

## Toxoplasmose-Ringversuche in Österreich: Ergebnisse und Grenzen des serologischen Schwangeren-Screenings

Herbert Auer<sup>1</sup>, Angelika Vander-Möse<sup>2</sup>, Otto Picher<sup>1</sup> und Horst Aspöck<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Abteilung für Medizinische Parasitologie, Klinisches Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie,  
Medizinische Universität Wien, Österreich

<sup>2</sup> Mutter-Kind-Pass-Stelle der Steiermärkischen Gebietskrankenkasse, Graz, Österreich

### Toxoplasmosis round-robin test in Austria: results and limits of the toxoplasmosis screening

**Summary.** In 1983 the "Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinisch-diagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA)" has invited the Department of Medical Parasitology of the Clinical Institute of Hygiene and Medical Microbiology, University of Vienna (today: Medical University of Vienna), to establish an external quality assessment service on the detection of specific antibodies against *Toxoplasma gondii*, one of the most prevalent protozoic parasite in the world. The objective of this project was the support of Austrian laboratories in standardising their test methods for the detection of specific antibodies against *T. gondii*.

Between 1983 and 2004 45 collaborating studies were carried out. During this period the number of participating laboratories has increased from 10 in 1983 to about 50 in recent years. In total, the test results produced by the laboratories matched with the nominal values in more than 90%. On the examples of three human cases we demonstrate that externally validated serological methods alone, despite their great benefit, are not enough for a sufficient serodiagnosis of toxoplasmosis; unusually complicated serological situations do arise and can only be met by the knowledge about special tests, the application of an appropriate examination strategy and – last but not least – by many years of experience.

**Key words:** *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, serodiagnosis, basic tests, IgM tests, IgG-avidity, western blot.

**Zusammenfassung.** Im Jahre 1983 hat die Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinisch-diagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA) die Abteilung für Medizinische Parasitologie des Klinischen Instituts für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität Wien (heute: Medizinische Universität Wien) eingeladen, österreichweit Ringversuche (RV) zum serologischen Nachweis von Antikörpern gegen den weltweit vorkommenden Parasiten, *Toxoplasma gondii*, einzuführen und anzubieten. Ziel dieser

Ringversuche war es vor allem, den mit der Toxoplasmose-Serodiagnostik befassten Laboratorien eine Orientierungshilfe zu bieten.

Im Zeitraum 1983–2004 wurden insgesamt 45 Ringversuche durchgeführt. Die Anzahl teilnehmender Laboratorien hat sich von 10 auf etwa 50 erhöht. Der Grad der Übereinstimmung der von den Laboratorien erhobenen Werte mit den von uns vorgegebenen Sollwerten betrug durchwegs über 90%. Anhand von drei Fällen soll veranschaulicht werden, dass extern überprüfte Tests zwar die Voraussetzung für die suffiziente Toxoplasmose-Serodiagnostik darstellen, dass aber immer wieder „Sonderfälle“ auftreten können, die nur mit Wissen um spezielle Testverfahren, durch eine möglichst optimale Untersuchungsstrategie mit erweiterter Testpalette sowie durch jahrelange Erfahrung gelöst werden können.

**Schlüsselwörter:** *Toxoplasma gondii*, Toxoplasmose, Serodiagnostik, Basistests, IgM-Tests, IgG-Avidität, Westernblot.

### Einleitung

Im Jahre 1969 begann die Österreichische Gesellschaft für Klinische Chemie (ÖGKC) in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Chemie der Universität Wien, Rundversuche zur externen Qualitätssicherung zu organisieren. Elf Jahre später wurde die Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinisch-diagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA) gegründet; sie übernahm in der Folge die Rundversuchstätigkeit [9]. Im Jahre 1982 wurden erstmals auch parasitologische Kontrollversuche (Nachweis von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii*-Antigen, Nachweis von Wurmeiern und Protozoen im Stuhl) in die Rundversuche mit aufgenommen. Am ersten parasitologischen Rundversuch nahmen österreichweit 10 (Nachweis von *Toxoplasma*-Antikörpern) bzw. 35 Laboratorien (Nachweis von Wurmeiern und Protozoen im Stuhl) teil. Bis zum Frühjahr 2005 wurden von der ÖQUASTA insgesamt 45 Rundversuche mit parasitologischer Beteiligung durchgeführt. Unmittelbarer Anlass für die Einführung der Toxoplasmose-Ringversuche war die Einführung des Schwangeren-Scre-

nings im Rahmen der Mutter-Kind-Pass-Untersuchungen im Jahre 1975 [7].

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der Ringversuche zum Nachweis von *Toxoplasma*-Antikörpern (Anzahl der teilnehmenden Laboratorien, Grad der Übereinstimmung mit den Sollwerten) zusammengefasst, zudem soll aber anhand von 3 Fallbeispielen aufgezeigt werden, dass auch die korrekte Durchführung serologischer, durch externe Ringversuche überprüfter Tests allein nicht für die Erstellung aussagekräftiger Befunde ausreicht, sondern dass dafür vor allem Erfahrung und der Einsatz von zusätzlichen, speziellen „Kontroll-Testmethoden“ – wie dies nur in Kompetenz- oder Referenzzentren geschehen kann – notwendig ist.

### Ringversuche

#### Beginn der Ringversuche

Im Jahre 1982 bekundeten 13 österreichische Laboratorien ihr Interesse an *Toxoplasma*-Ringversuchen bei der ÖQUASTA, 10 Labors sandten letztlich ihre Testergebnisse zur Auswertung zurück. Damals wurden von der ÖQUASTA 2 Seren zur Austestung versandt, ein *Toxoplasma*-Antikörper-negatives Serum (Probe 1) und ein deutlich positives Serum (Probe 2). Die teilnehmenden Laboratorien setzten damals ausschließlich indirekte Immunfluoreszenztests (IIFT) zum Nachweis spezifischer Ig-Antikörper (IgM + IgG + IgA) ein. Sieben von zehn Laboratorien befundeten die Serumprobe 1 mit negativ, 3 Laboratorien gaben Titer von 1:16 (positiv), an. Die Serumprobe 2 wurde von allen zehn Laboratorien als positiv (Titerangaben zwischen 1:256 bis 1:1000) beurteilt; daraus errechnet sich eine Übereinstimmung – 17

von 20 getesteten Proben sind korrekt befundet worden – von 85%.

#### Anzahl der teilnehmenden Laboratorien und verwendetes Testspektrum

Heute befinden wir uns im 24. Jahr der ÖQUASTA-Ringversuche mit parasitologischer Beteiligung; die Anzahl der an den Ringversuchen teilnehmenden Laboratorien hat während der letzten 2 Jahrzehnte deutlich zugenommen, derzeit nehmen etwa 50 Laboratorien an den Toxoplasmose-Ringversuchen teil (Abb. 1).

