

Labordiagnose der Schistosomiasis (Bilharziose)

Laboratory diagnosis of schistosome infections

Annette Kapaun*

Abteilung Tropenhygiene und Öffentliches Gesundheitswesen, Universitätsklinik Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

Zusammenfassung

Für die Diagnose der Schistosomiasis (Bilharziose) bei Reisenden und Patienten aus Endemiegebieten stehen neben dem direkten Parasitennachweis (*S. haematobium*-Eier im Urin; *S. japonicum*-Eier und *S. mansoni*-Eier im Stuhl) immundiagnostische Methoden mit hoher Sensitivität und Spezifität zur Verfügung. Der Einsatz immundiagnostischer Verfahren ist für die Erkennung schwacher Infektionen bei Reisenden gut geeignet, auf den zusätzlich durchgeführten direkten Parasitennachweis darf jedoch nicht verzichtet werden. Für die Indikationsstellung und Befundinterpretation der Laboruntersuchung sind fundierte Kenntnisse der Krankheit und ihres Verbreitungsgebietes sowie Angaben zur Reiseanamnese, zum Expositionsrisiko und (falls vorhanden) zur klinischen Symptomatik des Patienten unerlässlich.

Schlüsselwörter: Bilharziose; mikroskopischer Direktnachweis (Einachweis) im Stuhl oder Urin; Schistosomiasis; serologische Diagnostik.

Abstract

Schistosomiasis in travellers and patients from endemic areas is diagnosed by the examination of urine, stool, rectal or bladder biopsy for eggs, and serological tests. Highly specific and sensitive serological tests are available to detect even light infections in travellers, although the examination of urine and stool for eggs is still strongly recommended. Knowledge about the epidemiology and pathology of the disease, information on the risk of expo-

sure, and clinical features of the patient are necessary to decide who to screen and to evaluate serological results.

Keywords: microscopic examination of urine and stool for eggs; schistosome infections; schistosomiasis; serological tests.

Einleitung

Die Schistosomiasis ist nach wie vor eine weit verbreitete Parasitose, die besonders häufig in den Endemiegebieten Afrikas südlich der Sahara auftritt. Es wird geschätzt, dass weltweit 200 bis 300 Millionen Menschen in mehr als 70 Ländern infiziert sind. 85% der Infizierten leben in Afrika. Als Folge des Baus von Stauseen und Bewässerungsanlagen wird eine zunehmende Verbreitung der Schistosomiasis beobachtet.

Die Schistosomiasis hat bei Urlaubern in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen, da Aktivitäten wie z. B. Rafting im Sambesi oder ein Tauchkurs im Malawisee heute leider keine Seltenheit sind.

Ätiologie und Klinik der Schistosomiasis (Bilharziose)

Die bedeutendsten humanpathogenen Schistosomenarten sind *Schistosoma (S.) mansoni* (Erreger der Darmbilharziose in Afrika, im mittleren Osten, in Südamerika und der Karibik), *S. japonicum* (Erreger der Darmbilharziose in Asien) und *S. haematobium* (Erreger der Blasenbilharziose in Afrika und im mittleren Osten). Am häufigsten und stärksten betroffen sind Kinder und Jugendliche in Endemiegebieten (Abbildung 1).

Die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Transmission der Parasiten sind Wärme, das Vorhandensein infizierter Eiausscheider und Schnecken sowie ein niedriger Hygienestandard. Die Übertragung erfolgt im Süßwasser. Infizierte scheiden Schistosomen-Eier nach Ablauf der Präpatenzzeit mit dem Stuhl bzw. Urin aus. Für den parasitologischen Zyklus müssen die Fäkalien dann in Gewässer gelangen, die den geeigneten Zwischenwirt (Schnecken) enthalten. Die aus der Entwicklung im Zwischenwirt hervorgegangenen Zerkarien leben im Süßwasser, penetrieren die intakte Haut des Menschen und entwickeln sich dort zu adulten Würmern (Abbildungen 2 und 3).

