

Serologische Toxoplasmose-Diagnostik bei AIDS

G. Daeschlein, J. Boer, Bettina Becker

Einleitung

Die zerebrale Toxoplasmose ist die Hauptursache fokaler zerebraler Läsionen bei AIDS-Patienten (7, 9, 12). Für den Krankheitsverlauf von entscheidender Bedeutung ist eine rasche Diagnosestellung und die Einleitung einer entsprechenden Therapie. Mit der herkömmlichen Serologie gelingt die Diagnose Toxoplasma bei AIDS-Patienten nur unzureichend, da die Routinetestmethoden (Immunfluoreszenztest/IFT, Komplementbindungsreaktion/KBR, Enzymimmunoassays/ELISA) häufig keine eindeutigen Aussagen zulassen (1).

1988 berichteten SUZUKI et al. über den diagnostisch verwertbaren Nachweis von IgG-Antikörpern bei AIDS-Patienten mit Toxoplasmose mit Hilfe der Direktagglutinationstechnik (12).

Unsere Arbeit vergleicht zwei verschiedene Direktagglutinationstests mit den bei uns verwendeten Routinetestmethoden (IFT, KBR) zur Toxoplasmosediagnostik bei AIDS-Patienten. Im Hinblick auf die Wertigkeit von IgM-Untersuchungen bei zerebraler Toxoplasmose bei AIDS wurden diese Antikörper mit zwei verschiedenen Testmethoden bestimmt (ELISA, ISAGA).

Die im IgG positiven Seren wurden zur Charakterisierung der von den Tests gemessenen Antikörper im Westernblot auf die korrespondierenden Toxoplasma-Antigene hin untersucht.

Material und Methoden

Untersucht wurden elf Seren von elf AIDS-Patienten mit klinisch manifester zerebraler Toxoplasmose, eine Serumprobe eines AIDS-Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose, eine Serumprobe eines immunkompetenten Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose und fünf Seren von fünf AIDS-Patienten ohne klinische Anzeichen akuter Toxoplasmose. Diese Seren wurden mit den in Tabelle 1 angeführten Testsets nach den Angaben der Hersteller auf spezifische IgG- bzw. IgM-Antikörper untersucht.

Westernblot

Toxoplasma-Antigen für die Gelaufreinigung wurde durch Ultraschallung von in Zellkulturen gezüchteten Parasiten (freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. A. Haßl, Hygiene Institut Wien) nach Glaswolle-Separation gewonnen. Die Auftrennung der Protein-Präparation erfolgte im kontinuierlichen Polyacrylamid-Gel (10%) in einer

TABELLE 1
Durchgeführte Tests zum Nachweis von Toxoplasma-Antikörpern

| | |
|--|--|
| Immunfluoreszenztest (positiv ab 1 : 1000) | Fa. BAG, Lich, BRD |
| Komplementbindungsreaktion (positiv > 1 : 10) | lösliches Antigen, Fa. Behring, Mahrburg/L., BRD |
| Toxocell AD (positiv > 1 : 256) | Direkttagglutination in Mikrotiterplatten, Fa. LD-Diagnostika, Heiden, BRD |
| Toxo-Screen DA (positiv ab 1 : 4000) | Direkttagglutination in Mikrotiterplatten, Fa. Bio-Mérieux, Marc-l'Etoile, Frankreich |
| IgM-ELISA (positiv ab Index 1,0) | Fa. Abbott Diagnostics, Chicago, USA) |
| IgM-ISAGA (positiv > Index 5) | Immunsorbenttest, Fa. Bio-Mérieux, Marc-l'Etoile, Frankreich |

Elektrophoresekammer (Bio-RAD) nach der Methode von LAEMMLI et al. (6) unter reduzierenden Bedingungen mit Merkptoäthanol und SDS. Nach Elektroblothing der Polypeptide auf Polyvinylmembran (PVDF, Fa. Millipore, Bedford, USA) wurden die separierten Banden 24 Stunden mit den Patientenseren inkubiert und anschließend mit Peroxydase-Konjugat Anti-human-IgG, -IgA und -IgM (Fa. Bio-RAD, Richmond, USA) entwickelt.