Verändert hat sich während der letzten 23 Jahre nicht nur das Teilnehmerfeld, sondern auch das Spektrum eingesetzter Tests: Wurden anfangs beinahe ausschließlich IIFTs (zum Nachweis des spezifischen Gesamtimmunglobulinspiegels/Ig) eingesetzt, so werden heute großteils Enzymimmuntests (ELISA) zum Nachweis spezifischer IgG- und/oder IgM-Antikörper verwendet (Abb. 2). Die Umstellung der *Toxoplasma*-Testpalette erfolgte vor allem zwischen dem 20. und 40. Ringversuch (1992–2002). Einige Laboratorien dürften allerdings noch mehrere Ringversuche lang (umgerechnete) IIFT-Titer angegeben haben, obwohl sie die IgG-Werte nicht mit dem IIFT, sondern mittels ELISA (Testresultate in „international units“) erhoben hatten. (Dieses Vorgehen ist nur aus der Tatsache zu verstehen, dass bei der Einführung des Toxoplasmose-Screenings im Jahre 1975 als Basistest IIFT oder alternativ SIFT vorgesehen waren.) Diese Vermutung verstärkt sich, wenn man den Verlauf der „Ig-Tester-Kurve“ in Abb. 2 betrachtet: Die Anzahl der „Ig-Tester“ nahm seit Ringversuchsbeginn über die Jahre hin stetig zu, die Kurve „bricht“ jedoch beim Ringversuch 33 deutlich ein und setzt ab dem 36. Ringversuch den ursprünglichen

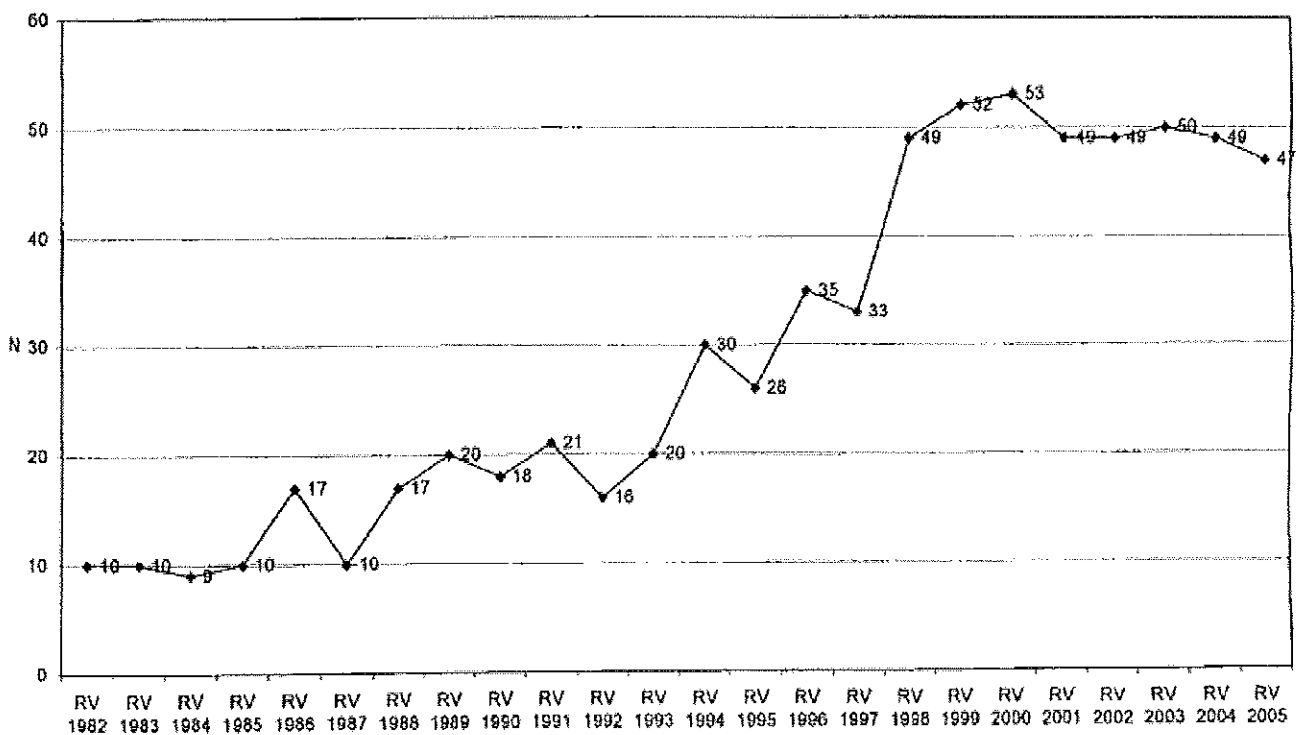


Abb. 1. Anzahl der an den Toxoplasmose-Ringversuchen teilnehmenden Laboratorien in der Zeit zwischen 1983 (Erster Ringversuch) und 2005 (45. Ringversuch)

