

Strategien der Befundinterpretation bei der Toxoplasmose-Diagnostik – Erste Ergebnisse bei der Entwicklung eines wissensbasierten Systems

Strategies for the interpretation of results of toxoplasmosis diagnosis – First results of the development of a knowledge-based system

U. Groß¹, J.P. Schröder², B. Pohl¹, J. Heesemann¹

¹Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Universität Würzburg, Würzburg,

²Abteilung Medizinische Informatik, Sanitätsamt der Bundeswehr, Bonn.

Zusammenfassung:

Die Labordiagnostik der Toxoplasmose wird durch eine nicht selten vorkommende IgM-Persistenz während der Schwangerschaft, sowie die unzureichende Antikörperproduktion bei immunsupprimierten Patienten erschwert. Aus diesen Gründen wurden eine ganze Reihe neuer mikrobiologischer Methoden für die Toxoplasmose-Diagnostik entwickelt, deren große Anzahl eine Befundaufbereitung jedoch zunehmend schwierig gestalten. Es wurde deshalb ein wissensbasiertes Befundungssystem für die Toxoplasmose-Diagnostik entwickelt, das sich derzeit noch im Aufbau befindet und anhand einiger repräsentativer Fallbeispiele vorgestellt wird. Neben der Befundinterpretation werden dem einsendenden Arzt Therapievorschläge gemacht und Literaturhinweise gegeben. Durch die Anwendung der Toxoplasmose-Wissensbasis in den Entscheidungsregeln des Pro. M. D. Systems kann somit eine Standardisierung der Befundung der Toxoplasmose-Labordiagnostik erreicht werden.

Schlüsselwörter:

Toxoplasmose-Diagnostik – IgE-Antikörper – Befundungssystem – Expertensystem

Summary:

Laboratory diagnosis of an infection with *Toxoplasma gondii* is complicated by the not infrequently observed persistence of specific IgM antibodies during pregnancy, as well as by insufficient production of antibodies in immunosuppressed patients. For that reason, several different microbiological methods for diagnosis of toxoplasmosis have been developed. However, the already great number of such tests might lead to increasing difficulties in correctly interpreting the diagnostic results. A knowledge-based interpretation system for toxoplasmosis laboratory test results therefore has been developed by us that still is in the initial stage. Representative case reports are described to introduce this knowledge-based system and to demonstrate its usefulness for diagnosis of this parasitic infection. In addition to the interpretation of test results, this system suggests possible therapeutic regimens for specific cases, and also cites respective references. The use of this Pro. M. D.-derived knowledge-based system should thus allow a more standardized interpretation of microbiological test results of *Toxoplasma gondii* laboratory diagnosis.

Keywords:

Toxoplasmosis-diagnosis – IgE antibodies – knowledge-based system

Einleitung

Die Toxoplasmose ist die häufigste parasitäre Infektionskrankheit in Europa. Obwohl die Durchseuchung der Bevölkerung sehr hoch ist – in Deutschland korreliert sie direkt mit dem Lebensalter – kommt es nur bei 2–5% der Infizierten zu klinischen Erscheinungen. Diese äußern

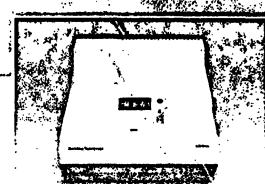
sich meistens in Form einer Lymphadenitis oder rezidivierenden Kopfschmerzen als Zeichen einer zerebralen Beteiligung. Das Hauptproblem der Toxoplasmose stellen jedoch die Erstinfektion während der Schwangerschaft mit nachfolgender konnataler Infektion, sowie die Reaktivierung einer latenten Infektion bei immunsupprimierten Patienten (z.B. Patienten mit AIDS) dar (1). Die Labordiagnostik der Toxoplasmose gerade dieser Patien-

Herzinfarkt? Lyseerfolg? Falls Sie keine Zeit verlieren wollen...

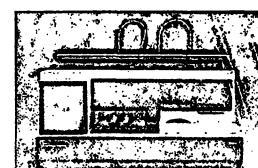


Myoglobin...

- frühester Marker bei akutem Myokardinfarkt
- frühzeitige Beurteilung des Lyse-Erfolgs



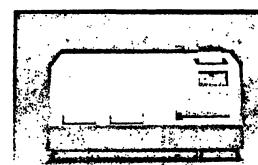
Turbitimer



Nephelometer II

das Original von Behring:

- Referenzbereich $\leq 70 \mu\text{g/l}$
- schnell + quantitativ bestimmbar
- mit folgenden Behring-Systemen:
 - ◆ TurbiTimeSystem
 - ◆ Nephelometer System
 - ◆ Opus System



