

Vergleichende Untersuchungen zur Immundiagnostik der Toxoplasmose im Raum Göttingen unter Anwendung verschiedener kommerziell erhältlicher Testverfahren

Maria Schlagmann, Eva-Maria Christophel

Einleitung Im Gegensatz zu Österreich ist in der BRD die Toxoplasmose-Antikörper-Bestimmung kein Bestandteil der obligatorischen Mutterschaftsvorsorge. Für die BRD sind Toxoplasma-Antikörper-Prävalenzraten bei Frauen im gebärfähigen Alter von 34 - 42% beschrieben (8). Ein Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Ermittlung der Toxoplasma-Antikörper-Prävalenz bei Schwangeren im Raum Göttingen.

Zudem sollten einige käufliche Toxoplasma-Antikörper-Testverfahren, Basistests und IgM-Tests, hinsichtlich ihrer Sensitivität, Spezifität und Eignung für ein Screening überprüft werden. Als spezielles Problem der Spezifität von IgM-Tests wurde die Rheumafaktor-Interferenz aufgegriffen.

Folgende Seren standen zur Verfügung:

Material und Methoden

Seren

Gruppe 1: 506 Seren schwangerer Frauen aus dem Raum Göttingen,
Gruppe 2: 33 Proben von an akuter Toxoplasmose erkrankten Patienten,
Gruppe 3: 35 Seren*, die Rheumafaktoren (RF) und/oder antinukleäre Antikörper (ANA) enthielten.

Durchgeführte Tests

Indirekte Immunfluoreszenztests (IIFT, Fa. bioMérieux, Nürtingen):

- IIFT mit polyvalentem Anti-Humanglobulin als Konjugat. Grenztiter 1/16.
- IgM-IIFT ohne und mit RF-Absorbens (Anti-Human-IgG, Behringwerke, Marburg), Grenztiter 1/16 bzw. 1/12.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA):

Zwei vom Prinzip her identische indirekte IgG-ELISAs zweier Firmen:

- Toxonostika IgG Microelisa System (Fa. Organon Teknika, Eppelheim). Semiquantitative Angabe der Ergebnisse in Titern ab 1/100.
- Toxo-GTM EIA Kit (Fa. Abbott, Wiesbaden). Angabe der Ergebnisse in IE/ml (internationale Einheiten). Als Grenzwert, von der Firma als Index $\leq 0,5$, jedoch nicht für IE/ml angegeben, wurden 12 IE/ml angenommen.

Zwei "Double-sandwich"-IgG-ELISAs der gleichen Firmen:

- Toxonostika IgM Microelisa System (Fa. Organon Teknika).
- Toxo-MTM EIA Kit (Fa. Abbott). Angabe der Ergebnisse in Indices, Grenzwert 0,5.

Direkt-Agglutinations-Test (Toxo-Screen DA, Fa. bioMérieux, Nürtingen). Grenztiter 1/64.

Komplementbindungsreaktion (KBR, Behringwerke, Marburg). Grenztiter 1/5.

*) Diese Seren wurden uns dankenswerterweise vom Serologischen Labor (Leiter: Prof. Dr. U. Kaboth) der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen zur Verfügung gestellt.

Tabelle 1:

Toxoplasma-Antikörper: Testergebnisse bei den Schwangeren (N = 506)

Test	Anzahl der pos. Erg.	Prozent	davon auch im IIFT pos.	Anteil der auch im IIFT pos. (%)
IIFT ($\geq 1 : 16$)	188	37,2		
IgG-ELISA (Organon) ($\geq 1 : 100$)	204	40,3	187	91,7
IgG-EIA (Abbot) (≥ 12 IE)	195	38,5	186	95,4
DA ($\geq 1 : 64$)	198	39,2	186	93,9
KBR ($\geq 1 : 16$)	28	4,0	15	75,0
IgM-ELISA (Organon) ($\geq 1 : 100$)	8	1,6	8	100,0
IgM-EIA (Abbott) (Index $\geq 0,5$)	14	2,8	13	92,9

Auswertung

Zur Beurteilung der Korrelation der Basistests gingen in die statistische Auswertung alle Seren der Gruppe 1 ein, die in mindestens einem Test ein positives Ergebnis hatten. Die Korrelation wurde mit Hilfe des Spearman'schen Rang-Korrelationskoeffizienten (r_s) bestimmt.

Zur Beurteilung der statistischen Signifikanz der Ergebnisse wurde der Chi²-Test angewendet.

Ergebnisse

Epidemiologische Ergebnisse

In den Basistests (IIFT, DA, IgG-ELISAs) stimmte der Anteil positiver Befunde in der Gruppe der Schwangeren gut überein (Tab. 1). Im IIFT waren 37,2% der Seren aus Gruppe 1 positiv, im IgG-ELISA (Organon) 40,3%, im IgG-EIA (Abbott) 38,5% und in der DA waren es

39,2%. Mit steigendem Lebensalter der Frauen war eine Zunahme der Antikörper-Prävalenz festzustellen (Abb. 1). Die jährliche Zunahme der Druchseuchung betrug im IIFT durchschnittlich 1,5%.

