

Kammerwasseranalytik bei intraokularer Toxoplasmose*

Zusammenfassung

Problemstellung: Die ätiologische Zuordnung einer Uveitis ist die Grundlage für eine erfolgreiche kausale Therapie. Neben den klinischen und serologischen Standarduntersuchungsverfahren bietet die Kammerwasseranalyse eine zusätzliche diagnostische Möglichkeit.

Patienten und Methode: Bei 46 Augen mit einer Retinochorioiditis (27), intermediärer Uveitis (11), Iridozyklitis (5) und Panuveitis (3) wurde das Kammerwasser auf Antikörper (AK) gegen *Toxoplasma gondii* untersucht. Die AK-Bestimmung erfolgte mit dem Enzym-linked-immuno-sorbent-Assay (ELISA) und die intraokulare AK-Synthese wurde durch Bildung des AK-Index ermittelt. Der Antikörperindex, der die mögliche polyspezifische Immunreaktion berücksichtigt, ist empfindlicher als der Goldmann-Witmer-Index.

Ergebnisse: Bei 20 Augen konnte eine intraokulare Antikörperbildung gegen *Toxoplasma gondii* nachgewiesen werden. Bei 9 von 20 dieser Augen bestand klinisch kein eindeutiger Hinweis einer intraokularen Toxoplasmose. Der Serum-AK-Titer gegen *Toxoplasma gondii* war dagegen bei allen 46 Patienten positiv und nur bei einem Patienten sprach der Serum-AK-Titer für eine akute *Toxoplasma-gondii*-Infektion.

Schlussfolgerung: Während bei der Kammerwasseranalytik in 5 % der Fälle falsch-positive bzw. -negative Befunde resultieren, weisen die Serumbefunde in etwa 50 % falsch-positive Ergebnisse auf. Zur Diagnostik der intraokularen Toxoplasmose sollte die Kammerwasseranalyse als Routinemethode genutzt werden, da sie gegenüber dem Serum eine wesentlich höhere Spezifität aufweist.

Schlüsselwörter

Kammerwasser · Toxoplasmose · Uveitis

Die ätiologische Zuordnung einer intraokularen Entzündung stellt auch heutzutage immer noch eine Herausforderung für den Augenarzt dar. Das klinische Bild sowie zahlreiche serologische und klinische Untersuchungsmethoden führen häufig nur zu einer Verdachtsdiagnose, auf deren Grundlage dann eine langandauernde und eingreifende medikamentöse Therapie mit Kortikosteroiden und Zytostatika, z. B. Methothrexat und Azathioprin oder Cyclosporin erfolgt.

In den Fällen, in denen keine sichere Diagnose gestellt werden kann, empfehlen Goldmann u. Witmer vor 40 Jahren, die Kammerwasseruntersuchung in die Diagnostik der Uveitis mit einzubeziehen [4, 8, 9]. Die Kammerwasseranalytik hat sich jedoch als Routinemethode bisher nicht durchsetzen können.

Die Entwicklung von Mikromethoden in Kombination mit spezifischen Antikörpern in kleinen Volumina sowie die Bildung eines für die polyspezifische Immunreaktion korrigierten Goldmann-Witmer-Index, als Antikörperindex (AI) bezeichnet, bieten heutzutage die Möglichkeit, noch genauer und gezielter die Kammerwasseruntersuchung bei der Diagnostik der intraokularen Entzündung zu nutzen. Dies ist gerade bei der Toxoplasmainfektion des Auges von besonderer Bedeutung, da wegen des hohen Durchseuchungsgrades der Bevölkerung mit *Toxoplasma gondii* in etwa 70 % der Fälle Antikörper (AK) im Serum nachweisbar sind [1, 5]. Ein positiver Serum-AK-Nachweis ist daher für eine intraokulare Toxoplasmainfektion nicht beweisend. Die Möglichkeit in der Kammerwasseranalytik Quotientendiagramme zu nutzen, bietet dagegen die Chance, eine Schrankenstörung oder eine intraokulare Immunreaktion zu quantifizieren [6, 7] und eine lokale AK-Bildung aufgrund einer *Toxoplas-*

ma-gondii-Infektion des Auges zu erkennen.