*Korrespondenz: Dr. Annette Kapaun, Sektion Tropenmedizinische Ambulanz, Abteilung Tropenhygiene und Öffentliches Gesundheitswesen, Universitätsklinik Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 324, 69120 Heidelberg, Deutschland
Tel: +49 6221 562964
Fax: +49 6221 565204
E-mail: annette.kapaun@med.uni-heidelberg.de

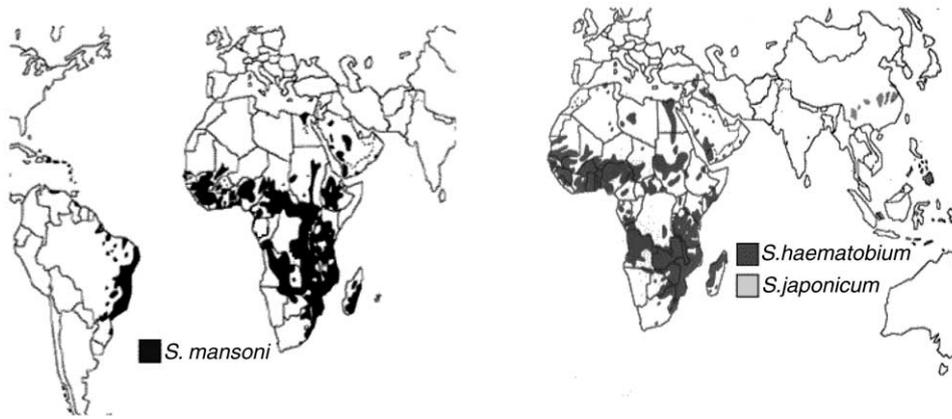


Abbildung 1 Endemiegebiete nach WHO.

Während bzw. kurz nach der Penetration und im Laufe der Entwicklung zu adulten Würmern können vorübergehend allergisch bedingte akute Krankheitssymptome auftreten, wie z. B. Zerkariendermatitis oder Katayama-Fieber [1]. Die von den adulten Würmern produzierten Eier sind letztendlich für die bleibenden pathologischen Veränderungen im Stadium der chronischen Schistosomiasis beim Menschen verantwortlich. Nur ein Teil dieser Eier wird mit dem Urin oder Stuhl ausgeschieden, der Rest wird z. B. in der Blasen- oder Darmwand oder in der Leber abgelagert und führt zu ausgeprägter Granulombildung und Fibrosierung. Leberfibrose, Darmwan-

dulzerationen mit dysenterischen Beschwerden sowie entzündungsbedingte Veränderungen des Urogenitaltraktes sind typische Veränderungen im Rahmen einer chronischen Schistosomiasis [2–4]. Das Ausmaß der klinischen Symptomatik hängt dabei im Wesentlichen von der Wurmlast und der Dauer der Infektion ab.

Indikationsstellung und Zeitpunkt für die Labordiagnostik

Zerkariendermatitis und/oder Katayama-Fieber treten nicht bei jedem Infizierten auf oder werden vom Tropen-