Opus® plus

Für Myoglobin und CK-MB / Masse

Behring - Ihr Partner für Diagnostik und Therapie

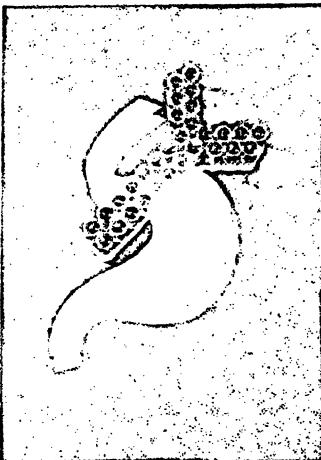
Sitz des Unternehmens: Behringwerke AG
35034 Marburg

Zentrale für Deutschland: Behringwerke AG
Med. Information und Verkauf
Postfach 12 12
65832 Liederbach

Behring Diagnostika

BEHRING
f. Behring

Helicobacter pylori G.A.P.-Tests



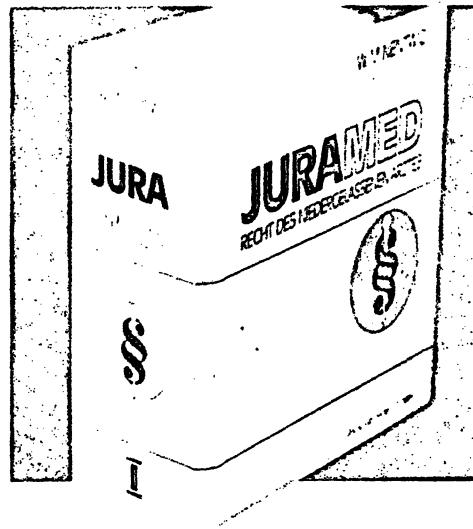
Enzymimmunoassays zum Nachweis von Antikörpern gegen Helicobacter pylori

- Quantitative Ergebnisse in weniger als 2 Stunden
- Gebrauchsfertige Reagenzien
- Gleiche Testdurchführung für IgG, IgA und IgM
- Einfache Auswertung mit der Microplate-Manager-Software

Für ausführliche Informationen stehen wir Ihnen unter der Telefonnummer 089/31884148 gerne zur Verfügung.



BIO-RAD
Laboratories GmbH
Klinische Diagnostik
Heidemannstraße 164
D-80939 München
Telefon: 089/31884148
Telefax: 089/31884100



3. Auflage

JURAMED®

RECHT DES NIEDERGELASSENEN ARZTES

WAS IST JURAMED?

JURAMED ist ein praxisnahes Werk über das Recht des niedergelassenen Arztes, zusammengestellt von anerkannten Fachleuten, die wissen, wo den niedergelassenen Arzt (juristisch) der Schuh drückt.

JURAMED ist in klarer, verständlicher Sprache – nicht in verklautsuliertem Juristendeutsch – geschrieben. In 20 übersichtlichen Gruppen werden die für den niedergelassenen Arzt aktuellen Rechtsfragen erstmals in einem Werk behandelt.

WARUM IST JURAMED IMMER AKTUELL?

JURAMED ist eine stets aktuelle Lose-Blatt-Sammlung. Sie werden immer auf dem neuesten Stand der Gesetzgebung und Rechtsprechung sein. Dafür sorgen die Nachdragslieferungen (ca. einmal jährlich, Seitenpreis 35 Pf.). Das Gesamtwerk kostet 98,- DM.

Diese Bestellung können Sie binnen einer Frist von einer Woche schriftlich widerrufen. Der Widerruf ist an den Verlag Kirchheim, Postfach 2524, 55015 Mainz, zu richten. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs.

**VERLAG
KIRCHHEIM
MAINZ** Kaiserstraße 41
55116 Mainz

Hiermit bestelle ich das Grundwerk JURAMED (Loseblatt-Werk). 518 Seiten, zum Preis von 98,- DM, sowie die jährlich erscheinenden Nachdragslieferungen (Seitenpreis 35 Pf.).

Datum/Praxisstempel/Unterschrift

Diese Bestellung kann ich binnen einer Frist von einer Woche schriftlich widerrufen. Der Widerruf ist an den Verlag Kirchheim, Postfach 2524, 55015 Mainz, zu richten. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs.

Datum

Unterschrift

tengruppen gestaltet sich nicht selten als schwierig. Das hat u.a. folgende Ursachen:

- Während der Schwangerschaft lassen sich häufig so genannte persistierende Antikörper der IgM-Klasse nachweisen, die die Diagnostik einer Primärinfektion erschweren können (2).
- Umgekehrt ist der Nachweis spezifischer IgM-Antikörper bei Neugeborenen nicht selten unmöglich, weil mütterliche IgG-Antikörper die Bildung von IgM-Antikörpern im Kind über eine negative Rückkopplung inhibieren können (3, 4).
- Eine serologische Labordiagnostik der Toxoplasmose ist aufgrund verminderter Antikörpertiter bei immunsupprimierten Patienten erheblich erschwert, weshalb die Diagnose der zerebralen Toxoplasmose meistens vom Kliniker bzw. Radiologen gestellt wird.

