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

Mitt. Österr. Ges.
Tropenmed. Parasitol. 21 (1999)
113 - 118

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin der Universität Rostock (Leiter: Prof. Dr. R. Schmidt)
Abteilung für Tropenmedizin und Infektionskrankheiten (Leiter: Prof. Dr. K. Ziegler)

Malaquick / Parasight F – eine vergleichende Analyse mit Serumproben

T. Ziegler, C. Winkler

Einleitung

Mit jährlich 300 bis 500 Millionen Erkrankungsfällen und etwa 3 Millionen Todesfällen weltweit (1) stellt die Malaria tropica weiterhin die wichtigste Tropenkrankheit dar. Über 25 Millionen Auslandsreisen deutscher Urlauber in Endemiegebiete wurden 1997 registriert. Individuelle „Rucksack-Reisen" und Urlaubsreisen in Hochrisikogebiete lassen die Zahl der in Deutschland behandelten Malariafälle ansteigen, 1996 wurden 1026 Krankheitsfälle gemeldet (3), 17 Patienten starben. Mit der Einführung der Schnelltests für Malaria tropica steht der Reisemedizin ein neues Diagnoseverfahren zur Verfügung. Ohne Mikroskop und mit einfacher Handhabung kann sowohl vom medizinischen Laien vor Ort (stand by) als auch nach Rückkehr der Verdacht auf das Vorliegen einer Malaria tropica erhärtet werden. Untersuchungen mit Kapillarblut haben für beide Tests (Parasight F, Becton Dickinson; Malaquick, Standby Diagnostics GmbH) Sensitivitäten zwischen 84 und 100% sowie Spezifitäten zwischen 60 und 100% ergeben (6). Eine Bestätigung des Testergebnisses durch mikroskopische Untersuchung im Blutausstrich oder Dicken Tropfen sollte immer angestrebt werden. Die im folgenden vorgestellten Untersuchungen wurden an Serumproben durchgeführt und haben zum Ziel, den Einsatz von Blutserum für diese Testverfahren zu bewerten. Die Verwendung dieses Untersuchungsmediums wird nur in seltenen Fällen, zumeist bei forensischen Fragestellungen, zum Tragen kommen. Ob auch in diesen Fällen mit Schnelltests eine sichere Aussage zur Malaria tropica getroffen werden kann, soll im folgenden beantwortet werden.

Material und Methoden

Zur Untersuchung kamen Serumproben von 49 Patienten, die in den Jahren 1984 bis 1997 in der Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock unter dem Verdacht auf eine Plasmodieninfektion vorgestellt wurden. Die Proben stammten von 41 Männern und 8 Frauen im Alter von 5 bis 66 Jahren (x = 30,5). Hiervon boten 24 Patienten (20 Männer, 4 Frauen) eine Infektion mit *P. falciparum,* 10 Patienten eine Infektion mit *P. vivax* (9 Männer, 1 Frau) und 2 Patienten (1 Mann, 1 Frau) eine Infektion mit *P. malariae.* Unter den 49 Patienten waren 10 Männer und 3 Frauen parasitenfrei und wurden als Kontrollgruppe untersucht. (Abb. 1) Die Serumproben wurden aus Vollblut durch Zentrifugation bei 4000 U/min über 10 min gewonnen und waren zwischen 4 Monaten und 14 Jahren bei -20°C gelagert worden.