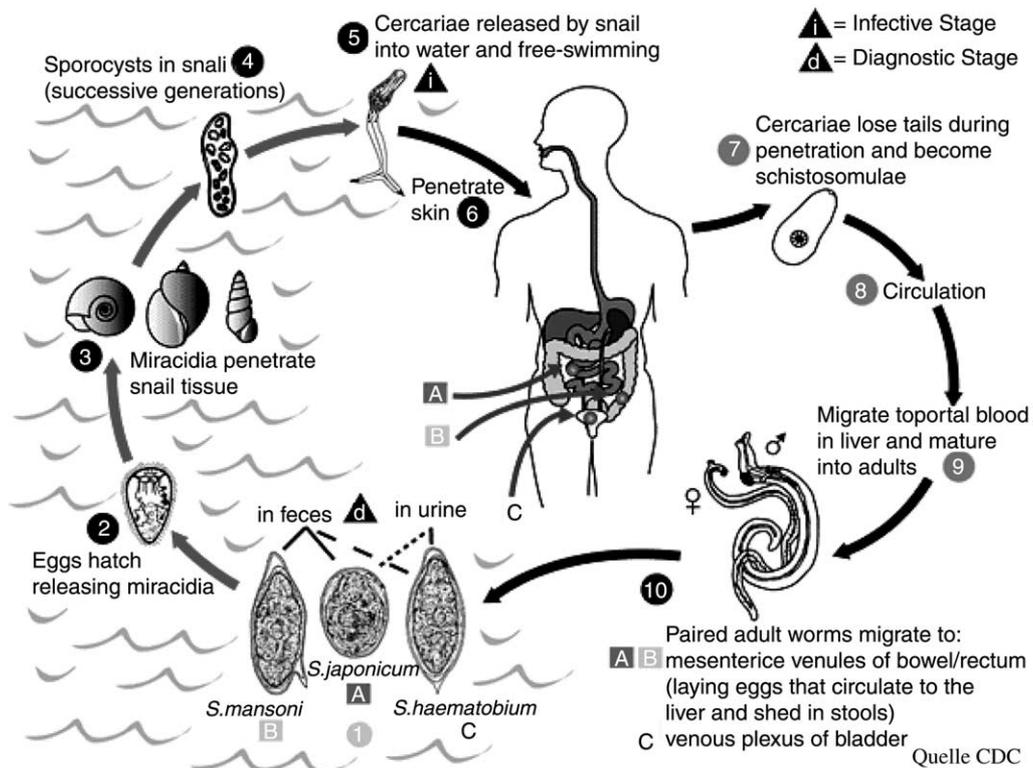


Abbildung 2 Zyklus von Schistosoma.

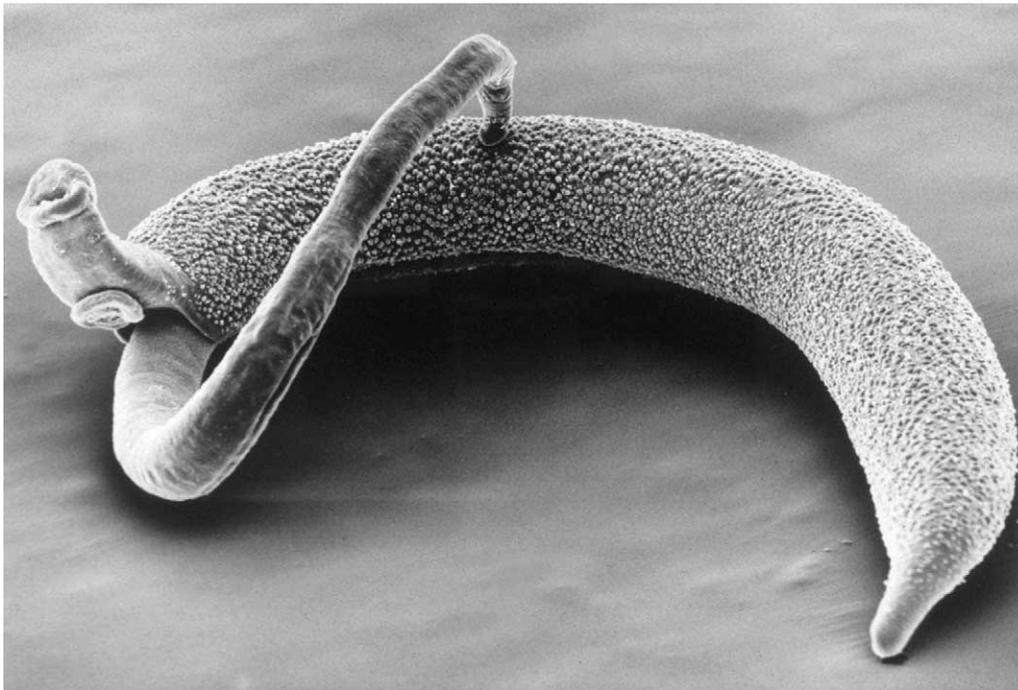


Abbildung 3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Pärchenegels (Prof. Dr. A. Ruppel, Abteilung Tropenhygiene der Universitätsklinik Heidelberg).

reisenden nicht als Frühsymptom erkannt, wodurch eine entsprechende Diagnose und Therapie möglicherweise versäumt werden.

