©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Mitt. Österr. Ges.
Tropenmed. Parasitol. 18 (1996)
115 – 120

Abteilung für Medizinische Parasitologie (Leiter: Univ. Prof. Dr. H. Aspöck),
Klinisches Institut für Hygiene (Vorstand: Univ. Prof. Dr. M. Rotter) der Universität Wien

# *Toxoplasmose-Screening in Österreich – Problemfälle der Serodiagnostik*

**O. Picher, H. Auer, H. Aspöck**

## Einleitung

Österreich hat im Jahre 1975 – als erstes Land der Welt – eine obligatorische Toxoplasmose-Überwachung während der Schwangerschaft eingeführt. Sie basiert auf dem Faktum, daß eine diaplazentare Übertragung nur bei einer erstmals während der Gravidität erfolgten Infektion mit *Toxoplasma gondii* möglich ist, daß eine solche Infektion serodiagnostisch aufgedeckt und daß durch unverzügliche Behandlung eine diaplazentare Infektion oder Schädigung des schon infizierten Foetus mit hoher Wahrscheinlichkeit verhindert werden kann. Im Gefolge dieser seit 1975 durchgeführten Toxoplasmose-Überwachung sank während der letzten 20 Jahre die Inzidenz der pränatalen Toxoplasmose von ursprünglich 50 - 70 auf weniger als eine pro 10.000 Geburten zur Folge (1, 2, 3, 6, 10, 15).

Seit Einführung des serologischen Toxoplasmose-Screenings der Schwangeren vor nunmehr 20 Jahren werden in Österreich als Basistests der Indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) oder alternativ der Sabin-Feldman-Test (SFT) eingesetzt (5, 9, 14). Eine Serokonversion von negativ zu positiv, ein bei der Erstuntersuchung im Basistest erhobener hoher Antikörperspiegel oder auch eine deutliche Titersteigerung um zwei Stufen (oder mehr) sowie der Nachweis spezifischer IgM-Antikörper mittels IIFT oder ISAGA oder eines (quantifizierbaren) ELISA galten in der Vergangenheit und gelten auch derzeit als Indikatoren einer frischen Infektion. In der Mehrzahl der Fälle ist mit diesen Tests auch eine klare Aussage zu treffen. Zur Abklärung „sogenannter" fraglicher Fälle und zur weiteren Bestätigung des Verdachts auf eine frische Infektion verwenden wir seit längerer Zeit in unserem Routinelabor fallweise auch Tests zum Nachweis spezifischer Antikörper der Klasse A mittels ELISA und/oder ISAGA (13).

Im folgenden werden nun beispielhaft drei Fälle vorgestellt, die vor allem aufgrund der Ergebnisse der durchgeführten Zusatztests zu Problemfällen wurden.

## Material und Methodik

### Untersuchte Seren

Insgesamt wurden 17 konsekutive Seren von drei schwangeren Frauen auf spezifische Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*-Antigen getestet. Die Erstuntersuchung erfolgte in der 9. (Schwangere 1 + 3) bzw. 10. Schwangerschaftswoche/SSW (Schwangere 2). Von den Schwangeren 1 + 2 standen je sechs, von der Schwangeren 3 insgesamt fünf Serumproben zur Verfügung. Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich von der 9. - 28. SSW (Schwangere 1), 10. - 25. SSW (Schwangere 2) bzw. von der 9. - 34. SSW (Schwangere 3).

### Eingesetzte Tests

Alle 17 zur Verfügung stehenden Seren wurden mittels folgender serologischer Testmethoden auf spezifische Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*-Antigen getestet:

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 1:

Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Schwangeren 1.

| Tests | Zeitpunkt der Blutabnahme | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 9. SSW | 12. SSW | 14. SSW | 17. SSW | 21. SSW | 28. SSW |
| **IIFT** (Titer) | 1:256 | 1:64 | 1:64 | 1:64 | 1:64 | 1:16 |
| **SFT** (Titer) | 1:100 | 1:100 | 1:100 | 1:200 | 1:100 | 1:100 |
| **IIFT-IgM** (Titer) | <1:12 | <1:12 | <1:12 | <1:12 | <1:12 | <1:12 |
| **ISAGA-IgM** (ISAGA-Einheit) | 7 | 11 | 12 | 11 | 11 | 11 |
| **ISAGA-IgA** (ISAGA-Einheit) | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| **ELISA-IgG** (IE) | 100 | 150 | 120 | 150 | 100 | 150 |
| **ELISA-IgA** (MANI) | 45 | 45 | 69 | 65 | >100 | 30 |