Patienten und Methode

Seit 1991 führten wir bei 46 Patienten mit Retinochorioiditis ($n = 27$), intermediärer Uveitis ($n = 11$), Iridozyklitis ($n = 5$) und Panuveitis ($n = 3$) eine Vorderkammerpunktion durch. Es handelte sich um 26 Frauen und 20 Männer im Alter zwischen 16 und 78 Jahren (Mittelwert $\times = 40,7$ Jahre). Ein Rezidiv wiesen insgesamt 11 Augen auf: Retinochorioiditis ($n = 8$), intermediäre Uveitis ($n = 3$). Ein 2. Rezidiv zeigten 6 Patienten mit einer Retinochorioiditis.

Die Entnahme des Kammerwassers erfolgte in Tropfanästhesie mit einer Insulinspritze und 28-gg.-Kanüle. In der Regel konnten zwischen 100 und 150 μ l Kammerwasser gewonnen werden. Die Nachbehandlung der Augen erfolgte mit einem Kombinationspräparat aus Kortikosteroid und Gentamicin.

Als Kontrollgruppe dienten 14 Patienten mit einer Katarakt, um den Antikörperindex im Kammerwasser bei entzündungsfreien Augen zu bestimmen. Das Alter dieser Patienten lag zwischen 58 und 85 Jahren (Median: 71 Jahre). Das Kammerwasser wurde bei diesen Augen zu Beginn der Kataraktoperation durch eine Vorderkammerpunktion entnommen.

Die Albumin- und IgG-Bestimmungen im Kammerwasser und parallel dazu im Serum des Patienten wurden mittels immunchemischer Nephelometrie (Beckmann Instr. München) vorgenommen. Die Antikörperbestimmung

* Vortrag gehalten auf der 94. Tagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft

Dr. C.-D. Quentin
Universitäts-Augenklinik, Robert Koch-Straße 40,
D-37075 Göttingen

Analysis of aqueous humor in uveitis with toxoplasmosis

Summary

Background: Despite many clinical examinations and laboratory tests, the cause of uveitis is very often not discovered. The examination of local intraocular antibody production is a valuable additional diagnostic means.

Patients and methods: Aqueous humor was obtained from 46 eyes with severe uveitis: retinochoroiditis ($n = 27$), intermediate uveitis ($n = 11$), iridocyclitis ($n = 5$), and panuveitis (3). With the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) the antibodies against *Toxoplasma gondii* were measured in aqueous humor and serum and the intraocular antibody production was calculated by the formation of an antibody index (AI). As the AI values are corrected for possible polyspecific immune response, the AI index is more sensitive than the Goldmann-Witmer index.

Results: An intraocular antibody synthesis against *T. gondii* could be confirmed in 20 eyes. The serum antibody concentration against *T. gondii* was in the reference range in 45 patients and only one patient had a very high increase of antibodies. In nine of 20 eyes, intraocular synthesis of antibodies against *T. gondii* was unexpected due to the lack of clinical evidence.

Conclusions: The aqueous humor analysis is more reliable than the proof of serum antibodies, and it helps to increase the number of eyes with uveitis in which a specific therapy can be established.

Key words

Aqueous humor · Toxoplasmosis · Uveitis

Tabelle 1

***Toxoplasma gondii*-Antikörper-Index im Kammerwasser. Kontrollwerte von 14 Augen mit Katarakt: Intraokulare Entzündung: Retinochoroiditis ($n = 17$), Panuveitis ($n = 2$), Iridozyklitis ($n = 1$)**

	<i>n</i>	Median	Bereich
Kontrollwerte	14	0,95	0,7–1,2
Intraokulare Entzündung	20	12,8	1,6–58

erfolgte mit dem Enzym-Linked-Immuno-Sorbend-Assay (ELISA)-Test (Behring, Marburg). Die intraokulare Antikörpersynthese wurde durch Bildung des Antikörperindex ermittelt, der auch die mögliche polyspezifische Immunreaktion berücksichtigt. In den Fällen, in denen eine intraokulare Synthese des Gesamt-IgG im Referenzbereich des Quotientendiagrammes liegt [7], wurde

$$AI = Q_{\text{Toxopl}}/Q_{\text{IgG}} \quad (1)$$

errechnet. Im Fall einer polyspezifischen intraokularen IgG-Synthese mit Q_{IgG} oberhalb des Referenzbereichs (Q_{Lim}) wird

$$AI = Q_{\text{Toxopl}}/Q_{\text{Lim}} \quad (Q_{\text{IgG}} > Q_{\text{Lim}}) \quad (2)$$