Deshalb sollte bei jedem Reisenden, der während seines Aufenthaltes im Endemiegebiet (Abbildung 1) Süßwasserkontakt hatte, *nach Ablauf der Präpatenzzeit* eine Schistosomeninfektion ausgeschlossen werden. Das Gleiche gilt für Personen, die im Endemiegebiet aufgewachsen sind, auch wenn deren Infektion möglicherweise schon Jahre zurückliegt und sie (noch) keine Krankheitssymptome aufweisen. Adulte Würmer haben eine mittlere Überlebenszeit von fünf Jahren (in Ausnahmefällen bis zu 30 Jahren) und können während dieser Zeit Eier produzieren. Patienten, die nach Rückkehr aus Endemiegebieten Eosinophilie und/oder Symptome eines Katayama-Fiebers zeigen, sollten sofort, d. h. gegebenenfalls schon vor Ablauf der Präpatenzzeit, einem serologischen Screening unterzogen werden.

Wer soll untersucht werden?

- Patienten mit Symptomen, die eine Schistosomiasis vermuten lassen (Katayama-Fieber, Eosinophilie, Hämaturie, gastrointestinale Beschwerden) nach Aufenthalt in Endemiegebieten.
- Personen nach Süßwasserkontakt in Endemiegebieten.

- Personen, die in Endemiegebieten aufgewachsen sind.

Wann soll untersucht werden?

- Asymptomatische Personen nach Kontakt mit Süßwasser in Endemiegebieten nach Ablauf der Präpatenzzeit; um sicher zu gehen, empfehlen wir die Untersuchung drei Monate nach Exposition.
- Patienten mit Katayama-Fieber und/oder Eosinophilie sofort und bei negativem Ergebnis erneute Untersuchung nach Ablauf der Präpatenzzeit.

Diagnostische Methoden

Für die Diagnose der Schistosomiasis stehen sowohl direkte (Einachweis) als auch indirekte (Antikörpernachweis) Methoden zur Verfügung. Unspezifische Parameter wie Eosinophilie und IgE-Erhöhung, die insbesondere bei akuten Infektionen (Reisenden) häufig zu beobachten sind, können bei ansonsten asymptomatisch verlaufender Infektion oft der einzige Hinweis auf eine Parasiteninfektion sein.



Abbildung 4 *Schistosoma haematobium*-Ei-Nachweis im Urin (H. Gehrig-Feistel. Abteilung Parasitologie, Universitätsklinik Heidelberg).

Direktnachweis

Die definitive Diagnose der Erkrankung und Spezifizierung setzt den direkten Parasitennachweis (Einachweis) voraus.

Je nach zu erwartender Schistosomenart werden hierfür unterschiedliche Konzentrationsverfahren eingesetzt:

1. Untersuchung von Sammelurin mittels Sedimentations- oder Filtrationsmethode auf Eier von *S. haematobium* (Abbildung 4). Der zwischen 10 und 15 Uhr (Zeit der größten Eiausscheidung) möglichst unter körperlicher Belastung (zur Mobilisierung von Eiern aus der Blaseschleimhaut) anfallende Urin wird gesammelt und das Sediment oder der Filter werden mikroskopisch auf Schistosomen-Eier untersucht.
2. Untersuchung von Stuhl mittels SAF-Anreicherungsverfahren (Sodiumacetat-Acid-Formalin) auf *S. mansoni*- (Abbildung 5) oder *S. japonicum*-Eier. Stuhlproben werden in einer formalinhaltigen Lösung konserviert, anschließend filtriert und zentrifugiert und das Sediment wird mikroskopisch auf Schistosomen-Eier untersucht.
3. Rektum/Kolon-, Blasen- oder Leberbiopsie zum histologischen Nachweis von Granulomen bzw. Schistosomen-Eiern. Die Indikation zu diesen invasiven diagnostischen Abklärungen muss sehr sorgfältig gestellt werden; die Abklärung eines u. U. schwach infizierten Reisenden ist keine Indikation.

Die Sensitivität dieser Methoden hängt stark von der Schwere der Infektion (hohe Wurmlast führt zu entsprechend hoher Eiausscheidung), vom Infektionszeitpunkt

und von der Anzahl und Qualität der untersuchten Proben ab [5, 6]. Bei zu erwartender niedriger Parasitenlast (fast immer für Infektionen bei Reisenden zutreffend) kann durch die Untersuchung mehrerer Proben von verschiedenen Tagen die Sensitivität verbessert werden. In der frühen Infektionsphase, d. h. vor Ablauf der Präpatenzzeit, sind diese Methoden jedoch gänzlich ungeeignet.