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

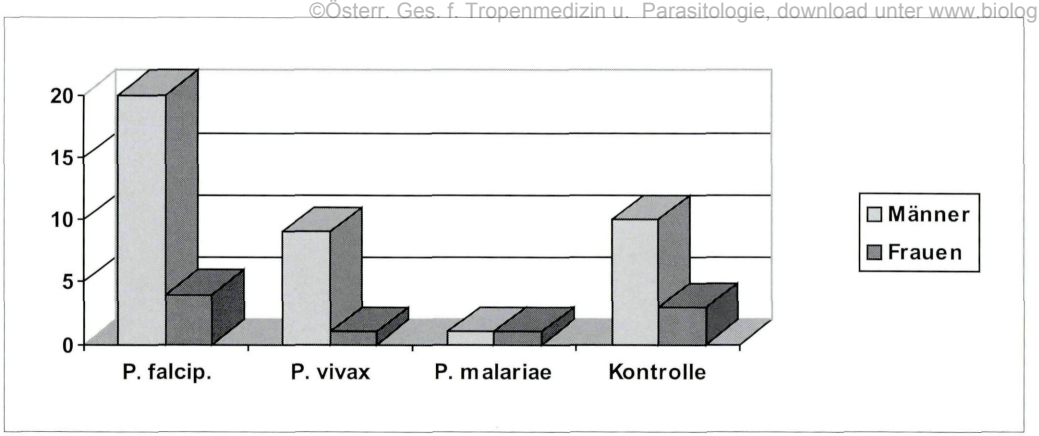

Abbildung 1:

Verteilung der Plasmodienarten bei 49 Patienten (konserviertes Serum).

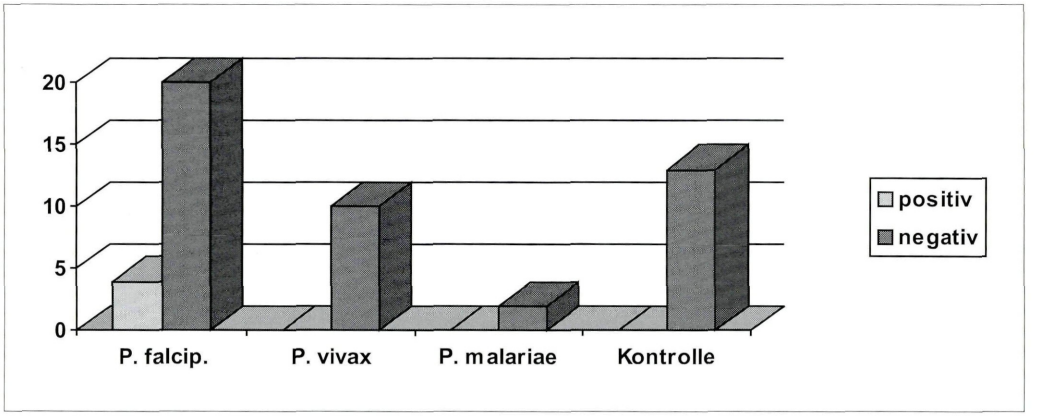

Abbildung 2:

Ergebnisse Malaquick.

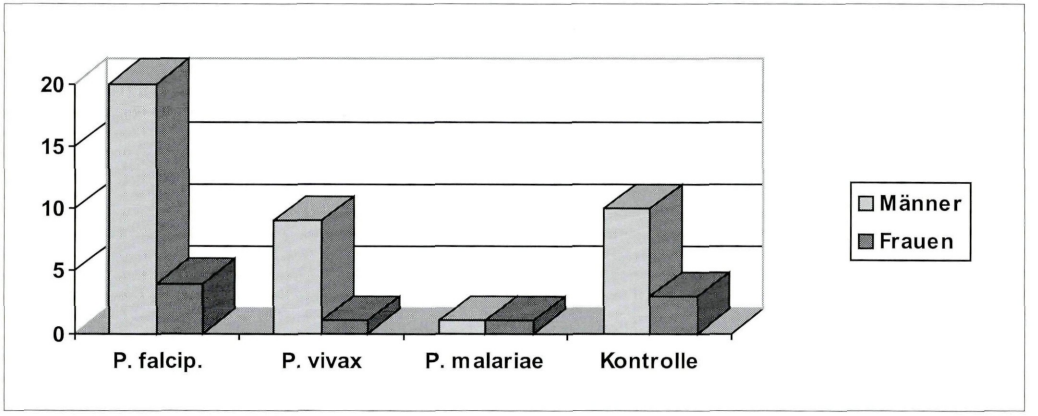

Abbildung 3:

Ergebnisse Parasight F.