Als Molekulargewichtsmarker diente ein Standard von 10.000 bis 200.000 kD (Fa. Bio-RAD).

Ergebnisse

Die mit den verschiedenen Antikörpertests gemessenen Titer sind in Abbildung 1 dargestellt. Tabelle 2 faßt die Ergebnisse zusammen:

Bei elf untersuchten AIDS-Patienten mit zerebraler Toxoplasmose konnten mit dem Screen DA-Test in elf, mit dem IFT in drei, mit dem Toxocell AD in zwei Fällen erhöhte IgG-Titer gemessen werden. Bei sieben von elf Patienten konnten positive ISAGA-IgM-Titer nachgewiesen werden, davon waren drei auch im IgM-ELISA positiv. In einem Fall war der KBR-Titer erhöht.

Beide Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose zeigten mit allen IgG-Tests vergleichbare erhöhte Titer. IgM-Antikörper ließen sich lediglich mit dem IgM-ISAGA nachweisen.

Tabelle 3 zeigt die im Westernblot ermittelten reaktiven Banden bei AIDS-Patienten mit zerebraler (Patienten 1-11) bzw. Lymphknoten-Toxoplasmose (Patient 12). Zum Vergleich sind die Banden eines HIV-negativen Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose aufgeführt (Patient 13).

Die AIDS-Patienten mit zerebraler Toxoplasmose zeigen reaktive Banden überwiegend im Bereich zwischen 30 bis 92 kD. Hierbei können unter Berücksichtigung der Antikörperbefunde diesen Befundkonstellationen keine testcharakteristischen Bandenmuster zugeordnet werden. Insgesamt zeigt sich bei den Patienten mit zerebraler Toxoplasmose eine quantitativ als auch qualitativ reduzierte Reaktivität im Westernblot im Vergleich zum AIDS-Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose.

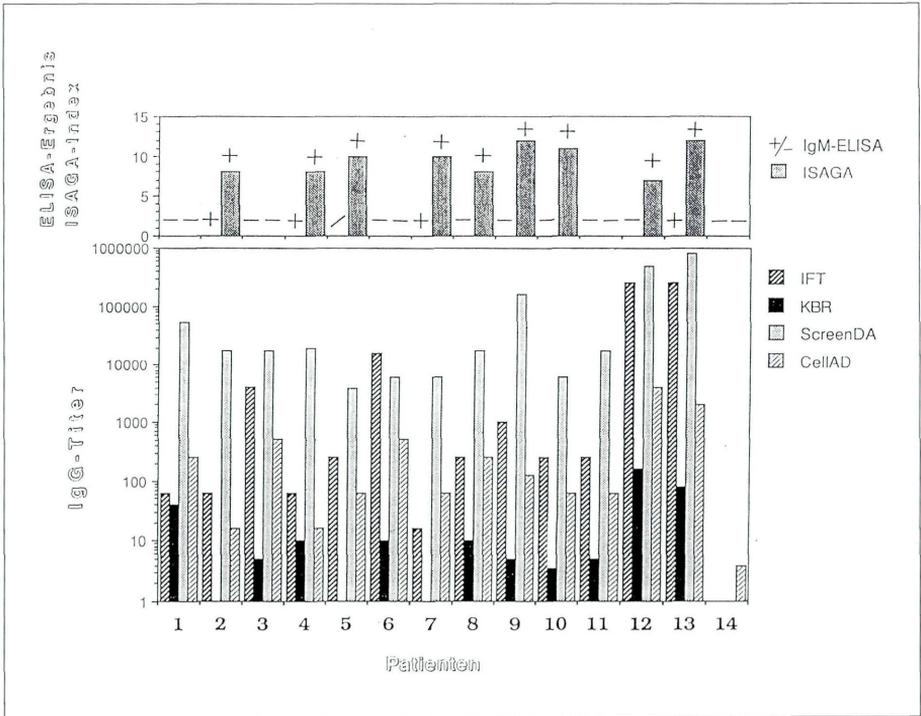


Abb. 1:

IgG- und IgM-Titer von elf AIDS-Patienten mit zerebraler Toxoplasmose (1-11), einem AIDS-Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose (12), einem Immungesunden mit Lymphknoten-Toxoplasmose (13) und einer Negativkontrolle (Immungesunder ohne Toxoplasmose).