SSW = Schwangerschaftswoche

Basistests

Indirekter Immunfluoreszenztest (IIFT)

Als Antigen wurden auf Hep2-Zellen kultivierte und auf Glasobjektträgern fixierte Trophozoiten von *Toxoplasma gondii* (RH-Stamm) verwendet. Die Schwangerenseren wurden mit PBS verdünnt und in 4er Verdünnungsstufen (1:16, 64, 256, 1024, 4096) auf die Objektträger aufgebracht. Nach einstündiger Inkubation bei Zimmertemperatur und einem Waschvorgang (PBS) wurde FITC-markiertes Antihuman IgM + IgA + IgG (Fluoline „H", BioMérieux/Österreich) auf die Reaktionsstellen der Objektträger aufgebracht. Nach einer weiteren einstündigen Inkubationszeit (bei Zimmertemperatur) und einer zweiten Waschprozedur wurden die Objektträger mit Phosphat-gepuffertem Glyzerin betropft und mit einem Deckglas versehen. Die Ablesung erfolgte in einem Fluoreszenzmikroskop der Firma Reichert. Die Testergebnisse wurden in Titerstufen angegeben.

Sabin-Feldman-Test (SFT)

Der Test wurde nach den Angaben der Autoren A. B. SABIN und H. A. FELDMAN (14) im Mikrosystem und modifiziert nach M. LEONG und G. DESMONTS (9) durchgeführt, die Beurteilung des Titerendpunktes erfolgte mittels eines Phasenkontrastmikroskops.

Zusatztests

Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (IIFT-IgM)

Die Testdurchführung war ähnlich jener des IIFT; die Seren wurden nach einer Vorbehandlung mit einem Absorbens zum Entfernen von Rheumafaktoren (Behring/Österreich) in 2er Verdünnungsstufen (1:12, 24, 48, 96) auf die Glasobjektträger aufgebracht. Die Markierung der Antikörper erfolgte mit einem FITC-konjugierten Antihuman-IgM (Fluoline „M", BioMérieux/Österreich). Die Ergebnisse wurden in Titerstufen angegeben.

Immunosorbent-Agglutinations-Assay (ISAGA) zum Nachweis von IgM- und IgA-Antikörpern (ISAGA-plus)

Die Testdurchführung und Auswertung erfolgte nach den Richtlinien des Herstellers (BioMérieux/Österreich). Die Ergebnisse wurden in ISAGA-Einheiten (1 - 2; Grenzwert: ISAGA-Einheit 7) angegeben.

Enzymimmuntest zum Nachweis spezifischer IgG-Antikörper (ELISA-IgG)

Es wurde ein Testkit (VIDAS G) der Firma BioMérieux/Österreich verwendet. Die Testdurchführung und Auswertung erfolgte nach den Richtlinien des Herstellers. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte in Internationalen Einheiten (IE) bei einem Cut-off von 10 IE.

Enzymimmuntest zum Nachweis spezifischer IgA-Antikörper (ELISA-IgA)

Es wurde ein Testkit der Firma SFRI-Laboratoire/Frankreich verwendet. Die Testdurchführung erfolgte nach den Richtlinien des Herstellers. Die Auswertung basierte auf dem Vergleich der Extinktionen des Testserums und eines Negativpools: Die Testergebnisse wurden in MANI (Mehrfache Aktivität Nicht-Infizierter) angegeben, die Grenze zwischen negativ und positiv liegt bei 10 MANI.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 2:

Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Schwangeren 2.

| Tests | Zeitpunkt der Blutabnahme | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10. SSW | 13. SSW | 16. SSW | 18. SSW | 22. SSW | 25. SSW |
| **IIFT** (Titer) | 1:256 | 1:64 | 1:64 | 1: 256 | 1: 64 | 1: 64 |
| **SFT** (Titer) | 1:500 | 1:2000 | 1:2000 | 1:1000 | 1:1000 | 1:1000 |
| **IIFT-IgM** (Titer) | 1:12 | 1:24 | 1:12 | 1:12 | 1:12 | 1:12 |
| **ISAGA-IgM** (ISAGA-Einheit) | 12 | 12 | 10 | 12 | 12 | 12 |
| **ISAGA-IgA** (ISAGA-Einheit) | 12 | 11 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| **ELISA-IgG** (IE) | 200 | 150 | 200 | 155 | 110 | 200 |
| **ELISA-IgA** (MANI) | 15 | 30 | 15 | 15 | 15 | 10 |