Nach langsamem Erwärmen der konservierten Serumproben (1 Std.) auf 20°C erfolgte die Testung mit dem Malaquick™-Kartentest parallel mit dem Parasight-F Test.

In einer zweiten vergleichenden Analyse wurden Serumproben von 10 Patienten (5 Männer, 5 Frauen) mit mikrokopisch nachgewiesener Infektion mit *P. falciparum* untersucht. Diese Proben wurden sofort nach Gewinnung, ohne Konservierung, mit den beiden genannten Schnelltests untersucht.

Die Diagnostik war mikroskopisch im Blutausstrich und „Dickem Tropfen" erfolgt. Die Parasitämie bei mit *P. falciparum* infizierten Patienten lag vor Therapiebeginn zwischen <0,1% und 10%, die verwendeten Proben wurden zwischen dem Tag 1 und Tag 6 der Therapie gewonnen.

Die Ablesung der Testergebnisse wurde nach 8 min und nochmals nach 24 Stunden vorgenommen. Zwischenzeitlich wurden die Testkarten bei Zimmertemperatur gelagert.

Ergebnisse

Von den 49 konservierten Serumproben waren 4 positiv im Test mit Malaquick (Abb. 2) und 19 im Parasight-F Test (Abb. 3). Das nochmalige Ablesen nach 24 Std. erbrachte keine Veränderung der Testergebnisse. Die testeigen vorhandenen Kontrollreaktionen waren in allen Kartentests positiv, so dass alle 49 Untersuchungen als methodisch verwertbar einzustufen sind.

In der Kontrollgruppe sowie bei den Patienten mit *P. vivax* bzw. *P. malariae* waren alle Tests mit Malaquick als negativ zu bewerten (Abb. 2), mit Parasight-F wurde eine falsch positive Reaktion bei einem Patienten mit Infektion durch *P. vivax* registriert (Abb. 3).

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

Tabelle 1:

Übersicht positiver Malaquick-Tests.

Patient mit positivem Malaquick-Test	Parasitämie vor Therapie (Tag 1)	Übereinstimmung Malaquick/ Parasight-F	Gewinnung der Serumprobe am Therapietag
1	7,5%	ja	Tag 1
2	10,0%	ja	Tag 2
3	0,2%	nein	Tag 5
4	1,0%	nein	Tag 1

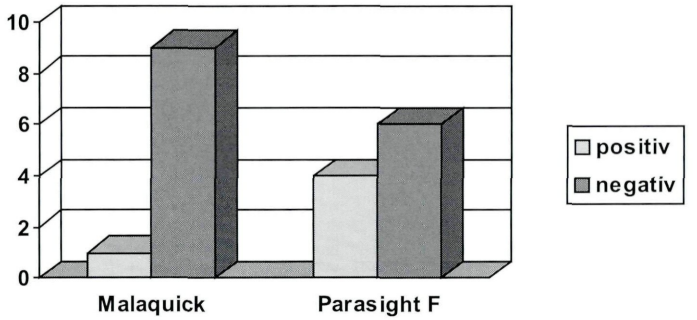

Abbildung 4:

Testergebnisse mit 10 Proben unkonserviertem Serum mit nachgewiesener Infektion mit *P. falciparum*.

Bei den 24 Patienten mit mikroskopisch gesicherter Infektion durch *P. falciparum* waren nur vier Malaquick-Tests (16%) und 18 Parasight-F Tests (75%) positiv. Nur in zwei Fällen ergab sich – unter Berücksichtigung der kleinen Zahl überhaupt positiver Reaktionen mit dem Malaquick-Test – eine Übereinstimmung beider Testverfahren. Tabelle 1 zeigt die Höhe der Parasitämie vor Therapie, die seltene Übereinstimmung beider Tests sowie den Tag der Gewinnung der untersuchten Serumprobe nach Therapiebeginn für alle positiven Malaquick-Tests.