TABELLE 2
Ergebnisse der durchgeführten Vergleichsuntersuchungen

| Fälle (n) | IFT-pos. | KBR-pos. | Screen DA pos. | Zell AD pos. | ELISA-IgM pos. | ISAGA-IgM pos. |
|---------------------------|----------|----------|----------------|--------------|----------------|----------------|
| AIDS zerebr. Toxopl. (11) | 3 | 1 | 11 | 2 | 3 | 7 |
| AIDS Lk.-Toxopl. (1) | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| HIV 0 Lk.-Toxopl. (1) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| AIDS keine Toxopl. (5) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

TABELLE 3

Molekulargewichte (kD) der im Westerblot erkannten Toxoplasmaantigene.

(1-11: AIDS-Patienten mit zerebraler Toxoplasmose; 12: AIDS-Patient mit

Lymphknoten-Toxoplasmose; 13: HIV-negativer Patient mit Lymphknoten-Toxoplasmose)

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|----|----|-----|----|----|----|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| | | | | 18 | | | | | | | | 18 |
| | | | | | 20 | | | | | | 20 | 20 |
| | | | | | | 25 | | | | | 25 | 25 |
| | | | | | | 26 | | | | 26 | 26 | 26 |
| | | | | | | 27 | | | | 27 | 27 | 27 |
| | | | | | | 30 | | | 30 | | 30 | 30 |
| 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | |
| 34 | | | | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 | |
| 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| 38 | 38 | | 38 | 38 | | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 |
| 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | | | | | | | | | | | | 42 |
| | | 43 | | | 43 | | 43 | | | | | |
| 44 | 44 | | | 44 | | 44 | | | | 44 | 44 | 44 |
| | | | | 46 | | 46 | | | 46 | 46 | 46 | |
| 50 | 50 | 50 | | 50 | | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | | | | | | | | | | | | 52 |
| | | 54 | | 54 | | 54 | 54 | 54 | 54 | | 54 | 54 |
| | 60 | 60 | 60 | 60 | | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| | | 63 | | 63 | | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | |
| 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| | | | | 75 | | 75 | 75 | 75 | | 75 | 75 | 75 |
| | | | | | | | | | | | | 80 |
| | 92 | | | 92 | | 92 | | 92 | 92 | | 92 | 92 |
| | | | | | | | | | | | | 105 |
| | | 130 | | | | | 130 | 130 | | 130 | 130 | 130 |
| | | | | | | | | | | | | 190 |

Diskussion

Die im Rahmen der Schwangerenüberwachung und auch zur Abklärung einer akuten Toxoplasmose bei immunkompetenten Patienten bislang eingesetzten und bestens bewährten serologischen Testmethoden (IFT, KBR, ELISA) haben sich bei AIDS-Patienten als vor allem zu wenig sensitiv und daher als unzuverlässig herausgestellt (1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13).

Von SUZUKI und Mitarbeitern (1988) konnte jedoch gezeigt werden, daß mit Hilfe von Direktagglutinationstests, die allerdings erst seit wenigen Jahren zur Verfügung stehen, auch bei AIDS-Patienten mit Toxoplasmose ein diagnostisch verwertbarer Nachweis von Antikörpern möglich ist.

Auch wir haben uns angesichts der Tatsache, daß wir immer wieder mit der serologischen Abklärung von Toxoplasma-Infektionen bzw. einer möglichen akuten Toxoplasmose bei AIDS-Patienten konfrontiert werden, mit der Problematik des Antikörper-

Nachweises bei immunsupprimierten Patienten auseinandergesetzt und eine Vergleichsstudie durchgeführt, um uns selbst ein Bild über die „Brauchbarkeit“ dieser neuen Testmethoden zu verschaffen. Dabei wurden Seren von elf AIDS-Patienten mit zerebraler Toxoplasmose, ein Serum eines AIDS-Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose, ein Serum eines Immungesunden mit Lymphknoten-Toxoplasmose und fünf Seren von Immungesunden ohne Toxoplasmose sowohl in den herkömmlichen Serotests (IFT, KBR, ELISA-IgM), als auch in drei verschiedenen (kommerziell erhältlichen) IgG- (Toxo-Screen DA, Toxocell AD) und IgM-Agglutinationstests (IgM-ISAGA) untersucht; darüberhinaus wurden die Seren einer Westernblot-Analyse unterzogen.

