

1. Einleitung

Eimerien sind Protozoen, die obligat intrazellulär leben und in fast allen Wirbeltierarten parasitieren. Dieser Parasit gehört zum Stamm der Apicomplexa, wie auch andere Erreger gefährlicher Krankheiten (z.B. Toxoplasmose, Sarkozystiose). Eimerien sind durch eine strenge Wirts- und Habitatsspezifität gekennzeichnet und besiedeln fast ausschließlich den Darmtrakt der Wirte. Die Entwicklung des Parasiten vollzieht sich in einem Generationswechsel von ungeschlechtlicher Schizogonie, geschlechtlicher Gamogonie und ungeschlechtlicher Sporogonie. Charakteristisch für diese Gattung ist ein Organellenkomplex am Vorderpol des Parasiten, der Apikalkomplex. Dieser ist für die Wirtszellerkennung, Invasionsvorgänge und die Etablierung in der Zelle essentiell (Mehlhorn & Ruthmann 1992).

Die durch diesen Parasiten verursachte Durchfallerkrankung Kokzidiose stellt heute in der modernen Nutztierhaltung ein großes Problem dar. Aufgrund des kurzen direkten Lebenszyklus und des großen Reproduktionspotentials des Parasiten besteht besonders in der Massentierhaltung die Gefahr der weitverbreiteten Infektion (Ovington et al. 1995). So entstehen jährlich durch verringerte Körpermassenzunahmen infolge unzureichender Futtermittelverwertung und gesteigerter Mortalität, besonders bei Jungtieren, große wirtschaftliche Verluste. Besonders in der modernen Geflügelzucht gehen massive Infektionen mit starken blutigen Durchfällen, Darmwandläsionen, Dehydratation und Gewichtsverlust einher und können zum Tod der Wirte führen. Deshalb werden heute ständig antikokzidielle Therapeutika über das Futter verabreicht, um die Infektion kontrollieren zu können (McDougald 1990). Der finanzielle Aufwand dafür ist beträchtlich (Williams 1998). Medikamentenresistenzen und Rückstandsbelastungen in Lebensmitteln erschweren den Einsatz dieser Chemotherapeutika (Chapman 1997). Deshalb besteht ein großes Interesse an alternativen Kontrollstrategien.

Eine natürliche Infektion schützt den Wirt spezifisch vor Nachfolgeinfektionen. Diese erworbene Immunität wurde in Hühnern und Nagern schon eingehend untersucht (Ovington et al. 1995; Lillehoj & Lillehoj 2000). Dabei gilt das Interesse in neueren Untersuchungen besonders der Analyse der gewebspezifischen Mechanismen des intestinalen Immunsystems, da dieses eine Eimerien-Infektion beenden kann (Yun et al. 2000). Da Untersuchungen im Huhn nur sehr schwierig durchführbar sind und um die immunologischen Abläufe bei einer Infektion mit diesem Parasiten besser verstehen zu können, wurde hier mit dem Modell Maus gearbeitet.

1.1. Morphologie und Ontogenie von *Eimeria falciformis* (Eimer 1870)

Eimeria falciformis, eine von 15 *Eimeria*-Spezies der Maus, befällt spezifisch das Caecum und die obere Hälfte des Colons (Haber Korn 1970) und parasitiert dort in den Zellen des Oberflächenepithels nahe dem intestinalen Lumen (Shehu & Nowell 1998). Der monoxene Lebenszyklus gliedert sich in drei Phasen: die ungeschlechtliche Schizogonie, die geschlechtliche Gamogonie und die ungeschlechtliche Sporogonie. Dabei vollziehen sich Schizogonie und Gamogonie endogen, die Sporogonie dagegen exogen (Abb. 1).