Auer, Toxoplasmose-Ringversuche in Österreich

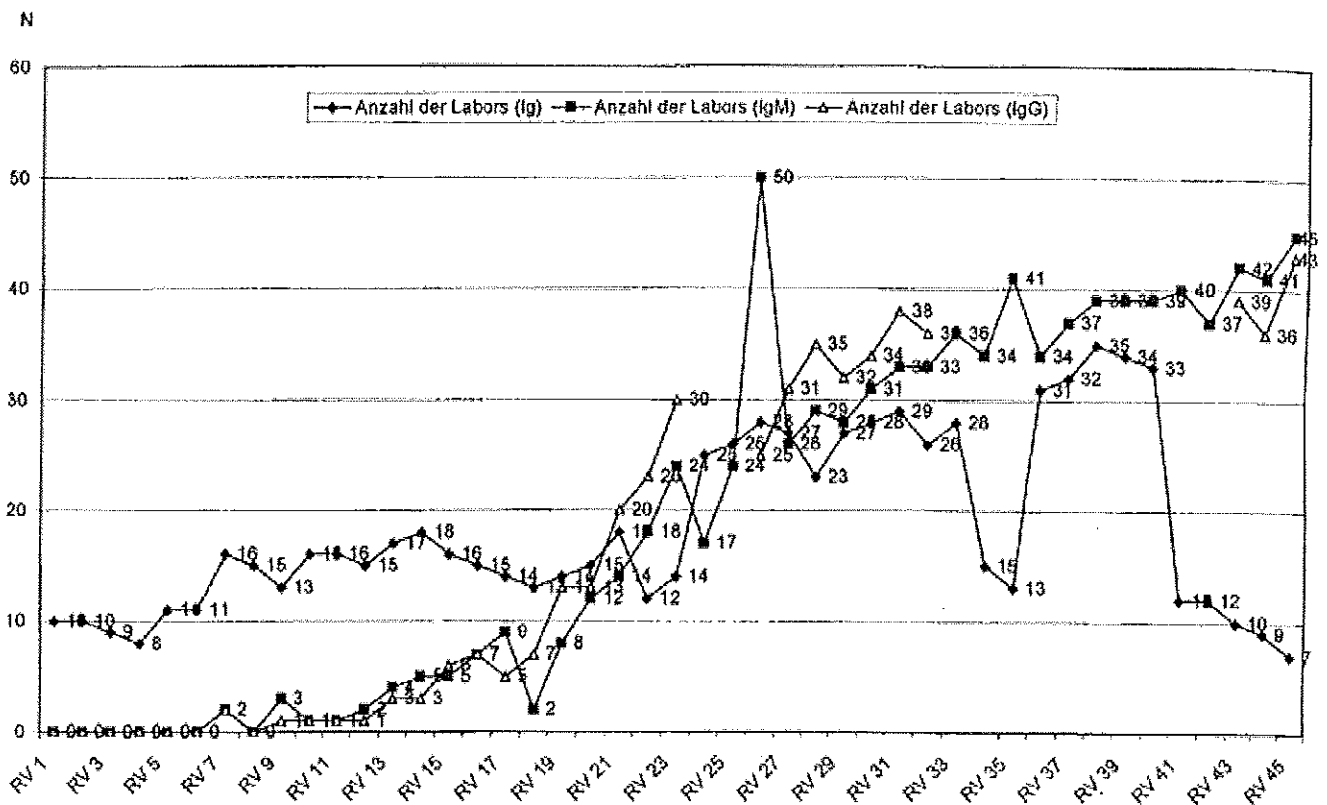


Abb. 2. Anzahl der Ig-, IgM- und IgG-testenden, an den Toxoplasmose-Ringversuchen teilnehmenden Laboratorien in der Zeit zwischen 1983 (Erster Ringversuch) und 2005 (45. Ringversuch)

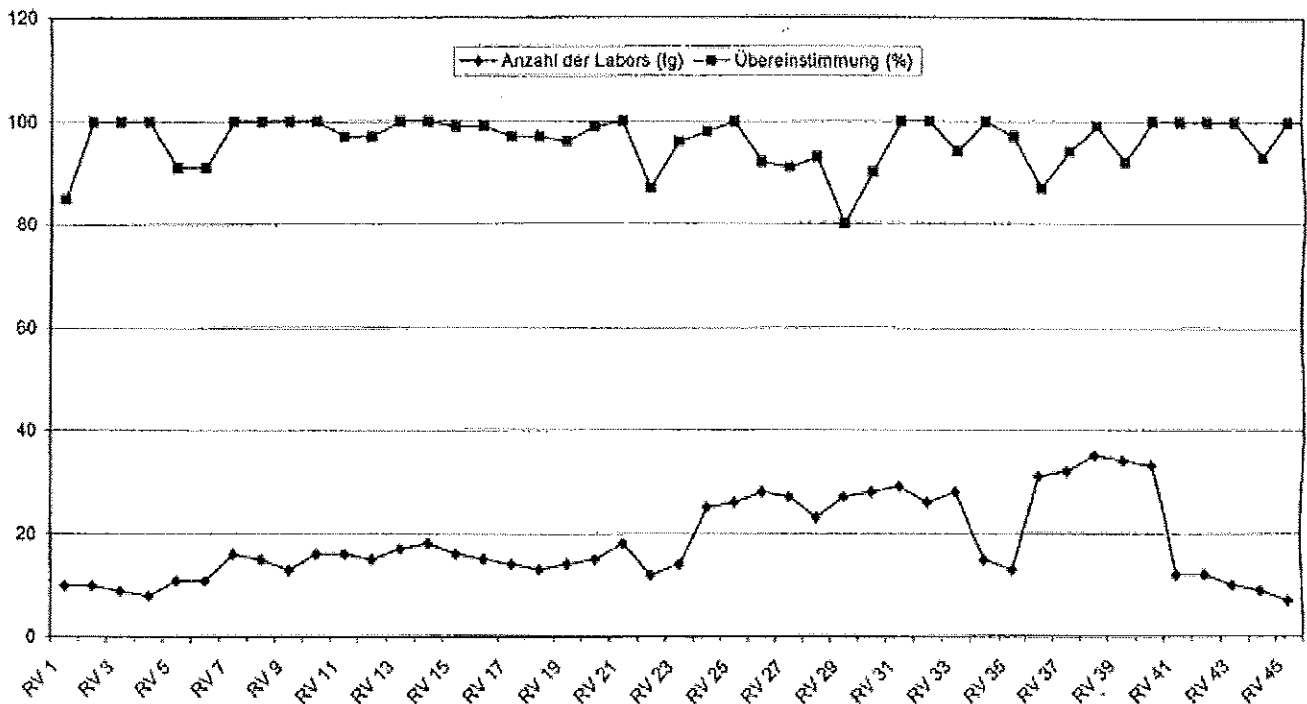


Abb. 3. Anzahl der Ig-testenden Laboratorium und Grad der Übereinstimmung der erhobenen Testergebnisse mit den vorgegebenen Sollwerten in der Zeit zwischen 1983 (Erster Ringversuch) und 2005 (45. Ringversuch) in %-Werten

Verlauf nach oben fort. Ab dem Ringversuch 41 sinkt die Anzahl der Ig-Tester dann deutlich (endgültig) ab, die Anzahl der IgM- und (letztlich auch) der IgG-Tester stieg hingegen an; am 45., dem bislang letzten Ringversuch, nahmen insgesamt 47 Laboratorien teil (Abb. 1), 45 davon erhoben die IgM-, IgG- und 7 Ig-Werte. Im Zeitraum vom 33. bis zum 42. Ringversuch wurden von den Laboratorien keine IgG-Testresultate angegeben (diese dürften mit in die Ig-Kurve eingeflossen sein).

#### Vergleich der Ringversuchsergebnisse mit den Sollwerten

Vergleicht man die vorgegebenen Sollwerte mit den Ergebnissen der verschiedenen Laboratorien (ausschließlich auf der Basis der qualitativen Beurteilung „negativ“ oder „positiv“, ohne Berücksichtigung der Titerhöhe) so zeigt sich, dass im Falle der „Ig-Tester“ in 19 von 45 RV eine 100%ige Übereinstimmung festgestellt werden konnte, bei 22 RV gab es 90 bis 99%ige Übereinstimmung, bei 4 RV war die Übereinstimmung zwischen 80 und 90%; die durchschnittliche Übereinstimmung zwischen Soll- und Testwerten war 96,3% (Abb. 3). Für die IgM testenden Laboratorien wurde eine Übereinstimmung zwischen Soll- und tatsächlich erhobenen Werten von 94,3% errechnet (es konnten allerdings nur die RV 13 bis 45 ausgewertet werden) (Abb. 4). Die IgG-Testergebnisse stimmten zu 91,9% mit den Sollwerten überein, allerdings konnten diesbezüglich nur 21 RV ausgewertet werden (Abb. 5).

