstützung

d. h., es wurde kontrolliert, ob die Bakterienprobe im Vergleich zur negativen Kontrolle eine Reaktionsschwächung aufwies. Bei einer Verdünnungsreihe von 1:2 bis 1:64 konnten also maximal 6 Stufen Titerabschwächung beobachtet werden. Beispielsweise ergibt sich eine 2stufige Abschwächung bei einem Wert von 1:16 in der Bakterienprobe und einem Wert von 1:64 in der negativen Kontrolle. Zur graphischen Darstellung der Abschwächung wurden für jeden Allotyp und Bakterienstamm ein Mittelwert der Abschwächung errechnet [5].

Bei jeder neuen Bakterien-„Charge“ wurde zuvor eine Probe der Nährlösung auf Allotyp-Eigenschaften getestet, um falsch positive Ergebnisse bei der Testung der Bakterien auszuschließen. Die Nährlösungen waren jedoch in keinem Fall in der Lage, Antiseren zu hemmen!

Ergebnisse

Escherichia coli (0 17:77)

Deutliche Unterschiede in den Reaktionen von Bakterienprobe und negativem Kontrollserum konnten bei den Faktoren Glm(2) und G3m(10) beobachtet werden. Im einzelnen stellte sich das Ergebnis folgendermaßen dar (Tabelle 1):

- 1. Anti-Glm(1): In 4 von 8 Versuchen konnte keinerlei Hemmung durch die Bakterien ermittelt werden. Die maximale Abschwächung erreichte 2 Stufen.
- 2. Anti-Glm(2): Hier waren in allen Versuchen Abschwächungen zu beobachten; durchschnittlich lag die Hemmung (durch Bakterien) bei 3–4 Stufen.
- 3. Anti-Glm(3): 5 der 8 Versuche ließen keine Hemmung erkennen. In einem Fall wurde eine Abschwächung von 2 Stufen beobachtet.
- 4. Anti-G3m(21): Nur in einem Versuch war eine Hemmung von 2 Stufen festzustellen; die übrigen Ansätze zeigten keine Hemmung.
- 5. Anti-G3m(10): Die Versuchsergebnisse waren uneinheitlich. Neben 2 Versuchen ohne Hemmung waren auch 3 Ansätze mit 5stufiger Abschwächung zu notieren.
- 6. Anti-Km(1): 3 Ansätze ließen eine Hemmung von 2 Stufen erkennen. Die übrigen Versuche verliefen schwächer bzw. negativ.

Tabelle 1. Stufen der Agglutinationshemmung durch 0 17:77. Resultate der Absättigungsversuche (8 Ansätze)

Spezifität	Versuchsnummern								Durchschnittswert
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
Anti- Glm(1)	2	1	2	1	0	0	0	0	0,75
Glm(2)	3	5	1	1	4	3	6	5	3,5
Glm(3)	0	0	0	0	1	1	2	0	0,5
G3m(21)	0	0	0	0	0	0	2	0	0,25
G3m(10)	5	5	0	0	3	1	5	2	2,6
Km(1)	2	1	0	0	0	2	2	1	1

Escherichia coli (0 18: K1)

Auch hier fielen bemerkenswert unterschiedliche Reaktionen zwischen den Proben und den negativen Kontrollseren bei dem Faktor Glm(2) auf. Beim Faktor G3m(10) war die Hemmung zwar deutlich, aber im Durchschnitt unter 2 Abschwächungsstufen (siehe Tabelle 2).

Im einzelnen ergaben sich folgende Resultate:

1. Anti-Glm(1): 10 von 11 Versuchen zeigten keine Hemmung.
2. Anti-Glm(2): In mehreren Versuchen waren sehr deutliche Abschwächungen erkennbar. Im Mittelwert ergab sich eine Hemmung von 3–4 Titerstufen.
3. Anti-Glm(3): Nur 1 Versuch zeigte eine deutliche Hemmung.
4. Anti-G3m(21): Schwache Hemmung in nur einem Ansatz.
5. Anti-G3m(10): Uneinheitliche Resultate: d. h., Versuche ohne Hemmung neben Ansätzen mit 4–5stufiger Abschwächung.
6. Anti-Km(1): Keine bemerkenswert deutliche Abschwächung mit Ausnahme eines Ansatzes.