Vergleich der Basistests (IIFT, DA, IgG-ELISAs)

Mit den Basistests wurden im Schwangerenkollektiv überwiegend qualitativ übereinstimmende Ergebnisse erzielt. Die diskrepanten Seren sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Die Sensitivität des IIFT war geringer als die der drei anderen Tests, was an den sieben Seren zu sehen ist, die nur im IIFT negativ waren. Der IIFT erwies sich jedoch als der Test mit der höchsten Spezifität.

Die DA war sehr sensitiv, zeigte aber zwei falsch positive Ergebnisse (Seren Nr. 167 und 268, Tab. 2) (Konegativität mit dem IIFT: 96,2%).

Der Organon-ELISA bewies eine hohe Sensitivität, war jedoch der Test mit der geringsten Spezifität, wie die in Tabelle 2 unten aufgeführten sechs Seren zeigen, die ausschließlich in diesem Test positiv waren (Konegativität mit dem IIFT: 94,7%).

Die Kopositivität von DA und Organon-ELISA mit dem IIFT betrug 99,5%.

Bei einer geringfügigen Senkung des Cut-off im IgG-EIA der Firma Abbott wäre die Sensitivität dieses Tests (Kopositivität mit dem IIFT: 98,9%) ebenso hoch wie die von DA und Organon-ELISA (Tab. 2, Seren 2, 163 und 296), ohne Beeinträchtigung der Spezifität. Die Konegativität mit dem IIFT betrug 97,2%.

Serum Nr. 406 zeigte unter den Basistests nur im IIFT ein positives Ergebnis (1/64) bei negativen Werten in beiden IgG-ELISAs und der DA; die in hoher Konzentration nachweisbaren spezifischen IgM-Antikörper sprechen für das Vorliegen einer hochakuten frühen Toxoplasma-Infektion.

Zwischen allen Basistests zeigten sich auf dem 0,0001-Niveau hochsignifikante Korrelationen. Die höchste Korrelation bestand zwischen den beiden IgG-ELISAs ($r_s = 0,82$). Der Abbott-IgG-EIA stimmte quantitativ am besten mit den anderen Tests überein ($r_s = 0,63$ mit dem IIFT, $r_s = 0,62$ mit der DA), während die DA die niedrigsten Rangkorrelationskoeffizienten hatte ($r_s = 0,47$ mit dem IIFT, $r_s = 0,060$ mit dem IgG-ELISA Organon).

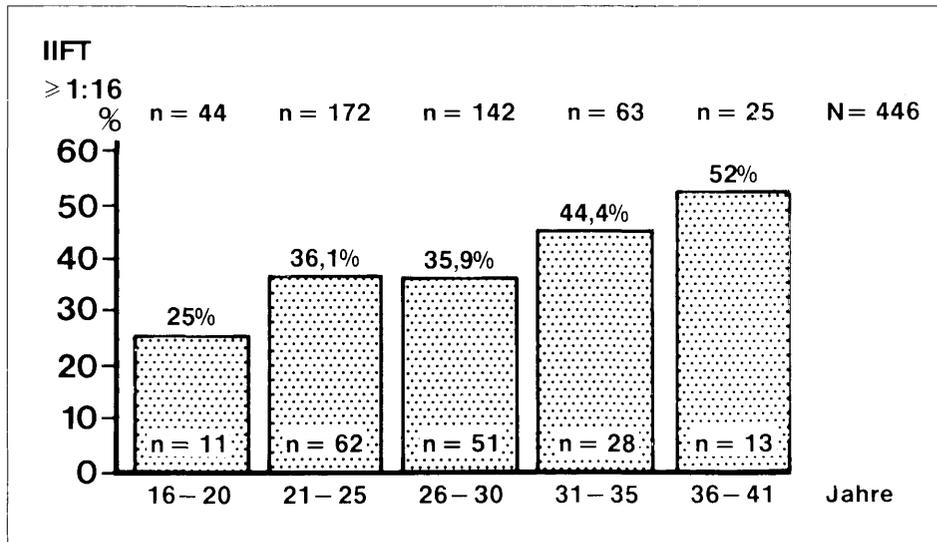


Abbildung 1:
Toxoplasma-Antikörper im IIFT in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 2:
Diskrepanze Ergebnisse in den Basistests (N = 23)
(Werte in Klammern enthalten Ergebnisse unterhalb des Grenzwertes)

Nr.	IIFT (Verd.)	ELISA (Verd.)	EIA (IE/ml)	DA (Verd.)
3	0	100	(11.79)	1000
93	0	0	(8.70)	256
96	0	200	0	(16)
163	16	100	(10.75)	256
167	0	0	0	64
211	0	0	52.78	0
268	0	0	0	4000
296	0	100	(9.71)	64
406	64	0	0	0*
476	0	100	13.9	0

*) sehr hohe IgM-Antikörper, KBR neg.
7 Seren: IIFT neg., ELISA, EIA und DA pos.
6 Seren: ELISA 1/100, IIFT, EIA und DA neg.