Q_{Lim} ist eine Hyperbelfunktion des Albuminquotienten mit folgenden für Liquor entwickelten Gleichungsparametern:

$$Q_{\text{Lim}} = 0,93 Q_{\text{Alb}}^2 + 6 \times 10^{-6} - 1,7 \times 10^{-3} \quad (3)$$

Die Quotienten $Q_{\text{Toxoplasma}}$, Q_{IgG} , Q_{Alb} etc. sind jeweils als Kammerwasser-Serum-Konzentrationsquotienten dimensionslos. Bei allen 46 Patienten erfolgte parallel zur Kammerwasseruntersuchung im

Serum die anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Bestimmung: IgM, IgA, IgG-EIT und IIFT.

Ergebnisse

Der Antikörperindex bei der Kontrollgruppe von 14 Kataraktaugen lag zwischen 0,7 und 1,2 ($1,0 \pm 2$ s). Pathologische Werte sind klinisch definiert als $AI > 1,4$.

Bei 20 von 46 Augen mit einer intraokularen Entzündung wurden Antikörperindexwerte von 1,6–58 gefunden (Tabelle 1). Bei den anderen 26 Augen mit einer intraokularen Entzündung lag der Antikörperindex im Normbereich.

Beim Vergleich der Untersuchungsergebnisse von Serum und Kammerwasser zeigte sich, daß von 46 Serumproben 37 für eine inaktive, 8 für eine fragliche und nur ein einziger Befund für eine frische intraokuläre Toxoplasmainfektion sprachen. Im Kammerwasser dagegen war der Antikörperindex 20 mal eindeutig positiv und 26 mal im Normbereich (Tabelle 2). Die Empfindlichkeit des Nachweises einer intraokulären Toxoplasmainfektion war somit im Kammerwasser deutlich höher als im Serum.

Bei der Zuordnung der Kammerwasserergebnisse zu den vorliegenden

Tabelle 2

***Toxoplasma gondii*-Antikörper bei intraokularer Entzündung ($n = 46$ Patienten). Ergebnisse und Beurteilung des anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Titers im Serum und im Kammerwasser (AI -Index $> 1,4$)**

	Serum	Kammerwasser
Akute Infektion	1	20
Fragliche Infektion	8	–
Inaktive Infektion	37	–
Negativ	–	26

Diskussion

intraokularen Entzündungszuständen war der Antikörperindex bei der Retinochorioiditis 17 mal, bei der Panuveitis 2 mal und bei der Iridozyklitis 1 mal positiv, während bei der intermediären Uveitis in keinem Fall ein erhöhter Antikörpertiter nachgewiesen werden konnte. Bei 9 von 20 Augen mit erhöhtem Antikörperindex für *Toxoplasma gondii* bestanden klinisch keine eindeutigen Zeichen einer intraokularen Toxoplasmose. Bei 5 dieser 9 Patienten wurde die bis dahin durchgeführte systemische Kortikosteroidbehandlung durch eine spezifische anti-*Toxoplasma gondii*-Therapie mit Pyrimethamin, Sulfadiazin und Folsäure ersetzt, ohne daß zwischenzeitlich ein erneutes Rezidiv beobachtet wurde.

Von den 26 Augen, bei denen der AK-Index im Kammerwasser im Normbereich lag, hatten wir in 1 Fall, einer sehr frischen Retinochorioiditis, den klinischen Verdacht einer *Toxoplasma gondii*-Infektion, so daß wir trotz eines negativen Kammerwasserbefunds eine spezifische Therapie einleiteten, unter der es zur Abheilung der Retinochorioiditis und Ausbildung pigmentierter Narben kam.

Bei 3 Patienten mit Retinochorioiditis und bei 1 Patienten mit Panuveitis kam es nach 5, 11, 14 bzw. 17 Monaten zu einem Rezidiv der intraokularen Entzündung trotz 5wöchiger anti-*Toxoplasma gondii*-Therapie. Nach einem erneuten Therapiezyklus mit zusätzlich Clindamycin für 4 Wochen konnte bisher kein erneutes Rezidiv beobachtet werden.