Inwieweit die Sensitivität des direkten Parasitennachweises durch rekt-/koloskopisch bzw. zystoskopisch gewonnenes Untersuchungsmaterial verbessert werden kann, ist unseres Wissens bei kurzfristig exponierten und damit schwach infizierten Patienten in der Frühphase der Erkrankung nie systematisch untersucht worden.

Direkte immundiagnostische Methoden

Der Nachweis von zirkulierendem Antigen (CAA oder CCA) im Blut, Urin oder Stuhl ist für die Routinediagnostik noch nicht verfügbar.

Die technisch sehr aufwändige PCR hat sich in der Routinediagnostik bislang nicht durchgesetzt. Sensitivität und Spezifität der PCR in einer einzigen Stuhlprobe wurden im Vergleich zur mikroskopischen Untersuchung von drei Stuhlproben (Goldstandard) untersucht. Hierbei zeigte die PCR eine Sensitivität bzw. Spezifität von 96%, resp. 88% bei schwach infizierten Personen mit geringer Eiausscheidung [7].

Indirekte immundiagnostische Verfahren

Eine Schistosomen-Infektion löst beim Menschen im Lauf der Präpatenzzeit normalerweise eine starke Immu-

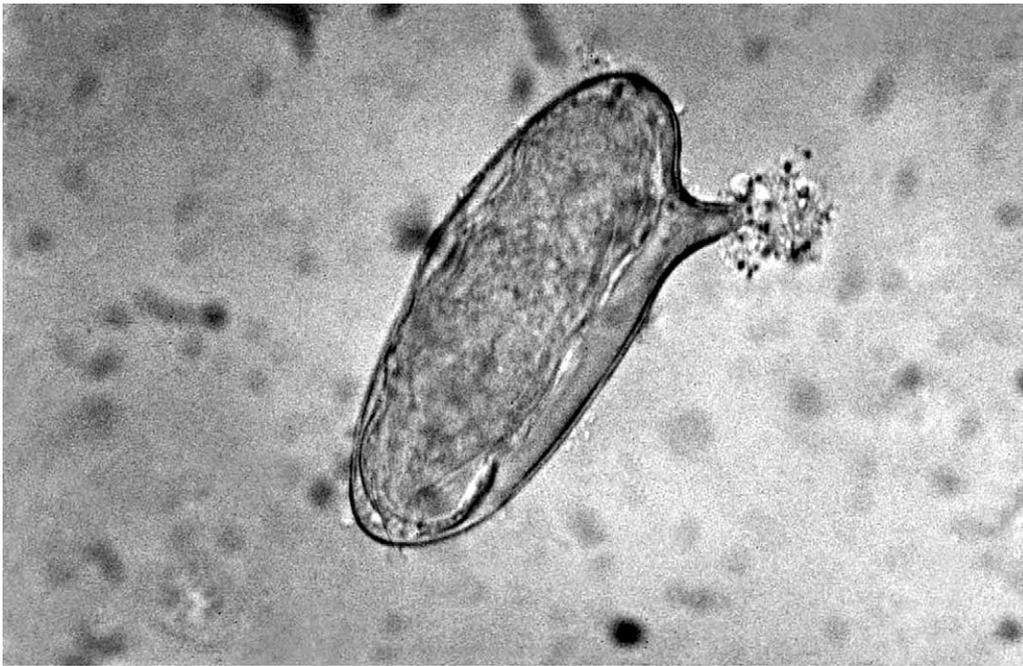


Abbildung 5 *Schistosoma mansoni*-Ei-Nachweis im Stuhl (H. Gehrig-Feistel. Abteilung Parasitologie, Universitätsklinik Heidelberg).

nantwort aus. Der Nachweis von spezifischen Schistosomen-Antikörpern gelingt daher mittels unterschiedlicher immundiagnostischer Verfahren fast immer [8]. *Ausnahme:* Bei Personen, die in Endemiegebieten aufgewachsen sind, ist in jedem Fall ein Direktnachweis zu fordern, da bei diaplazentarer Antigenexposition eventuell keine ausreichende Immunantwort erfolgt (Immuntoleranz?).