In der Testreihe mit unkonserviertem Serum ergab sich ein vergleichbares Ergebnis.(Abb. 4) In der Testung mit dem Malaquick Test war lediglich 1 positives Ergebnis, mit dem Parasight F Test waren 4 positive Resultate festzustellen.

Diskussion

Seit etwa 20 Jahren versucht man, die Malaria auch ohne mikroskopische Untersuchungen zu diagnostizieren. 1979 wurden serologische Nachweisverfahren eingeführt (7), die auf Basis einer ELISA-Technik Antikörper nachweisen konnten. Für eine Sofortdiagnostik erwies sich diese Methode als ungeeignet, da die Antiköperproduktion erst 2 bis 4 Wochen nach Infektion aussagekräftig wird (2). Somit beschränkt sich die Bedeutung dieser serologischen Diagnostik auf eine nachträgliche Diagnosestellung der Malaria tropica (z. B. bei Begutachtungen), auf einen möglichen Rückfall bei sehr schwacher Parasitämie und auf die Reduzierung der Gefahr einer Transfusionsmalaria durch vorherige Testung der Blutspender.

1991 gelang es, monoklonale Antikörper gegen ein wasserlösliches histidinreiches Protein (HRP-2) zu präparieren, welches von *P. falciparum* exprimiert wird. Das Antigen befindet sich im intraerythrozytären Parasiten und wird durch Lyse des Erythrozyten in das Serum freigesetzt und dort nachweisbar. In beiden Testverahren ist die Lyse der Erythrozyten der erste Schritt. Zunächst in einer ELISA-Technik eingesetzt, erwies sich diese Methode 1993 als spezifisch zum frühen Nachweis einer Infektion mit *P. falciparum*. 1993/94 konnte auf derselben biochemischen Grundlage ein Fluoreszenztest entwickelt werden (1, 5), der wegen der einfachen Durchführbarkeit in Form eines Kartentests für die Schnelldiagnostik unter „Feldbedingungen" geeignet erscheint.

Andere Autoren (4, 7) dokumentierten – in Übereinstimmung mit unseren eigenen Erfahrungen – die hohe Spezifität und Sensitivität des Malaquick- und Parasight-F Tests (96% / 93%; 95% / 89%) mit Kapillarblut. Nach den vorliegenden Ergebnissen mit Blutserum als Substrat für den Nachweis des HRP-2 Proteins betrug die erzielte Sensitivität 16% (Malaquick) bzw. 75% (Parasight-F). Obgleich bei forensischen Untersuchungen ein negatives Ergebnis mit Parasight F bei Serumproben das Vorliegen einer *P. falciparum*-Infektion nicht ausschließt, zeigt eine positive Reaktion mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ($p < 0{,}001$) das Vorliegen einer *P. falciparum*-Infektion an. Der Malaquick-Test ist jedoch auf Grund der niedrigen Sensitivität nicht für diese Aussage bei Verwendung von Blutserum geeignet. Die registrierten positiven Testergebnisse (Tab. 1) in der Gruppe der Patienten mit Infektion durch *P. falciparum* sind nicht mit der Höhe der Parasitämie, dem Tag der Probengewinnung nach Therapiebeginn oder der Dauer der Tiefkühlkonservierung zu korrelieren. Vergleichende Messungen mit unkonserviertem Serum zeigten vergleichbare Ergebnisse, so dass auch die Konservierung per se keinen Einfluß hat. Sämtliche Ergebnisse sind statistisch signifikant ($p<0{,}001$).

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

Beide Tests basieren auf der gleichen biochemischen Methode, dem Immunfluoreszenz-Nachweis von HRP-2. Bei unseren Untersuchungen registrierten wir jedoch große Unterschiede in der Sensitivität des Nachweises in Serumproben.

Die Gewinnung der Serumproben erfolgte durch Zentrifugation bei 4000 U/min. Bei der Asservierung von forensischem Material ist dieses auf Grund der erforderlichen Tiefkühlkonservierung ein gängiges Verfahren. Unter der mechanischen Prozedur muß mit einer erhöhten Lyserate der Erythrozyten, und damit mit einer Erhöhung der Serumkonzentration an HRP-2 gerechnet werden. Für die Bewertung der Tests unter forensischen Gesichtspunkten hat die Frage, ob eine schonendere Zentrifugation eine geringere Positivitätsrate erbringen würde, keine Bedeutung.

