

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 4 (1982) 81—84

Aus der Abteilung für Medizinische Parasitologie (Leiter: Univ. Prof. Dr. H. Aspöck)
des Hygiene-Instituts der Universität Wien (Vorstand: Univ. Prof. Dr. H. Flamm)

ELISA mit unzerstörten Trophozoiten von *Toxoplasma gondii*

Otto Picher, Herbert Auer und Horst Aspöck

Die Serodiagnostik der menschlichen Toxoplasma-Infektionen basiert nach wie vor auf dem Indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT), dem Sabin-Feldman-Test (SFT) und der Komplementbindungsreaktion (KBR). In zunehmendem Maße wird allerdings auch der Enzymimmuntest (ELISA), der neben der Möglichkeit der vollautomatischen Test-Durchführung vor allem die Verwendung sehr verschiedener Antigenpräparationen bietet, zum Nachweis humoraler Antikörper gegen *Toxoplasma gondii* eingesetzt (Auer et al. 1980, Carlier et al. 1980, Picher et al. 1980, van Loon et al. 1980, Voller et al. 1976).

Uns stellte sich nun die Frage, ob bei Verwendung desselben Antigens — unzerstörte Trophozoiten von *Toxoplasma gondii* — im IIFT und ELISA auch vergleichbare Test-ergebnisse erzielt werden können.

Über eine erste orientierende Untersuchungsserie soll im folgenden kurz berichtet werden.

Material und Methodik

Seren: In die Untersuchung wurden 200 Humanseren aus der laufenden Toxoplasmose-Routinediagnostik einbezogen.

Antigen: In der Bauchhöhle weißer Mäuse gezüchtete, durch Filtration und Zentrifugation gereinigte und Formalin-fixierte Trophozoiten von *Toxoplasma gondii* (Stamm BK);

Dichte: 2000 Toxoplasmen/mm³ Antigenverdünnung;

Verdünnungsmedium: PBS (pH: 7,2)

IIFT: In die 10 Vertiefungen maskierter Glasobjektträger wurden je 25µl Antigenverdünnung getropft. Das Antigen wurde im Brutschrank bei 37°C angetrocknet und bei + 4°C gelagert.

ELISA: Die Antigen-Verdünnung (50µl) wurde in die Nöpfchen von Mikrotiterplatten getropft und bei Zimmertemperatur angetrocknet; die Lagerung erfolgte ebenfalls bei Zimmertemperatur.

Konjugat: IIFT: FITC-konjugiertes Antihumangammaglobulin (IgM + IgG + IgA)

(Fa. Behring)

Verdünnung: 1 : 40; Verdünnungsmedium: PBS

ELISA: Peroxidase-konjugiertes Antihumangammaglobulin (IgM + IgG + IgA)
(Fa. Cappel)

Verdünnung: 1 : 600; Verdünnungsmedium (ELISA-Puffer): PBS + 0,05 % Tween 20 + 2 % Rinderalbumin.

Durchführung:

IIFT: Die mit Antigen beschichteten Objektträger wurden mit den auszutestenden Seren — in 5 verschiedenen Verdünnungsstufen (1 : 16, 1 : 64, 1 : 256, 1 : 1000, 1 : 4000) — betropft und 1 Stunde bei Zimmertemperatur (in feuchter Kammer) inkubiert. Nach einem Waschvorgang (3 x 5 min in PBS) wurden die Objektträger mit Konjugat überschichtet und nach einem weiteren Waschvorgang mit gepuffertem Glycerin betropft und einem Deckglas eingeschlossen. Die Titerendpunkt-Bestimmung erfolgte mit einem UV-Auflicht-Mikroskop (Fa. Reichert).

ELISA: Vor dem Einbringen der Serumverdünnungen (1 : 16, 1 : 64 . . . 1 : 64.000) in die Näpfcchen der Mikrotiterplatten wurde ein Waschvorgang (3 x 10 min in ELISA-Puffer) durchgeführt. Nach einstündiger Inkubation (37°C) und einem weiteren Waschvorgang wurden 50 µl Konjugatverdünnung pro Näpfcchen zugegeben und die Mikrotiterplatten 1 Stunde inkubiert. Nach einem 3. Waschvorgang wurde in die Näpfcchen 50 µl Substrat (OPD + 0,05 % Perhydrol) eingebracht. Die Farbreaktion wurde nach 10 min mit 4N H₂SO₄ abgestoppt. Die Extinktionsmessung erfolgte mit einem Mehrkanalphotometer (Filter: 492 nm).