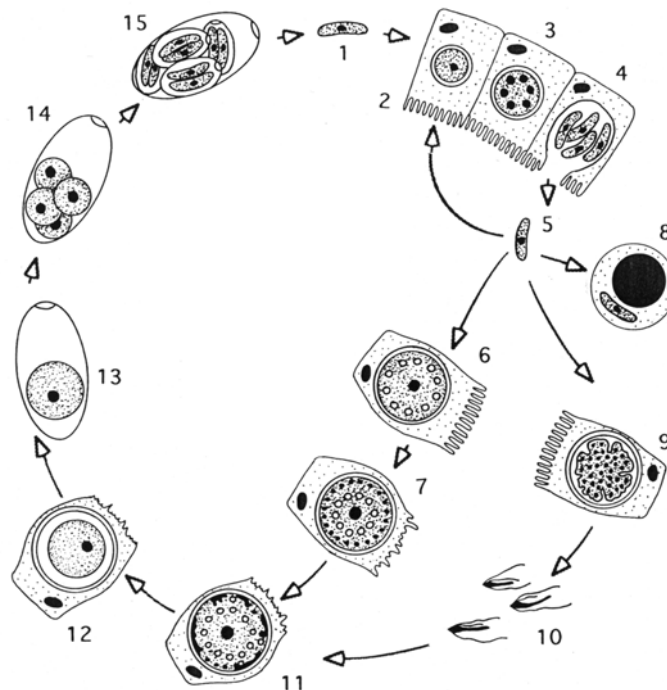


Abb. 1: Lebenszyklus von *Eimeria falciformis*.

1 Sporozoit. 2 Trophozoit in Darmepithelzelle. 3 Schizont. 4 Merozoiten. 5 Freier Merozoit. 6 Makrogametozyt. 7 Makrogamet. 8 Ruhestadium in intraepitheliale Lymphozyten. 9 Mikrogametozyt. 10 Mikrogameten. 11 Zygote. 12 Intrazellulärer Sporont. 13 Ausgeschiedener Sporont innerhalb der Oozyste. 14 Sporoblasten innerhalb der Oozyste. 15 Oozyste mit Sporozysten, die Sporozoiten enthalten (aus Lucius & Loos-Frank 1997).

Eine Infektion mit Eimerien erfolgt durch orale Aufnahme sporulierter Oozysten, welche über den Kot der Wirte verbreitet werden. In Magen und Dünndarm wird durch enzymatische

Einwirkung die Exzystierung eingeleitet. Die dabei freiwerdenden Sporozoiten dringen unter Bildung einer parasitophoren Vakuole in die Epithelzellen des Blinddarmes ein und migrieren von dort zwischen der Basalmembran und der basalen Epithelzellschicht in das Kryptenepithel (Mesfin & Bellamy 1979). Neuere Untersuchungen weisen auf einen Transport der Sporozoiten in intraepithelialen Lymphozyten (Lawn & Rose 1982) und CD8⁺-T-Zellen (Lillehoj & Trout 1994) hin. In den Enterozyten der Krypten runden sie sich zu Trophozoiten ab und wachsen zu Schizonten der ersten Generation heran. 48 Stunden nach Infektion werden die nach Kernteilung entstandenen Merozoiten nach der Reifung durch Ruptur der Wirtszelle in das Darmlumen entlassen und invadieren nun intakte Nachbarzellen des Kryptenepithels (Daszak 1999). Die Anzahl dieser Schizogoniezyklen ist variabel und hängt von der *Eimeria*-Spezies, aber auch von der Immunantwort des Wirtes ab (Rose & Millard 1985). So wird die Gamogonie bei *E. falciformis* nach dem zweiten oder dritten Schizogoniezyklus eingeleitet (Haberkorn 1970). Die geschlechtlichen Entwicklungsstadien differenzieren sich intrazellulär zu Makrogametozyten und Mikrogametozyten, welche zur diploiden Zygote verschmelzen. Diese differenziert sich zum Sporonten, welcher sich mit einer Zystenhülle umgibt und als Oozyste mit dem Kot ausgeschieden wird. Die Präpatenzperiode von *E. falciformis* beträgt nach Haberkorn (1970) vier bis sieben Tage. Neuere Untersuchungen ergaben dagegen eine Präpatenz von sieben bis acht Tagen (Schito et al. 1996). Die Patenz wird einheitlich mit fünf bis sieben Tagen angegeben.

Die Sporogonie erfolgt bei geeigneter Temperatur und hoher Luftfeuchtigkeit innerhalb von fünf Tagen. Aus dem Sporonten entwickeln sich durch Teilung vier Sporoblasten, welche sich nach Bildung einer Sporozystenwandung zu Sporozysten differenzieren. In den Sporozysten entstehen sodann je zwei Sporozoiten, die eigentlichen Infektionserreger. Eine sporulierte Oozyste bleibt in der Außenwelt über viele Wochen infektiös, wobei nach drei bis vier Monaten ein deutlicher Virulenzabfall zu verzeichnen ist (Haberkorn 1970).