Zusammenfassung

In den vorliegenden Untersuchungen wurden tiefgekühlte Serumproben von 49 Patienten mit Malariaverdacht, von denen 24 eine Infektion mit *P. falciparum* hatten , sowohl mit dem Parasight F-als auch mit dem Malaquick-Test untersucht. Die Ergebnisse (Abb. 2 und 3) zeigen , dass Blutserum für die Durchführung dieser Untersuchung mit dem Parasigt F-Test geeignet ist. Mit dem Malaquick-Test wird nur eine ungenügende Sensitivität erreicht. Trotz gleicher biochemischer Methode bestehen zwischen den beiden Testverfahren große Unterschiede bei der Verwendung von Blutserum. Die Tiefkühlkonservierung hat, dieses ergab eine vergleichende Analyse mit frischen Serumproben von 10 Patienten mit nachgewiesener Infektion mit *P. falciparum,* keinen Einfluß auf das Ergebnis des Malaquick und Parasight F Tests.

Schlüsselwörter Malaria-Schnelltest, Serumproben, Malaquik, Parasight-F.

Summary

Malaquik/Parasight-F – a comparative analysis with serum specimens

Deep frozen serum samples from 49 patients with suspected malaria, of whom 24 had a *Plasmodium falciparum* infection, were subjected to both the Parasight-F test and the Malaquick test. The results (fig. 2 and 3) show that blood serum is suitable for the examination with Parasight-F test. Sensitivity of the Malaquick test was poor. Despite using the same biochemical method, when using blood serum there were considerable variances between the two test processes. The deep freezing of the samples had no influence on the test results, shown in a comparative analysis with fresh serum samples from 10 patients with *P. falciparum* infection.

Key words Dipstick test fpr malaria, blood serum, Malaquick, Parasight-F.

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

Literatur

1. BEADLE, C., LONG,G. W., WEISS, W. R., McELROY, P. D., MARET, S. M., OLOO, A. J., HOFFMANN, S. L. (1994): Diagnosis of malaria by detection of plasmodium falciparum HRP-2 antigen with a rapid dipstick antigen–capture assay. Lancet 343, 564-568.
2. DEGROMENT, A. , WEISS, N. (1976): Die serologische Diagnostik der Malaria Schweiz. Med. Rundschau 18, 553-555.
3. Jahresstatistik ausgewählter Infektionskrankheiten 1996 (1997): Epidemiologisches Bulletin, 1997, 43-45.
4. GARCIA, M., KIRIMOAMA S., MARLBOROUGH, D., LEAFASIA, J., RIECKMANN, K. H. (1996): Immunchromatographic test for malaria diagnosis Lancet 347, 1549.
5. SCHIFF, C. J., PREMJI, Z., MINJAS, J. N. (1993): A new diagnostic tool for plasmodium falciparum infection Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 87, 646-648.
6. SHARMA, V. P. (1997): Specifiticy and Sensitivity of ICT Malaria P.f. Diagnostic Kit. ICT-Diagnostics Paper .
7. SPENCER, C., COLLINS, W., CHIN, W. (1979): The Enzyme -linked immunosorbent Assay for Malaria Am. J. Trop. Med. Hyg., 28, 927-932.
8. World malaria situation in 1994 (1997): Wkly. Epidemiol. Rec. 72, 277-183.

Korrespondenzadresse Dr. med. Tom Ziegler
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin der Universität Rostock
Abteilung für Tropenmedizin und Infektionskrankheiten

Postfach 10 08 88
D-18055 Rostock · Deutschland

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

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: 1999

Band/Volume: 21

Autor(en)/Author(s): Ziegler Tom, Winkler C.

Artikel/Article: Malaquick / ParasightF eine vergleichende Analyse mit Serumproben. 113-118