

Die Erfassung von zirkulierendem *Toxoplasma*-Antigen durch monoklonale Antikörper

W. A. Müller, Gudrun Koch, K. Becker, Elke Philipp, Astrid Wohlfahrt

Einleitung

Die akute *Toxoplasma*-Infektion bereitet dem klinisch tätigen Arzt oftmals differentialdiagnostische Schwierigkeiten, so daß er bei der Diagnosefindung die Unterstützung durch paraklinische Befunde sucht.

In der vorliegenden Arbeit wird ein Zweiseiten-Enzymimmuntest mit monoklonalen Antikörpern (mAK) zur Erfassung von zirkulierendem *Toxoplasma gondii*-Antigen (zTgA) in Körperflüssigkeiten des Menschen vorgestellt. Dieser sogenannte Toxo-Ag-EIA ermöglicht den Nachweis einer akuten Toxoplasmose auch zu einem Zeitpunkt, da spezifische Antikörper bei den Patienten noch nicht oder nur in geringer Menge gebildet werden.

Material und Methoden

Toxoplasma gondii

Für die Herstellung von Antigenpräparationen wurde der RH-Stamm von *Toxoplasma gondii* eingesetzt. Die Toxoplasmen wurden in Zellkulturen (7) oder im Peritonealraum von Shoe-NMRI-Mäusen gezüchtet. Zur Charakterisierung der mAK wurde weiterhin ein für Mäuse schwach virulenter zystenbildender Stamm (Han R) herangezogen.

Für die Überlassung dieses *Toxoplasma*-Stammes bedanken wir uns bei Herrn Prof. Dr. M. Rommel, Institut für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Der Stamm wurde aus einem Hausschwein gezüchtet und von uns als Han R bezeichnet.

Toxoplasma-Lysatantigen (TLA)

Durch Ultraschallintegration wurde aus einer RH-Tachyzoitensuspension in Dulbecco's PBS mit 2×10^8 *Toxoplasma*-Zellen pro ml und $< 1\%$ Peritonealzellen unter Zusatz von 10 mg/l Sojabohnentrypsininhibitor (Reanal) und 0,1 mM/l Phenylmethylsulfonylfluorid (Serva) ein Lysatantigen hergestellt. Danach wurde die Flüssigkeit bei 3.800 g für 20 Minuten zentrifugiert, der Überstand portioniert, lyophilisiert und bei 4° C gelagert.

Monoklonale Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*

Die Herstellung und Charakterisierung der mAK ist bereits beschrieben (6, 8).

Die Hybridzellen wurden in BALB/c-Mäusen expandiert und die mAK aus dem Immunszites durch eine zweimalige Fällung mit 47% Ammoniumsulfat und einer anschließenden Ionenaustauschchromatographie mit DEAE-Sephacel gewonnen. Die Enzymmarkierung der mAK mit Meerrettichperoxidase (POD) erfolgte nach der Perjodatmethode (11).

Kaninchen-Antitoxoplasma-IgG

Drei Kaninchen der Rasse Weiße Neuseeländer mit einem Körpergewicht von etwa 3 kg wurden pro Tier mit 10^3 und nach vier Wochen erneut mit 10^4 vitalen RH-Tachyzoiten intravenös infiziert. 30 Tage nach der Boosterung erreichte der Antikörpertiter im indirekten Immunfluoreszenztest Werte zwischen 10^4 und 4×10^4 . Die Tiere wurden zu diesem Zeitpunkt entblutet und aus dem Serum durch Ammoniumsulfatfällung und anschließender Ionenaustauschchromatographie an DEAE-Sephadex A 50 die IgG-Antikörper gewonnen. Diese Antikörper wurden wie die mAK teilweise mit POD markiert und als polyklonales Bezugssystem im Toxo-Ag-EIA eingesetzt.

Patientenseren und Toxoplasmose-Serologie

Für die Erprobung des Toxo-Ag-EIA wurden Patientenseren herangezogen, die bei klinischem Verdacht auf eine Toxoplasmose bzw. zum Ausschluß einer Toxoplasma-Infektion in unserem Laboratorium zur spezifischen Antikörperbestimmung eingegangen waren.

