

Vergleichende Untersuchungen über einen Störeffekt beim Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *Treponema pallidum* durch spezifische IgG-Antikörper mit verschiedenen Testsystemen

E.-G. Lindenschmidt

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Hamburg (Direktor: Professor Dr. med. R. Laufs)

Zusammenfassung:

Mit Hilfe eines ELISA zum Nachweis von spezifischen IgG-Antikörpern gegen *Treponema pallidum* (TP) wird gezeigt, daß mit steigenden Titern eine Hemmung des TP-IgM-Nachweises im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) gehäuft auftritt. Es wird darauf hingewiesen, daß ein solcher Störeffekt beim Nachweis von TP-IgM-Antikörpern mit einem ELISA nicht auftritt. Dieser TP-IgM-ELISA weist auch 8S(IgM)-Antikörper- μ -Ketten spezifisch nach. Bei divergierendem Testergebnis zum Nachweis von TP-IgM zwischen Fluoreszenztest und ELISA sollte z. Zt. noch der IIFT für die Diagnostik ausschlaggebend sein.

Schlüsselwörter:

Treponema pallidum – IgM-Antikörper – kompetitive Hemmung – indirekter Immunfluoreszenztest – ELISA

Summary:

By means of an ELISA for the detection of specific IgG antibodies against *Treponema pallidum* (TP) it is shown that a competitive inhibition effect in the indirect immunofluorescence test (IIFT) at the demonstration of TP-IgM occurs more often with increasing TP-IgG antibodies. Such an inhibition effect has not been observed so far if TP-IgM antibodies are detected by ELISA technique. This TP-IgM ELISA does also demonstrate TP specific 8S(IgM) antibodies. In the case of conflicting routine tests at the demonstration of TP-IgM by IIFT and ELISA the result obtained by IIFT should decide at present.

Keywords:

Treponema pallidum – IgM antibodies – competitive inhibition – indirect immunofluorescence test – ELISA

Einleitung

Der Nachweis gegen *Treponema pallidum* (TP)-Antigene gerichteter IgM-Antikörper (TP-IgM) weist bereits 10–14 Tage nach der Infektion (10, 24) in jedem Stadium auf die Anwesenheit bzw. Persistenz des Erregers im Organismus hin (2–4). Er markiert damit eine Behandlungsbedürftigkeit des Patienten (5, 6, 17, 29). Auf diese Weise ist es möglich, serologisch die Indikation für eine antibiotische Therapie zu stellen und eine Progredienz des Entzündungsprozesses zu verhindern (14). Da diese Antikörper für die Beurteilung der Sanierung des Patienten herangezogen werden (11, 24), ist ein verlässliches Testsystem zum Nachweis oder Ausschluß von TP-IgM für die Orientierung des Arztes erforderlich. Sehr verlässliche Ergebnisse sind bei der Anwendung der indirekten Immunfluoreszenztechnik (IIFT; 7) mit dem IgM-FTA-ABS- (1, 7, 9) sowie 19S(IgM)-FTA-ABS-Test (14, 15) erzielt worden. Dabei vergleicht man den Titer luesspezifischer IgM-Antikörper vor (IgM-FTA-ABS) und nach 19S(IgM)-FTA-ABS Serumfraktionierung durch Gelchromatographie im IIFT. Diese Methode ist

aufwendig und erfordert bei der Auswertung Erfahrung. Sie sollte durch einfachere Techniken ersetzt werden. Festphasetechniken wie solid-phase haemadsorption test (SPHA) (27) und enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA) (13) sind inzwischen auf ihre diagnostische Verlässlichkeit überprüft worden. Es zeigte sich, daß der ELISA dem SPHA auch aus theoretischen Gründen überlegen ist (22). Bevor jedoch ein ELISA-System Zugang zur serologischen Routinediagnostik finden darf, sollte belegt werden, daß es der Kombination von IgM-FTA-ABS und 19S(IgM)-FTA-ABS bezüglich Spezifität und Sensibilität zumindest gleichwertig ist.

