

Der Aviditätstest zum Nachweis von Toxoplasma-Frischinfektionen

A. Haßl, H. Aspöck

Einleitung In den letzten Jahren wurden Tests zur Messung der Avidität (funktionelle Affinität) von Antikörpern der Klasse G (IgG) entwickelt, mit dem Ziel, frische Toxoplasma-Infektionen von latenten mit Hilfe nur einer serologischen Untersuchung trennen zu können (4). Dabei geht man allgemein von der Annahme aus, daß die Avidität der spezifischen IgGs im Laufe von etwa 6 Monaten nach einer Infektion auf ihr Maximum, d. h. 100% oder einen Index von 1,00, ansteigt. Besonders Fälle von Infektionen mit monate-, ja jahrelang persistierender niedriger IgM-Produktion (z. B. [2]) sind für eine Überprüfung im Aviditätstest prädestiniert, um durch die Unterscheidung von niedriger Avidität (höchstens bis zu 30%) von hoher (> 40%) frische von latenten Toxoplasma-Infektionen trennen zu können (6). Unklar ist allerdings noch, wie sich die Werte einer Aviditätstestung in das allgemeine, idealisierte Schema der Titerverläufe nach einer Toxoplasma-Infektion (1) einordnen lassen.

Diese Untersuchung wurde durchgeführt, um mit Hilfe von Seren von Schwangeren ein Muster der Ergebnisse von Antikörpertests und Aviditätstests zu erheben und so indirekt die Aussagekraft des Aviditätstests in einer Toxoplasmose-Reihenuntersuchung zu beurteilen.

Methoden 114 tiefgefrorene Seren von Frauen, bei denen im Rahmen des Schwangeren-Screenings IgM-Antikörper nachgewiesen worden waren, wurden in 342 Enzyme-linked immuno-assays (ELISA) auf ihren Gehalt von spezifischen Antikörpern unterschiedlicher Klassen gegen *Toxoplasma gondii* nach den Angaben des Herstellers getestet (ETI-TOXOK-G, ELISA mit catching antibody-Technik: ETI-TOXOK-M, -A; Sorin, Saluggia, I). Um eine Vergleichbarkeit der Testergebnisse zu erreichen wurden diese in MANis (Multiple Aktivität eines Poolserums von Nicht-Infizierten Schwangeren) umgewandelt. Außerdem wurde ein ETI-TOXOK-G Test – ein Test mit lytischem Extrakt von in der Zellkultur gezüchteten Toxoplasmen als Antigen – so modifiziert, daß er sich für die Messung der Avidität der IgGs eignete. Als Reagenz zum Aufbrechen der schwachen Antikörper-Antigen-Bindungen wurde 6 molarer Harnstoff im ersten Waschschrift nach der Probeninkubation verwendet. Die Berechnung der Avidität erfolgte durch den Vergleich der optischen Dichten behandelter und nicht-behandelter Probenverdünnungsreihen (3). Die Ergebnisse der Aviditätsbestimmung wurden in einem Koordinatenkreuz gegen die Antikörper der Seren aufgetragen und die Trends der Titer der Antikörperklassen berechnet (Excel 97; Microsoft, Wien).

Ergebnisse Die Auswertung der Testergebnisse im Hinblick auf die Titerverteilung ist in Abb. 1 dargestellt.

Bei vier der 114 Seren besteht aufgrund der Antikörpertiter-Konstellation der Verdacht auf das Vorliegen einer erst wenige Tage alten Erstinfektion. Die gemittelten Titerwerte dieser vier Seren sind für IgG 1 MANI, für IgM 54 MANI, für IgA 3 MANI, und der mittlere Aviditätsindex beträgt 0,38.

Diskussion Der Nachweis von spezifischen IgG-Antikörpern mit einer niedrigen Avidität zu komplexen Antigenen von *Toxoplasma gondii* in Seren wird als ein Beweis für das Vorliegen einer Frischinfektion angesehen (7). Im Rahmen der Schwangerenüberwachung könnte der Aviditätstest daher eine wichtige und rasche Entscheidungshilfe sein, um beim Vorliegen von niedrigen, diagnostisch nicht verwertbaren IgM-Titern eine Klärung des Infektionsstadiums herbeizuführen (5). Wir haben versucht festzustellen, ob sich der Aviditätstest im Rahmen einer Routine-Toxoplasmosereihenuntersuchung von Schwangeren als Entscheidungshilfe eignet.