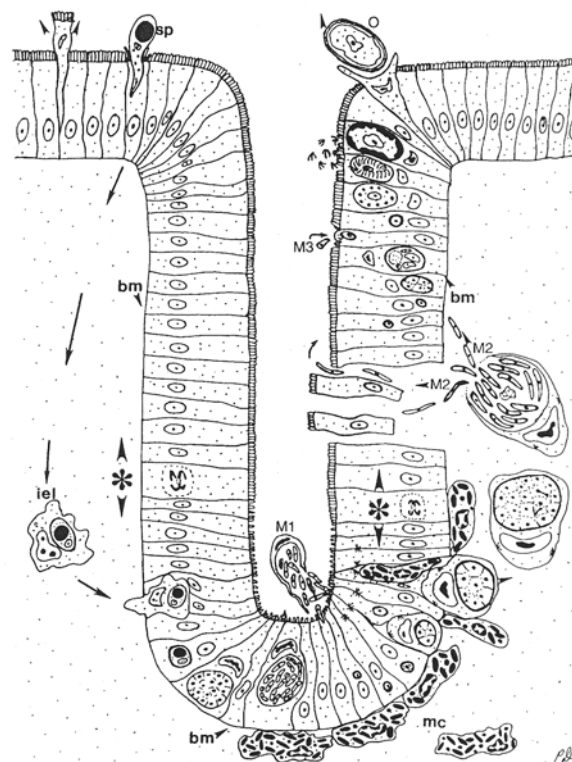


Abb. 2: Graphische Darstellung des Lebenszyklus von *Eimeria* im Darmepithel (Daszak 1999).

Sporozoit (sp) invadieren Enterozyten und migrieren (Pfeile) durch das Bindegewebe in das Kryptenepithel, teilweise in intraepithelialen Lymphozyten (iel); dort vollziehen die Sporozoit eine asexuelle Replikation (Schizogonie) und bilden Merozoiten der ersten Generation (M1); diese reinvadieren das Kryptenepithel und bilden Merozoiten der zweiten und dritten Generation (M2/M3); danach erfolgt die sexuelle Replikation, wobei Mikrogameten mit Makrogameten verschmelzen und eine Zygote bilden, welche nach Bildung einer schützenden Hülle als Oozyste (O) im Kot ausgeschieden wird.

(bm) Basalmembran; (mc) mukosale Mastzellen

1.2. Immuneffektormechanismen gegen Eimerien-Infektionen

Das Immunsystem des Wirtes ist an der Beendigung einer Eimerien-Infektion beteiligt. Die Replikation des Parasiten wird gehemmt und gleichzeitig wird ein spezifischer Schutz vor Nachfolgeinfektionen aufgebaut (Ovington et al. 1995).

Die Infektion mit Eimerien führt zu einer humoralen und zellulären Immunantwort (Lillehoj & Trout 1996). So zeigten Mäuse, infiziert mit *E. falciformis*, eine verstärkte Akkumulation von

Immunglobulin A (IgA) und IgG in der Mukosa des Dickdarmes, verglichen mit naiven Tieren (Nash & Speer 1988). Die *in vitro*-Inkubation von Makrophagen mit Immuns Serum führte zur Phagozytose von Sporozoiten (Bekhti & Pery 1989). Dagegen zeigten Studien mit hormonal und chemisch bursektomierten Hühnern, dass die humorale Immunantwort nur eine geringe Rolle in der Protektion spielt, da die Tiere trotz Inhibition der Antikörperbildung resistent gegen eine Reinfektion mit Eimerien waren (Giambrone et al. 1981; Lillehoj 1987). Ebenso wurde der Einfluss der humoralen Immunantwort bei Infektion in der Maus als unbedeutend festgestellt, da eine verstärkte Antikörperbildung nicht mit einer Schutzwirkung gegen eine Eimerien-Infektion korrelierte (Rose et al. 1988a).