IgM-Tests bei Seren mit Rheumafaktoren und/oder antinukleären Antikörpern

Den Einfluß von RF und ANA in Verbindung mit im Serum vorhandenen Toxoplasma-IgG-Antikörpern auf die Ergebnisse der IgM-Tests veranschaulicht Tabelle 3. Im IgM-IIFT ohne RF-Absorbens kamen positive Ergebnisse bei RF-haltigen Seren nur in Anwesenheit von spezifischem Toxoplasma-IgG vor. Nach Vorbehandlung dieser Seren mit RF-Absorbens fiel der IgM-IIFT in allen Fällen negativ aus. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der RF-Konzentration und der Titerhöhe im IgM-IIFT konnte nicht ermittelt werden. In den beiden IgM-ELISAs reagierten RF-haltige Seren ebenfalls positiv. Im Gegensatz zum IgM-IIFT waren diese Beobachtungen jedoch unabhängig vom Vorhandensein von Toxoplasma-IgG-Antikörpern im Serum. Der Anteil positiver Reaktionen war im ELISA der Firma Abbott mit 61,3% der RF enthaltenden Seren etwas geringer als im ELISA der Firma Organon mit 74,2%. Es bestand eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Höhe der ermittelten Titer bzw. Indizes in den IgM-ELISAs und der Höhe der RF-Konzentration (beim Organon-Test betrug $r_s = 0,75$, beim Abbott-Test war $r_s = 0,68$).

IgM-Tests und KBR
in den Serumgruppen 1 und 2

In der Gruppe der Schwangeren waren in 1,6% (n = 8) im Organon-Test und in 2,8% (n = 14) im Abbott-ELISA Toxoplasma-IgM-Antikörper nachweisbar (Tab. 1). Sechs Seren hatten übereinstimmende Ergebnisse (3 davon auch einen positiven IgM-IIFT), bei acht Seren war nur der Abbott-, bei zwei nur der Organon-Test positiv (jeweils mit niedrigen Indizes/Titern). In der KBR reagierten 4% (n = 20) positiv, überwiegend in niedrigen Titerstufen, davon fünf bei negativem IIFT vermutlich falsch positiv; bei zwei Seren waren gleichzeitig IgM-Antikörper nachweisbar.

In der Zusammenschau der Ergebnisse bestehen bei sieben Schwangeren (1,4%) Hinweise auf eine akute oder kürzlich stattgefundenene Toxoplasmose-Infektion.

Von 33 Seren aus Gruppe 2 der Patienten mit akuter Toxoplasmose waren alle Seren in den beiden IgM-ELISAs positiv (mit mittleren und hohen Werten). 18 von 32 Seren waren im IgM-IIFT mit RF-Absorbens positiv (wovon 8 Seren, alle mit hohen IIFT-Titern, ohne RF-Absorbens im IgM-IIFT negativ reagiert hatten). Die Sensitivität des IgM-IIFT war in dieser Gruppe also deutlich geringer als die der IgM-ELISAs und auch etwas geringer als die der KBR, die bei 24 von 33 Seren positiv reagierte.

Tabelle 3:

Einfluß von RF, ANA und IgG auf die IgM-Tests (N = 35).

Dargestellt wurde die Anzahl und der Prozentsatz der positiven Ergebnisse in Abhängigkeit von RF, ANA und spezifischem IgG im Serum.

Der Anteil positiver Reaktionen in den IgM-Tests ist auffällig hoch.

RF	AMA	IgG*	N	IgM-ELISA Organon		IgM-EIA Abbott		IgM-IIFT (ohne Absorption)	
				pos.	%	pos.	%	pos.	%
pos.	pos.	pos.	14	11	78,6	9	64,3	6	42,9
pos.	pos.	neg.	10	6	60,0	5	50,0	0	0
pos.	neg.	pos.	6	5	83,3	4	66,7	1	16,7
pos.	neg.	neg.	1	1	100	1	100	0	0
neg.	pos.	pos.	3	0	0	0	0	0	0
neg.	pos.	neg.	1	0	0	0	0	0	0
gesamt			35	23	65,7	19	54,3	7	20,0

* IgG pos. = mindestens im IIFT oder in allen 3 anderen Basistests positiv.

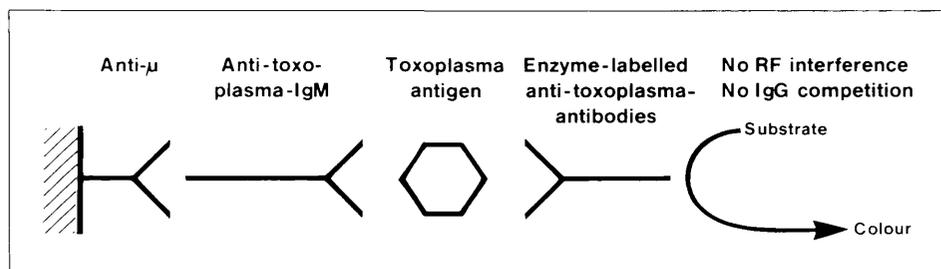


Abbildung 2:

Prinzip des "antibody-capture" IgM-ELISA zum Nachweis von Toxoplasma-IgM-Antikörpern (nach Wieland [32]).