Material und Methoden

Seren

Es wurden 85 Seren von Patienten mit den klinischen Symptomen einer Sekundärsyphilis sowie 25 Seren von Neurosyphilitikern vor einer antiluetischen Therapie untersucht. Die Serumproben wurden für maximal 72 Std. bei 4°C und später bei –70°C gelagert. Sie wurden für den Nachweis von TP-spezifischen Antikörpern vom

IgM-Typ einmal nach dem Auftauen nativ verwendet. Der Nachweis von TP-spezifischen Antikörpern erfolgte mit den Standardmethoden des TPHA und FTA-ABS unmittelbar nach Eingang der Serumproben im Laboratorium.

Serumfraktionierung durch Gelchromatographie

Zum Nachweis von luespezifischen 19S-IgM-Antikörpern wurden die Testseren gelchromatographisch nach der Mikromethode von Müller und Oelerich (16) fraktioniert: eine 1,5 cm × 14 cm Ultrogel AcA-34 Säule wurde mit 0,7 ml Serum beladen und mit Phosphat-gepufferter isotonischer NaCl-Lösung (PBS), pH 7,3, eluiert. Je 18 Tropfen (etwa 1,3 ml) wurden in einer Fraktion aufgefangen.

IgM-FTA-ABS-Test

Die Testseren wurden in den Verdünnungen 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 getestet. Als Antigen diente *Treponema pallidum* (TP; Nichols Stamm), das 10 Tage nach Inokulation in Kaninchenhoden geerntet und in 1% Albumin-PBS durch Zentrifugation (30 min/3000 × g) von Zellbestandteilen gereinigt wurde. Zum Nachweis der TP-spezifischen IgM-Antikörper am Antigen wurde FITC-markiertes anti-Human IgM vom Kaninchen (Daco Immunochemicals, Kopenhagen, Dänemark) in einer Verdünnung von 1:50 verwendet.

19S (IgM)-FTA-ABS-Test

Die ersten 5 IgM-haltigen Fraktionen nach der Gelchromatographie wurden unverdünnt wie im IgM-FTA-ABS-Test auf TP-Spezifität getestet. Der Titer wurde aus dem Fu-Wert nach Müller (15) errechnet.

Zusätzlich wurden die ersten 4 Fraktionen im IgG-Bereich auf möglicherweise vorhandene 8S (IgM)-Antikörper getestet. Sie wurden wie 19S (IgM)-Antikörper nachgewiesen.

IgM- und IgG-TP-ABS-ELISA

TP-spezifische IgM- und IgG-Antikörper wurden zusätzlich mit der ELISA-Technik (13) nachgewiesen. Kurz: eine angereicherte Suspension von *Treponema pallidum* (Nichols Stamm; > 10⁸ Keime/ml) wurde 6 × 45 sec. mit 50 Watt im Eisbad beschallt (Sonicator™ Cell Disruptor, Model W 185 F, Heat Systems Ultrasonics, Inc.). Das Ultrasonikat wurde nach Sedimentation gröberer Zellbestandteile (30 min/10000 × g) über einen CsCl-Gradienten (Dichte 1,05–1,45) in einer Ultrazentrifuge (Beckman-L-5-50 B, SW-50 Rotor, 90 min 40000 × g, 4°C) gereinigt und in 20 Tropffractionen aufgetrennt. Lösliches Antigen im Dichtebereich 1,05–1,1 wurde auf die gleiche Weise nachgereinigt. Nach Dialyse gegen PBS wurde es zur Adsorption an die feste Phase von Polyvinylchlorid-Mikrotiterplatten in der Verdünnung 1:10⁻³–1:10⁻⁵ in 0,150 mol/l Na₂CO₃–0,035 mol/l NaHCO₃-Puffer, pH-Wert 9,6, verwendet. Das lösliche TP-Antigen ist bei 4°C, –20°C sowie –80°C längstens 3 Monate stabil.