### Kasuistiken

#### Kasus 1

Kasus 1 ist eine 1972 geborene Österreicherin, die sich wegen intensiven Kinderwunsches im November 2002 ihren Toxoplasmose-Immunistatus bestimmen ließ (Tabelle 1). Im Indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT, zum Nachweis spezifischer IgM+IgG+IgA) konnten keine spezifischen Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*-Antigen nachgewiesen werden. Im Frühjahr 2003 erkrankte die Frau an einer Meningoenzephalitis unklarer Genese, sie wurde in einem peripheren Krankenhaus behandelt und sie genes. Im August 2003 wurde (in einem auswärtigen Labor) abermals der Toxoplasmose-Status erhoben: Es wurde ein Enzym-gekoppelter Fluoreszenztest/ELFA G der Firma BioMérieux (Nachweis spezifischer IgG-Antikörper) durchgeführt, der Befund war abermals negativ. Im November 2003, mittlerweile schwanger (7. Schwangerschaftswoche), erfolgte die erste Mutter-Kind-Pass-Untersuchung: Mittels IIFT und Sabin Feldman-Test/SFT konnten positive Titer (IIFT: 1:16; SFT: 1:64) erhoben werden, die eingesetzten IgM-Tests, ein Enzym-gekoppelter Fluoreszenztest/ELFA M der Firma BioMérieux und ein ISAGA M der Firma Innogenetics (Deutschland) ergaben einen grenzwertig positiven (ELFA M) bzw. einen hoch positiven IgM-Spiegel (ISAGA M). Eine Therapie mit Spiramycin (Rovamycin®) [4] wurde begonnen. Die durchgeführten Zusatztests ergaben jedoch überraschende Ergebnisse: Der ELFA G war eindeutig negativ (<8 IU), der IgM-Westernblot der Firma Microgen (Deutschland) zeigte keinerlei Reaktivität, im IgG-Westernblot war nur die „Rhoprienbande“ ROP 1 leicht

reaktiv, alle anderen Banden, (Granula-Antigene/GRA 7 und 8, Matrixantigen MAO1; und das „Surface antigen/SAG 1“) zeigten keinerlei Farbreaktion. Diese Befunde konnten mit weiteren Serumproben der Schwangeren bestätigt und mögliche Serumverwechslungen ausgeschlossen werden, die antibiotische Behandlung wurde abgebrochen.

**Fazit:** Es liegt keine Infektion mit *Toxoplasma gondii* vor. Die im IIFT, SFT und den IgM-Tests erhobenen positiven Reaktionen müssen als unspezifisch interpretiert werden. Durch Einsatz spezieller zusätzlicher Testmethoden (Westernblot) konnte eindeutig festgestellt werden, dass im Serum der Schwangeren keine spezifischen, gegen *Toxoplasma*-Antigen gerichtete IgG-Antikörper nachweisbar waren.

#### Kasus 2

Die im Jahre 1980 geborene Schwangere österreichischer Herkunft wurde im Jahre 2001 (in einem auswärtigen Labor) erstmals in der 7. Schwangerschaftswoche auf spezifische *Toxoplasma*-Antikörper untersucht; es waren keine Antikörper nachweisbar (Tabelle 2). Auch die in der 12. SSW durchgeführte Untersuchung ergab ein negatives Ergebnis. (Beide Seren erwiesen sich auch im retrospektiv in unserem Institut durchgeführten IIFT und SFT als negativ.) In der 19. SSW wurde erneut eine serologische Untersuchung durchgeführt, in den Basistests IIFT und SFT konnte jeweils ein Titer von 1:1000 erhoben werden. Der eingesetzte ISAGA M der Firma Innogenetics zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper erwies sich mit einem Titer von 1:65.000 als hoch-positiv, der ISAGA M (BioMérieux) sowie der ELFA M (BioMérieux) konnten hingegen keine IgM-Antikörper detektieren. Der Index des IgG-Aviditätstests (BioMérieux) war mit 0,04 sehr niedrig und damit indikativ für eine Frischinfektion. Aufgrund dieser Befundkonstellation (Serokonversion) wurde eine Fruchtwasseruntersuchung durchgeführt und eine Therapie mit Daraprim, Sulfadiazin und Leukovorin [4] begonnen. Die *Toxoplasma*-PCR der Amnionflüssigkeit erwies sich als negativ, daher wurde nach einer einmonatigen Behandlung mit Pyrimethamin+Sulfadiazin und Leukovorin die Behandlung auf Rovamycin (bis zur Geburt) umgestellt. Die in der 38. SSW durchgeführten Tests zeigten durchwegs rückläufige Titer im IIFT (1:256), SFT (1:64), ISAGA M (Innogenetics) (1:256); der ISAGA M (BioMérieux) und der ELFA M (BioMérieux) blieben negativ.

**Fazit:** Die Primoinfektion mit *Toxoplasma gondii* konnte mittels ISAGA M (BioMérieux) und ELFA M (BioMérieux) nicht detektiert werden. Mittels IIFT, SFT, ISAGA M (Innogenetics) und IgG-Aviditätstests (BioMérieux) konnte die Primoinfektion hingegen eindeutig diagnostiziert werden.

#### Kasus 3

Beim dritten Fall handelt es sich um eine 1977 geborene Österreicherin, die im Jahre 2003 bereits in der 6. SSW im Rahmen der Mutter-Kind-Pass-Untersuchungen auf spezifische Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*-Antigen getestet wurde. Im IIFT wurde ein Titer von 1:64 erhoben; dieser Wert wurde durch einen retrospektiv durchgeführten SFT bestätigt (Tabelle 3). Der ISAGA M