Die Ergebnisse dieser serologischen Vergleichsstudie lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

— Die in der „klassischen“ Toxoplasmose-Diagnostik (Nachweis spezifischer IgG- und/oder IgM-Antikörper im Serum von Immungesunden) eingesetzten Testmethoden (IFT, KBR und ELISA) erwiesen sich auch im Rahmen unserer Studie als unzuverlässig, da nur fünf (IFT) bzw. drei (KBR) Seren von insgesamt 13 Toxoplasmose-Patienten (zwölf AIDS-Patienten, ein Immungesunder mit einer klinisch manifesten Toxoplasmose) erhöhte Antikörpertiter zeigten. Es erscheint allerdings verwunderlich, daß gerade der IFT, der ebenso wie die Agglutinationstests auf der Verwendung fixierter Trophozoiten von *Toxoplasma gondii* beruht, bei AIDS-Patienten mit einer zerebralen Toxoplasmose eine derart geringe Sensitivität aufweist.

— Der Toxo-Screen DA, ein Test zum Nachweis spezifischer IgG-Antikörper, erwies sich tatsächlich auch in unserer Studie als die sensitivste Methode; alle 13 Toxoplasmose-Patienten wurden mittels dieses Tests als solche „erkannt“. Der zweite eingesetzte IgG-Agglutinationstest (Toxocell AD) war hingegen ähnlich insensitiv wie der IFT und die KBR. Die Ursache für diese Diskrepanz dürfte auf eine unterschiedliche Verarbeitung und Präparation der Toxoplasmen zurückzuführen sein.

— Von den zwei verwendeten IgM-Tests erwies sich der IgM-ISAGA als der wesentlich sensitivere: Während von den elf getesteten Toxoplasmose-Patienten im IgM-ISAGA neun Seren positiv reagierten, war der IgM-ELISA nur bei vier Patienten positiv. Die hohe Empfindlichkeit des ISAGA ist allerdings bereits aus anderen Studien bekannt (2).

— Die Westernblot-Analyse (Zahl und Lokalisation der reaktiven Polypeptid-Banden, spezifisches Bandenmuster) erbrachte keine zusätzliche Information über den Toxoplasmose-Status der AIDS-Patienten.

Die von SUZUKI et al. (12) publizierten Ergebnisse über den sinnvollen Einsatz von Agglutinationstests zum Toxoplasma-Antikörpernachweis bei AIDS-Patienten konnten wir eindrucksvoll durch unsere Untersuchungen bestätigen; wir können den kombinierten Einsatz des Toxo-Screening DA und des IgM-ISAGA bei AIDS-Patienten mit Verdacht auf Toxoplasmose empfehlen.

Zusammenfassung

Um die Eignung von Direktagglutinationstests in der serologischen Toxoplasmosedagnostik bei AIDS zu untersuchen, wurde bei elf AIDS-Patienten mit zerebraler Toxoplasmose und einem AIDS-Patienten mit Lymphknoten-Toxoplasmose die Routineserologie (Immunfluoreszenztest und Komplementbindungsreaktion) mit zwei kommerziellen Direktagglutinationstests verglichen. Ein Test, der „Toxo-Screen DA“ zeigte bei allen Patienten mit Toxoplasmose deutlich erhöhte Titer und erscheint im Vergleich zu allen übrigen nur sporadisch erhöhten Antikörpertests zur Toxoplasmosedagnostik bei AIDS geeignet. Bei der IgM-Untersuchung der Patienten mit ELISA und ISAGA zeigten sich

von acht im ISAGA positiven Patienten nur drei auch im ELISA positiv. Im Westernblot ergaben sich zur Klärung des unterschiedlichen Testausfalls der IgG- und der IgM-Antikörperantwort keine Hinweise.

Schlüsselwörter

Toxoplasmose, AIDS, IgM, IgG, Westernblot.