Die Testseren wurden 1:1, 30 min lang bei 20°C mit einem Fragment von *Treponema phagedenis* enthaltenden Diluent (Fujizaki Pharmaceuticals, Co., Ltd., Tokio, Japan) präabsorbiert, um gruppenspezifische Antikörper zu binden. Jedes Serum wurde routinemäßig in den Verdünnungsstufen 1:50, 1:100, 1:400, 1:1000 auf IgM-Antikörper und 1:25, 1:100, 1:1000, 1:10000 auf

IgG-Antikörper getestet. Die Testverdünnungen zum Nachweis von spezifischem IgM wurden zusätzlich mit hitzeaggregiertem, gelchromatographisch gereinigtem Human IgG (5 mg/ml; 26) 1:2, 20 min bei Zimmertemperatur unter stetigem Schütteln absorbiert, um möglicherweise vorhandene Rheumafaktoraktivität zu binden (30). Anti-Human-IgM und -IgG (Daco, Immunochemicals, Kopenhagen, Dänemark) wurden mit Meerrettichperoxidase (Sigma Typ VI, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO., USA) nach der Methode von Wilson und Nakane (35) markiert.

Die Immunreaktionen wurden 90 min lang bei Zimmertemperatur ausgeführt. Die Enzymreaktion erfolgte mit 100 µl o-Phenylendiamin (10 mg in 10 ml 0,1 mol/l Na₂HPO₄–KH₂PO₄, pH-Wert 6,0; 0,01% H₂O₂) pro Napf 5 min lang bei 20°C im Dunkeln und wurde mit 100 µl 4 mol/l H₂SO₄ gestoppt. Die Extinktionen bei 492 nm wurden automatisch mit dem Multiscan (Titertek) abgelesen. Extinktionen, die die Summe des Mittelwertes von mindestens 8 Negativ-Kontrollen und deren 5fache Standardabweichung übersteigen, weisen eine positive Testreaktion aus.

Spezifität und Sensitivität des IgM-TP-ABS ELISA

Aus Tab. 1 ergibt sich die Spezifität und Sensitivität des IgM-TP-ABS-ELISA. Es sind die Testergebnisse von 266 TP-IgM reaktiven und 463 nicht reaktiven Referenzseren im IgM-TP-ABS-ELISA zusammengestellt. Die Spezifität bestimmt die Wahrscheinlichkeit, mit der nicht reaktive Referenzseren übereinstimmend nicht reaktiv im ELISA angezeigt wurden. Sie errechnet sich zu C/C + D = 96%. Die Sensitivität gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der reaktive Referenzseren übereinstimmend ermittelt wurden: A/A + B = 97%.

Tab. 1: Spezifität und Sensibilität des IgM-TP-ABS-ELISA

A	B
19S (IgM)-FTA-ABS (reaktiv)	–FTA– (reaktiv)
258	8
IgM-TP-ABS-ELISA (reaktiv)	–ELISA– (nicht reaktiv)
C	D
–FTA– (nicht reaktiv)	–FTA– (nicht reaktiv)
17	446
–ELISA– (reaktiv)	–ELISA– (nicht reaktiv)

Ergebnisse

Von 85 Patienten mit einer Syphilis im Stadium II fand sich in 68 Fällen (80%) eine Titerdifferenz von mindestens 2 Verdünnungsstufen zwischen IgM-FTA-ABS und 19S/IgM-FTA-ABS. Der Nachweis von TP-spezifischen IgM-Antikörpern war in diesem Sinne partiell gehemmt bei 35 (41%) Patienten. Bei 33 Patienten war der Nachweis der Antikörper im IgM-FTA-ABS komplett gehemmt. Bei 25 Patienten mit klinisch gesicherter Neurosyphilis wurde eine Hemmung des Nachweises der spezifischen IgM-Antikörper im IgM-FTA-ABS in 13 (52%) Fällen beobachtet. Davon zeigten 7 eine komplette und 6 eine partielle Hemmung.

Aus Tab. 2 geht die Häufigkeit von partieller und kompletter Hemmung des TP-spezifischen IgM-Nachweises im IgM-FTA-ABS in Abhängigkeit vom Titer der TP-spezifischen IgG-Antikörper ermittelt im ELISA bei Patienten mit Sekundärsyphilis hervor. 12 Patienten wiesen bei einem als niedrig zu bewertenden IgG-Titer von 1:100 in keinem Falle eine kompetitive Hemmung auf. Von der IgG-Titerstufe 1:400 an fand sich eine kompetitive Hemmung. Der Anteil der kompletten Hemmung steigt signifikant mit dem Titer der IgG-Antikörper. Bei einem IgG-Titer von 1:1600 zeigt sich in 34% und bei 1:10000 in 62% eine komplette Hemmung.