Antigenpräparationen aus adulten Würmern bzw. lösliches Eiantigen sind für die Herstellung von immundiagnostischen Tests besser geeignet als Antigene aus unterschiedlichen Larvenstadien. Spezifische Antikörper gegen die wichtigsten humanpathogenen Schistosomen-Spezies reagieren kreuz, sodass Rohantigene oder Gefrierschnitte von adulten *S. mansoni*-Würmern sowie lösliche Extrakte aus isolierten homogenisierten *S. mansoni*-Eiern für IHA, ELISA bzw. IIFT für die Routine-Diagnostik benutzt werden können.

Sowohl der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) als auch der indirekte Hämagglutinationstest (IHA) und der ELISA sind gut evaluierte Testverfahren mit Sensitivitäten von über 90%. Mit der Kombination zweier Testverfahren mit unterschiedlichen Antigenen (Wurm- und Ei-Antigen) erhöhen sich die Sensitivität und Spezifität auf über 96 resp. 97% [9]. Dies ist insbesondere bei Tropenreisenden mit zu erwartender schwacher und erst kürzlich erfolgter Infektion und dadurch fehlender bzw. sehr geringer Eiausscheidung von Bedeutung.

Als Suchtest verwenden wir den IIFT (Abbildungen 6 und 7) mit Gefrierschnitten aus adulten *S. mansoni*-Würmern plus einen ELISA mit einem löslichen Extrakt aus isolierten Schistosomen-Eiern (SEA=soluble egg anti-

gen). Beide Tests sind sogenannte inhouse-Tests. Die Antigene stammen aus dem *S. mansoni*-Zyklus der Schistosomiasis-Forschungsgruppe (A. Ruppel, Abteilung Tropenhygiene, Universitätsklinik Heidelberg).

Die häufig zitierte geringe Spezifität (d. h. falsch positive Ergebnisse), die diesen indirekten Testverfahren angelastet wird, ist sicherlich teilweise durch die geringe Sensitivität des Gold-standards bedingt. Als Goldstandard gilt, wie für die meisten parasitologischen Testverfahren, immer noch der mikroskopische Parasitennachweis, d. h. in der Schistosomiasis-Diagnostik der Einachweis im Stuhl bzw. Urin oder im Biopsiematerial. Bekannterweise hat der Direktnachweis bei schwacher Infektion eine geringe Sensitivität.

Wie soll untersucht werden?

- *Antikörperscreening* mit zwei unterschiedlichen Methoden und Antigenpräparationen (z. B. IHA/IIFT plus ELISA).
- *Mikroskopischer Direktnachweis* im Urin und Stuhl nach Anreicherungsverfahren, in mehrfacher (dreimalige) Wiederholung.

Kommerzielle Test-Kits

Die kommerziell angebotenen Tests IHA (Behring, Biotrin), ELISA (BYK und Dia Sorin) und Immuno-Blot (Bio Repair) werden überwiegend von den großen Labordiagnostikeinrichtungen genutzt, während parasitologische