SSW = Schwangerschaftswoche

Tabelle 3:

Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Schwangeren 3.

| Tests | Zeitpunkt der Blutabnahme | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 9. SSW | 16. SSW | 22. SSW | 28. SSW | 34. SSW |
| **IIFT** (Titer) | 1:1000 | 1: 256 | 1: 256 | 1: 256 | 1: 256 |
| **SFT** (Titer) | 1:8000 | 1:8000 | 1:4000 | 1:8000 | 1:4000 |
| **IIFT-IgM** (Titer) | <1:12 | <1:12 | <1:12 | <1:12 | <1:12 |
| **ISAGA-IgM** (ISAGA-Einheit) | 6 | 10 | 6 | 4 | 6 |
| **ISAGA-IgA** (ISAGA-Einheit) | 10 | 12 | 10 | 9 | 9 |
| **ELISA-IgG** (IE) | 300 | 250 | 300 | 300 | 250 |
| **ELISA-IgA** (MANI) | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |

SSW = Schwangerschaftswoche

## Ergebnisse

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der drei schwangeren Frauen sind in den Tabellen 1-3 zusammengefaßt. Die Ergebnisse der Basistests (IIFT, SFT) zeigten bei den Schwangeren 1 und 2 sowohl bei der Erst- als auch bei den Folgeuntersuchung niedrige bis mittlere Titer (IIFT: 1:16 - 1:256; SFT: 1:100 - 1:2000). Bei der Schwangeren 3 wurde bei der Erstuntersuchung ein Titer von 1:1000 (IIFT) bzw. 1:8000 (SFT) erhoben. Im IIFT-IgM waren 16 der 17 getesteten Seren negativ (Titer <1:12), ein Serum zeigte einen positiven Wert (1:24). Der ISAGA-IgM war bei den Schwangeren 1 und 2 deutlich positiv (ISAGA-Einheiten 9 - 12), bei der Schwangeren 3 war nur die 2. Serumprobe deutlich positiv (ISAGA-Einheit 10). Die Zusatztests ISAGA-IgA und ELISA-IgA erbrachten bei allen drei Schwangeren deutlich positive Ergebnisse.

## Diskussion

Alle drei aus dem Patientengut des Instituts ausgewählten Fälle stellen Problemfälle dar, weil bei keiner der hier vorgestellten Schwangeren primär ein Hinweis für eine Frischinfektion (Serokonversion, Titersteigerung um 2 Titerstufen oder mehr, hoher Antikörperspiegel im Basistest, deutlicher IgM-Nachweis) gegeben war. Die bei der Durchführung von Zusatztests erhobenen Befunde ließen jedoch ein rezentes Infektionsgeschehen nicht ausschließen: In den Fällen 1 u. 2 zeigten beide Basistests (IIFT und SFT) niedrige bis mittlere Titer von 1:256 bzw. 1:500 (Fall 1) oder 1:1000 (Fall 3), der IIFT-IgM war bei der Schwangeren 1 negativ, bei der Schwangeren 2 grenzwertig positiv (1:12). Im Fall 3 wurde (bei der Erstuntersuchung) sowohl im IIFT mit 1:1000 als auch im SFT mit 1:8000 ein hoher Antikörperspiegel gemessen, der IIFT-IgM war jedoch negativ. In allen drei Fällen konnten die bei der Erstuntersuchung erhobenen Befunde auch bei den durchgeführten Folgeuntersuchungen im wesentlichen bestätigt werden; Schwangere 1: 1:64 im IIFT und 1:100 im SFT, Schwangere 2: 1:64/256 im IIFT und 1:1000/2000 im SFT, Schwangere 3: 1:256 im IIFT und 1:4000/8000 im SFT. Spezifisches IgM war bei den Schwangeren 1 und 3 im IIFT-IgM nie nachweisbar, bei der Schwangeren 2 zeigten sich nur grenzwertig positive Titer von 1:12 (ein einziges Mal 1:24). Aufgrund der Ergebnisse der Basistests (IIFT und SFT) und des routinemäßig eingesetzten IIFT-IgM konnte daher in allen drei Fällen eine „alte" (latente) *Toxoplasma*-Infektion abgeleitet werden.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Die Ergebnisse der Zusatztests, insbesondere jener zum Nachweis von IgA-Antikörpern (ISAGA-IgA und ELISA-IgA) ließen jedoch ein rezentes Infektionsgeschehen in allen drei Fällen annehmen, zumindest konnte ein solches nicht ausgeschlossen werden. Immerhin gilt der Nachweis von spezifischem IgA (zusammen mit dem Nachweis von IgM) als wichtiges Indiz für ein rezentes Infektionsgeschehen (7, 11), wenngleich natürlich insbesondere bei Neugeborenen (8, 12) und immunkompromittierten bzw. AIDS-Patienten (8).