Tab. 3 stellt den Anteil von partieller und kompletter kompetitiver Hemmung des IgM-Nachweises in IgM-FTA-ABS bei den 25 Patienten mit Neurosyphilis dar. Es bestätigt sich, daß eine Hemmung bei dem IgG-Titer von 1:100 selten auftritt, während ab einer Titerstufe von 1:400 mit einer Hemmung zu rechnen ist.

Alle 85 Seren von Patienten mit Sekundärsyphilis und 25 mit einer Neurosyphilis waren im IgM-ABS-ELISA positiv. Dies weist darauf hin, daß zumindest eine komplette kompetitive Hemmung auch bei hohen IgG-Titern beim ELISA nicht auftritt, obwohl ebenso wie für den IgM-FTA-ABS nicht fraktioniertes Serum verwendet wird.

Bei 2 von 85 Fällen mit einer Sekundärsyphilis und bei 5 von 25 mit einer Tertiärsyphilis fanden sich im IIFT ausschließlich niedermolekulare 8S(IgM)-Antikörper (19). Diese wurden in allen Fällen im ELISA als TP-IgM-Antikörper erkannt.

Tab. 2: Häufigkeit von partieller und kompletter kompetitiver Hemmung im IgM-FTA-ABS-Test in Abhängigkeit vom luesspezifischen IgG-Titer bei 85 Patienten mit einer Sekundärsyphilis

TP-IgG-Titer (ELISA)	n	kompetitive Hemmung im TP-IgM-FTA-ABS-Test		keine Hemmung im TP-IgM-FTA-ABS-Test
		partiell	komplett	
1:100	12	—	—	12
1:400	11	5 (46%)	2 (18%)	4
1:1600	30	19 (61%)	10 (33%)	1
1:6400	14	6 (43%)	8 (57%)	—
1:10000	13	4 (38%)	9 (62%)	—
≥1:25600	5	1 (20%)	4 (80%)	—

Tab. 3: Häufigkeit von partieller und kompetitiver Hemmung im IgM-FTA-ABS-Test in Abhängigkeit vom luesspezifischen IgG-Titer bei 25 Patienten mit einer Neurosyphilis

TP-IgG-Titer (ELISA)	n	kompetitive Hemmung im TP-IgM-FTA-ABS-Test		keine Hemmung im TP-IgM-FTA-ABS-Test
		partiell	komplett	
1:100	13	1	1	11
1:400	6	3	2	1
1:1600	3	2	1	—
1:6400	2	—	2	—
≥1:25600	1	—	1	—

Diskussion

Gegenstand dieser Untersuchung ist es, den Störfaktor der kompetitiven Hemmung durch TP-spezifische IgG-Antikörper beim Nachweis TP-spezifischer IgM-Antikörper im IIFT und ELISA zu überprüfen. Der Nachweis der IgM-Antikörper im IIFT erfolgte im IgM-FTA-ABS und 19S(IgM)-FTA-ABS.

Ein negativer IgM-FTA-ABS erfordert in jedem Falle den Ausschluß bzw. Nachweis von 19S(IgM)-Antikörpern. Er erlaubt keinesfalls die Diagnose einer sanierten Luesinfektion (19, 34). Da ein stark positiver IgM-FTA-ABS durch Rheumafaktoraktivität (14, 32) unspezifisch verfälscht ausfallen kann, ist der 19S(IgM)-FTA-ABS auch bei einem reaktiven IgM-FTA-ABS unverzichtbar. Eine Titerdifferenz zwischen diesen beiden Testen ist charakteristisch für eine persistierende Syphilis (17).

Eine komplette Hemmung im IgM-FTA-ABS-Test wurde bei 110 Patienten mit persistierender Syphilis in 45 (41%) Fällen vorgefunden. Eine signifikante Titerdifferenz zwischen den beiden Tests im Sinne einer partiellen kompetitiven Hemmung fand sich bei 42 (37%) Patienten. Der Nachweis von IgG-Titerstufen im IgG-TP-ABS-ELISA bestätigt frühere Mitteilungen, daß die Häufigkeit einer kompetitiven Hemmung mit steigendem IgG-Titer zunimmt (2, 15). Sie erklärt sich durch eine größere Menge an IgG-Antikörpern (15) und möglicherweise auch durch eine höhere Affinität der IgG-Antikörper an das TP-Antigen (25) gegenüber den IgM-Antikörpern.