Weil die bisherigen konventionellen Nachweismethoden von spezifischen Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii*, die vor allem aus Sabin-Feldman-Test (SFT; 5), Immunfluoreszenztest (IFT), Komplementbindungsreaktion (KBR), direkte Agglutination (DA), IgM-ELISA und IgM-ISAGA (Immunosorbent-Agglutination-Assay) bestehen, nicht immer zu einer eindeutigen Labordiagnose beitragen können, wurden und werden – z.T. in unserem Laboratorium – weitere mikrobiologische Methoden entwickelt (Tabelle 1). Die zunehmende Anzahl an mikrobiologischen Testverfahren in der Toxoplasmose-Diagnostik macht eine Befundaufbereitung zunehmend schwierig. Wir haben daher ein wissensbasiertes System für die Toxoplasmose-Diagnostik entwickelt (6), das derzeit im Aufbau begriffen ist und hier anhand einiger Fallbeispiele vorgestellt werden soll.

Tabelle 1: Mikrobiologische Nachweismethoden bei der Toxoplasmose-Diagnostik

Indirekter Nachweis	Direkter Nachweis
<u>Konventionelle Verfahren</u>	<u>Konventionelle Verfahren</u>
Sabin-Feldman-Test	Mikroskopie (Färbetechniken)
Immunfluoreszenztest	Mausinokulationstest
Komplementbindungsreaktion	Anzucht in Zellkulturen
Direkte Agglutination	
IgM-ELISA	
IGM-ISAGA	
<u>Neuere Verfahren</u>	<u>Neuere Verfahren</u>
IgA-Immunoblot	Polymerase-Kettenreaktion
IgA- und IgE-ELISA oder -ISAGA	Nachweis von zerkularisierendem Antigen
HS/AC-Test	Nachweis mit monoklonalen Antikörpern
IgG-Avidity-ELISA	
ELISA mit rekombinannten Antigenen	

Methoden

Immunoblot

Mit Hilfe der Immunoblot-Technik ist durch die gelelektrophoretische Auftrennung von *Toxoplasma*-Proteinen und durch die Anwendung verschiedener *Toxoplasma*-Stämme die Bestimmung von protein-, stamm- und klassenspezifischen Immunglobulinen möglich. Mit dieser Technik, die wir in Einzelheiten bereits beschrieben haben (7, 8), können *Toxoplasma*-spezifische Antikörper nachgewiesen werden. Dabei wird durch die Verwendung eines Puffers, der aus 1,0% Nonidet P-40 und 50 mM Tris (pH 8,0) besteht, die Anreicherung des Hauptmembranproteins P30 (SAG1) erreicht. Das Vorhandensein der diagnostisch wichtigen P30-spezifischen Antikörper im Patientenserum deutet auf eine akute Infektion mit *Toxoplasma gondii* hin. Dabei werden neben Antikörpern der IgM-Klasse auch Antikörper der IgA-Klasse nachgewiesen.

IgA- und IgE-Antikörpernachweis

Erst seit kürzerer Zeit wird auch der diagnostische Nutzen von *Toxoplasma*-spezifischen IgE-Antikörpern untersucht (9). Die Bedeutung von Antikörpern der IgA- und IgE-Klasse für die Labordiagnostik der Toxoplasmose ist noch unklar. IgA-spezifische Antikörper scheinen jedoch im Gegensatz zu IgM-Antikörpern nicht so lange zu persistieren und insbesondere bei der kongenitalen Toxoplasmose und der reaktivierten Toxoplasmose bei Patienten mit AIDS einen wertvollen diagnostischen Parameter darzustellen (7, 10). Im Rahmen der Toxoplasmose-Diagnostik während der Schwangerschaft muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß IgA-Antikörper in wenigen Einzelfällen auch bei einer lange zurückliegenden Infektion nachgewiesen werden können. Im Vergleich zur IgM-Persistenz kommt diese IgA-Persistenz aber viel seltener vor, so daß der Nachweis von IgA-Antikörpern zunächst als Indiz für eine vor kurzem durchgemachte Infektion zu bewerten ist (11).

Ebenfalls werden in einigen Laboratorien spezifische IgE-Antikörper mit Hilfe der ELISA-Technik oder des IgE-ISAGA bestimmt (9). Der von uns durchgeführte IgE-ISAGA verwendet einen monokonalen Antikörper in der Festphase, der gegen humanes IgE gerichtet ist (Serolab, Sussex, UK). Nach Zugabe von Patientenserum werden IgE-Antikörper spezifisch gebunden und durch eine Agglutinationsreaktion mit formalin-fixierten *Toxoplasmen* nachgewiesen. Die bisherigen Ergebnisse unserer und anderer Arbeitsgruppen deuten darauf hin, daß das Vorhandensein dieser Antikörper mit einer akuten Infektion korreliert, die weniger als drei Monate zurückliegt. Weitere Untersuchungen sind jedoch angezeigt, um den Wert dieser Immunglobulinklasse für die Labordiagnostik der Toxoplasmose einzuschätzen.