Die im ISAGA-IgM vor allem bei den Schwangeren 1 und 2 erhobenen hohen Indices von 11 und 12 bei negativem bzw. grenzwertig positivem IIFT-IgM können hingegen nicht unbedingt als Ausdruck eines rezenten Infektionsgeschehens gesehen werden, sondern sind vielmehr als persistierende IgM-Antikörper zu interpretieren; IgM-Antikörper sind mit genügend sensitiven Tests bekanntlich jahrelang nachweisbar; dies gilt grundsätzlich ebenso für IgA-Antikörper. Die ELISA-IgG-Ergebnisse waren durchwegs deutlich positiv und bestätigen (nur) die mittels der Basistests erhobenen Befunde. Es muß also offen bleiben, ob in diesen drei hier vorgestellten Fällen tatsächlich die Gefahr einer Infektion der Ungeborenen bestanden hat oder nicht. In jedem der drei Fälle wurde jedenfalls ein rezentes Infektionsgeschehen unterstellt und eine spezifische Therapie durchgeführt. Dies entspricht der grundsätzlichen Strategie, in Zweifelsfällen auf jeden Fall zu behandeln, wobei allerdings – in Abhängigkeit von den jeweils vorliegenden Befunden – unterschiedliche Behandlungsschemata (4) eingesetzt werden; bei überzeugender Begründung kann die Therapie abgebrochen werden. Wir folgen diesem Vorgehen seit Einführung des Screenings mit Erfolg. Selbstverständlich sind wir bemüht, die Zahl solcher „Sicherheitstherapien" möglichst niedrig zu halten. Deshalb empfehlen wir im Verdachtsfall auch Amniozentese und PCR mit dem Fruchtwasser. Umso dringlicher erscheint uns die Entwicklung leistungsfähiger „Entscheidungstests", mit denen schon anhand des ersten Serums überzeugend geklärt werden kann, ob die Infektion vor oder während der Schwangerschaft eingetreten ist. Derzeit werden auch von uns nicht geringe Hoffnungen in den Aviditätstest in einer weiterentwickelten Form gesetzt.

**Zusammenfassung** Anhand dreier aus dem Patientengut des Instituts ausgewählter Fälle wird die Problematik bei der Interpretation serologischer Ergebnisse von Basistests (Indirekter Immunfluoreszenztest/IIFT, Sabin-Feldman-Test/SFT) und Zusatztests (IIFT und ISAGA zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper; ELISA und ISAGA zum Nachweis spezifischer IgA-Antikörper) aufgezeigt. In allen drei Fällen konnte trotz (oder gerade wegen?) des Einsatzes mehrerer Tests eine *Toxoplasma*-Primoinfektion weder ausgeschlossen noch sicher bewiesen werden.

**Schlüsselwörter** *Toxoplasma gondii*, Schwangeren-Screening, IIFT, SFT, IIFT-IgM, ISAGA, ELISA.

**Summary**

## *Toxoplasmosis screening of pregnant women in Austria – Puzzling results in serodiagnosis*

Based upon three selected cases of pregnant women it is demonstrable that even despite (or possibly due to) the application of several serological tests, i. e. indirect immunofluorescence test/IIFT, Dye-test (SFT), IIFT and ISAGA for the detection of specific IgM and ELISA and ISAGA for the detection of specific IgA, the interpretation of results of serological tests proved to be difficult. In none of the three cases a primary *Toxoplasma* infection could be excluded or confirmed convincingly.