Bei 6 Patienten im Stadium einer persistierenden Luesinfektion fand sich im ELISA ein spezifischer IgG-Titer von $\geq 1:25000$. Da in allen Fällen der Nachweis von IgM-Antikörpern gelang, ist anzunehmen, daß eine Hemmung der IgM-Synthese durch extrem hohe IgG-Titer im Sinne Uhrs (31) bei der Syphilis erst ab IgG-Titerstufen $> 1:25000$ zu rechnen ist. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit entsprechenden Angaben von Müller (18, 20).

Der gelegentliche Nachweis von 8S(IgM)-Antikörpern scheint fast ausschließlich in den Spätstadien einer Syphilis zu erfolgen (19). Der IgM-TP-ABS-ELISA erkennt diese Antikörper auch in Fällen mit nicht nachweisbaren 19S(IgM)-Antikörpern. Allerdings vermag der ELISA diese nicht von 19S(IgM)-Antikörpern zu unterscheiden.

Führt man den ELISA zugleich zum Nachweis von TP-spezifischen IgM- und IgG-Antikörpern durch, so findet sich im untersuchten Krankengut mit Sekundärsyphilis bei 71 (84%) Patienten ein IgG/IgM-Titerquotient ≥ 4 (12). Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen von Hunter (8) sowie Volkerding und Müller (33). Sie könnte die fehlende kompetitive Hemmung in den indirekten Fluoreszenztesten bei der serologischen Diagnostik einer persistierenden Syphilis im ELISA möglicherweise ersetzen.

Der Nachweis von IgM-Antikörpern im indirekten Fluoreszenztest ist technisch aufwendig und erfordert Erfahrung. Die ELISA-Technik ist für diese Zwecke wesentlich leichter durchführbar und außerdem automatisierbar. Da hohe TP-IgG-Titer beim Nachweis vom TP-IgM im ELISA nicht stören, kann bei dieser Technik auf die gelchromatographische Trennung des Testserums verzichtet werden.

Bei wissenschaftlichen Untersuchungen hat der IgG- und IgM-TP-ABS-ELISA bereits zu zusätzlichen Erkenntnissen über die Syphilisserologie geführt (21, 23). Die dar-

gelegten Erfahrungen mit dem ELISA weisen diesem Testsystem einen diagnostischen Stellenwert zu, der dem des 19S-IgM-FTA-ABS nahekommt. Im kritischen Einzelfall sollte sich aber die serologische Diagnose einer behandlungsbedürftigen Syphilis z. Zt. noch auf die Ergebnisse im indirekten Fluoreszenztest stützen, da dieser eine größere Empfindlichkeit aufweist. Er zeigt spezifische IgM-Antikörper an, wenn sie im TPHA ab einer Verdünnung von 1:5 vorliegen. Mit dem ELISA sind diese Antikörper spezifisch erst ab einer Serumverdünnung von 1:50 nachweisbar.

Schrifttum:

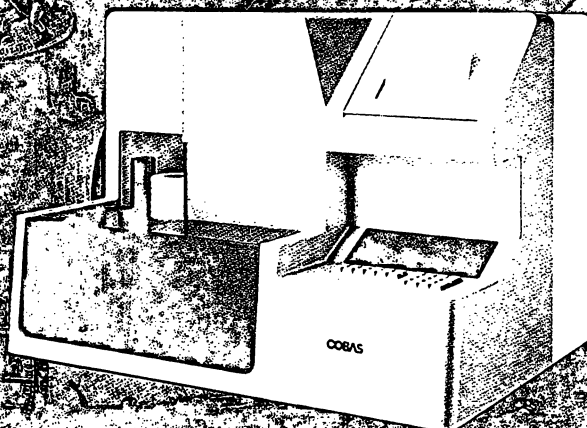
1. ALFORD, C. A., POLT, S. S., CASSADY, G. E.; STRAMENFJORD, J. V., REMINGTON, J. S.: γ -M-fluorescent treponemal antibody in the diagnosis of congenital syphilis. *New Engl. J. Med.* 280, 1086–1094 (1969).
2. ATWOOD, W. G., MILLER, J. L.: Fluorescent treponemal antibodies in fractionated syphilitic sera. The immunoglobulin class. *Arch. Dermatol.* 100, 763–769 (1969).
3. BIENENSTOCK, J., BLOCK, K. J.: Some characteristics of human conglutinin. *J. Imm.* 96, 637–645 (1966).
4. FRANKLIN, E. C.: Structure and function of immunoglobulins. *N.Y.J. Med.* 68, 411–422 (1968).
5. FRITSCH, D.: Die Beurteilung der Behandlungsbedürftigkeit latenter Luesinfektionen. *Akt. dermatol.* 4, 107–111 (1978).
6. HERBST, B.-R., GOERZ, G., MÜLLER, F.: Diagnostischer und therapeutischer Aussagewert des IgM-FTA-ABS und IgM-FTA-19S-Tests bei der Syphilis. *Akt. dermatol.* 5, 175–183 (1979).
7. HUNTER, E. F., DEADON, W. E., MEYER, P. E.: An improved FTA test for syphilis: the absorption procedure (FTA-ABS). *Publ. Hlth. Rep.* 79, 410–418 (1964).
8. HUNTER, E. F., MADDISON, S. E., LARSEN, S. A., FELKER, M. B., FEELEY, J. C.: Immunoglobulin specificity for the fluorescent treponemal antibody absorption test conjugate. *J. Clin. Microbiol.* 4, 338–384 (1976).
9. JOHNSTON, N. A.: Neonatal congenital syphilis diagnosis by the absorbed fluorescent treponemal antibody (IgM) test. *Brit. J. vener. Dis.* 48, 464–469 (1972).
10. JULIAN, A. J., LOGAN, L. C., NORINS, L.: Early syphilis: Immunoglobulins reactive in immunofluorescence and other serologic tests. *J. Imm.* 102, 1250–1259 (1969).
11. LEYH, F., MÜLLER, F.: Bewertung der Syphilis – Therapie durch immunologische Verlaufskontrollen. *Verh. Dt. Dermatol. Ges. Hautarzt* 31 (Suppl. 2), 82–83 (1977).
12. LINDENSCHMIDT, E.-G., MÜLLER, F.: A treponema – specific soluble antigen for an IgM- and IgG-TP-ABS-ELISA and its application for the serodiagnosis of syphilis. *WHO/VD/Res/369* (1981).
13. LINDENSCHMIDT, E.-G., LAUFS, R., MÜLLER, F.: Microenzyme-linked immunosorbent assay for the detection of specific IgM antibodies in human syphilis. *Brit. J. vener. Dis.* 59, 151–156 (1983).
14. MÜHLENBERG, W., MÜLLER-PRASUHN, G., HÖPKEN, W.: Möglichkeiten und Grenzen des IgM-FTA-ABS-Tests in der Routine-Serodiagnostik der Lues. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.* 249, 104–123 (1981).
15. MÜLLER, F., LOA, P. L.: New possibilities in the immunological diagnosis of Treponema infection (syphilis). *Inf.* 2, 127–131 (1974).
16. MÜLLER, F.: Zur Technik des Nachweises treponemenspezifischer 19S-IgM-Antikörper bei der latenten und spätlatenten Syphilis. *Imm. Inf.* 5, 109–113 (1977).
17. MÜLLER, F., OELERICH, S.: Ein modifiziertes Verfahren zum Nachweis kompetitiv gehemmter Antikörper bei der Syphilis. *Das Ärztl. Lab.* 24, 385–391 (1978).
18. MÜLLER, F., OELERICH, S.: Korrelation immunologischer Parameter zu den Stadien der apparenten und der klinisch stummen Syphilis. *Derm. Monatsschr.* 165, 385–395 (1979).
19. MÜLLER, F., OELERICH, S.: Identification of a low molecular weight IgM antibody with *Treponema pallidum* specificity in sera of patients with chronic syphilis. *Klin. Wochr.* 57, 667–671 (1979).