DNA-Nachweis

Zusätzlich zu indirekten Nachweismethoden einer frischen *Toxoplasma*-Infektion kann in Einzelfällen der direkte Nachweis von *Toxoplasma gondii* zur Diagnose führen. Bisher standen für den Direktnachweis die mikroskopische Untersuchung nach Verwendung verschiede-

ner Färbemethoden (z.B. Giemsa) oder die Anzucht in der Maus bzw. Zellkultur zur Verfügung. Während die Mikroskopie relativ unempfindlich ist, besteht der Nachteil der Anzuchtmethoden in der langen Zeitspanne, die bis zur Diagnosestellung vergeht. Wir haben deshalb die Polymerasekettenreaktion (PCR) als direkten Erregernachweis in unserem Labor etabliert. Die Vorteile dieser Methode, die in Einzelheiten bereits von uns beschrieben wurde (12), bestehen in der hohen Sensitivität und Schnelligkeit: Weniger als zehn Parasiten können innerhalb eines Zeitraumes von 24–48 Stunden nachgewiesen werden.

Wissensbasiertes System

In unserem Laboratorium werden folgende mikrobiologische Testverfahren gemäß einer Stufendiagnostik (Abb. 1), die sich teilweise an Empfehlungen des BGA (13) orientiert, durchgeführt: Direkte Agglutination, Sabin-Feldman-Test, Immunfluoreszenztest, Komplementbindungsreaktion, IgM-ELISA, IgM- und IgA-Immunoblot, IgE-ISAGA, Mausinokulationstest, Anzucht in Zellkulturen und DNA-Nachweis (PCR). Abweichend von dem in Abbildung 1 dargestellten Schema wird eine modifizierte Stufendiagnostik bei Schwangerschaft, konnataler Infektion und immunsupprimierten Patienten durchgeführt. Die steigende Anzahl von mikrobiologischen Untersuchungsmethoden macht eine Befundaufbereitung für den interpretierenden Arzt zunehmend schwierig. Es wurde deshalb von uns ein wissensbasiertes System entwickelt, das sich derzeit noch in der Erprobungs- bzw. Aufbauphase befindet. Die Beurteilung mikrobiologischer Testergebnisse erfolgt mit Hilfe der fallbezogenen Textsynthese in den Entscheidungsregeln des Pro. M. D. Systeins (14, 15) und berücksichtigt neben klinischen Daten auch labormedizinische Parameter (z.B. CD₄-Zellzahl). Dabei werden zusätzlich zur Interpretation der Testergebnisse Therapievorschläge gemacht und Literaturhinweise gegeben. Für die fallbezogene Textsynthese dieses Expertensystems wurden zunächst repräsentativ jene Fälle untersucht, die regelmäßig im Patientengut

unserer einsendenden Ärzte vorhanden sind. Dazu gehören vor allem immunkompetente Patienten ohne Infektion [1], mit IgM-persistierenden Antikörpern bei früher durchgemachter Infektion [2], mit akuter Infektion [3], mit konnataler Infektion [4], immunsupprimierte Patienten mit reaktivierter Infektion [5], sowie immunkompetente Patienten mit früher durchgemachter Infektion. Diese häufigen Befundkonstellationen sind exemplarisch anhand von fünf Fallbeispielen dargestellt. Zusätzlich wurden für die Entwicklung der Wissensbasis eine Reihe weiterer Fälle theoretisch durch vielfältige Kombinationen der einzelnen Testparameter konstruiert.

Fallbeispiele

Anhand von Fallbeispielen sollte die Toxoplasmose-Wissensbasis auf ihre Anwendbarkeit überprüft werden. Die mikrobiologischen Untersuchungsmethoden folgen in ihrer Reihenfolge den Regeln des in Abb. 1 dargestellten Stufendiagnostik-Schemas. Folgende Fallbeispiele werden in dieser Arbeit exemplarisch vorgestellt, wobei jeweils Serum (Fall 5: zusätzlich Liquor für den direkten Erregernachweis) untersucht wurde:

- [1] Immunkompetenter männlicher Patient mit einer Lymphadenitis. Mikrobiologischer Befund: DA negativ. Interpretation der Toxoplasmose-Wissensbasis: „Serologisch kein Anhalt für eine akute Infektion. Keine Toxoplasma-spezifische Therapie erforderlich“. Aufgrund der bereits vorhandenen klinischen Symptomatik hätten im Falle einer Toxoplasma-bedingten Infektion bereits IgG-Antikörper vorhanden sein müssen. Da der DA aber negativ ist, schiedet eine Toxoplasmose als Ursache aus.
- [2] Junge Frau in der 12. Schwangerschaftswoche (SSW) ohne klinische Symptomatik, die zur Routine-Untersuchung kommt. Keine Vorbefunde vorhanden. Mikrobiologische Befunde: DA positiv, SFT 1 : 256, KBR 1 : 5, IgM-ELISA positiv, IgM-Blot negativ, IgA-Blot negativ, IgE-ISAGA negativ. Die Toxoplasmose-