Diskussion

Toxoplasma-Antikörper-Prävalenz

Für den Raum Göttingen konnte eine altersabhängige Toxoplasma-Antikörper-Prävalenz von durchschnittlich 37,2% im IIFT bei schwangeren Frauen ermittelt werden. Dieses Ergebnis liegt weit unter der 1966 für Göttingen publizierten Prävalenz (Sabin-Feldmann-Test) von 50% bei 15 - 20jährigen bzw. 80% bei 31 - 40jährigen Schwangeren (19).

Die hier ermittelte Prävalenz ist aber auch niedriger als die 1983 in einer anderen niedersächsischen Studie veröffentlichte von 45,6% (IIFT, Grenztiter 1/20) (27). Dies erklärt sich möglicherweise durch die unterschiedliche Kollektiv-Zusammensetzung: während in der vorliegenden Arbeit überwiegend Stadtbevölkerung erfaßt wurde, handelt es sich bei der erwähnten Studie um ein gemischtes Kollektiv aus Stadt- und Landbevölkerung. In einer Untersuchung aus Baden-Württemberg aus dem Jahr 1990 (Testmethoden: IgG-ELISA, IgG-ISAGA) konnte im ländlichen Bereich eine deutlich höhere Prävalenz von 47,4% im Vergleich zum städtischen Bereich mit 32,3% gefunden werden (13).

Die Toxoplasma-Antikörper-Prävalenz von 37,2% für Göttingen ist identisch mit der kürzlich aus Stuttgart (Baden-Württemberg) publizierten Prävalenz von 37% (IgG-IIFT) (8). Diese Ergebnisse neuerer Studien sind somit niedriger als die bislang für Deutschland und die meisten anderen Länder Europas bekannten Toxoplasma-Antikörper-Durchseuchungsraten.

Im Vergleich zur Göttinger Studie aus dem Jahr 1966 hat die Prävalenz scheinbar erheblich abgenommen. Die Tendenz eines Rückgangs der Toxoplasma-Antikörper-Prävalenz wird auch aus anderen Gegenden Europas berichtet, so aus Schweden (10), aus der Genfer Region (3), aus Paris (26), aus Großbritannien (14). Mögliche Ursachen hierfür, vergleichbare Kollektivzusammensetzung und Testmethoden vorausgesetzt, sind möglicherweise in einer Änderung hinsichtlich der Übertragung dieser Infektion zu suchen.

Vergleich und Bewertung der Basistests

Die Sensitivität des IIFT ist in unserer Studie der Sensitivität der drei anderen Tests unterlegen. Dies mag dadurch bedingt sein, daß im IIFT wegen möglicher unspezifischer Fluoreszenzen bei einer Serumverdünnung von 1/4 ein höherer Grenzwert als im Referenztest, dem Sabin-Feldman-Test, gewählt werden muß (1 : 16), bei ansonsten guter Vergleichbarkeit der Ergebnisse (26). Eine andere Erklärung geben VAN DRUTEN et al. (29), indem sie errechnen, daß der IIFT nur durchschnittlich 40 Jahre nach stattgefundenener Infektion positiv bleibt, während sie für den ELISA einen lebenslangen Nachweis von Antikörpern vermuten; prospektive Studien hierzu fehlen bislang. Bei einem Grenztiter von 1/16 ist der IIFT der Test mit der höchsten Spezifität.

Der IIFT bietet als polyvalenter Test den Vorteil, auch hochakute Infektionen, die noch nicht zur meßbaren Bildung von IgG-Antikörpern geführt haben, zu erfassen, was am Beispiel von Serum Nr. 406 (Tab. 2) eindrucksvoll zu sehen ist. Sollte für ein Screening ein IgG-spezifischer Test als alleiniger Test eingesetzt werden, besteht die Gefahr, daß eine frische Infektion übersehen wird.

Die IgG-ELISAs zeichnen sich in der vorliegenden Arbeit durch ihre hohe Sensitivität aus.

Die gefundene hohe Kopositivität des Organon-IgG-ELISA mit dem IIFT wird von einigen Autoren bestätigt (5, 15), andere finden eine geringe Sensitivität (z. B. 28). Die Spezifität dieses Tests ist hier jedoch die geringste unter den Basistests. Die vor allem in den unteren Titerbereichen vorkommenden vermutlich falsch-positiven Ergebnisse können durch einen zu niedrig angesetzten Grenzwert bedingt sein; auch die Zubereitung und Zusammensetzung des löslichen Antigens, die von den Herstellern üblicherweise nicht angegeben wird, könnte die geringe Spezifität erklären.

Die Sensitivität des Abbott-IgG-ELISA könnte durch eine geringfügige Änderung des Grenzwertes verbessert werden, ohne Beeinträchtigung der Spezifität (vgl. Tab. 2). Durch die Angabe der Ergebnisse in Form von Internationalen Einheiten/ml (IE/ml) ist die Erfassung von fein abgestuften Bewegungen in der Höhe der Antikörper möglich.

Die DA ist in der Durchführung ein einfacher Test. Die qualitative Übereinstimmung zwischen SFT und DA nach Auswertung von über 1 Million Seren wird mit fast 100% angegeben (6, 16). Die vorliegende Studie bestätigt die hohe Sensitivität der DA; die Spezifität ist jedoch geringer als die des IIFT einzustufen, was auch von CUTBITT et al. berichtet wird (5).