Von den 11 Patienten, die primär mit einem Rezidiv der intraokularen Entzündung überwiesen worden waren, wiesen 8 Augen einen erhöhten Antikörperindex für *Toxoplasma gondii* im Kammerwasser auf. In allen Fällen handelte es sich um eine Retinochorioiditis.

Von den 20 Augen, die einen erhöhten *Toxoplasma gondii*-AK-Index im Kammerwasser aufwiesen, wurde in 8 Fällen eine Erhöhung des Albuminquotienten, d. h. eine Schrankenstörung beobachtet; in 6 Fällen eine intraokulare IgG-Synthese und in 2 Fällen sowohl eine Schrankenstörung als auch eine IgG-Synthese. Nur in 4 Fällen lag der Kammerwasserproteinbefund im Normbereich des Quotientendiagramms.

Bei einem Durchseuchungsgrad der Bevölkerung mit *Toxoplasma gondii* von etwa 70 %, ist es nicht verwunderlich, daß sehr häufig Patienten mit einer intraokularen Entzündung einen positiven Serumantikörpertiter für *Toxoplasma gondii* aufweisen. Bei unseren 46 Patienten war dies sogar in 100 % der Fall.

Da das klinische Bild der okularen Toxoplasmose nicht immer eindeutig ist, kann die Diagnose häufig nicht zweifelsfrei gestellt werden. Daß in diesen Fällen der erhöhte anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Titer des Serums nur selten bei der Diagnose helfen kann [1, 3, 9], zeigt das Ergebnis unserer Studie. Nur bei 1 von 46 Patienten konnte wegen des stark erhöhten anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Titers eine akute intraokulare Toxoplasmainfektion vermutet werden. Alle 46 Patienten wiesen wegen einer inapparent verlaufenen *Toxoplasma gondii*-Infektion Antikörper im Serum auf. Bei einer allein auf den Serumnachweis von *Toxoplasma gondii*-Antikörpern gestützten Diagnose käme es zu einer hohen Rate falsch-positiver Diagnosen (über 50 %). Wir konnten im Kammerwasser bei 46 Augen mit einer intraokularen Entzündung 20 mal einen erhöhten Antikörperindex für *Toxoplasma gondii* nachweisen. Die Kammerwasseruntersuchung führt somit gegenüber der Serumuntersuchung zu einer klinisch geschätzten 19fach höheren Sensitivität.

Der Nachweis einer intraokularen anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Produktion im Kammerwasser mit Hilfe des Antikörperindex ist gegenüber der Seruntiterbestimmung eindeutiger zu interpretieren. Bei einer intraokularen Entzündung wären wegen des entzündlichen Blut-Retina-Schranken-Defekts vermehrt anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper im Kammerwasser nachweisbar, doch könnte der Antikörperindex aufgrund theoretischer Überlegung nicht größer als 1,0 sein. Berücksichtigt man methodische Fehler, so ist ein Antikörperindex bis zu 1,3 normal.

Die Sicherheit der Analytik ist größer, wenn mehrere Antikörper im Kammerwasser und Serum gleichzeitig bestimmt werden. Im Rahmen einer intraokularen Entzündung kann auch eine polyspezifische Immunreaktion mit Er-

höhung mehrerer IgG-Antikörper auftreten. Das klinische Bild und die polyspezifische Antikörpererhöhung, insbesondere die Kombination mit Masern, Röteln und Varizella-Zoster, helfen dann die unspezifische anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Synthese zu erkennen.

Bei einer frischen intraokularen Entzündung kann der Zeitpunkt der Vorderkammerpunktion vor der Ausbildung einer humoralen Immunreaktion liegen, so daß evtl. im Kammerwasser noch keine Antikörper nachweisbar sind und ein falsch-negatives AI-Ergebnis resultiert.

Dies erklärt, warum wir beim klinischen Verdacht einer frischen Toxoplasmoseretinochorioiditis bei einer 23-jährigen Patientin im Kammerwasser keine Antikörper nachweisen konnten.