Dagegen wurde in umfangreiche Untersuchungen bei Hühnern und Nagern bewiesen, dass T-Zellen eine bedeutende Rolle bei der Limitierung einer sowohl primären als auch sekundären Infektion mit Eimerien spielen (Wakelin & Rose 1990; Lillehoj & Trout 1994). So zeigten Infektionsexperimente athymischer Ratten mit *Eimeria nieschulzi*, dass ein Fehlen von T-Zellen zu einer drei bis fünffach erhöhten Oozystenausscheidung während der Primärinfektion und zu kompletter Empfänglichkeit bei Sekundärinfektion führt, verglichen mit euthymischen Ratten (Rose & Hesketh 1979; Rose et al. 1979). Immunkompromittierte *scid/scid* und *scid/scid.beige/beige*-Mäuse produzierten signifikant mehr Oozysten als immunkompetente BALB/c-Mäuse und wiesen eine hohe Empfänglichkeit bei Sekundärinfektion auf (Schito et al. 1996). Auch eine immunsuppressive Behandlung durch sublethale Bestrahlung oder Verabreichung immunsupprimierender Stoffe, wie z.B. Kortison, führte zu erhöhter Empfänglichkeit und Ausscheidung (Rose & Hesketh 1986).

Untersuchungen zur Immunitätsübertragung mittels Zelltransfer zeigten, dass durch adoptiven Transfer von T-Lymphozyten aus mesenterialen Lymphknoten (MLN), Milz und Blut infizierter Tiere auf naive Rezipienten eine teilweise Schutzwirkung gegen Eimerien erzielt werden konnte (Rose & Hesketh 1982; Wakelin & Rose 1990). Dabei wurde den mesenterialen Lymphknotenzellen (MLNC) die größte Schutzwirkung zugesprochen, da sie den Ort der Infektion drainieren. Depletionsexperimente von T-Zell-Subklassen bewiesen, dass CD4⁺-T-Zellen in Zusammenhang mit MHC-Klasse-II-Molekülen für die Beendigung einer Primärinfektion mit Eimerien verantwortlich sind, wohingegen Sekundärinfektionen vorrangig von CD8⁺-T-Lymphozyten kontrolliert werden (Rose et al. 1992a; Smith & Hayday 1998). Der Einfluss Natürlicher Killerzellen (NK-Zellen) wurde ebenfalls bei Infektion mit Eimerien untersucht. Beispielsweise war diese Zell-Population durch Bildung von Interferon- γ (IFN- γ)

für die Limitierung einer *Eimeria papillata*-Infektion in Mäusen verantwortlich (Schito & Barta 1997). Diese protektive Wirkung konnte aber bei Infektion mit anderen *Eimeria*-Spezies nicht bestätigt werden. Zwar zeigten resistendere BALB/c-Mäuse bei Infektion mit *Eimeria vermiformis* höhere Level der NK-Aktivität (Smith et al. 1994), eine Stimulation der NK-Zellen in diesen Tieren führte aber zu verstärkter Empfänglichkeit gegenüber dem Parasiten (Rose et al. 1995). Demnach scheint diese Zell-Population eine eher untergeordnete Rolle in der protektiven Immunantwort gegen Eimerien zu spielen.

Antigenpräsentierende Zellen wie Makrophagen und Dendritische Zellen sind wichtige Induktoren der Immunantwort. Neben der Phagozytose von Sporozoiten durch Makrophagen (Bekhti & Pery 1989; Trout & Lillehoj 1995) und der Antigenpräsentation tragen diese Zellen durch Bildung von Zytokinen wie Interleukin-12 (IL-12) und Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) zur Entwicklung der adaptiven Immunantwort aber auch von pathologischen Symptomen bei (Trinchieri 1995; Zhang et al. 1995).