Als Kontrollgruppe für den Toxo-Ag-EIA wurden 150 Serumproben von Neugeborenen untersucht, bei deren Müttern im Verlauf der Gravidität keine Anhaltspunkte für eine frische Toxoplasma-Infektion gefunden wurden. Die serologischen Verfahren umfaßten den IgG- bzw. IgM-Nachweis im indirekten Immunfluoreszenztest (IFT), in der KBR (2), und den IgG-Nachweis in einem Enzymimmuntest (9).

Zweiseiten-Enzymimmuntest zum Nachweis von zTgA mit monoklonalen und polyklonalen Antikörpern

Mikrotestplatten (MPT) mit 96 Vertiefungen dienten als Festphase im Enzymimmuntest. Durch entsprechende Vorversuche wurden die optimale Konzentrationen für die Antikörperbeladung der MTP und die Gebrauchsverdünnung des Konjugates ermittelt. Als Fangantikörper für das zTgA wurde ein Cocktail der mAK 1 B 2 und 4 F 6, als Nachweisantikörper 5 B 10 markiert mit POD eingesetzt. In 20 Fällen, wo in den Patientenseren durch die mAK zTgA nachgewiesen wurde, erfolgte eine Serumnachuntersuchung mit dem polyklonalen System unter Einsatz des Toxoplasma-Kaninchen-IgG.

Der Toxo-Ag-EIA wurde unter folgenden Bedingungen ausgeführt:

1. Adsorptive Bindung der Fangantikörper in Karbonatpuffer pH = 9,6 über 18 Std. bei 4° C an die MTP.

2. 3×3 min waschen mit je 250 μ l PBS (0,15 M/l NaCl, 0,01 M/l Kalium-/Natriumphosphatpuffer, pH = 7,2) mit einem Zusatz von 0,05% Tween 20.

3. 50 μ l unverdünntes Patientenserum und 50 μ l Konjugat in der Gebrauchsverdünnung (1 : 1.000 bis 1 : 4.000), 3 Stunden 37° C.

4. wie 2.

5. 100 μ l frisch bereitete Substratlösungen (1 mg/ml ortho-Phenylendiamin, 0,005% H₂O₂ in 0,1 M/l Na-Zitratpuffer pH 4,5), 30 min 37° C.

6. Abstoppen der Enzymreaktion mit 50 μ l 2 M/l H_2SO_4 mit einem Zusatz von 0,1 M/l Natriumsulfit.

7. Extinktionsmessung bei 492 nm.

Um eine möglichst gleichmäßige Bewertung der Testergebnisse des Toxo-Ag-EIA erreichen zu können, wurden auf jeder MTP negativ und positiv reagierende Kontrollen mitgeführt.

Als negative Kontrolle diente ein Pool von 20 Patientenseren, die im IFT-IgG in einer Verdünnung von 1 : 4 und in der KBR in einer Verdünnung 1 : 10 negativ reagierten sowie im Toxo-Ag-EIA Extinktionen $\leq 0,1$ zeigten. Die positiv reagierende Kontrolle wurde durch die Verdünnung des TLA mit dem negativ reagierenden Humanserumpool hergestellt (12 μ g TLA/ml Serum).

Die Bewertungskriterien hinsichtlich des Ausfalls des Toxo-Ag-EIA sind dadurch festgelegt, daß ein Patientenserum als negativ reagierend eingestuft wurde, wenn der Extinktionsmittelwert von zwei Parallelwerten höchstens das Doppelte des Extinktionsmittelwertes der negativ reagierenden Kontrolle (Dreifachansatz) oder weniger betrug. Als positiv reagierend wurden Serumproben eingeschätzt, deren Extinktionsmittelwert mindestens das Dreifache des Extinktionsmittelwertes der negativ reagierenden Kontrolle erreichte. Diese Proben wurden anschließend titriert.

Ergebnisse

Insgesamt wurden 5.171 Serumproben parallel auf Toxoplasma-Antikörper und zirkulierendes Toxoplasma-Antigen untersucht. Von diesen Seren kamen 4.559 als Ersteinsendungen und 612 als Nachfolgeuntersuchungen in das Labor. Bei 257 (5,6%) der Ersteinsendungen wurden durch den Toxo-Ag-EIA mit mAK im Serum zTgA nachgewiesen (Abb. 1). Diese 257 Serumproben gestatten hinsichtlich der Anwesenheit von Toxoplasma-Antikörpern und/oder zTgA die Gliederung in drei Gruppen:

— Seren, in denen Toxoplasma-Antikörper in großer Menge vorlagen (IFT-IgG ≥ 640 , IFT-IgM ≥ 20 , KBR ≥ 20) und zTgA nachweisbar war.