**Key words** *Toxoplasma gondii*, serological screening of pregnant women, IIFT, SFT, IIFT-IgM, ISAGA, ELISA.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

## Literatur


1. ASPÖCK, H., FLAMM, H. (1990):
15 Jahre Toxoplasmose-Überwachung der Schwangeren in Österreich. Ein beispielgebender Erfolg bei der Verhütung von Infektionen des Ungeborenen.
Österr. Apotheker-Ztg. 44, 447-448.

2. ASPÖCK, H., POLLAK, A. (1992):
Prevention of prenatal toxoplasmosis by serological screening of pregnant women in Austria.
Scand. J. Infect. Dis., Suppl. 84, 32-38.

3. 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.

4. ASPÖCK, H., HUSSLEIN, P., JANISCH, H., MÖSE, J. R., POLLAK, A., VANDER-MÖSE, A., WINTER, R. (1994):
Toxoplasmose. Empfehlungen zur Behandlung der Toxoplasma-Erstinfektion in der Schwangerschaft und der konnatalen Toxoplasmose.
Gynäkol. Geburtshilfl. Rundsch. 34, 50-51.

5. BUNDESGESUNDHEITSBLATT (1977):
Empfehlungen für die Durchführung der Toxoplasmose-Seroreaktionen mittels Mikromethode.
Bundesgesundheitsblatt 20, 108-112.

6. FLAMM, H., ASPÖCK, H., PICHER, O., WERNER, H. (1975):
Die Toxoplasmose-Untersuchung von Schwangeren und Neugeborenen.
Öst. Ärzteztg. 30, 15-17.

7. FRANCIS, J. M., JOYNSON, D. H. M. (1993):
Duration of specific immunoglobulin A antibody following acute toxoplasmosis as determined by enzyme immunoassay and immunosorbent agglutination assay.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12, 556-560.

8. GROß, U., BOHN, W., SCHRÖDER, J., ROOS, T., HEESEMANN, J. (1993):
Comparison of a commercial enzyme immunoassay and an immunoblot technique for detection of immunoglobulin A antibodies to Toxoplasma gondii.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12, 636-39.

9. LEONG, M., DESMONTS, G. (1951):
L'emploi du microscope à contraste de phase dans la réaction de Sabin-Feldman.
Sèances Soc. Biol. Fil. 145, 1660-1661.

10. MÖSE, J. R., VANDER-MÖSE, A., WINTER, R., HÄUSLER, M. (1995):
Toxoplasmosefrischinfektionen in der Steiermark.
Gynäkol. Geburtshilfl. Rundschr. 35, 233-236.

11. OBWALLER, A., HASSL, A., PICHER, O., ASPÖCK, H. (1994):
Vergleich und Bewertung des quantitativen Nachweises spezifischer IgM- und IgA-Antikörper gegen Toxoplasma gondii in Serumproben von Schwangeren.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 16, 127-132.

12. PATEL, B., YOUNG, Y., DUFFY, K., TANNER, R. P., JOHNSON, J., HOLLMAN, R. E. (1993):
Immunoglobulin-A detection and the investigation of clinical toxoplasmosis.
J. Med. Microbiol. 38, 286-292.

13. SAATHOFF, M., SEITZ, H. M. (1983):
Untersuchungen zum Nachweis von Toxoplasma-spezifischen IgM-Antikörpern. Vergleich von ISAGA (Immunosorbent Agglutination-Assay) und Immunofluoreszenz-Ergebnissen.
Z. Geburtsh. Perinat. 189, 63.

14. SABIN, A. B., FELDMAN, H. A. (1948):
Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasma).
Science 108, 660-663.

15. THALHAMMER, O. (1975):
Die Toxoplasmose-Untersuchung von Schwangeren und Neugeborenen.
Wien. klin. Wschr. 87, 676-681.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

**Korrespondenzadresse:** OR Dr. Otto Picher
Abteilung für Medizinische Parasitologie,
Klinisches Institut für Hygiene der Universität Wien

Kinderspitalgasse 15
A-1095 Wien · Austria

# 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: 1996

Band/Volume: 18

Autor(en)/Author(s): Picher O., Auer H., Aspöck Horst

Artikel/Article: Toxoplasmose-Screening in Österreich Â– Problemfälle der Serodiagnostik 115-120