Wie aus der Verteilung der Datenpunkte in Abb. 1 klar hervorgeht, gibt es keinen erkennbaren Zusammenhang zwischen den Höhen der Titer der verschiedenen Antikörperklassen und des Aviditätsindex. Eine offensichtliche oder gar statistisch signifikante Musterbildung liegt zumindest in unserem Untersuchungskollektiv nicht vor. Daraus folgt, daß es beim Vorliegen einer Einzelprobe nicht zulässig ist, aus erhobenen Antikörpertitern auf die Höhe der Avidität zu schließen. Der Grund für diese Regellosigkeit kann einerseits in einer starken individuellen – möglicherweise genetisch determinierten – Ausprägung der Geschwindigkeit der Aviditätsentwicklung liegen, oder andererseits im Einschluß von Seren von Frauen unter spezifischer Therapie in diese Studie. Wir hegen die begründete Vermutung, daß eine Toxoplasmosen-Behandlung die Geschwindigkeit der Aviditätserhöhung bremst, hingegen die Entwicklung der Antikörpertiter nicht oder kaum beeinflusst.

Mittelt man die erhobenen Titerwerte dennoch, so kann man Trends ausmachen (Abb. 1). Während die Höhe des IgG-Titers bis zum Erreichen eines Aviditätsindex von 1,0 konstant ansteigt, fallen die IgM- und IgA-Titer. Dies entspricht gut dem Bild eines typischen Titerverlaufs – im Zeitraum zwischen 1,5 bis 4 Monaten nach einer Toxoplasma-Frischinfektion (1). Der Zeitpunkt des Erreichens von Aviditäten gegen 100% muß nach dieser Untersuchung wahrscheinlich gegenüber den Schätzungen deutlich vorverlegt werden, auf ca. 4 - 5 Monate nach der Infektion. Diese Vermutung wird gestützt durch den Verlauf des IgM-Trends, der mit dem Erreichen von 100% Avidität beinahe auf den Nullwert zurückkehrt (Abb. 1).

Ein erhebliches Problem in dieser Untersuchung stellt der hohe Initialwert des Aviditätsindex bei unseren vermutlich erst wenige Tage alten Frischinfektionen dar (0,38). Nach einigen Literaturangaben wären ein solch hoher Index ein Ausdruck von gesicherten latenten Infektionen (5, 7) oder im obersten Bereich der „Grauzone“ (6). Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen wäre die Verwendung tiefgefrorener Serumproben in unserer Studie. Nach einer immer wieder diskutierten Meinung verändern langdauerndes Lagern und Frieren von Proben die Aviditäten erheblich. Für solche Proben müssen die cut-off Werte erst erarbeitet werden.

Der Aviditätstest wird gegenwärtig, wenn überhaupt, als ein zweitrangiger Bestätigungstest in der Toxoplasmosen-Diagnostik von Immunkompetenten genutzt. Insbesondere in Fällen von persistierenden, niedrigen IgM-Titern wird nach einer (mehrfachen) nicht aussagekräftigen IgM-Testung auf den Aviditätstest zurückgegriffen. Dies ist zwar durchaus sinnvoll, nutzt aber gerade die Stärken dieses Tests nicht, nämlich die kurze Zeitspanne bis zur Entscheidungsfindung und die Verlässlichkeit aufgrund der exklusiven Nutzung der IgG-Antwort. Einem breiten Einsatz des Aviditätstests in der Schwangerenüberwachung stehen also derzeit sowohl logistische Probleme, als auch eine starke Tendenz zur Risikovermeidung bei der notwendigen Innovation, aber auch finanzielle Abwägungen entgegen.