STUFDIAGNOSTIK DER TOXOPLASMOSE: Immunkompetente Patienten

(Bei positiver DA stets eine Serumkontrolle in 14 - 21 Tagen durchführen)

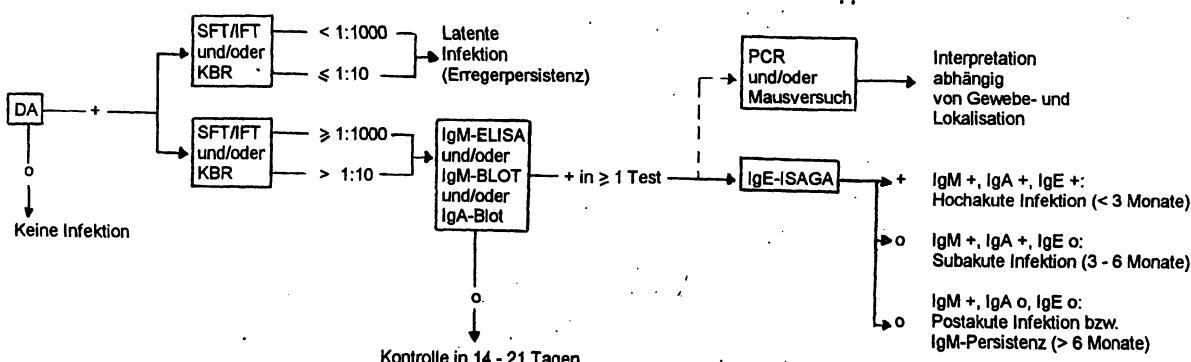


Abb. 1: Stufenschema der mikrobiologischen Toxoplasmose-Diagnostik bei immunkompetenten Patienten

Wissensbasis interpretiert: „Serologisch am ehesten wie bei einer IgM-Persistenz bei latenter Toxoplasmose-Infektion (Erregerpersistenz). Um eine akute Infektion vollständig auszuschliessen, wird eine Serumkontrolle in 14–21 Tagen benötigt. Ggf. kann bis zur Sicherung der Diagnose eine Therapie mit Spiramycin (3 x 1,0 g/Tag) begonnen werden. Literatur: Jeannel et al. ...“. Bei unterhalb der Grenzwerte liegendem SFT und KBR, sowie negativem IgA und IgE ist am ehesten von einer früher durchgemachten Toxoplasmose im jetzt latenten Stadium (Erregerpersistenz) auszugehen. Der positive IgM-Nachweis im ELISA kann als IgM-Persistenz bewertet werden. Diese vorläufige Diagnose muß jedoch durch eine Serumkontrolle verifiziert werden.

- [3] Junge Frau in der 32. SSW ohne klinische Symptome, die zur Routineuntersuchung kommt. Vorbefund der 8. SSW: DA negativ, IgM-ELISA negativ. Mikrobiologische Befunde der 28. SSW: DA positiv, SFT 1: 16.000, KBR 1: 80, IgM-ELISA positiv, IgM-Blot positiv, IgA-Blot positiv, IgE-ISAGA positiv. Die Toxoplasmose-Wissensbasis interpretiert: „Serologisch wie bei einer HOCHAKUTEN TOXOPLASMOSE: Der Infektionszeitpunkt liegt wahrscheinlich innerhalb der vergangenen 3 Monate. Therapie-Empfehlung: Pyrimethamin plus Sulfadiazin. Ggf. Fruchtwasser für den Erregernachweis einsenden. Serumkontrolle in 14–21 Tagen empfohlen. Literaturhinweis: BGA-Merkblatt...“. Schon allein aufgrund der Serokonversion ist eine akute Infektion bewiesen. Der positive Nachweis von IgM-, IgA- und IgE-Antikörpern kann den Infektionszeitpunkt jedoch zusätzlich näher definieren.
- [4] Neugeborenes (4 Tage alt) ohne klinische Symptome, das zur Routineuntersuchung kommt. Keine Vorbefunde, auch keine Befunde der Mutter bekannt. Mikrobiologische Befunde: DA positiv, SFT 1: 4.096, KBR 1: 20, IgM-ELISA negativ, IgM-Blot negativ, IgA-Blot positiv, IgE-ISAGA positiv. SFT- und KBR-Titer liegen oberhalb der Grenzwerte, könnten aber bei fehlendem IgM eventuell als mütterlicher Leitgeber angesehen werden. Der positive Nachweis von IgA- und IgE-Antikörpern spricht jedoch für eine Antikörpersynthese des Kindes, da diese Antikörper – ebenso wie IgM – nicht diaplazentar übertragen werden können. Unter Einbezug der Patientendaten (Alter: 4 Tage) interpretiert die Toxoplasmose-Wissensbasis demzufolge: „Serologisch wie bei einer Kon-

natalen Toxoplasmose. Trotz fehlender klinischer Symptomatik besteht eine absolute Therapie-Indikation. Therapie-Empfehlung: Pyrimethamin plus Sulfadiazin... bis zum 12. Lebensmonat fortsetzen. Jährliche serologische und ophthalmologische Kontrollen bis zum 20. Lebensjahr dringend empfohlen. Literaturhinweis: Koppe et al. ...“. Dieser Befund ist exemplarisch in Abbildung 2 und 3 dargestellt.