Bei 1 Patienten mit einer vor 14 Jahren abgelaufenen intraokularen Toxoplasmoseentzündung konnten wir im Rahmen einer Kataraktoperation einen deutlich erhöhten *Toxoplasma gondii*-Antikörper-Titer mit einem Antikörperindex von 5,2 im Kammerwasser feststellen. Dieser positive Antikörpernachweis muß als sog. „Narbe“ gedeutet werden. Diese könnte von der seit 14 Jahren langsam abklingenden Immunität herrühren oder auch durch eine zwischenzeitliche Reaktivierung der Toxoplasmosen verursacht sein [7].

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) mit Nachweis der Erreger-DNA im Kammerwasser hat bei der intraokularen Toxoplasmose eine hohe Spezifität, jedoch eine sehr geringe Sensitivität von etwa 30 %, d. h. 70 % falsch-negative Ergebnisse [3]. Die PCR ist somit zur Diagnostik der intraokularen Toxoplasmose nicht geeignet.

Bei der Bildung des AK-Index liegt bei hoher Spezifität der Anteil falsch-positiver oder falsch-negativer Ergebnisse nach unserer Studie bei etwa 5%. Da sich die Vorderkammerpunktion als ein einfacher, komplikationsarmer Eingriff erwiesen hat, sollte die Kammerwasserdiagnostik beim Verdacht auf eine intraokulare *Toxoplasma gondii*-Infektion häufiger genutzt werden. Sie stellt eine wichtige und aussagekräftige Methode dar, die bei unklarem klinischem Bild oder Rezidiven die Diagnose sichern kann, so daß eine spezifische Therapie möglich wird.

Fazit für die Praxis

Das klinische Bild der okulären Toxoplasmose ist nicht immer eindeutig. Aufgrund des hohen Durchseuchungsgrades der Bevölkerung mit *Toxoplasma gondii* von ca. 70% ist ein positiver Serum-Antikörper-Nachweis für eine intraokulare Toxoplasmose nicht beweisend.

Die Entwicklung von Mikromethoden in Kombination mit spezifischen Antikörpern in kleinen Volumina sowie die Bildung eines für die polyspezifische Immunreaktion korrigierten Goldmann-Witmer-Index, als Antikörper-Index bezeichnet, bieten die Möglichkeit einer genaueren und gezielteren Untersuchung des Kammerwassers in der Diagnostik intraokularer Entzündungen.

Der Nachweis einer intraokularen anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörper-Produktion im Kammerwasser mit Hilfe des Antikörper-Index, ist gegenüber der Serumtitrierbestimmung eindeutiger zu interpretieren. Bei einer frischen intraokularen Entzündung kann der Zeitpunkt der Vorderkammerpunktion jedoch vor der Ausbildung einer humoralen Immunantwort liegen, so daß im Kammerwasser evtl. noch keine Antikörper nachweisbar sind. Bei Bildung des Antikörper-Index liegt bei hoher Spezifität der Anteil falsch-positiver oder -negativer Ergebnisse bei 5%.

Literatur

1. Anderson S (1979) **Toxoplasma gondii**. In: Mandel GL, Douglas REG Jr, Benett JE (eds) Principles and practice of infectious disease. Wiley, New York, p 2127
2. Aouzerate F, Cazenave J, Poirier L, Verin P, Gervais C, Lagoutte F, Begueret J (1991) **Detection directe de toxoplasmes dans l'humeur aqueuse par amplification génique (PCR)**. J Fr Ophthalmol 14: 550–555
3. Garweg J, Boehnke M, Koerner F (1996) **Restricted applicability of the polymerase chain reaction for the diagnosis of ocular toxoplasmosis**. Ger J Ophthalmol 5: 104–108
4. Goldmann H, Witmer R (1957) **Antikörper im Kammerwasser**. Ophthalmologica 127: 323–330
5. Kijlstra A, Luyendijk L, Baarsma GS, Rothova A, Schweitzer CM, Timmermann Z, Vries J de, Breebaart AC (1989) **Aqueous humor analysis as a diagnostic tool in Toxoplasma uveitis**. Int Ophthalmol 13: 383–386
6. Reiber H, Lange P (1991) **Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain**. Clin Chem 7: 1153–1160
7. Reiber H (1995) **Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis**. Lab Med 19: 444–462
8. Witmer RH (1955) **Ätiologische Diagnostik der Uveitis**. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 156: 235–260
9. Witmer RH (1978) **Clinical implications of aqueous humor studies in uveitis**. Am J Ophthalmol 86: 39–45