Die Angaben zur klinischen Symptomatik, verbunden mit den Antikörperbefunden, weisen auf das Vorliegen einer akuten Toxoplasma-Infektion bei dieser Personengruppe hin.

— Seren, in denen Toxoplasma-Antikörper in niedrigen Titern (IFT-IgG ≤ 160 , IFT-IgM negativ, KBR ≤ 10) und zTgA nachweisbar war.

— Seren, in denen Toxoplasma-Antikörper durch die eingesetzten Routinemethoden nicht aufgefunden, aber zTgA anwesend war.

Diese Serumgruppe ist in Abbildung 2 näher aufgliedert.

Bei den Patienten der Gruppe ohne Toxoplasma-Antikörper wurden Wiederholungsuntersuchungen über einen längeren Zeitraum durchgeführt. Dabei waren in einer Anzahl von Fällen mehrere Wochen bis Monate nach der ersten Untersuchung erstmalig Toxoplasma-Antikörper nachweisbar (Tab. 1).

Die im Toxo-Ag-EIA positiv reagierenden Patientenseren enthielten keine Antikörper gegen Zellkernbestandteile, was durch ihre Untersuchung auf die Anwesenheit von antinukleären Antikörpern in der indirekten Immunfluoreszenz an Kryostatschnitten von Meerschweinchenleber ermittelt wurde. Ebenso wenig waren Rheumafaktoren durch den Latextest und die Hämagglutination nach Podliachouk-Harboe nachzuweisen.

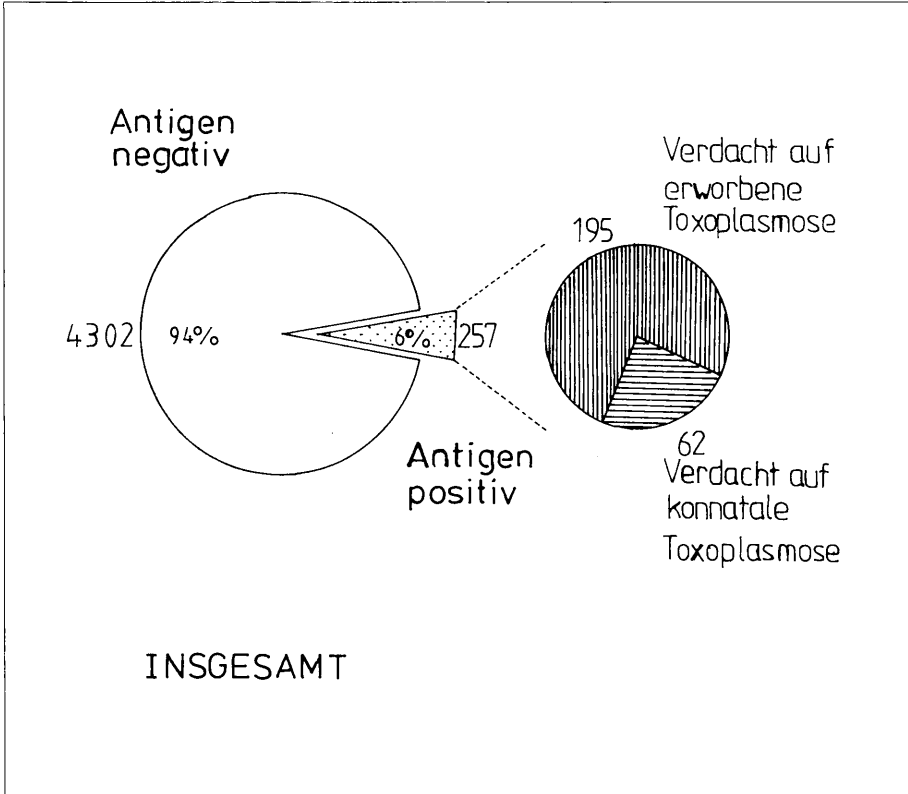


Abb. 1:

Der Nachweis von zirkulierendem Toxoplasma-Antigen mit monoklonalen Antikörpern in 4.559 Serumproben

Um die Spezifität des Toxoplasma-Antigennachweises abzusichern, wurden Serumproben mit gesichertem Gehalt an Kernantikörpern bzw. Rheumafaktoren im Toxo-Ag-EIA untersucht. 19 Serumproben, die einen IFT-Titer von 160 bis ≥ 5.120 an Kernantikörpern aufwiesen, reagierten negativ. Von den Seren mit Rheumafaktoren reagierten zwei Proben (Serum Nr. 9 und 18) positiv. Nach einer Absorption mit dem Latexreagens verschwanden die Rheumafaktoren, das Toxoplasma-Antigen jedoch wurde weiterhin nachgewiesen (Tab. 2). 20 Serumproben, in denen zTgA durch den Toxo-Ag-EIA mit mAK festgestellt war, wurden mit dem polyklonalen Kaninchen-IgG-System nachuntersucht. Dabei wurde in nur 4 Fällen ein positiver Reaktionsausfall ermittelt (Tab. 3).

Die 150 Serumproben von Neugeborenen, deren Mütter keine Toxoplasma-Infektion in der Schwangerschaft durchmachten, zeigten im Toxo-Ag-EIA nur negative Reaktionen.

Diskussion

Die für den Toxo-Ag-EIA entwickelten mAK 1 B 2, 4 F 6 und 5 B 10 sind gegen Oberflächenantigene der Tachyzoiten des RH-Stammes und Zysten von *Toxoplasma gondii* gerichtet (6, 8, 9).

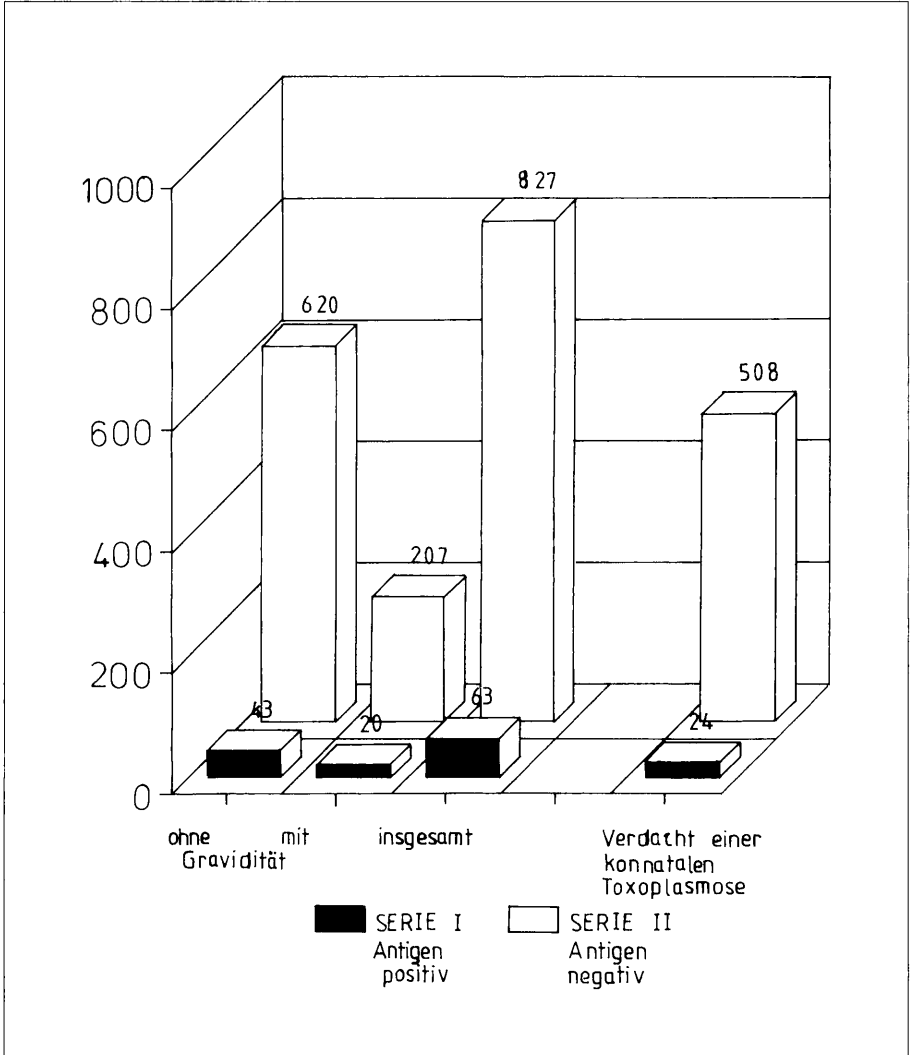


Abb. 2:

Aufgliederung der Patientenseren ohne Toxoplasma-Antikörper, die jedoch in 87 Fällen zirkulierendes Toxoplasma-Antigen beinhalten.

Der Einsatz des Fangantikörpercocktails aus 1 B 2 und 4 F 6 brachte bei Patientenseren wesentlich höhere Extinktionswerte als mit 1 B 2 allein erreichbar war. ARAUJO et al. (1) berichteten, daß bei ihren Untersuchungen durch einen Fangantikörpercocktail aus bis zu 4 verschiedenen mAK keine Empfindlichkeitssteigerung resultierte. Im Gegensatz zu unserem mAK-System haben die Autoren als Nachweisantikörper enzymmarkiertes Kaninchen-IgG F(ab)₂ verwendet und den Einsatz eines Antikörpercocktails nur mit einer TLA-Präparation überprüft.

Auch wir fanden bei einschlägigen Untersuchungen, wobei 8 verschiedene mAK in verschiedenen Kombinationen als Fangantikörpercocktail und Kaninchen-IgG-POD als Nachweisantikörper zur Erfassung von 10 µg/ml TLA-Protein in PBS eingesetzt wur-

TABELLE 1
Toxoplasma-Antikörper-Serokonversion bei Patienten mit zunächst isoliert positivem Toxoplasma-Antigennachweis

Patient Alter / Geschlecht Klinik	Unter- suchungs- zeitpunkt (in Wochen)	Toxoplasmose-Serologie				zTgA
		IFT IgG	IFT IgM	EIA IgG	KBR	
P. B. 18 Jahre Lymphadenitis	0	∅	nd	nd	∅	+
	5	10	nd	nd	∅	+
S. B. 6 Jahre Lymphadenitis	0	∅	∅	∅	∅	+
	3	∅	∅	∅	∅	+
	16	∅	∅	∅	∅	+
	39	640	∅	8000	80	+
	42	640	∅	8000	40	+
W. E. 26 Jahre klinischer Toxo- plasmose-Verdacht	0	∅	∅	∅	∅	+
	3	20	∅	200	∅	+
B. H. 23 Jahre Gravidität	0	∅	∅	∅	∅	+
	4	20	nd	400	∅	+
E. L. 7 Jahre Anfallsleiden	0	∅	∅	∅	∅	+
	36	640	80	8000	20	∅
	44	640	nd	8000	20	+
	47	160	20	4000	20	+
P. R. 18 Jahre Panuveitis	0	∅	nd	nd	∅	+
	2	∅	nd	nd	∅	+
	70	640	160	4000	nd	+
A. S. 20 Jahre Lymphadenitis	0	∅	∅	∅	∅	+
	4	640	nd	1000	10	+
	6	640	nd	2000	10	+
B. S. 32 Jahre Gravidität	0	∅	∅	∅	∅	+
	4	20	nd	400	nd	∅
D. S. 1,5 Jahre Lymphadenitis	0	nd	nd	∅	nd	+
	7	nd	nd	∅	nd	+
	28	nd	nd	∅	nd	+
	81	640	nd	8000	80	+
M. W. 8 Jahre Lymphadenitis	0	∅	∅	nd	∅	+
	3	∅	∅	nd	∅	+
	7	∅	∅	nd	∅	+
	10	∅	∅	nd	∅	+
	17	nd	nd	∅	nd	+
	34	nd	nd	∅	nd	+
	103	40	∅	1000	∅	∅

TABELLE 2
Einsatz Rheumafaktor-haltiger Patientenserum im Toxo-Ag-EIA
mit monoklonalen Antikörpern