IgM-Tests in den Gruppen 1 und 2

Es zeigte sich auch in der vorliegenden Untersuchung das bekannte Auftreten von falsch negativen Ergebnissen im IgM-IIFT ohne RF-Absorbens, bedingt durch kompetitive Verdrängung spezifischer IgM-Antikörper durch große Mengen von spezifischen IgG-Antikörpern von den Bindungsstellen am Antigen (4). Durch Vorbehandlung eines Serums mit einem Anti-IgG-Antikörper enthaltenden RF-Absorbens läßt sich dieser Effekt vermeiden.

Die im Vergleich zu den IgM-ELISAs geringere Sensitivität des IgM-IIFT ist bekannt (23, 30) und läßt sich am ehesten durch Unterschiede im verwendeten Antigen erklären.

Die hohe Sensitivität der IgM-ELISAs zeigte sich besonders in der Gruppe der Patienten mit akuter Toxoplasmose. In der Literatur wurde für den Abbott-IgM-ELISA eine höhere Sensitivität als die des Organon-IgM-ELISA festgestellt (81% bzw. 79% für den Organon-, 98% bzw. 94% für den Abbott-Test) (18). Hinsichtlich der Spezifität des Organon-Tests wird das Vorkommen von niedrigen IgM-Antikörpern beschrieben, die nicht mit einer aktiven Infektion in Zusammenhang gebracht werden können (16, 22).

Der hohe diagnostische Wert der IgM-Tests, insbesondere der ELISAs, wird in der vorliegenden Untersuchung bestätigt.

Spezifität der IgM-Tests in Gruppe 3

Unspezifisch-positive Reaktionen im IgM-IIFT kommen laut in vielen Veröffentlichungen zum Ausdruck gebrachter einhelliger Meinung (u. a. 1) nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Rheumafaktoren (überwiegend der IgM-Klasse angehörende Autoantikörper gegen Immunglobuline) und spezifischen IgG-Antikörpern im Serum vor. Sie werden damit erklärt, daß IgM-Rheumafaktoren mit Antigen-gebundenem, im Serum enthaltenem, spezifischem IgG Komplexe bilden und dann fälschlicherweise als „spezifisches IgM“ nachgewiesen werden (u. a. 4).

Dieses Phänomen war auch bei einem Teil der RF und Toxoplasma-IgG-Antikörper enthaltenden Seren aus Gruppe 3 nachweisbar (Tab. 3) und war durch Vorbehandlung der Seren mit RF-Absorbens in allen Fällen zu beseitigen.

Ein Einfluß der ANAs auf die Ergebnisse im IgM-IIFT ist fraglich. In anderen Studien werden, bei ebenfalls häufiger Koinzidenz von RF und ANAs, meistens die RF als Verursacher der falsch-positiven Reaktionen im IgM-IIFT angesehen (24, 25).

In den IgM-ELISAs kamen in Serumgruppe 3 überraschenderweise viele falsch-positive Befunde, bei weitem mehr als im IgM-IIFT, vor, dies sowohl bei Seren, die in den Basistests positiv als auch bei Seren, die in den Basistests negativ waren.

Von den Herstellerfirmen der hier untersuchten Double sandwich-IgM-ELISAs wird das Vorkommen von falsch-positiven Ergebnissen durch RF oder ANAs in ihren Tests in den Arbeitsanleitungen mit der Begründung des μ -Capture-Prinzips ausgeschlossen. Die verwendeten Tests werden sogar von einigen Autoren zur Vermeidung solcher unspezifischer Reaktionen empfohlen, ohne daß jedoch in den jeweiligen Veröffentlichungen dieser Sachverhalt untersucht wurde (9, 17).

Bei näherer Betrachtung des Prinzips des Double sandwich-IgM-ELISA, der verwendeten Reagenzien und der vorgeschriebenen Testdurchführung wird jedoch klar, daß auch bei einem μ -Capture-ELISA die hier erhaltenen Ergebnisse unvermeidbar sind.

In Abbildung 2 (einer von der Firma Organon Teknika verlegten Broschüre entnommen) ist das Prinzip des DS-IgM-ELISA einschließlich der verwendeten Reagenzien ersichtlich. Nicht ersichtlich sind die Waschvorgänge und die Tatsache, daß Toxoplasma-Antigen und Konjugat gleichzeitig zugegeben werden. Es handelt sich außerdem bei den an der Festphase haftenden IgM-Antikörper natürlich nicht nur um Toxoplasma-spezifische, sondern um sämtliche im Serum enthaltenen IgM-Antikörper inklusive IgM-Rheumafaktoren (das beschriebene Prinzip gilt ebenso für den Abbott-IgM-ELISA).