20. MÜLLER, F.: Der 19S(IgM)-FTA-ABS-Test in der Serodiagnostik der Syphilis. *Technik, Fehlermöglichkeiten und diagnostische Aussage. Imm. Inf.* 10, 23–24 (1982).
21. MÜLLER, F., LINDENSCHMIDT, E.-G.: Zur Problematik des Nachweises treponemenspezifischer IgM-Antikörper mit dem TPHA bei der Primärsyphilis. *Hautarzt* 34, 448–452 (1983).
22. MÜLLER, F., LINDENSCHMIDT, E.-G.: Demonstration of specific 19S(IgM) antibodies in untreated and treated syphilis. Comparative studies of the 19S(IgM)-FTA test, the 19S(IgM)-TPHA test and the solid-phase haemadsorption assay. *Brit. J. vener. Dis.* 58, 12–17 (1982).
23. MÜLLER, F., MOSKOPHIDIS, M., LINDENSCHMIDT, E.-G., PRANGE, H.: Demonstration of locally synthesized IgM antibodies to *Treponema pallidum* in CNS of patients with untreated Neurosyphilis. *J. Neuroimmunology* (zur Publikation akzeptiert 1983).
24. O'NEILL, P., NICOL, C. S.: IgM class antitreponemal antibody in treated and untreated syphilis. *Brit. J. vener. Dis.* 48, 460–463 (1972).
25. ROBBINS, J. B., KENNY, K., SUTER, E.: The isolation and biological activities of rabbit μ M and γ G-anti-Salmonella typhimurium antibodies. *J. exp. Med.* 122, 385–403 (1965).
26. ROGGENDORF, M., DEINAHRT, F., FRÖSNER, G. G., SCHEID, G., BAYERT, B., ZACHOVAL, R.: Immunoglobulin M antibodies to hepatitis B core antigen: evaluation of enzyme immunoassay for diagnosis of hepatitis B virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 13, 618–625 (1981).
27. SCHMIDT, B. L.: Solid-phase haemadsorption: A method for detection of *Treponema pallidum* – specific IgM. *Sex. Transm. Dis.* 7, 53–58 (1980).
28. SCOTTI, A. T., LOGAN, L. A.: A specific IgM antibody test in neonatal congenital syphilis. *J. Ped.* 73, 242–243 (1968).
29. SHANNON, R., BOOTH, S. D.: The pattern of immunological response at various stages of syphilis. *Brit. J. vener. Dis.* 53, 281–286 (1977).
30. SHIRODARIA, P. B., FRASER, K. B., STANDFORD, F.: Secondary fluorescent staining of virus antigens by rheumatoid factor and fluorescein conjugated anti-IgM. *Ann. rheum. Dis.* 32, 53–58 (1968).
31. UHR, J. W., Möller, G.: Regulatory effect of antibody on the immune response. *Adv. Immunol.* 8, 81–98 (1968).
32. VLACZAK, G., HAGEDORN, H. J.: Bedeutung von Rheumafaktoren für die IgM-Diagnostik der Syphilis. *Verh. Dtsch. Ges. Hyg. Mikrobiol. Berlin* 32, 98–104 (1979).
33. VOLKERDING, R., MÜLLER, F.: Modellversuche zur Wirkung von IgM- und IgG-Antikörpern auf die Reaktivität des *Treponema pallidum* Hämagglutinations (TPHA)-Tests. *Hautarzt* 27, 26–29 (1976).
34. WILKINSON, A. E., RODIN, P.: IgM-FTA-test in syphilis in adults. Its relation to clinical findings. *Brit. J. vener. Dis.* 52, 219–223 (1976).
35. WILSON, M. B., NAKANE, P. K.: Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. eds, *Immunofluorescence and related staining techniques*. Amsterdam: North Holland Biomedical Press, 115–124 (1978).

Anschrift des Verfassers

Dr. E.-G. Lindenschmidt
Universitätskrankenhaus Eppendorf
Institut für Mikrobiologie und Immunologie
Martinistr. 52
D-2000 Hamburg 20

COBAS BACT

Die Automatisierung in der Mikrobiologie



spart Zeit für Problemfälle

ROCHE
Diagnostica