INSTITUT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE, UNIVERSITÄT WÜRZBURG

Vorstand: Prof. Dr. Dr. J. Heesemann
Arzt für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie
Josef-Schneider-Straße 2, Bau 17, 97080 Würzburg
Telefon 0931-201-3935

-Testversion -

Nicht zum klinischen Gebrauch freigegeben !!!

Untersuchung: TOXOPLASMOSE-DIAGNOSTIK

Auftrag-Nr.: 1114-94
Probe vom: 24.01.1994
Eingang am: 25.01.1994
Befund vom: 01.02.1994

Material:	Serum														
Name:	J. M. *20.01.1994														
Einsender:	PÄD														
Befund:	<table border="0"> <tr> <td>Direkte Agglutination</td> <td>= positiv</td> </tr> <tr> <td>Toxo-SFT</td> <td>= 1:4096</td> </tr> <tr> <td>Toxo-KBR</td> <td>= 1:20</td> </tr> <tr> <td>Toxo-IgM-ELISA</td> <td>= negativ</td> </tr> <tr> <td>Toxo-IgM-Blot</td> <td>= negativ</td> </tr> <tr> <td>Toxo-IgA-Blot</td> <td>= positiv</td> </tr> <tr> <td>Toxo-IgE-ISAGA</td> <td>= positiv</td> </tr> </table>	Direkte Agglutination	= positiv	Toxo-SFT	= 1:4096	Toxo-KBR	= 1:20	Toxo-IgM-ELISA	= negativ	Toxo-IgM-Blot	= negativ	Toxo-IgA-Blot	= positiv	Toxo-IgE-ISAGA	= positiv
Direkte Agglutination	= positiv														
Toxo-SFT	= 1:4096														
Toxo-KBR	= 1:20														
Toxo-IgM-ELISA	= negativ														
Toxo-IgM-Blot	= negativ														
Toxo-IgA-Blot	= positiv														
Toxo-IgE-ISAGA	= positiv														

Beurteilung:
Serologisch wie bei einer KONNATALEN TOXOPLASMOSE. Trotz fehlender klinischer Symptomatik besteht eine absolute Therapie-Indikation. Therapie-Empfehlung: Am ersten Tag Pyrimethamin (2 mg/kg), danach 3 Wochen Pyrimethamin (1mg/kg/Tag) plus Sulfadiazin (2 x 25-50 mg/kg/Tag). Folsturen substituieren. Diese Zyklen mit Spiramycin-Zyklen (2 x 25-50 mg/kg/Tag) von 4-6 Wochen Dauer abwechseln. Therapie bis zum 12. Lebensmonat fortsetzen. Jährliche serologische und ophthalmologische Kontrollen bis zum 20. Lebensjahr dringend empfohlen.

Laborarzt

Dr. Groß

Literatur:

Koppe et al. (1986). Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. Lancet i: 254 (1986).

Abb. 3: Befund der Toxoplasmose-Wissensbasis, Fallbeschreibung (4)

- [5] Männlicher Patient mit AIDS, CDC IV mit klinischer Halbseitensymptomatik und multiplen hyperdensen Arealen im Hirn-MR. CD4-Zellzahl 80/mm³. Mikrobiologische Befunde: DA positiv, SFT 1: 64, KBR 1: 10, IgM-ELISA negativ, IgM-Blot negativ, IgA-Blot positiv, IgE-ISAGA negativ, DNA-Nachweis positiv (Liquor), Mausversuch angesetzt. Serologisch weist nur der positive IgA-Nachweis auf eine Toxoplasmose hin. Der positive DNA-Nachweis muß noch durch den Mausversuch bestätigt werden, um kontaminationsbedingte falsch-positive PCR-Ergebnisse auszuschließen. Aufgrund der klinischen, radiologischen und labormedizinischen Befunde (CD4-Zellzahl) ist jedoch eine ausreichende Sicherheit für die Richtigkeit der mikrobiologischen Befunde gegeben. Die Toxoplasmose-Wissensbasis interpretiert aus diesen Gründen wie folgt: „Toxoplasma-spezifische IgA-Antikörper werden bei immunsupprimierten Patienten gehäuft bei zerebraler Toxoplasmose gefunden. Zusätzlich Nachweis von Toxoplasma-DNA im Liquor, der durch den Mausversuch bestätigt werden muß“.

Abb. 2: Eingabemaske der Toxoplasmose-Wissensbasis

(Ergebnis in ca. 3 Wochen). Therapieempfehlung: Pyrimethamin plus Sulfadiazin... (bei Nebenwirkungen): Clindamycin... Literaturhinweis: Luft and Remington...".