Patienten-Serum-Nummer	Rheumafaktor-Serologie			Toxo-Ag-EIA Extinktions- mittelwert, (n = 2)	
	Harboe*	Latex**	ASL***		
01	256	+	nd	0,116	
02	1024	+	nd	0,053	
03	512	+	400	0,087	
04	512	+	nd	0,088	
05	128	+	nd	0,055	
06	1024	+	nd	0,123	
07	256	+	nd	0,065	
08	128	∅	nd	0,041	
09	256	+	nd	<u>0,510</u>	
10	256	+	< 200	0,136	
11	128	+	nd	0,051	
12	256	+	nd	0,045	
13	128	+	nd	0,153	
14	256	+	nd	0,052	
15	128	∅	< 200	0,083	
16	128	+	nd	0,071	
17	256	+	nd	0,058	
18	256	+	nd	<u>0,622</u>	
19	2048	+	nd	0,136	
Kn = 0,065					
Wiederholungsuntersuchung: vor/ nach Latex-Absorption					
09	(vor)	nd	+	nd	0,948
09	(nach)	nd	∅	nd	0,535
18	(vor)	nd	+	nd	1,170
18	(nach)	nd	∅	nd	0,930
Kp	(vor)	÷	∅	÷	1,260
Kp	(nach)	÷	∅	÷	0,913
Kn	(vor)	÷	∅	÷	0,119
Kn	(nach)	÷	∅	÷	0,088

*: Titer der Hämagglutination nach PODLIACHOUK-HARBOE

**: Latex-RF-Testkit (Behringwerke AG)

***: Antistreptolysin-Titer

nd: nicht durchgeführt

Kp: positiv reagierende Kontrolle für den Toxo-Ag-EIA

Kn: negativ reagierende Kontrolle für den Toxo-Ag-EIA

den, daß ein Fangantikörpercocktail nicht die theoretisch zu erwartenden Vorteile über einen Einzelantikörper erkennen läßt. Da die mAK epitopspezifisch reagieren und nach einer Immunisierung mit komplexen Antigenen sodann Hybridzellen mit mAK gegen verschiedene Epitope vorliegen, wäre zu erwarten, daß ein Antikörpercocktail bei der TLA-Erfassung im Toxo-Ag-EIA eine Verbesserung bringt. Die Empfindlichkeitssteigerung des Toxo-Ag-EIA durch den Einsatz der zwei ausgewählten mAK (1 B 2 und

TABELLE 3
Vergleich des monoklonalen und polyklonalen Toxo-Ag-EIA-Systems beim Nachweis von *Toxoplasma gondii*-Antigenen in Patientenseren

Patienten-Serum-Nummer / Kontrollen	Extinktionsmittelwerte (n = 3)	
	Toxo-Ag-EIA (monoklonal)	Toxo-Ag-EIA (polyklonal)
01	0,288	0,063
02	0,203	0,114
03	1,071	0,099
04	0,928	0,062
05	0,196	0,273
06	0,889	0,054
07	0,588	0,114
08	0,284	0,267
Kn	0,027	0,049
Kp	0,702	2,611
09	0,251	0,062
10	0,688	0,126
11	2,622	0,059
12	2,514	0,058
13	0,258	1,465
Kn	0,078	0,089
Kp	0,562	2,446
14	1,869	0,208
15	1,392	0,124
16	0,999	0,146
17	0,456	0,630
18	1,513	0,235
19	2,910	0,282
20	0,315	0,178
Kn	0,084	0,144
Kp	0,651	2,609

Kn: negativ reagierende Kontrolle für den Toxo-Ag-EIA
 Kp: positiv reagierende Kontrolle für den Toxo-Ag-EIA

4 F 6) als Fangantikörpercocktail zeigte sich erst deutlich bei der Untersuchung auf zTgA in Patientenseren. Mit dem Fangantikörpercocktail wurden deutlich höhere Extinktionswerte ermittelt als mit den einzelnen monoklonalen Antikörpern 1 B 2 bzw. 4 F 6 erreichbar waren.