Die falsch-positiven Ergebnisse lassen sich folgendermaßen erklären:

Im Serum enthaltene IgM-Rheumafaktoren werden infolge des μ -Capture an die Festphase gebunden. Da Toxoplasma-Antigen und Konjugat (aus kompletten, Enzym-markierten Anti-Toxoplasma-Antikörpern vom Kaninchen bzw. Schaf) gleichzeitig zugegeben werden, bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe, mit denen die RF reagieren können. Der gesamte Komplex kann daher über das gebundene Enzym eine positive Reaktion verursachen, unabhängig von im Serum vorhandenem spezifischem IgG.

Es wurde vermutet, daß auch RF unterhalb der Nachweisgrenze zu falsch-positiven Reaktionen in IgM-Tests führen können (12). Der signifikante Zusammenhang zwischen RF-Höhe und den Testergebnissen läßt diese Annahme jedoch bezweifeln.

Es gibt mindestens drei Möglichkeiten, die RF-Interferenz zu verhindern:

Zum einen gibt es die ursprüngliche Methode des DS-IgM-ELISA mit an die Festphase gebundenem Anti-IgM und Waschschritten zwischen Serum-, Antigen- und Konjugatzugabe (20). Hierbei wurden jedoch falsch-positive Ergebnisse bei gleichzeitigem Vorhandensein von RF und ANAs beschrieben (21). Eine zweite Möglichkeit ist ein DS-IgM-ELISA mit an die Festphase gebundenem Anti-IgM und Enzym-gekoppeltem $F(ab')_2$ -Fragment von Anti-Toxoplasma-Antikörpern als Konjugat (31, 23). Da RF nur an das Fc-Fragment der Antikörper binden können, werden unspezifische Reaktionen auf diese Weise vermieden. Die dritte Möglichkeit besteht aus einem IgM-ELISA mit an die Festphase gebundenem Anti-IgM und einem Konjugat bestehend aus direkt mit Enzym markiertem Antigen (31).

Abschließend sollen aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit noch einige Gesichtspunkte herausgestellt werden:

Die Einführung eines Schwangeren-Screenings auf Toxoplasma-Antikörper sollte auf jeden Fall angestrebt werden. Bei der Auswahl der Basistests sind die unterschiedliche Qualität der Tests und sicherlich auch die Kosten der verschiedenen Tests zu berücksichtigen. Der zu verwendende IgM-Test sollte sensitiv und spezifisch sein, also auch keine RF-Interferenz aufweisen. In diesem Bereich gibt es für viele Hersteller noch Möglichkeiten zur Verbesserung ihrer Tests, wie die genannten Methoden zur Umgehung der Interferenz zeigen.

Zusammenfassung Bei 506 Schwangeren aus dem Raum Göttingen wurde eine altersabhängige Toxoplasma-Antikörper-Prävalenz von durchschnittlich 37,2% mit dem IIFT ($\geq 1 : 16$) ermittelt. Mit anderen Basistests (DA und zwei kommerzielle IgG-ELISAs (Abbott und Organon) wurden um 1 - 3% höhere Prävalenzraten gefunden. Der IIFT zeigte die höchste Spezifität, jedoch die geringste Sensitivität. Hinweise auf akute Infektionen ergaben sich in zwei kommerziellen IgM-ELISAs (Abbott und Organon) bei 2,8% bzw. 1,6% der Frauen.

Die IgM-ELISAs zeigten bei 33 Seren von Patienten mit akuter Toxoplasmose eine hohe Sensitivität. Die Sensitivität des IgM-IIFT war geringer; falsch-negative Ergebnisse durch Konkurrenz von spezifischem IgM und IgG um die Bindungsstellen waren durch Vorbehandlung der Seren mit RF-Absorbens (Anti-Human-IgG) zu beseitigen.

Bei 35 Seren, die Rheumafaktoren und/oder antinukleäre Antikörper enthielten, kam es in Anwesenheit von Toxoplasma-IgG-Antikörpern zu falsch-positiven Reaktionen im IgM-IIFT, welche durch RF-Absorbens-Vorbehandlung vermieden werden konnten.

Im Widerspruch zu den Publikationen anderer Autoren und zu den Angaben der ELISA-Hersteller traten unabhängig vom Vorhandensein von Toxoplasma-IgG-Antikörpern in beiden μ -Capture-IgM-ELISAs in bis zu 74% der Seren falsch positive Reaktionen auf. Eine Erklärung für dieses Phänomen ist die Interaktion von IgM-Rheumafaktoren mit dem zugegebenen Antigen und dem gleichzeitig zugegebenen Konjugat aus Enzym-markierten Toxoplasma-Antikörpern.

Schlüsselwörter *Toxoplasma gondii*, Antikörperprävalenz in Göttingen, Immundiagnostik, Rheumafaktorinterferenz.

Summary *Immundiagnosis of Toxoplasmosis:
A comparative study of eight commercial assays*

In 506 sera of pregnant women from Göttingen/Germany a toxoplasma antibody prevalence rate of 37.2% was found by the indirect fluorescent antibody test ($\geq 1 : 16$). Using a direct agglutination test and two IgG-ELISAs (Abbott, Organon) the prevalence rates found were 1 - 3% higher. The IIFT proved to be the most specific but least sensitive test to determine the immune status. Toxoplasma IgM antibodies were found in 2.8% and 1.6% resp. of the women by two IgM-ELISAs (Abbott, Organon).