Summary

Serological diagnosis of toxoplasmosis in patients with AIDS

In order to verify the usefulness of direct agglutination tests in the serological diagnosis of toxoplasmosis in AIDS patients, two of these tests were compared with conventional serology (immunofluorescence and complement binding reaction) in 11 AIDS patients with cerebral toxoplasmosis and one with AIDS and lymphnode-toxoplasmosis. One of the agglutination tests, the "Toxo-Screen DA", showed pathologically elevated titers in all patients and seems to be valuable in diagnosis of toxoplasmosis in AIDS patients. All other tests showed sporadic positivity. When IgM-antibodies were tested with ELISA and ISAGA only 3 patients were positive in ELISA compared with 8 using the ISAGA-technique. Westernblots failed to clarify the discrepancy between the results of the different methods for IgG or IgM antibody testing.

Key words

Toxoplasmosis, AIDS, IgG, IgM, Westernblot.

Literatur

1. CHRIST, F., STEUDEL, H., KLOTZ, D. (1986):
Zerebrale Toxoplasmose bei AIDS.
Fortschr. Röntgenstr. 144, 230-231.
2. DESMONTS, G., NAOT, Y., REMINGTON, J. S. (1981):
Immunoglobulin M-Immunsorbent Agglutination Assays for Diagnosis of Infectious Diseases:
Diagnosis of Acute Congenital and Acquired Toxoplasma Infections.
J. Clin. Microbiol. 14, 486-491.
3. FARKASH, A. E., MACCABEE, P. J., SHER, J. A. et al. (1986):
CNS Toxoplasmosis in Acquired Immune Deficiency Syndrome: A Clinical-Pathological-Radiological
Review of 12 Cases.
J. Neurosurg. Psychiatr. 49, 744.
4. HASSL, A., ASPÖCK, H. (1989):
Die Bedeutung der quantitativen IgG-Bestimmung in der Serodiagnostik von Toxoplasma-Infektionen
bei HIV-Infizierten.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 11, 311-314.
5. HOOPER, D. C., PRUITT, A. A., RUBIN, R. H. (1982):
Central Nervous System Infections in the Chronically Immunosuppressed.
Medicine (Baltimore) 61, 166.
6. LAEMMLI, U. K. (1970):
Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4.
Nature 227, 680-686.
7. LEVY, R. M., BREDESCEN, D. E., ROSENBLUM, M. L. (1985):
Neurological Manifestations of the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS): Experience at UCSF
and Review of the Literature.
J. Neurosurg. 62, 475-495.

8. LUFT, B., HAFNER, R. (1990):
Toxoplasmic Encephalitis.
AIDS 4, 593-595.
9. LUFT, B., REMINGTON, J. S. (1987):
Toxoplasmic Encephalitis.
J. Infect. Dis. 157, 1-6.
10. POHLE, H. D., EICHENLAUB, D. (1987):
ZNS-Toxoplasmose bei AIDS-Patienten.
AIFO 3, 122-135.
11. STEPICK-BIEK, P., THULLIEZ, P., REMINGTON, J. S. (1990):
IgA-Antibodies in Diagnosis of Acute Toxoplasmosis.
Clin. Res. 38, 153A.
12. SUZUKI, Y., ISRAELSKI, D. M., DANNEMANN, B. R., STEPICK-BIEK, P., THULLIEZ, P., REMINGTON, J. S. (1988):
Diagnosis of Toxoplasmic Encephalitis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome by Using A New Serologic Method.
J. Clin. Microbiol. 26, 2541-2543.
13. WONG, B., GOLD, J. W., BROWN, A. E., LANGE, M. (1984):
Central-Nervous-System Toxoplasmosis in Homosexual Men and Parenteral Drug Abusers.
Ann. Intern. Med. 100, 36-42.

KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. med. Georg Daeschlein
Institut für Mikrobiologie und Infektionsimmunologie
Freie Universität Berlin

Hindenburgdamm 27
D-1000 Berlin 45 · Bundesrepublik Deutschland

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: 1990

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Daeschlein Georg, Boer J., Becker Bettina

Artikel/Article: [Serologische Toxoplasmose-Diagnostik bei AIDS. 321-328](#)