### Auer, Toxoplasmose-Ringversuche in Österreich

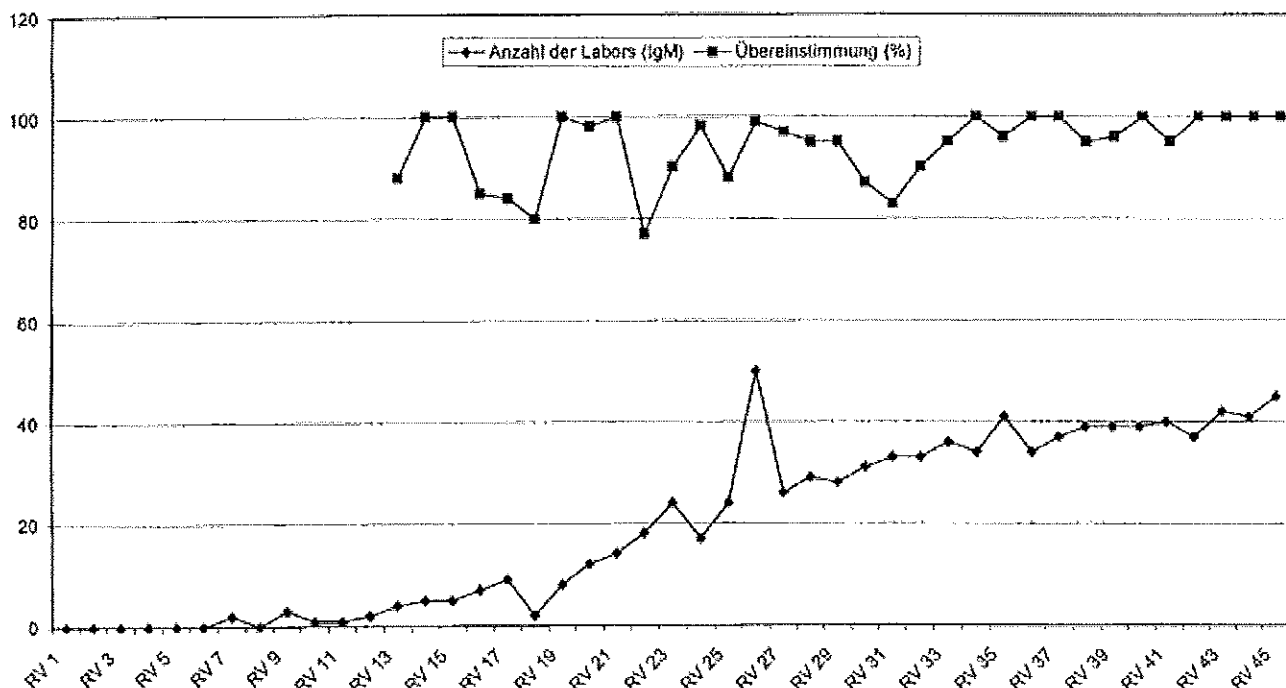


Abb. 4. Anzahl der IgM-testenden Laboratorium und Grad der Übereinstimmung der erhobenen Testergebnisse mit den vorgegebenen Sollwerten in der Zeit zwischen 1983 (Erster Ringversuch) und 2005 (45. Ringversuch) in %-Werten

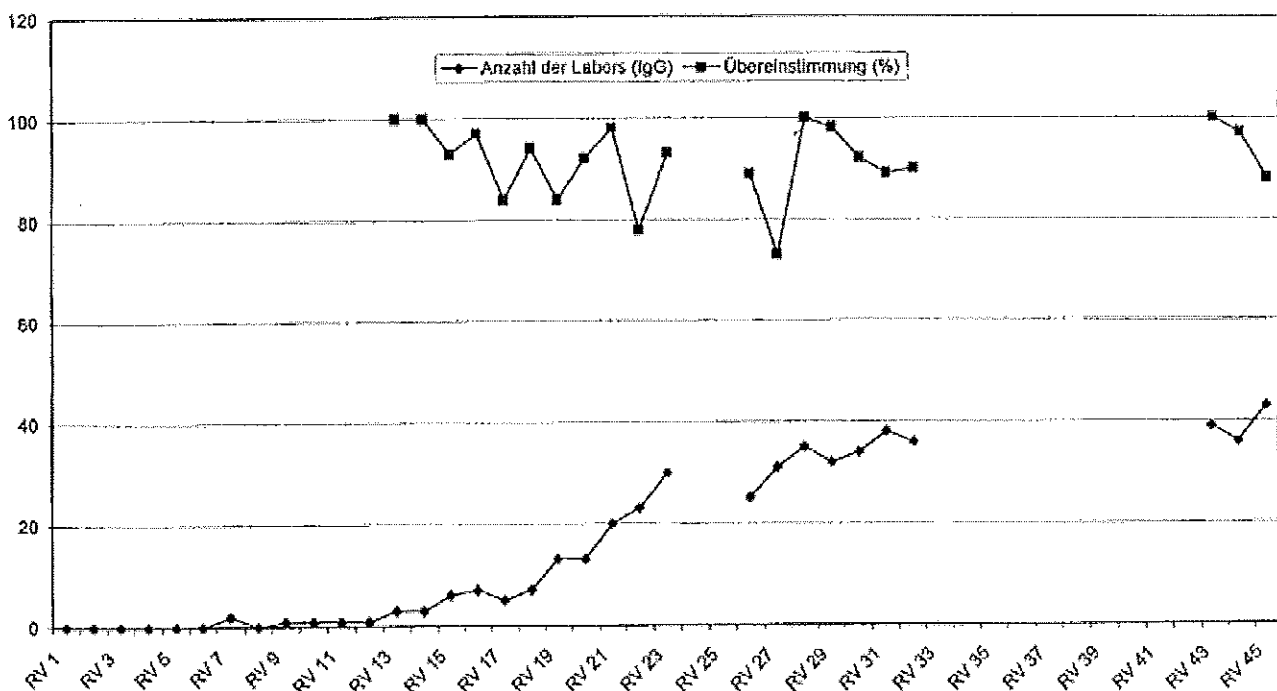


Abb. 5. Anzahl der IgG-testenden Laboratorium und Grad der Übereinstimmung der erhobenen Testergebnisse mit den vorgegebenen Sollwerten in der Zeit zwischen 1983 (Erster Ringversuch) und 2005 (45. Ringversuch) in %-Werten

(Innogenetics) war niedrig positiv (1:256) ebenso wie der ELFA (BioMérieux) mit einem OD-Wert von 0,66 (cut off: 0,65). Der ELFA G ergab hingegen ein eindeutig negatives Ergebnis von 2 IU (cut-off: 8 IU); dieses konnte durch einen direkten Immunfixationstest/DIFA (Ravo Diagnostika, Deutschland), einen hoch-sensitiven IgG-

Test, bestätigt werden. In Anbetracht der Tatsache, dass eine Primoinfektion (Nachweis von IgM-, „Nach-nicht-Nachweis“ von IgG-Antikörpern) nicht auszuschließen war, wurde eine Rovamycin-Therapie [4] begonnen, die allerdings, nachdem die Kontrolluntersuchung 2 Wochen später eine sehr ähnliche Befundkonstellation zeigte, wie-

Tabelle 1. Kasus 1, geb. 1. 8. 1972

Blutabnahme	SFT <sup>1</sup> (cut off: 1:16)	IIFT <sup>2</sup> (cut off: 1:16)	ELFA M <sup>3</sup> (cut off: 0,55)	ISAGA M <sup>4</sup> (cut off: 1:256)	WB M <sup>5</sup>	ELFA G <sup>6</sup> (cut off: 8 IU)	WB G <sup>7</sup>
November 2002		< 1:16					
Frühjahr 2003: Meningoenzephalitis unklarer Genese							
August 2003						< 8 IU	
Oktober 2003: Konzeption							
SSW 7	1:64	1:16	0,63	1:65.000	ROP1: negativ MAG1: negativ SAG1: negativ GRA7: negativ GRA8: negativ	< 8 IU	ROP1: positiv MAG1: negativ SAG1: negativ GRA7: negativ GRA8: negativ