Die Toxoplasmose-Wissensbasis befindet sich derzeit in der Erprobungs- bzw. Aufbauphase. Anhand von weiteren Fallbeispielen, die möglichst alle Kombinationen mikrobiologischer Testergebnisse repräsentieren, wird sie laufend erweitert und später ggf. um weitere Testparameter ergänzt. Zusätzlich zu theoretisch konstruierten Fällen werden z.Z. die Daten der Patienten unserer Routine-Diagnostik in die Wissensbasis aufgenommen, um ihre praktische Anwendbarkeit zu überprüfen. Das System ermöglicht die Auflistung der diagnostisch bedeutsamen Kenngrößen und neben der Interpretation der gemessenen Werte die Bereitstellung von Therapieempfehlungen und Literaturhinweisen.

Diskussion

Die von uns entwickelte Wissensbasis ist die erste seiner Art in der Toxoplasmose-Diagnostik. Die Interpretation von Befundergebnissen gerade in der Toxoplasmose-Diagnostik gestaltet sich aufgrund der Vielzahl neuer mikrobiologischer Nachweismethoden als zunehmend schwierig. Durch den Einbezug umfangreichen Wissens kann die Interpretation der Testergebnisse für den einsendenden Arzt mit einem wissensbasierten Ansatz standardisiert und verbessert werden. Die Toxoplasmose-Wissensbasis kann dabei den Bedürfnissen des jeweiligen Labors entsprechend modifiziert oder erweitert werden. So wurden bereits neben den in unserem Laboratorium durchgeführten mikrobiologischen Methoden eine Reihe weiterer Testverfahren für die Toxoplasmose-Diagnostik entwickelt: Dazu gehören z.B. der HS/AC-Test, der formalin- bzw. acetonfixierte Parasiten in einer vergleichenden direkten Agglutination verwendet und aufgrund des unterschiedlichen Agglutinationsverhaltens zwischen akuter und chronischer Infektion unterscheiden kann (16).

Ein weiterer Test ist der IgG-Avidity-ELISA: IgG-Antikörper der akuten Krankheitsphase besitzen eine geringere Affinität zum reaktiven Antigen im Vergleich zu IgG-Antikörpern der chronischen Krankheitsphase. Durch die Behandlung des Patientenserums mit 6M Harnstoff wird versucht, IgG-Antikörper geringerer Affinität vom Toxoplasma-Antigen zu trennen. Die Bindung von IgG an das

Toxoplasma-Antigen wird mit anti-IgG-Antikörpern enzymatisch nachgewiesen und der Quotient zwischen Harnstoff-behandeltem und -unbehandeltem Serum gebildet (17).

Der Enzyme-Linked-Immunofiltration-Assay (ELIFA) basiert auf dem Prinzip der ELISA-Technik. Dabei werden die im Patientenserum befindlichen Antikörper jedoch elektrophoretisch durch eine mit Toxoplasma-Antigen beschichtete Zelluloseacetat-Membran aufgetrennt, wodurch es zu Präzipitationslinien zwischen spezifischen Antikörpern und dem entsprechenden Toxoplasma-Antigen kommt. Ein anschließender Filtrationsschritt mit spezifischen sekundären Antikörpern ermöglicht die Bestimmung der reaktiven Immunglobinklassen (IgG, IgM, IgA, IgE) (18).

Eine Standardisierung des Testantigens durch die Verwendung von rekombinannten Antigenen könnte die Toxoplasmose-Diagnostik in der Zukunft revolutionieren. Es könnten tatsächlich schon einige Gene, die verschiedene Toxoplasma-Antigene kodieren, kloniert werden und in Bakterien zur Expression gebracht werden. Obwohl bereits vielversprechende Ergebnisse vorliegen, vermag die Anwendung rekombinanter Toxoplasma-Antigene in ELISA-Systemen jedoch noch nicht eindeutig zwischen akuter und latenter Toxoplasmose zu unterscheiden (19, 20). Eine weitere Verbesserung könnte eventuell durch die Verwendung eines Antigengemisches, das aus verschiedenen rekombinannten Antigenen besteht („Cocktail“), erreicht werden.

Schließlich konnte gezeigt werden, dass der Nachweis zirkulierender Toxoplasma-Antigene in der Frühphase der Infektion aus verschiedenen Körperflüssigkeiten wie z.B. Serum gelingt (21). Eine Evaluierung dieser gar nicht einmal so neuen Methode steht jedoch noch aus.

Ein wesentliches Element der Toxoplasmose-Diagnostik – auch bei der Entwicklung einer Wissensbasis – stellt die Stufendiagnostik dar. In Anlehnung an das vom BGA vorgestellte Schema (13) haben wir unsere Stufendiagnostik um neuere Tests, wie z. B. Bestimmung von IgA- und IgE-Antikörpern, sowie DNA-Nachweis erweitert. Durch diese differenzierende Diagnostik ist es möglich, kosteneffektiv den Infektionszeitpunkt näher zu bestimmen. Die Toxoplasmose-Wissensbasis kann dabei eine weitere Standardisierung der Befundung ermöglichen. Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass automatisch erstellte Befunde stets von einem Arzt kontrolliert und ggf. modifiziert werden müssen.