Ergebnisse

Die im IIFT und ELISA erhaltenen Testergebnisse sind in der Abb. 1 vergleichend dargestellt. Wegen der besseren Übersicht wurden die einzelnen Testergebnisse 3 Gruppen zugeordnet: (1) Seren mit negativem Befund; (2) niedrigtitrige Seren mit Titern von 1 : 16 bis 1 : 256 und (3) hochtitrige Seren mit Titern von 1 : 1000 oder höher.

Dabei fallen folgende Befunde auf:

- 87 der 90 im IIFT negativen Seren waren auch im ELISA negativ (Übereinstimmung von 97 %); bei 3 Seren waren die Ergebnisse abweichend: sie reagierten im ELISA bis zu einer Verdünnung von 1 : 16 positiv;
- 82 von 91 im IIFT als niedrigtitrig befundene Seren ergaben auch im ELISA Titer von 1 : 16 bis 1 : 256 (Übereinstimmung von 90 %); bei 9 Seren waren die Ergebnisse abweichend: 5 Seren, die im IIFT Titer von 1 : 16 aufwiesen, waren im ELISA negativ; 1 Serum mit einem IIFT-Titer von 1 : 64 war im ELISA ebenfalls negativ; 3 Seren mit einem IIFT-Titer von 1 : 256 reagierten im ELISA bis zu einer Verdünnung von 1 : 1000 positiv;
- 16 von 19 im IIFT hochtitrigen Seren wiesen auch im ELISA Titer von 1 : 1000 oder höher auf (Übereinstimmung von 84 %); bei 3 Seren waren die Ergebnisse abweichend: sie waren im ELISA nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 256 positiv.

Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung werden 200 Seren aus der Toxoplasmose-Routine-diagnostik im IIFT und im ELISA vergleichend auf Antikörper gegen *Toxoplasma gondii* getestet, wobei in beiden Tests dasselbe Antigen (unzerstörte Trophozoiten von *Toxoplasma gondii*) verwendet wurde. Dabei zeigte sich in den 3 Titerbereichen negativ, 1 : 16 bis 1 : 256 und 1 : 1000 oder höher eine Übereinstimmung von 97 % bzw. 90 % bzw. 84 % der IIFT-Ergebnisse mit den im ELISA erzielten Resultaten. Die meisten Diskrepanzen scheinen für die Beurteilung des Toxoplasmose-Status bedeutungslos; problematisch sind lediglich essentielle Abweichungen (z. B. wie sie bei 1 Serum auftraten: IIFT-Titer 1 : 64; ELISA-Ergebnis negativ). Eine plausible Erklärung haben wir nicht.

Weitere umfangreiche und kritische Vergleichsuntersuchungen sollten, aufbauend auf dieser ersten orientierenden Testserie, durchgeführt werden.