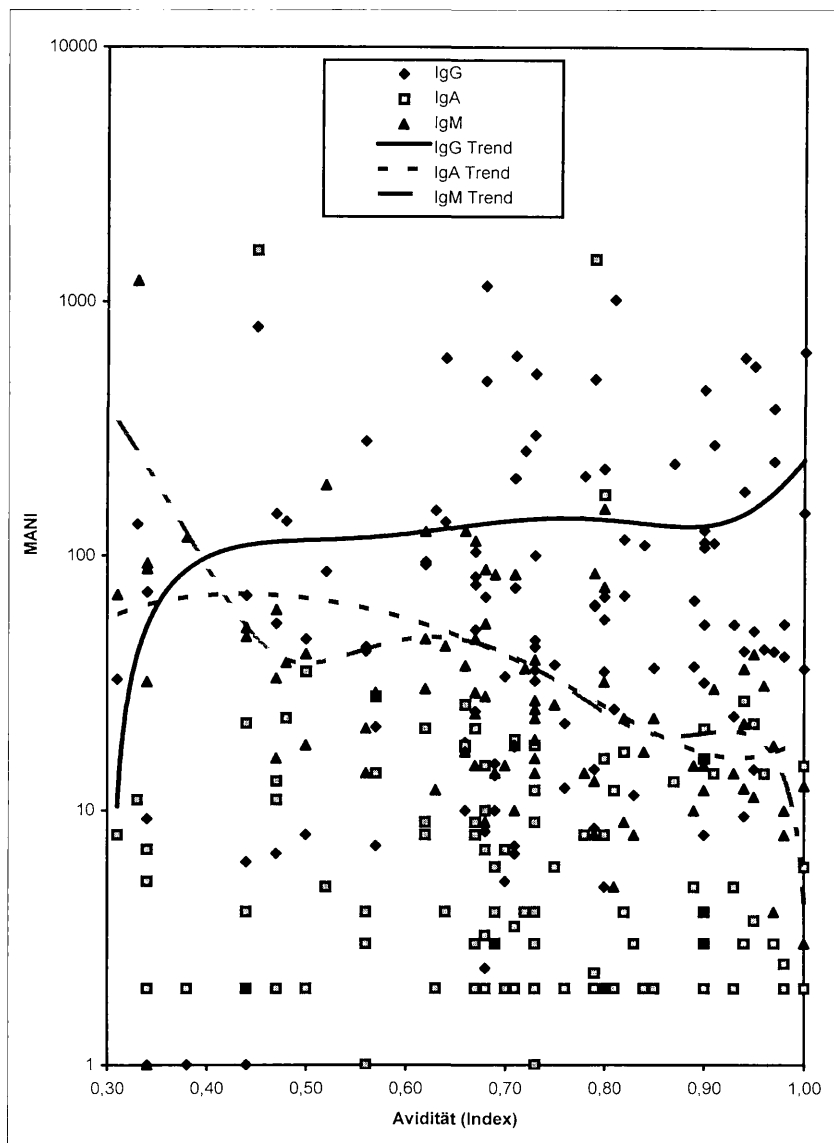


Abbildung 1:
Verteilung der Titer der Antikörperklassen im Verlauf des Aviditätsindex-Anstiegs und die Titerrends erhoben aus 114 Seren schwangerer Frauen mit Toxoplasma-Antikörpern.

fection, on the duration of the avidity increase, and on regularities of the avidity appearance can be presented.

The significance of the avidity assay as performed today can hardly be compared with the one of any established antibody test, and thus this assay is used as a second line confirmatory test only.

Key words

Toxoplasma gondii, avidity testing, primary infections, pregnant women

Danksagung

Die Autoren danken Herrn Dr. O. Picher für die Auswahl der Serumproben und Frau Ingrid Blöschl für die ausgezeichnete technische Arbeit.

Zusammenfassung

Das Ziel der Untersuchung war die Feststellung der Eignung des Aviditätstests für eine rasche Unterscheidung latenter und frischer Toxoplasma-Infektionen bei Schwangeren. Dazu wurden 114 Seren Schwangerer mit einem vermuteten Titer an spezifischen IgM-Antikörpern in der ELISA-Technik auf ihren Gehalt an spezifischen IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern getestet, und die Avidität der IgG-Antikörper erhoben. Durch den Vergleich der Werte können Aussagen über die Höhe der Avidität knapp nach einer Frischinfektion, über die Dauer des Anstiegs und über Gesetzmäßigkeit der Ausbildung getroffen werden.

Die Aussagekraft des Aviditätstests in seiner derzeitigen Form kann nur schwer mit anderen etablierten Antikörpertestverfahren verglichen werden, so daß dieses Verfahren bis auf weiteres nur als zweitrangiger Bestätigungstest verwendet wird.

Schlüsselwörter

Toxoplasma gondii, Aviditätstest, Frischinfektion, Schwangere

Summary

An avidity test for the detection of primary Toxoplasma infections

The aim of the study was the determination of the significance of an avidity test for a rapid discrimination of latent and primary Toxoplasma infections in pregnant women. For that purpose 114 sera of pregnant women with a suspected IgM-titer were tested in an ELISA technique for their contents of specific IgG-, IgM-, and IgA-antibodies, and for the avidity of specific IgG. Comparing these data, findings on the height of the avidity index at the very first days of in-

Literatur

1. ASPÖCK, H. (1982):
Toxoplasmose.
Hoffmann-La Roche Wien.
2. BOBIC, B., SIBALIC, D., DJURKOVIC DJAKOVIC, O. (1991):
High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infection. Case report.
Gynecol. Obstet. Invest. 31, 182-184.
3. HASSL, A., SIMON, K. (1998):
Avidity index calculation in eluting IgG-avidity assays.
(in Vorbereitung).
4. HEDMAN, K., LAPPALAINEN, M., SEPPAIA, I., MAKELA, O. (1989):
Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG.
J. Infect. Dis. 159, 736-740.
5. JENUM, P. A., STRAYPEDERSEN, B., GUNDERSEN, A. G. (1997):
Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G avidity.
J. Clin. Microbiol. 35, 1972-1977.
6. JOYNSON, D. H., PAYNE, R. A., RAWAL, B. K. (1990):
Potential role of IgG avidity for diagnosing toxoplasmosis [see comments].
J. Clin. Pathol. 43, 1032-1033.
7. LAPPALAINEN, M., et al. (1993):
Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG.
J. Infect. Dis. 167, 691-697.

Korrespondenzadresse Univ.-Doz. Dr. Andreas Haßl
Klinisches Institut für Hygiene der Universität Wien
Kinderspitalgasse 15
A-1095 Wien · Austria