Literatur

1. Remington, J.S.; Desmonts, G. (1990): Toxoplasmosis. In: Infectious diseases of the fetus and newborn infant (Remington, J.S.; Klein, J.O., eds). W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 89-195.
2. Roos, T.; Martius, J.; Groß, U.; Schrod, L. (1993): Systematic serologic screening for toxoplasmosis in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 81, 243-250.
3. Groß, U.; Bohne, W.; Windeck, T.; Heesemann, J. (1992): Neue Aspekte zur Pathogenese und Diagnostik der Toxoplasmose. *Immun. Infect.* 20, 151-155.
4. Groß, U.; Müller, J.G.; Roos, T.; Schrod, L.; Heesemann, J. (1992): Possible reasons for failure of conventional tests for diagnosis of fatal congenital toxoplasmosis: report of a case diagnosed by PCR and immunoblot. *Infection* 20, 149-152.
5. Sabin, A.B.; Feldman, H.A. (1949): Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (Toxoplasma). *Science* 108, 660-663.
6. Schröder, J.P.; Groß, U.; Heesemann, J.; Pohl, B.; Trendelenburg, C. (1994): Entwicklung eines wissenschaftsbasierten Systems für die Toxoplasmose-Diagnostik. *Klin. Lab.* 40, 83-85.
7. Groß, U.; Roos, T.; Appoldt, D.; Heesemann, J. (1992): Improved serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection by detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against P30 by using the immunoblot technique. *J. Clin. Microbiol.* 30, 1436-1441.
8. Groß, U.; Bohne, 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, 636-639.
9. Pinon, J.M.; Toubas, D.; Marx, C.; Mugeot, G.; Bonnin, A.; Bonhomme, A.; Villaume, M.; Foudrinier, F.; Lepan, H. (1990): Detection of specific immunoglobulin E in patients with toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 28, 1739-1743.
10. Decoster, A.; Darcy, F.; Caron, A.; Capron, A. (1988): IgA antibodies against P30 as markers of congenital and acute toxoplasmosis. *Lancet* ii, 1104-1107.
11. Groß, U. (1992): Klinik, Diagnostik und Therapie von Infektionen mit *Toxoplasma gondii*. *mta* 7, 1117-1126.
12. Groß, U.; Roggenkamp, A.; Janitschke, K.; Heesemann, J. (1992): Improved sensitivity of the polymerase chain reaction for detection of *Toxoplasma gondii* in biological and human clinical specimen. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 11, 33-39.
13. Janitschke, K. (1991): Empfehlungen zur Vorgehensweise bei der Untersuchung auf *Toxoplasma*-Antikörper in der Schwangeren- und der Kinder-Vorsorge. *Lab. med.* 15, 447-449.
14. Pohl, B.; Trendelenburg, C. (1988): Pro. M. D. - A diagnostic expert system shell for clinical chemistry test result interpretation. *Meth. Inform. Med.* 27, 3, 111-117.
15. Trendelenburg, C.; Pohl, B. (1991): Pro. M. D. In: Medizinische Diagnostik mit Expertensystemen, 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York.
16. Suzuki, Y.; Thulliez, P.; Remington, J.S. (1990): Use of acute-stage-specific antigens of *Toxoplasma gondii* for serodiagnosis of acute toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 28, 1734-1738.
17. Hedman, K.; Lappalainen, M.; Seppäiä, I.; Mäkelä, O. (1989): Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J. Infect. Dis.* 159, 736-740.
18. Pinon, J.M.; Thoennes, H.; Gruson, N. (1985): An enzyme-linked immunofiltration assay used to compare infant and maternal antibody profiles in toxoplasmosis. *J. Immunol. Methods* 77, 15-23.
19. Johnson, A.M. (1991): Cloning of *Toxoplasma gondii* fragments encoding diagnostic antigens. *Gene* 99, 127-132.
20. Van Gelder, P.; Bosman, F.; De Meuter, F.; van Heuverswyn, H.; Héron, P. (1993): Serodiagnosis of toxoplasmosis by using a recombinant form of the 54-kilodalton rhotrypt antigen expressed in *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 31, 9-15.
21. Hassl, A.; Aspöck, H.; Flamm, H. (1988): Circulating antigen of *Toxoplasma gondii* in patients with AIDS: significance of detection and structural properties. *Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. A* 270, 302-309.

Anschriften der Verfasser:

Dr. med. Uwe Groß
 Dr. med Bernhard Pohl
 Prof. Dr. med. Dr. rer. nat Jürgen Heesemann
 Institut für Hygiene und Mikrobiologie
 Universität Würzburg
 Josef-Schneider-Straße 2
 97080 Würzburg

Dr. med. Jörg Peter Schröder
 Abteilung Medizinische Informatik
 Sanitätsamt der Bundeswehr
 Platanenweg 29
 53222 Bonn