In 33 sera of patients with acute toxoplasmosis the IgM-ELISAs showed a high sensitivity. The IgM-IIFT proved to be less sensitive; false negative results due to a competition between specific IgG- and IgM-antibodies for the binding sites could be removed by pretreatment of the sera with RF absorbent reagent (anti-human IgG).

In 35 sera containing rheumatoid factors and/or antinuclear antibodies false-positive reactions occurred in the IgM-IIFT in the presence of specific IgG toxoplasma antibodies, which could be avoided by pretreatment with RF-absorbent reagent.

In contrast to the findings of other publications and to the statements of the ELISA manufacturers in this study false positive reactions occurred irrespective of the presence of toxoplasma IgG antibodies in both μ -capture-IgM-ELISAs in up to 74% of the 35 sera. This phenomenon can be explained by the interaction of rheumatoid factors with the added antigen and the simultaneously added conjugate consisting of enzyme-labelled toxoplasma antibodies.

Key words *Toxoplasma gondii*, antibody prevalence rate in Göttingen/Germany, immundiagnosis, interference of rheumatoid factors.

Literatur

1. AMBROISE-THOMAS, P., FRANCESIO, J., SIMON, J., MICOUIN, C. L., PIERSON, Y. (1980):
Les facteurs rhumatoïdes. Cause de non-spécificité de l'immunofluorescence anti-IgM dans la toxoplasmose.
Ann. Biol. Clin. 38, 315-319.
2. ASPÖCK, H., FLAMM, H., PICHER, O. (1986):
Die Toxoplasmose-Überwachung während der Schwangerschaft – 10 Jahre Erfahrungen in Österreich.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 8, 105-113.
3. BORNAND, J. E., FIGUET, J. D. (1991):
Infestation toxoplasmique: prévalence, risque d'infection congénitale et évolution à Genève de 1973 à 1987.
Schweiz. Med. Wochenschr. 121, 21-29.
4. CAMARGO, M. E., LESER, P. G., LESER, W. S. P. (1976):
Diagnostic information from serological tests in human toxoplasmosis. I. A comparative study of
hemagglutination, complement fixation, IgG- and IgM-immunofluorescence tests in 3.752 serum samples.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 18, 215-226.
5. CUBITT, W. D., ADES, A. E., PECKHAM, C. S. (1992):
Evaluation of five commercial assays for screening antenatal sera for antibodies to *Toxoplasma gondii*.
J. Clin. Pathol. 45, 435-438.
6. DESMONTS, G., THULLIEZ, Ph. (1985):
The toxoplasma agglutination antigen as a tool for routine screening and diagnosis of toxoplasma infection
in the mother and infant.
Dev. Biol. Stand 62, 31-35.
7. DESMONTS, G., COUVREUR, J.:
L'Expression clinique de l'infection chez le nouveau-né: 3. Toxoplasmose congénitale. 21 Congrès Pédiatres
de Langue Française.
Rapports, Bd. 3, 1967, 452-488.
8. ENDERS, G. (1992):
Toxoplasmose und wichtige Virusinfektionen in der Schwangerschaft – Diagnostik und Maßnahmen.
Immun. Infekt. 20, 181-188.
9. FILICE, G., CARNEVALE, G., MERONI, V., CALIGARIS, S., OTTOBONI, P., MILANO, F., CAROSI, G. (1986):
IgM-IFA, IgM-ELISA, DS-IgM-ELISA, IgM-ISAGA, performed on whole serum and IgM-fractions, for detection of
IgM antitoxoplasma antibodies during pregnancy.
Boll. Ist. Sieroter Milan 65, 131-137.
10. FORSGREN, M., GILLE, E., LJUNGSTRÖM, I., NOKES, D. J. (1991):
Toxoplasma gondii antibodies in pregnant women in Stockholm in 1969, 1979 and 1987.
Lancet 337, 1413-1414.
11. FRENKEL, J. K. (1973):
Toxoplasma in and around us.
Bio. Sci. 23, 343-352.
12. FUCCILLO, D. A., MADDEN, D. L., TZAN, N., SEVER, J. L. (1987):
Difficulties associated with serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections.
Diagn. Clin. Immunol. 5, 8-13.
13. HLOBIL, H., GÜLTIG, K. (1990):
Connatal infections caused by *Toxoplasma gondii* in Baden-Württemberg. Abstracts of papers presented at the
14th Meeting of the Deutsche Gesellschaft für Parasitologie e. V., Marburg/Lahn, vom 4. - 6. 4. 1990.
Zentralbl. Bakteriol. Abstracts, 317, 52.
14. JACKSON, M. H., HUTCHISON, W. M. (1987):
A seroepidemiological survey of toxoplasmosis in Scotland and England.
Ann. Trop. Med. Parasitol. 81, 359-365.
15. JANITSCHKE, K., BUSCH, W. (1988):
Eignung von Enzymimmunoassays für den Nachweis von IgG- und IgM-Toxoplasma-Antikörpern in der
Mutterschaftsvorsorge.
Ärztl. Lab. 34, 357-359.
16. JANITSCHKE, K., BUSCH, W., KELLERSHOFEN, C. (1988):
Untersuchungen zur Anwendbarkeit der direkten Agglutination zur Toxoplasmoseüberwachung im Rahmen
der Mutterschaftsvorsorge.
Immun. Infekt. 16, 189-191.
17. JANITSCHKE, K., SENK, U., REINHOLD, A., LICHY, S. (1986):
Marktübersicht und Bewertung kommerzieller Reagenzien zum Nachweis von Antikörpern gegen Parasiten.
II. Enzymimmunoassays für *Toxoplasma*-Antikörper.
Lab. Med. 10, 48-51.