Große Bedeutung kommt heute der Erforschung des darmassoziierten Immunsystems zu. Aufgrund der intrazellulären Entwicklung der Eimerien im Darmepithel ist von einer Beteiligung des darmassoziierten lymphatischen Gewebes (GALT) an der Immunantwort gegen diesen Parasiten auszugehen. Ein großer Anteil der intraepithelialen Lymphozyten (IEL) im Darm sind T-Zellen, welche den $\gamma\delta$ -T-Zell-Rezeptor (TCR) tragen (Kyes et al. 1989; Taguchi et al. 1991). Infektionsexperimente mit T-Zell-defizienten Mäusen zeigten, dass ein Fehlen von T-Lymphozyten, welche den $\alpha\beta^+$ -Rezeptor tragen, zu Defekten in der Ausbildung einer Immunität führen. Dagegen zeigten Versuchstiere, denen $\gamma\delta$ -T-Zellen fehlten, eine Verstärkung der pathologischen Symptome (Roberts et al. 1996). Weiterführende Untersuchungen der Funktion von $\gamma\delta$ -T-Zellen bei Infektion mit *E. vermiformis* zeigten, dass diese Zellen neben einer Immunprotektion auch zur Stimulation von Lymphozyten beitragen und bei Transfer in T-Zell-defiziente Mäuse verschiedene Darm-assoziierte Zell-Populationen, wie MLN- und IEL-Zellen, wieder herstellten (Smith & Hayday 2000a).

Zur Aktivierung der T-Zell-Effektorfunktion bedarf es neben dem Antigen-MHC-Komplex und dem T-Zell-Rezeptor weiterer kostimulatorischer Rezeptoren auf der T-Zell-Oberfläche. Wichtige Kostimulatoren für die T-Zell-Aktivierung und -Proliferation sind CD28 und CTLA-4 (CD152), welche mit Oberflächenrezeptoren antigen-präsentierender Zellen interagieren. Studien zeigten eine inhibitorische Wirkung des CTLA-4-Rezeptors auf die Proliferation von T-Zellen (Krummel et al. 1996). So scheint es, dass die Ligation dieses Rezeptors eine Immunantwort durch Apoptose der Lymphozyten stoppt und somit eine überschießende

Reaktion des Immunsystems auf das Antigen verhindert (Tivol et al. 1995; Gribben et al. 1995). Diese regulatorische Funktion des CTLA-4-Rezeptors wird besonders bei defizienten Mäusen deutlich, welche lymphoproliferative Krankheiten entwickeln, die mit lymphoider Infiltration in verschiedenste Organe und Gewebeerstörung einhergehen und nach drei bis vier Wochen zum Tode führen (Waterhouse et al. 1995; Tivol et al. 1995).

1.3. Immunregulation

Zytokine sind maßgeblich an der Induktion einer Immunantwort gegen Eimerien beteiligt. So inhibiert das Zytokin IFN- γ das Wachstum und die Entwicklung parasitischer Protozoen (Ovington et al. 1995). Deshalb wurde der Einfluss von IFN- γ in der Primär- und Sekundärinfektion eingehend untersucht. Eine Behandlung mit monoklonalen Antikörpern gegen murines IFN- γ führte zu stark erhöhter Oozystenausscheidung und verlängerter Patenz in der Primärinfektion. Dieser Effekt war dosisabhängig und hatte keinen Einfluss auf die Ausbildung einer Immunität gegen eine Sekundärinfektion (Rose et al. 1989). *In vitro*-Untersuchungen bestätigten das protektive Potential dieses Zytokins, da eine Behandlung von Zellkulturen mit rekombinantem IFN- γ die Weiterentwicklung von Sporozoiten verhindert (Rose et al. 1991a). Wahrscheinlich verändert dieses Zytokin in einem Rezeptor-vermittelten Vorgang das intrazelluläre Milieu der Wirtszelle und führt somit zur Eliminierung des Parasiten. Experimente zum genetischen Einfluss auf die lymphozytäre und Zytokinantwort bei *E. vermiformis*-Infektion zeigten, dass resistente BALB/c-Mäuse signifikant höhere Werte an IFN- γ produzierten als empfänglichere C57BL/6-Mäuse (Wakelin et al. 1993). Des Weiteren wurden durch die Behandlung mit anti-IFN- γ -Antikörpern die klinischen Symptome der Rezipienten verstärkt (Rose et al. 1991b). Demnach ist anzunehmen, dass IFN- γ neben einer antiparasitären eine immunregulatorische Funktion hat.