<sup>1</sup> SFT Sabin Feldman-Test (Angabe in Titern); <sup>2</sup> IIFT Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis von IgM- + IgG- + IgA-Antikörpern (Angabe in Titern); <sup>3</sup> ELFA M Enzyme-linked fluorescent assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in optischer Dichte/OD); Testkit „Vidas M“ der Firma BioMérieux (Frankreich); <sup>4</sup> ISAGA M Immunosorbent agglutination assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in Titern); Testkit „Toxotool M“ der Firma Innogenetics (Deutschland); <sup>5</sup> WB M Westernblot zum Nachweis von IgM-Antikörpern; Testkit der Firma Microgen (Deutschland); <sup>6</sup> ELFA G Enzyme-linked fluorescent assay zum Nachweis spezifischer IgG-Antikörper (Angaben in internationalen Einheiten/I.U.); Testkit „Vidas G“ der Firma BioMérieux (Frankreich); <sup>7</sup> WB G Westernblot zum Nachweis von IgG-Antikörpern; Testkit der Firma Microgen (Deutschland); <sup>8</sup> GRA7,8 „dense granule antigen“; <sup>9</sup> MAG1 Matrixantigen; <sup>10</sup> ROP1 Rhoprienantigen 1; <sup>11</sup> SAG1 „surface antigen 1“.

der abgebrochen wurde. Weitere Untersuchungen in der 14. und 18. SSW erbrachten, mit Ausnahme des ISAGA M (Innogenetics), vergleichbare Ergebnisse: 1:16 und 1:64 im IIFT bzw. SFT, ELFA M (BioMérieux) mittlerweile unterhalb des cut-off, ELFA G (BioMérieux) negativ, ebenso der DIFA G. Im ISAGA M (Innogenetics) konnte hingegen eine deutliche Titersteigerung auf 1:65.000 beobachtet werden.

**Fazit:** Es liegt keine Infektion mit *Toxoplasma gondii* vor. Die im IIFT, SFT und den IgM-Tests erhobenen positiven Reaktionen müssen als unspezifisch interpretiert werden. Durch Einsatz spezieller zusätzlicher Testmethoden (IgG-Avidität, DIFA G) konnte eindeutig festgestellt werden, dass im Serum der Schwangeren keine spezifischen, gegen *Toxoplasma*-Antigen gerichtete IgG-Antikörper nachweisbar waren.

## Diskussion

### Ringversuche

Die externe Qualitätssicherung im medizinisch-diagnostischen Laboratorium besteht in Österreich seit mittlerweile mehr als 30 Jahren, seit mehr als 20 Jahren stellt auch die Abteilung für Medizinische Parasitologie des Klinischen Instituts für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie als nationales Referenzzentrum für Toxoplasmose (und andere Parasitosen) Serum- (und auch Stuhl-) Proben für die ÖQUASTA-Ringversuche zur Verfügung.

Die Zahl der an den Ringversuchen teilnehmenden Laboratorien hat erfreulicherweise in diesen 20 Jahren ständig zugenommen, heute unterziehen sich etwa 50 verschiedene Labors der freiwilligen Qualitätskontrolle

(Abb. 1). Aufgrund der Tatsache, dass es weder in Österreich noch in Deutschland (und auch vielen anderen Ländern) allgemein standardisierte, für alle Laboratorien bindende Testverfahren für das diagnostische Procedere bei Toxoplasmose-Schwangerschaftsuntersuchungen gibt, werden von den verschiedenen Laboratorien unter Verwendung verschiedener Testverfahren bzw. Testkits Ergebnisse „produziert“, die auf unterschiedlichen Referenzwerten basieren und nicht unmittelbar miteinander verglichen werden können [8, 11]. Wir haben aus diesem Grund bei der Auswertung der Ringversuchsergebnisse (i.e. Übereinstimmung der RV-Ergebnisse mit den von uns vorgegebenen Sollwerten) auf eine detaillierte, Titerhöhen einschließende Analyse verzichtet. Die in den Abb. 3, 4 und 5 angegebenen Übereinstimmungsgrade beziehen sich daher ausschließlich auf die qualitative Beurteilung („Antikörper-negativ“ oder „Antikörper-positiv“) der teilnehmenden Laboratorien.

Besonders auffallend waren folgende Beobachtungen:

1. Die höchste Übereinstimmung zwischen Ringversuchsergebnissen und den vorgegebenen Sollwerten, nämlich 96,3%, gab es bei der Erhebung des (spezifischen) Gesamtimmunglobulinspiegels mittels IIFT. Mit diesem hohen Maß an Übereinstimmung konnte einmal mehr gezeigt werden, dass der IIFT (unter Verwendung eines Gesamtglobulin-Konjugats) auch heute noch seine wahre Berechtigung als Basistest hat. (Eine Alternative könnte nur in der gleichzeitigen Anwendung von IgM- und IgG-Test bestehen.) Leider wird dieses Testsystem heute in fast keinem der teilnehmenden Laboratorien mehr angewendet.

Tabelle 2. Kasus 2, geb. 26. 3. 1980

Blutabnahme	SFT <sup>1</sup> (cut off: 1:16)	IIFT <sup>2</sup> (cut off: 1:16)	Isaga M (A) <sup>3</sup> (cut off: <6)	Isaga M (B) <sup>4</sup> (cut off: 1:256)	ELFA M <sup>5</sup> (cut off: 0,55 OD)	ELFA Avidität <sup>6</sup>
SSW 7	<1:16	<1:16				
SSW 12	<1:16	<1:16				
SSW 19	1:1.000	1:1.000	<6	1:65.000	<0,55	0,040
SSW 19	PCR (Fruchtwasser): negativ; Therapiebeginn (Pyrimethamin, Sulfadiazin, Leukovorin), 1 Monat, anschließend Rovamycin (bis zur Geburt)(nach österr. Schema)					
SSW 38	1:64 (positiv)	1:256 (positiv)	<6 (negativ)	1:256 (positiv)	<0,55 (negativ)	

<sup>1</sup> SFT Sabin Feldman-Test (Angabe in Titern); <sup>2</sup> IIFT Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis von IgM- + IgG- + IgA-Antikörpern (Angabe in Titern); <sup>3</sup> ISAGA M (A) Immunosorbent agglutination assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in Indices; Index < 6 = negativ); Testkit der Firma BioMérieux; <sup>4</sup> ISAGA M (B) Immunosorbent agglutination assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in Titern); Testkit „Toxotool M“ der Firma Innogenetics (Deutschland); <sup>5</sup> ELFA M Enzyme-linked fluorescent assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in optischer Dichte/OD); Testkit „Vidas M“ der Firma BioMérieux (Frankreich); <sup>6</sup> ELFA Avidität Enzyme-linked fluorescent assay zum Nachweis spezifischer IgG-Antikörper und der IgG-Avidität (Aviditätsindex < 0,150 = frische Infektion; = 150–0,300 = intermediärer Bereich; Aviditätsindex > 0,300: alte Infektion); Testkit „Vidas Avidity“ der Firma BioMérieux (Frankreich).