Tabelle 2. Stufen der Agglutinationshemmung durch 0 18: K1. Resultate der Absättigungsversuche (11 Ansätze)

Spezifität	Versuchsnummern											\bar{x}
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
Anti- Glm(1)	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2
Glm(2)	4	4	2	2	2	2	1	6	6	5	5	3,5
Glm(3)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3
G3m(21)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1
G3m(10)	1	2	1	1	0	0	0	2	4	4	5	1,8
Km(1)	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	2	0,6

Escherichia coli (0 83: K1)

Die Seren Anti-Glm(2) und Anti-G3m(10) wurden im Durchschnitt deutlich gehemmt. Auch bei Anti-Km(1) konnte eine Abschwächung nicht übersehen werden. Im Detail sind folgende Resultate objektivierbar (siehe Tabelle 3):

1. Anti-Glm(1): 5 von 7 Versuchen zeigten negative Resultate; daneben waren nur schwache Hemmungen zu notieren.
2. Anti-Glm(2): Hier zeigte sich ein uneinheitliches Bild: während in 4 von 7 Versuchen keine Hemmungen festzustellen waren, konnte in den 3 übrigen Ansätzen starke Einflüsse der Bakterienprobe beobachtet werden.
3. Anti-Glm(3): In 2 Versuchen wurden schwache Hemmungen sichtbar; die übrigen Ansätze waren negativ.
4. Anti-G3m(21): Ausnahmslos negative Hemmversuche.

5. Anti-G3m(10): Uneinheitliche Resultate: d. h., Versuche ohne Hemmung neben Ansätzen mit 4–5stufiger Abschwächung.
6. Anti-Km(1): Keine bemerkenswert deutliche Abschwächung mit Ausnahme eines Ansatzes.

Tabelle 3. Stufen der Agglutinationshemmung durch 0 83:K1. Resultate der Absättigungsversuche (7 Ansätze)

Spezifität		Versuchsnummern							\bar{x}
		I	II	III	IV	V	VI	VII	
Anti-	Glm(1)	2	0	0	0	0	1	0	0,4
	Glm(2)	5	0	0	0	0	6	6	2,4
	Glm(3)	1	0	0	1	0	0	0	0,3
	G3m(21)	0	0	0	0	0	0	0	0
	G3m(10)	2	0	0	6	4	3	1	2,6
	Km(1)	0	0	0	3	2	3	2	1,4

Diskussion

Betrachtet man die graphische Darstellung der Ergebnisse dieser Studie (Abb. 1), so wird deutlich, daß die (bei den drei Stämmen) beobachteten Titer-senkungen der Seren Anti-Glm(2) und Anti-G3m(10) für eine antigene Kreuz-reaktion der Bakterien mit menschlichen Ig-Allotypen sprechen. Ähnliches läßt sich auch für Km(1) aussagen, wobei sich hier die Hemmung der Agglutination nicht immer und auch weniger deutlich nachweisen ließ. Hieraus mag auf eine quantitativ ungleiche Verteilung allotyp-ähnlicher antigenen Strukturen geschlossen werden.

Was den Faktor G3m(21) betrifft, so konnte fast gar keine Hemmung der Agglutination durch Zugabe der Bakterienprobe erreicht werden; eine Antigen-gemeinschaft mit der menschlichen G3m(21)-Struktur scheint hier zu fehlen. Ein Zusammenhang zwischen einem bestimmten (*E. coli*)-Stamm und dem Besitz allotyp-ähnlicher Strukturen wurde nicht beobachtet, so daß eine entsprechende Abhängigkeit offensichtlich nicht besteht.

Eine Partial-Antigengemeinschaft zwischen menschlichen Immunglobulin-Allotypen und antigenen Strukturen ubiquitärer Keime, wie sie nach den vorliegenden Ergebnissen für *Escherichia coli* zu bestehen scheint, wäre eine Erklärung für das Auftreten von Anti-Humanglobulin-Antikörpern mit Gm-Spezifität in Rinderseren und auch für das Vorkommen von Anti-Gm-Antikörpern bei Personen ohne Immunisierungsanamnese. In beiden Fällen könnte eine inapparente Infektion mit den o. g. Keimen die Antikörperbildung verursacht haben.