Die verstärkte Bildung von IFN- γ geht mit der Stimulation weiterer Zytokine, wie z.B. TNF- α , einher. Dieses Zytokin agiert oft synergistisch mit IFN- γ , was zur Verstärkung der klinischen Symptome, aber auch zur Parasiteneliminierung beitrug (Byrnes et al. 1993; Smith et al. 1995). Intestinale Konzentrationen von TNF- α waren höher bei resistenten BALB/c- als empfänglichen C57BL/6-Mäusen in der Primärinfektion mit *E. vermiformis* (Ovington et al. 1995). Dagegen scheint das Zytokin in der Resistenz gegen eine Sekundärinfektion keine bedeutende Rolle zu spielen (Smith et al. 1995). Die Behandlung mit rekombinantem TNF- α führte überraschenderweise zu erhöhter Oozystenausscheidung bei unveränderter Patenzzeit

(Ovington et al. 1995). Die genauen Mechanismen dieser Zytokinwirkung sind noch weitgehend ungeklärt.

Dem Zytokin Interleukin-6 (IL-6) wird ebenfalls eine Beteiligung an der Induktion einer Immunantwort gegen Eimerien zugesprochen, da dieses Zytokin die T-Zell-Proliferation aktiviert und auch systemisch durch Bildung von Akute-Phase-Proteinen einen Einfluss auf das Immunsystem hat. So zeigten Experimente mit *E. vermiformis*, dass resistente BALB/c-Mäuse signifikant größere Mengen an IL-6 produzierten, als empfänglichere C57BL/6-Mäuse (Lynagh et al. 2000). Infektionsexperimente mit IL-6-defizienten Mäusen wiesen ebenfalls durch erhöhte Oozystenausscheidungen auf eine Beteiligung des Zytokins bei der Limitierung einer Primärinfektion hin (Smith & Hayday 2000b). Dagegen hatte dieses Zytokin keinen Einfluss auf den Aufbau einer stabilen Immunität bei Sekundärinfektion.

1.4. Immunpathologie bei Eimerien-Infektionen

Infektionen mit dem parasitischen Protozoen *Eimeria* führen zur Kokzidiose. Das Eindringen der freiwerdenden Sporozoiten in die Epithelzellen sowie die Vermehrungsphase des Parasiten bedingt eine mechanische Zerstörung des Darmepithels. Diese Schädigung der Darmes führt zu unzureichender Metabolisierung des aufgenommenen Futters. Gewichtsverlust und Diarrhoe sind die Folgen. Aufgrund gesteigerter Permeabilität durch gebildete Entzündungsmediatoren und mechanische Schädigung der Kapillaren in der Mukosa kommt es zum Blutaustritt in das Lumen des Darmes. Weitere klinische Symptome wie Dehydratation, Anorexie und Apathie verstärken sich mit steigender Infektionsdosis (Mesfin et al. 1978).

Die erhöhte Permeabilität der Gefäße bedingt ein Einwandern von Makrophagen und Neutrophilen in das entzündete Gewebe (Stünzi & Weiss 1990). IFN- γ , gebildet durch T-Effektorzellen, wirkt über zellaktivierende Effekte. So wird die TNF- α -Produktion der Makrophagen aktiviert, welches für pathologische Veränderungen mitverantwortlich gemacht wird (Smith et al. 1995). Des Weiteren wird diskutiert, ob die Bildung freier Sauerstoffradikale durch Aktivierung von Leukozyten eine zytotoxische und antiparasitäre Wirkung hat (Ovington & Smith 1992).

Eine Verstärkung der klinischen Symptome wurde auch bei *in vivo*-Behandlung verschiedener Mausstämme mit anti-IFN- γ -Antikörpern beobachtet (Rose et al. 1991). Demzufolge ist diesem Zytokin eine immunregulatorische Funktion zuzusprechen. Infektionsexperimente mit $\gamma\delta$ -T-Zell-defizienten Mäusen zeigten ebenfalls eine Verstärkung der pathologischen Symptome

durch starke intestinale Zerstörung des Epithels (Roberts et al. 1996). Demnach scheinen $\gamma\delta$ -T-Zellen bedeutende Regulatoren der Wirtsimmunantwort zu sein.