2. Die IgM-Testergebnisse der Ringversuche stimmten mit den Sollwerten in 94,3% überein – ein ungewöhnlich hoher Wert –, der vermutlich darauf zurückzuführen ist, dass die meisten ausgesandten Seren IgM-negativ waren. Dennoch, dem IgM-Nachweis kommt bei der Diagnose einer Erstinfektion (während der Schwangerschaft) besondere Bedeutung zu; falsch-negative IgM-Titer können dazu führen, dass pränatale *Toxoplasma*-Infektionen nicht erkannt werden, falsch-positive Ergebnisse bedingen zumindest Unsicherheit und Angst bei den Schwangeren und Aufregung bei den Gynäkologen, unter Umständen sogar die sinnlose Verabreichung von Chemotherapeutika, im schlimmsten Fall die Einleitung einer Interruption mit der Abtreibung eines gesunden Foetus. Zwar wurden die indirekten IgM-Testmethoden, die in der Vergangenheit mitunter zu falsch-negativen (kompetitive Hemmung durch eine hohe Konzentration von spezifischen IgG-Antikörpern) und falsch-positiven IgM-Ergebnissen (Präsenz von Rheumafaktoren) geführt

haben, durch „catching antibody tests“ ersetzt, dennoch können auch mit den „neueren“ Tests nach wie vor sowohl falsch-negative als auch falsch-positive IgM-Ergebnisse „produziert“ werden. Diese Probleme sind einerseits auf die Hersteller-abhängigen unterschiedlichen Referenzwerte der verschiedenen Produkte einerseits und andererseits auf die in den Tests verwendeten („gereinigten“ Antigene) oder Antigenfraktionen zurückzuführen.

3. Die auf dem Nachweis spezifischer IgG-Antikörper basierenden Tests erbrachten bei den Ringversuchen hingegen Ergebnisse, die „nur“ in 91,9% der Fälle mit den vorgegebenen Sollwerten übereinstimmten; dies ist umso verwunderlicher, da der IgG-Nachweis methodisch einfach ist und die IgG-Werte durchwegs mit (standardisierten) Testkits in „qualitätsgesicherten“ ELISA-Prozessoren erhoben wurden. Die Ursache dafür dürfte wohl auf der Tatsache beruhen, dass – wie bereits oben angedeutet – von den Testkit-Herstellern unterschiedliche Referenzwerte für die ver-

Tabelle 3. Kasus 3, geb. 30. 12. 1977

Blutabnahme	SFT <sup>1</sup> (cut off: 1:16)	IIFT <sup>2</sup> (cut off: 1:16)	Isaga M <sup>3</sup> (cut off: 1:256)	ELFA M <sup>4</sup> (cut off: 0,55 OD)	ELFA G <sup>5</sup> (cut off: 8 IU)	DIFA G <sup>6</sup>
SSW 6	1:16	1:64	1:256	0,66	2	negativ
SSW 8	1:64	1:64	1:256	0,58	1	negativ
SSW 14	1:16	1:64	1:65.000	0,54	1	negativ
SSW 18	1:16	1:64	1:65.000	0,48	1	negativ

<sup>1</sup> SFT Sabin Feldman-Test (Angabe in Titern); <sup>2</sup> IIFT Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis von IgM- + IgG- + IgA-Antikörpern (Angabe in Titern); <sup>3</sup> ISAGA M Immunosorbent agglutination assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in Titern); Testkit „Toxotool M“ der Firma Innogenetics (Deutschland); <sup>4</sup> ELFA M Enzyme-linked fluorescent assay zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper (Angaben in optischer Dichte/OD); Testkit „Vidas M“ der Firma BioMérieux (Frankreich); <sup>5</sup> ELFA G Enzyme-linked fluorescent assay zum Nachweis spezifischer IgG-Antikörper (Angaben in internationalen Einheiten/I.U.); Testkit „Vidas G“ der Firma BioMérieux (Frankreich); <sup>6</sup> DIFA Direkter Immunfixationstest zum Nachweis spezifischer IgG-Antikörper; Testkit „Toxotool DIFA“ der Firma Ravo Diagnostika (Deutschland).

schiedenen Testverfahren angegeben werden, d.h. dass Testkits verschiedener Hersteller unterschiedlich hohe cut-off-Schwellen haben. Da heute von den meisten Laboratorien – zumindest was die Toxoplasmose-Schwangerenvorsorgeuntersuchung betrifft – ausschließlich IgG-Tests als Basistests eingesetzt werden, können insbesondere falsch-negative Ergebnisse dazu führen, dass Erstinfektionen nicht rechtzeitig erkannt und behandelt werden; die Folge sind unerkannte pränatale *Toxoplasma*-Infektionen.

### Kasuistiken

Mit der Vorstellung von drei während der letzten Monate beobachteten Fällen sollte veranschaulicht werden, dass serologische Toxoplasmose-Diagnostik noch immer eine sehr diffizile Angelegenheit darstellt und dass man auch beim Einsatz „altbewährter“ Tests gelegentlich Überraschungen erleben kann. Die regelmäßige Teilnahme an externen Ringversuchen stellt daher einen geeigneten Weg dar, das eigene Testinstrumentarium immer wieder auf seine Sensitivität und Spezifität zu überprüfen, damit *Toxoplasma*-Infektionen, insbesondere Primoinfektionen während der Schwangerschaft, als solche erkannt werden können. Allerdings ist dennoch nicht ausgeschlossen, dass man mitunter auch beim Einsatz extern überprüfter und bislang bewährter Testmethoden (primär) zu einer falschen Diagnose, in unserem Fall zu zwei falsch-positiven (Kasus 1 und 3) und in einem Fall zu einer falsch-negativen Diagnose (Kasus 2), kommen kann.

Die heute zur Verfügung stehenden Testmethoden stellen im Großen und Ganzen durchaus taugliche serologische Werkzeuge dar, aber keine dieser Methoden kann 100%ig sensitiv und 100%ig spezifisch sein; hohe Sensitivität wird durch (relativ) geringe Spezifität und hohe Spezifität durch (relative) geringe Sensitivität erkauft. Dies haben auch die drei Kasuistiken gezeigt: Bei den Fällen 1 und 3 erwies sich insbesondere der hochsensitive ISAGA M der Firma Inngenetics als anfällig für unspezifische Reaktionen, die vermutlich auf eine Infektion anderer Genese (Virusinfektion?) oder eine aus anderen Gründen bedingte polyklonale IgM-Stimulation zurückzuführen sein dürfte. Immerhin haben diese „unspezifischen“ IgM-Antikörper auch im IFT und sogar im SFT positive Reaktionen bedingt und letztlich dazu geführt, dass eine nur wenige Tage zurückliegende *Toxoplasma*-Infektion vermutet werden musste, in deren Verlauf noch keine IgG-Antikörper detektierbar waren; diese serologische Konstellation (positiver Basistest, positiver IgM-Test, IgG-Antikörper noch nicht nachweisbar) können wir immer wieder beobachten. Sicherheitshalber wurde in beiden Fällen eine Therapie begonnen, die allerdings nach Einsatz von zusätzlichen Testmethoden und durch Testung sequentieller Serumproben, in denen niemals spezifische IgG-Antikörper nachgewiesen werden konnten, abgebrochen wurde, da letztlich in beiden Fällen kein serologischer Beweis einer Infektion mit *Toxoplasma gondii* erbracht werden konnte. Im Fall 2 erwies sich der durchaus bewährte ELFA M (BioMérieux) wieder einmal als nicht reaktiv, wie wir dies schon einige (wenige) Male beobachten mussten [5]. Eine *Toxoplasma*-Primoinfektion wäre dadurch „übersehen“ worden.