18. JOYNSON, D. H. M., PAYNE, R. A., BALFOUR, A. H., PRESTAGE, E. S., FLECK, D. G., CHESSUM, B. S. (1989):
Five commercial enzyme linked immunosorbent assay kits for toxoplasma specific IgM antibody.
J. Clin. Pathol. 42, 653-657.
19. KRÄUGIG, H.:
Präventive Behandlung der konnatalen Toxoplasmose.
In: *Toxoplasmose: Praktische Fragen und Ergebnisse*, hrsg. v. Kirchhoff, H. und Kräubig, H.
Thieme-Verlag, Stuttgart 1966, 104-122.
20. NAOT, Y., REMINGTON, J. S. (1980):
An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*:
Use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis.
J. Infect. Dis. 142, 757-766.
21. NAOT, Y., BARNETT, E. V., REMINGTON, J. S. (1981):
Method for avoiding false-positive results occurring in immunoglobulin M enzyme-linked immuno-sorbent
assays due to presence of both rheumatoid factor and antinuclear antibodies.
J. Clin. Microbiol. 14, 73-78.
22. OEHME, A., SONAK, R. (1988):
Toxoplasma-IgM-Antikörper-Untersuchungen bei Neugeborenen mit einem ELISA-Test –
verlässliche Resultate?
Lab. Med. 12, 105.
23. PAYNE, R. A., ISAAC, M., FRANCIS, J. (1982):
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using antibody class capture for detection of antitoxoplasma IgM.
J. Clin. Pathol. 35, 892-896.
24. PETERSEN, E. K. (1984):
Investigation of two commercially available kits for determination of IgG and IgM to *Toxoplasma gondii* by
enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. C 92, 325-329.
25. PYNDIAH, N., KRECH, U., PRICE, P., WILHELM, J. (1979):
Simplified chromatographic separation of immunoglobulin M from G and its application to toxoplasma indirect
immunofluorescence.
J. Clin. Microbiol. 9, 170-174.
26. REMINGTON, J. S., DESMONTS, G.:
Toxoplasmosis.
In: *Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 3rd ed.*, eds. v. Remington, J. S. u. Klein, J. O.
WB Saunders, Philadelphia 1990, 89-195.
27. SANDER, J., NIEHAUS, Ch. (1983):
Häufigkeit der Toxoplasmose-Erstinfektion bei Schwangeren.
Dtsch. Med. Wochenschr. 108, 455-457.
28. TORRENTS, J., PEREZ VERDU, J., RODRIGUEZ, L.: Trial conclusions with highlights on the use of Toxonostika
ELISA in daily routine.
In: *State of the art in Toxoplasmosis diagnostic testing and the value of the Toxonostika Microelisa tests for
anti-toxoplasma IgM and IgG*. Hrsg. v. Merlin, N. J.
Medical. Media International, Brüssel 1984, m41-45.
29. VAN DRUTEN, H., VAN KNAPEN, F., REINTJES, A. (1990):
Epidemiologic implications of limited-duration seropositivity after toxoplasma infection.
Am. J. Epidemiol. 132, 169-180.
30. VAN KNAPEN, F.:
Immunodiagnosis of toxoplasmosis.
Med. Diss., Amsterdam 1984.
31. VAN LOON, A. M., VAN DER LOGT, J. T. M., HEESSEN, F. W. A., VAN DER VEEN, J. (1983):
Enzyme-linked immunosorbent assay that uses labelled antigen for detection of immunoglobulin M and A
antibodies in toxoplasmosis: Comparison with indirect immunofluorescence and double-sandwich
enzyme-linked immunosorbent assay.
J. Clin. Microbiol. 17, 997-1004.
32. WIELAARD, F.:
Two ELISAs for IgG and IgM antibodies in toxoplasma serology – Some aspects of test development.
In: *State of the art in Toxoplasmosis diagnostic testing and the value of the Toxonostika Microelisa tests for
anti-toxoplasma IgM and IgG*. Hrsg. v. Merlin, N. J.
Medical. Media International, Brüssel 1984, 9-14.

Korrespondenzadresse: Dr. med. Eva-Maria Christophel, D. T. M. & H.,
Institut für Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene der Universität Göttingen
Windausweg 2
D-37073 Göttingen · 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: 1993

Band/Volume: [15](#)

Autor(en)/Author(s): Schlagmann Maria, Christophel Eva-Maria

Artikel/Article: [Vergleichende Untersuchungen zur Immundiagnostik der Toxoplasmose im Raum Göttingen unter Anwendung verschiedener kommerziell erhältlicher Testverfahren. 103-112](#)