Schwerste histopathologische Veränderungen des Darmepithels traten zusammen mit höchsten Ausscheidungsraten an Oozysten auf (Blagburn & Kenneth 1984). Eine Infektion mit dem Dünndarmparasiten *E. vermiformis* führte zu lymphoider Infiltration, Kryptenhyperplasie, Atrophie der Darmzotten sowie einer Reduktion der Paneth-Zellen (Blagburn & Kenneth 1984; Rose et al. 1992b). Ähnliche Veränderungen wurden im Caecum und Colon bei Infektion mit *E. falciformis* var. *pragensis* beobachtet. Neben Kryptenhyperplasie, Infiltration von Neutrophilen und Makrophagen sowie Zerstörung des absorptiven Epithels traten submucosale Ödeme und Hämorrhagien auf (Mesfin et al. 1978). Die Schwere der auftretenden histopathologischen Veränderungen hing dabei maßgeblich von der Infektionsdosis ab. Die zur natürlichen Darmflora gehörenden Bakterien können die existierenden Läsionen noch verschlimmern.

1.5. Bekämpfung und Kontrolle der Kokzidiose

Eine Infektion mit dem parasitischen Protozoen *Eimeria* verursacht die Kokzidiose, welche in der modernen Geflügelzucht zu großen wirtschaftlichen Verlusten führt. Aufgrund des übermäßigen Reproduktionspotentials dieses Parasiten ist das Risiko einer Masseninfektion sehr groß (Ovington et al. 1995). Zur prophylaktischen Behandlung werden heute ständig Kokzidiostatika (z.B. Toltrazuril, Nikarbazin, Salinomycin) über das Futter verabreicht. Die entstehenden Kosten für Verluste und Behandlung in der Geflügelindustrie belaufen sich auf 800 Millionen US Dollar pro Jahr (Williams 1998). Der ökonomische Schaden, die Resistenzentwicklung des Erregers und Rückstandsbelastungen dieser Chemotherapeutika in Lebensmitteln fordern heute die Entwicklung alternativer Kontrollstrategien.

Da bei natürlicher Infektion eine belastbare Immunität aufgebaut wird, werden attenuierte Parasitenstämme als Lebendvakzine eingesetzt. Aber die Herstellung ist zeitaufwändig und kostenintensiv (Ovington et al. 1995), weshalb diese Impfstoffe nur bei Elterntieren und Legehennen Anwendung finden. Außerdem besteht die Gefahr des Infektionsausbruchs durch den Lebendimpfstoff. Deshalb gibt es neuere Ansätze zur Entwicklung von rekombinanten Vakzinen, welche einen Immunschutz generieren sollen, der auf einer zellulär vermittelten Immunität basiert (Vermeulen 1998).

1.6. Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, die zelluläre intestinale Immunantwort *Eimeria falciformis*-infizierter Mäuse zu charakterisieren. Dabei sollten die lokalen intestinalen Abwehrmechanismen und Effektorzellen, welche mit einer Schutzwirkung gegen eine Sekundärinfektion assoziiert sind, analysiert werden.

Zuerst sollte die spezifische Proliferation mesenterialer Lymphknotenzellen bei Stimulation mit parasitischem Antigen im Lymphozyten-Transformationstest untersucht werden. Das protektive Potential dieser reaktiven T-Zellen sollte sodann in adoptiven Transferexperimenten überprüft werden. Die Separation einzelner T-Zell-Subklassen mittels eines magnetischen Zellsortierungssystems (MACS) und deren Transfer in naive Rezipienten sollte nun Aufschluss über die schützende T-Zell-Population geben. Die Analyse der transferierten Einzelzellsuspensionen durch einen fluoreszenzaktivierten Zellsortierer (FACS) sollte die einzelnen Bestandteile der Gesamtzell-Population aufschlüsseln. Weitergehend sollte nun die Funktion des T-Zell-Oberflächenrezeptors CTLA-4 bei der Induktion einer Immunantwort sowie der Generierung von Gedächtniszellen bei Infektion mit Eimerien untersucht werden.

Durch histologische Untersuchungen des Darmes sollten weitere Erkenntnisse über die Folgen der Invasion des Parasiten und das Krankheitsbild der Kokzidiose gewonnen werden. Die Bestimmung der Konzentrationen von IFN- γ , TNF- α sowie IL-6 aus Darm und Milz mit Hilfe des ELISA-Testes sollte darüber aufklären, welchen Einfluss diese Immunmodulatoren auf die Ausbildung einer Immunität gegen Eimerien haben.