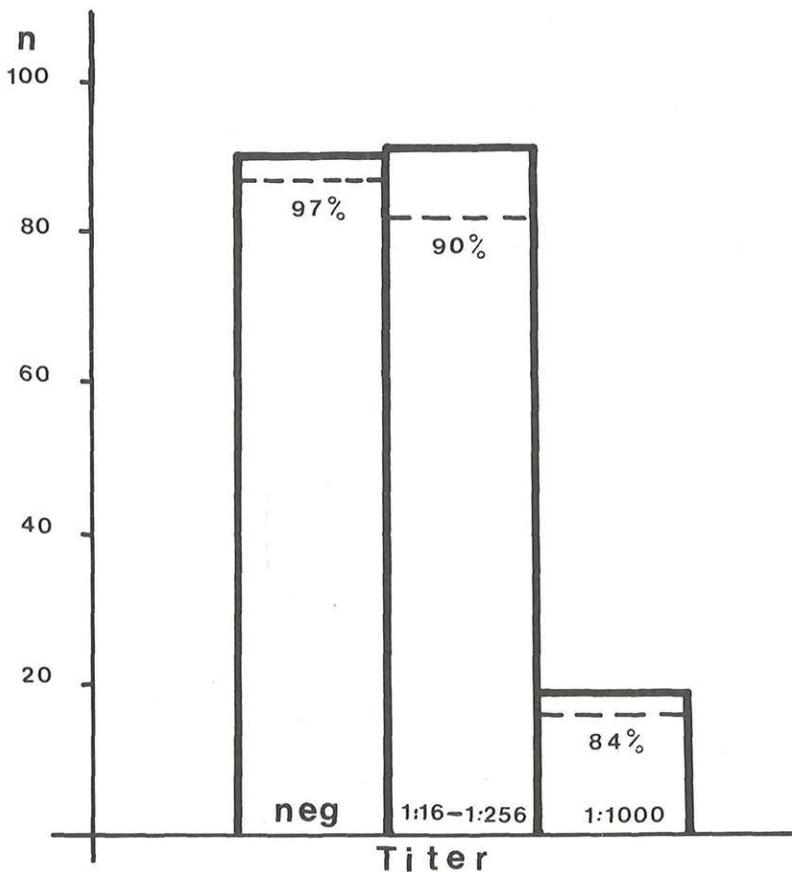
Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Frage gestellt, ob bei Verwendung identischen Antigens (unzerstörte Trophozoiten von *Toxoplasma gondii*) im IIFT und ELISA auch vergleichbare Ergebnisse erzielt werden können. 200 Humanseren wurden auf Antikörper

ABBILDUNG 1:

Vergleich der im IIFT erhaltenen Ergebnisse mit den im ELISA festgestellten Resultaten (bei Verwendung unzerstörter Trophozoiten von *Toxoplasma gondii* als Antigen in beiden Testmethoden).

Blöcke: IIFT-Ergebnisse; %-Angabe: Übereinstimmung mit ELISA-Resultaten.



gegen *Toxoplasma gondii* im IIFT und ELISA untersucht und die Ergebnisse verglichen. In den 3 Titerbereichen negativ, 1 : 16 bis 1 : 256 und 1 : 1000 oder höher konnte eine Übereinstimmung von 97 %, 90 % und 84 % der IIFT-Ergebnisse mit den im ELISA erzielten Resultaten festgestellt werden. Diskrepante Ergebnisse werden diskutiert.

Summary

In a comparative study 200 human sera were tested for antibodies against *Toxoplasma gondii* in the Fluorescent-Antibody-Test (FAT) as well as in the Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) using the same antigen (undestroyed trophozoites of *Toxoplasma gondii*). In 3 titerranges (negative; 1 : 16 — 1 : 256; 1 : 1000 or higher) high correlation between FAT and ELISA, namely 97 %, respectively 90 %, respectively 84 % were obtained. Discrepant testresults obtained are discussed.

Literatur

- AUER, H., O. PICHER und H. ASPÖCK (1980): Der Peroxidase-Test (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii*. Vortr.XII.Tg.Österr.Ges.Tropenmed. 1979, Hoffmann-La Roche, Wien, 46-51.
- CARLIER, Y., D. BOUT, J.P. DESSAINT, A. CAPRÓN, F. VAN KNAPEN, E.J. RUITENBERG, R. BERGQUIST and G. HULDT (1980): Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and other serological tests for the diagnosis of toxoplasmosis. Bull WHO 58, 99-105.
- PICHER, O., H. AUER und H. ASPÖCK (1980): Eine neue Technik des enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) — Der Slide-ELISA. Zbl.Bakt.Hyg., I. Abt. Orig. A 248, 430-435.
- VAN LOON, A. and J. VAN DER VEEN (1980): Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J.Clin.Pathol. 33, 635-639.
- VOLLER, A., D.E. BIDWELL, A. BARTLETT, D.G. FLECK, M. PERKINS and B. OLADHEIN (1976): A microplate enzyme-immunoassay for toxoplasma antibody. J.Clin.Pathol. 29, 150-153.

ANSCHRIFT DER AUTOREN:

Dr. Otto Picher, Dr. Herbert Auer, Univ. Prof. Dr. Horst Aspöck
Abt. f. Medizin, Parasitologie
Hygiene-Institut
Kinderspitalgasse 15, 1095 Wien

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: 1982

Band/Volume: [4](#)

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

Artikel/Article: [ELISA mit unzerstörten Trophozoiten von Toxoplasma gondii 81-84](#)