### Schlussfolgerungen

Österreich hat vor 30 Jahren die obligatorische Toxoplasmose-Überwachung der Schwangeren eingeführt [1, 2, 7], man schätzt dass durch dieses serologische Screening zwischen 1975 und 1998 etwa 3000 klinisch manifeste pränatale Toxoplasmosen noch rechtzeitig erkannt werden konnten und dass damit derzeit etwa 200 Fälle pränataler *Toxoplasma*-Infektionen pro Jahr verhindert werden [10]. Auch die seit 23 Jahren in Österreich durchgeführten Toxoplasmose-Ringversuche haben zweifellos dazu beigetragen. Dennoch, die vorgestellten Kasuistiken haben gezeigt, dass es mit dem Einsatz moderner Testmethoden allein nicht getan ist, sondern dass große Erfahrung mit den eigenen Testmethoden [6] und Kenntnis der Grenzen der eingesetzten Tests sowie eine verantwortungsvolle – und auch praktikable – Untersuchungsstrategie [3] notwendig sind, um jede *Toxoplasma*-Erstinfektion früh- und damit rechtzeitig zu erkennen. Unser labor diagnostisches Procedere sieht daher eine Testung in zwei Schritten vor: Im ersten Schritt wird das Schwangerenserum mit einem sensitiven IFT (unter Verwendung eines Ig-Konjugates) „gescreent“. Werden in diesem Basistest keine spezifischen Antikörper nachgewiesen, besteht auch kein Anhaltspunkt für eine Infektion mit *Toxoplasma gondii*. Erbringt der IFT hingegen ein positives Ergebnis, werden in einem zweiten Untersuchungsschritt ein extrem hochsensitiver ISAGA zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper und ein IgG-Aviditätstest eingesetzt, um eine latente von einer rezenteren *Toxoplasma*-Infektion zu unterscheiden. Hohe IgM-Spiegel (im ISAGA) mit Titern  $\geq 1:4000$  sind meist Ausdruck frischer Infektionen, Titer  $\leq 1:4.000$  widerspiegeln in der Regel längere Zeit zurückliegende Infektionen. Aviditätsindizes  $\geq 0,300$  weisen schließlich darauf hin, dass die *Toxoplasma*-Infektion vor deutlich mehr als vier Monaten, vielleicht sogar vor (vielen) Jahren, stattgefunden hat. Hingegen machen Aviditätsindizes  $\leq 0,150$  Frischinfektionen (eher) wahrscheinlich, allerdings nicht in jedem Fall, wie wir während der letzten Jahre immer wieder feststellen mussten [6]. Aviditätsindizes im intermediären Bereich (zwischen 0,150 und 0,300) können meist nur in der Zusammenschau des spezifischen Ig-Spiegel sowie des IgM-Titers und der Schwangerschaftswoche interpretiert werden; dies erfordert aber wiederum sehr viel Erfahrung.

### Danksagung

Frau Ing. E. Legenstein, Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinisch-diagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA), sei für die unschätzbare Hilfe bei der Beschaffung der Rundversuchsprotokolle sehr herzlich gedankt. Herrn Dr. Harald Hlobil, Beratendes Toxoplasmose-Labor des Robert Koch-Institutes, Sindelfingen/Deutschland, danken wir für die intensiven fachlichen Diskussionen.

### Literatur

1. Aspöck H (1996) Österreichs Beitrag zur Toxoplasmose-Forschung und 20 Jahre Toxoplasmose-Überwachung der Schwangeren in Österreich. Mitt Österr Ges Tropenmed Parasitol 18: 1–18

2. Aspöck H (2000) Prevention of congenital toxoplasmosis in Austria: experience of 25 years. In: Ambroise-Thomas P, Petersen E (eds) *Congenital toxoplasmosis*. Springer, Paris, pp 277–299
3. Aspöck H, Auer H, Walochnik J (2004) Die Prävention der pränatalen Toxoplasmose: Strategien, Stand der Kenntnis, aktuelle Probleme. *Nova Acta Leopoldina* 89: 229–268
4. Aspöck H, Husslein P, Janisch H, Möse JR, Pollak A, Vander-Möse A, Winter R (1994) Toxoplasmose. Empfehlungen zur Behandlung der *Toxoplasma*-Erstinfektion in der Schwangerschaft und der konnatalen Toxoplasmose. *Gynäkol Geburtshilf Rundsch* 34: 50–51
5. Auer H, Vander-Möse A, Aspöck H (2003) Die verwirrende Vielfalt der IgM-Tests in der Diagnostik von Toxoplasma-Infektionen: Versuch einer optimalen Strategie. *Wien Klin Wochenschr* 115 [Suppl 3]: 18–22
6. Auer H, Vander-Möse A, Picher O, Walochnik J, Aspöck H (2000) Clinical and diagnostic relevance of Toxoplasma IgG avidity test in the serological surveillance of pregnant women in Austria. *Parasitol Res* 86: 965–967
7. Flamm H, Aspöck H, Picher O, Werner H (1975) Die Toxoplasmose-Untersuchung von Schwangeren und Neugeborenen. *Österr Ärzteztg* 30: 15–17
8. Groß U (2002) Toxoplasmose in der Schwangerschaft: Schlusswort. *Dtsch Ärztebl* 99: 1108
9. Halbmayer WM, Legenstein E, Kaiser E (1995) Externe Qualitätssicherung: Ein wesentlicher – und seit 25 Jahren existenter – Bestandteil des Qualitätsmanagements im medizinisch-diagnostischen Laboratorium. *Wien Klin Wochenschr* 107: 500–506
10. Hayde M, Pollak A (2000) Clinical picture. Neonatal signs and symptoms. In: Ambroise-Thomas P, Petersen E (eds) *Congenital toxoplasmosis*. Springer, Paris, pp 153–164
11. Janitschke K (2004) Laboratoriumsdiagnostik der Toxoplasmose mittels Untersuchung auf Avidität der IgG-Antikörper. *Denisia* 13: 419–421

Korrespondenz: Prof. Dr. Herbert Auer, Abteilung für Medizinische Parasitologie, Klinisches Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, Medizinische Universität Wien, Kinderspitalgasse 15, 1095 Wien, Österreich, E-mail: herbert.auer@meduniwien.ac.at