Wir denken hier somit an einen ähnlichen Immunisierungsmechanismus wie er für die Entstehung menschlicher AB0-Isoagglutinine diskutiert wird. Auch das beim Menschen vorkommende Phänomen, daß Antikörper wie z. B. Anti-

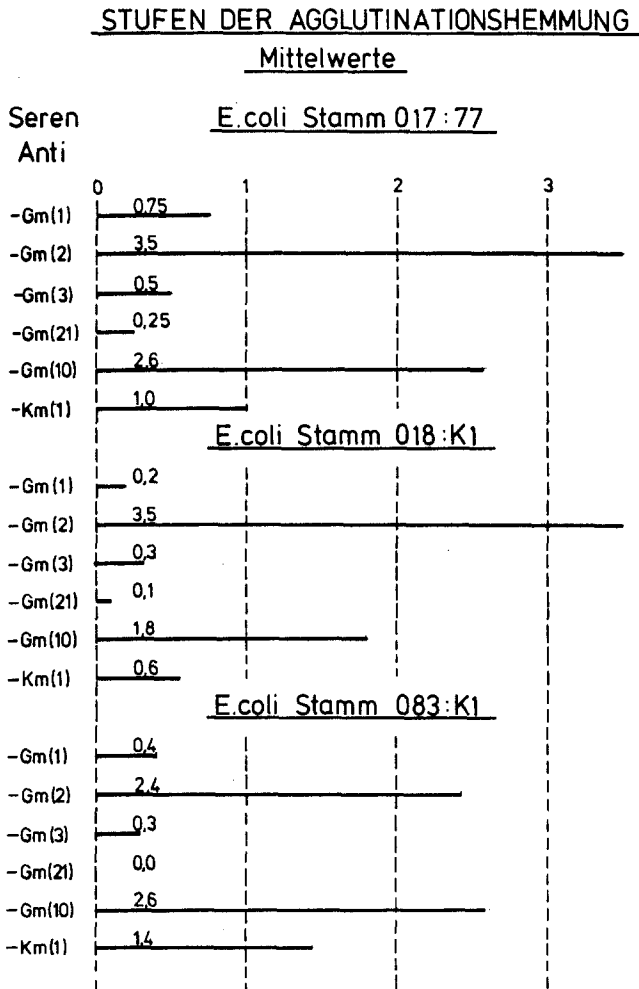


Abb. 1. Graphische Darstellung der Ergebnisse der Hemmversuche

Wr^a weit häufiger vorkommen, als das entsprechende Antigen, kann in diesem Zusammenhang gesehen werden. Studien hierzu sind in Vorbereitung.

Molekularbiologische Untersuchungen zeigten erwartungsgemäß, daß offenkundig keine genetische Information zur Ausprägung von Ig-Allotypen bei *E. coli* angelegt ist (Driesel und Henke, unveröffentlicht).

Daneben sind wir der Ansicht, daß der Nachweis bakterieller Antigenstrukturen, welche mit menschlichen Ig-Allotypen kreuzreagieren, von einiger Bedeutung für die serogenetische Spurenkunde ist. Spurenmaterial ist grundsätzlich als mikrobiologisch kontaminiert anzusehen. Bisher galt der Nachweis der Allotypen Gm(3), Gm(17) und Km(1) als sicheres Anzeichen für das Vorliegen eines intakten IgG-Moleküls [8]. Da jedoch auch Anti-Gm(3)- bzw. insbesondere Anti-Km(1)-Seren durch *E. coli* gehemmt werden können, ist hier erhöhte Vorsicht geboten!

Literatur

1. Henke J, Birkner P, de Lange G, Basler M (1983) Erfahrungen bei der Gm-Bestimmung mit Anti-Gm-Seren von Rindern. 10. Internationale Tagung der Gesellschaft für forensische Blutgruppenkunde (München), S 245–250
2. Henke J (in Vorbereitung) Prüfung einiger tiermedizinischer Medikamente auf menschliches Protein
3. Kirst R (1982) Ein neuer menschlicher Gm-Reaktionstyp, dargestellt mit einem Rinder-serum. *Acta Biol Med Germ* 41(4):K17–K18
4. Luczkiewicz-Mulczykowa A, Schlesinger D, Wlodara H (1977) γ -Globulin-like antigens in bacteria. *Arch Immun Ther Exper* 25:317–321
5. Sagan Z (1974) Przewodnik do cwiczen z serologii sadowej. *Pomorska Akademia Medyczna (Szczecin)*, S 76–79
6. Sagan Z (1979) Wystepowanie naturalnych przeciwciał dla immunoglobulin ludzkich w surowicach bydecych. *Informacja Sygnalna Oddzitu Szczecinskiego Polskiego Towarzystwa Przyrodnikow im. Kopernika*
7. Sagan Z (1981) Existence of the natural antibody against human gammaglobulin in bovine sera. *Arch Immun Ther Exper* 29:451–454
8. Zaleski MB, Dubiski S, Niles EG, Cunningham RK (1983) *Immunogenetics*. Pitman, Boston, p 172

Eingegangen am 12. Juni 1985