ARAUJO et al. (1) weisen in ihren Untersuchungen darauf hin, daß der mAK 1 E 11 bei zwei von zehn Serumproben mit antinukleären Antikörpern in ihrem Toxoplasma-Antigen-ELISA falsch positiv reagierte. Ebenfalls falsch positive Befunde könnten erwartet werden, wenn im Patientenserum Rheumafaktoren vorliegen, die an den monoklonalen Mausantikörpern binden und zur Brückenbildung zwischen Fangantikörpern und

enzymmarkiertem Detektorantikörper führen. Darum werden alle Patientenserumproben, bei denen der Toxo-Ag-EIA positiv ausfällt, auf die Anwesenheit von antinukleären Antikörpern und Rheumafaktoren kontrolliert. Die negativen diesbezüglichen Ergebnisse bestätigen die Spezifität des Toxo-Ag-EIA.

Im gleichen Sinne sind die Testergebnisse des Toxo-Ag-EIA zu werten, die bei der Untersuchung der 150 Neugeborenen (Kontrollgruppe) stets negativ ausfielen.

Die gute Empfindlichkeit zum Nachweis zTgA durch die monoklonalen Antikörper im Vergleich mit einem analogen polyklonalen Nachweissystem zeigte sich darin, daß von 20 Serumproben alle in dem monoklonalen, aber nur vier in dem polyklonalen Testsystem positiv reagierten. Offensichtlich sind in der Kaninchenimmunglobulinfraktion diejenigen Antikörper unterrepräsentiert, die gegen Toxoplasma-Epitope gerichtet sind, welche von den mAK erkannt werden. Mit polyklonalen Toxoplasma-Antikörpern wurden bei HIV-Infizierten in Österreich durch die Arbeitsgruppe von ASPÖCK (3, 4, 5) Tests zum Toxoplasma-Antigennachweis beschrieben, die eine diagnostische Bereicherung bei der rechtzeitigen Erkennung der akuten Toxoplasmose darstellen.

Bei der Untersuchung der 4.559 Patientenserumproben wurde in 257 Fällen (6%) zirkulierendes Toxoplasma-Antigen nachgewiesen. Bei 87 dieser Personen, deren Serumproben im Toxo-Ag-EIA positiv reagierten, ließen sich durch die von uns eingesetzten Antikörpernachweissysteme (IFT-IgG, IFT-IgM, EIA-IgG und KBR) keine Toxoplasma-spezifischen Immunglobuline erfassen.

Bei Nachfolgeuntersuchungen, die bei einigen Patienten über einen Zeitraum von mehreren Monaten erfolgten, wurden diese Befunde erneut bestätigt. Bei zehn Patienten gelang es, den Zeitpunkt der Antikörperkonversion zu erkennen. Dabei war überraschend, daß bei einigen Personen ein längerer Zeitraum zwischen dem ersten Auftreten des zirkulierenden Toxoplasma-Antigens und dem Nachweis von Toxoplasma-Antikörpern lag. Eventuell besitzen die mit den monoklonalen Toxoplasma-Antikörpern 1 B 2, 4 F 6 und 5 B 10 erfaßten Antigenepitope keine starken immunogenen Eigenschaften zur Induktion der humoralen Immunantwort, so daß die Antikörperbildung erst zu einem späteren Zeitpunkt der Auseinandersetzungen zwischen Parasit und Wirt einsetzt. Inwieweit in diesen Fällen besondere Verhältnisse auf Seiten der Toxoplasma-Stämme (10) oder im Immunsystem der betreffenden Patienten zu suchen sind, können nur weitere Forschungsarbeiten klären. Ob die vorgestellten Untersuchungen mit monoklonalen Toxoplasma-Antikörpern eine Relevanz für die Schwangerenüberwachung besitzen könnten, ist ungewiß. Nach den Erfahrungen in Österreich haben sich Tests zum Nachweis von zirkulierendem Toxoplasma-Antigen im Rahmen der Toxoplasmose-Screenings der Schwangeren nicht als entscheidende Verbesserung erwiesen.

Zusammenfassung

Drei monoklonale Antikörper gegen Oberflächenantigene von Toxoplasma-Tachyzoiten und Zystozoen wurden in einem Enzymimmunoassay zum Nachweis von zirkulierenden Toxoplasma-Antigenen in Serumproben von 4.559 Patienten eingesetzt. Bei 5,6% von ihnen wurden zirkulierende Antigene erfaßt.

Von diesen Patienten waren bei 87 Personen im Serum durch die indirekte Immunfluoreszenz, KBR bzw. den Toxo-IgG-EIA weder IgG- noch IgM-Antikörper nachzuweisen. Nachfolgende Untersuchungen ergaben, daß die Antikörperantwort erst Wochen bzw. Monate nach dem ersten Toxoplasma-Antigennachweis feststellbar wurde.

Schlüsselwörter

Zirkulierende Toxoplasma-Antigene, verzögerte humorale Immunantwort.

Summary

Detection of circulating *Toxoplasma* antigen by monoclonal antibodies

Three monoclonal antibodies to surface antigens of *Toxoplasma* tachyzoites and cystozoites were used in an enzyme immunoassay for detecting circulating *Toxoplasma* antigens in specimens of serum of 4559 patients. Circulating antigens were found in 5.6% of them.

Of these patients, in 87 subjects neither IgG nor IgM antibodies could be detected in the sera by indirect immunofluorescence, KBR and Toxo-IgG-EIA. Follow-up showed the antibody response only weeks or months after the first evidence of *Toxoplasma* antigen.

Key words

Circulating *Toxoplasma* antigens delayed humoral immunologic response.

Literatur

1. ARAUJO, F. G., HANDMAN, E., REMINGTON, J. S. (1980):
Use of monoclonal antibodies to detect antigens of *Toxoplasma gondii* in serum and other body fluids.
Infect. immun. 30, 12-16.
2. ESCHMENT, R. (1975):
Die Diagnose der Toxoplasmose.
Öff. Gesundh.-Wesen 37, 221-224.
3. HASSL, A., AUER, H., HERMENTIN, K., PICHER, O., ASPÖCK, H. (1987):
Experimental studies on circulating antigen of *Toxoplasma gondii* in intermediate hosts: criteria for detection and structural properties.
Zbl. Bakt. Hyg. A 263, 625-634.
4. HASSL, A., ASPÖCK, H., FLAMM, H. (1988):
Circulating antigen of *Toxoplasma gondii* in patients with AIDS: significance of detection and structural properties.
Zbl. Bakt. Hyg. A 270, 302-309.
5. HASSL, A., ASPÖCK, H. (1990):
Antigens of *Toxoplasma gondii* recognized by sera of AIDS patients before, during and after clinically important infections.
Zbl. Bakt. 272, 514-525.
6. KOCH, G., WOHLFARTH, A., MÜLLER, W. A. (1989):
Charakterisierung von monoklonalen Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii*.
Z. gesamte Hyg. 35, 615-617.
7. MÜLLER, W. A. (1985):
Stammerhaltung von *Toxoplasma gondii* in permanenten Mäusemakrophagenkulturen.
Angew. Parasitol. 26, 221-222.
8. MÜLLER, W. A., BECKER, K., SCHÄFFER, A., KOCH, G., BORKHARDT, H.-L. (1989):
Die Gewinnung von Hybridzellen, die monoklonale Antikörper gegen *Toxoplasma gondii* produzieren.
Angew. Parasitol. 29, 11-17.
9. MÜLLER, W. A., KOCH, G., WOHLFARTH, A., BORKHARDT, H.-L. (1990):
Toxoplasmose-Serodiagnostik mit Einbeziehung des Enzymimmuntests zum IgG-Antikörpernachweis.
Z. klin. Med. 45, 1733-1736.
10. MÜLLER, W. A., KOCH, G., BECKER, K. (1991):
Tierexperimentelle Untersuchungen zum Nachweis von zirkulierendem *Toxoplasma*-Antigen.
Angew. Parasitol. 32, 93-98.
11. NAKANE, P. A., KAWAOI, A. (1974):
Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation.
J. Histochem. Cytochem. 22, 1028-1031.

KORRESPONDENZADRESSE:

Doz. Dr. W. A. Müller
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Medizinische Akademie Magdeburg

Leipziger Straße 44
D-O 3090 Magdeburg · Bundesrepublik Deutschland

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1991

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Müller W.A., Koch Gudrun, Becker K., Philipp Elke, Wohlfahrt Astrid

Artikel/Article: [Die Erfassung von zirkulierendem Toxoplasma-Antigen durch monoklonale Antikörper. 165-176](#)