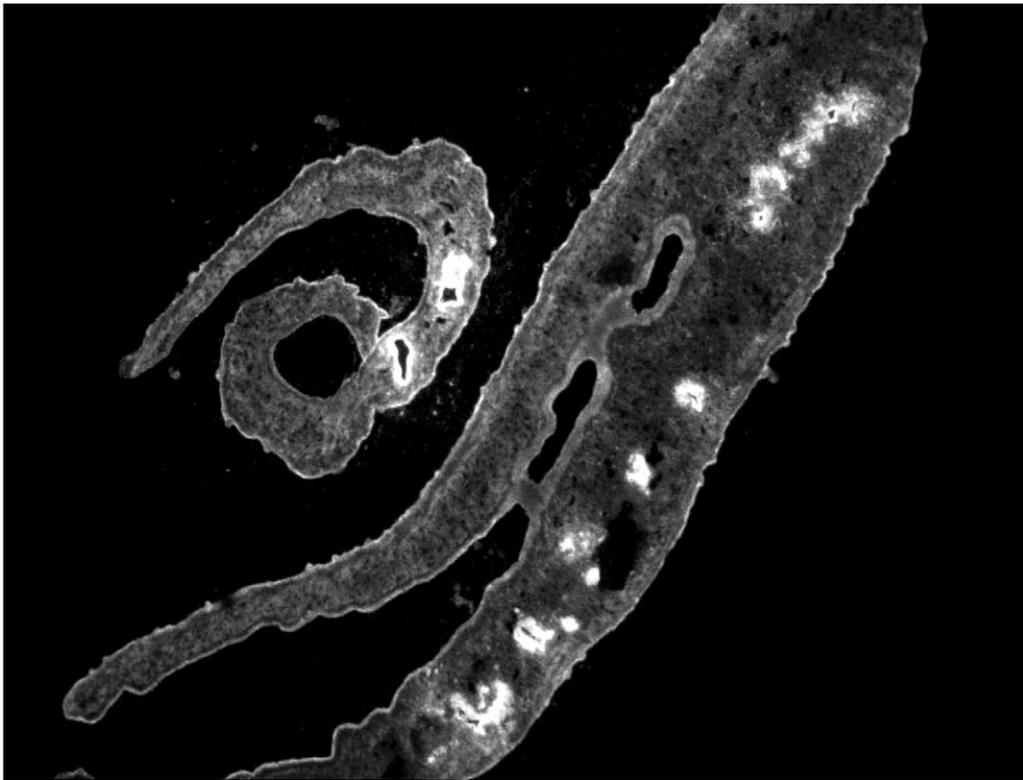


Abbildung 6 Positive Immunfluoreszenz (P. Förster, G. Textor-Schneider. Abteilung Tropenhygiene, Universitätsklinik Heidelberg).

Speziallabors, die in Deutschland und europaweit meistens Tropeninstituten mit entsprechenden Forschungseinrichtungen angegliedert sind, selbst hergestellte, sogenannte *inhouse-Tests* verwenden (IIFT plus ELISA).

Befundinterpretation

Leider sind die indirekten immundiagnostischen Verfahren nicht geeignet, um eine noch aktive Infektion von ein-

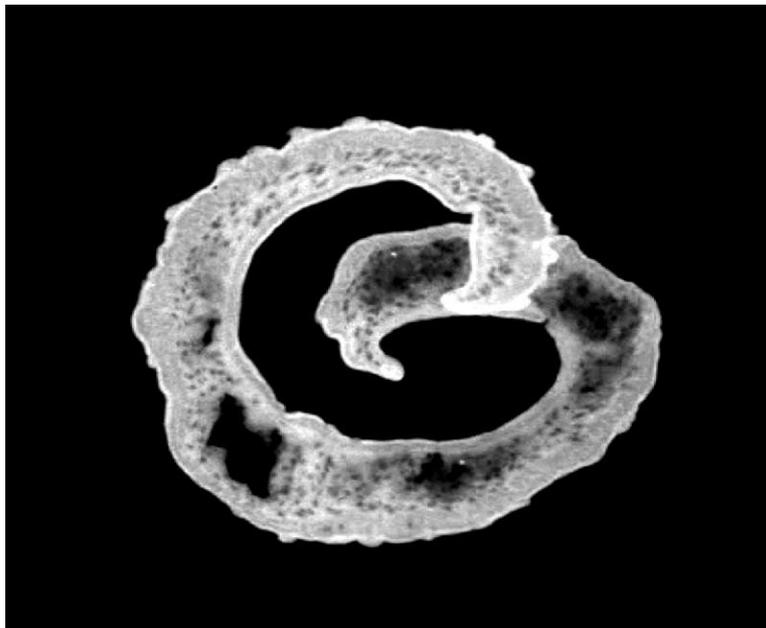


Abbildung 7 Negative Immunfluoreszenz (P. Förster, G. Textor-Schneider. Abteilung Tropenhygiene, Universitätsklinik Heidelberg).

er schon therapierten oder inaktiven Parasitose zu unterscheiden, da noch lange nach ausreichender Therapie unterschiedlich hohe AK-Titer (serologische Narbe) messbar sind. Es gilt somit, die "Serumnarbe" durch eine genaue Anamneseerhebung und durch den direkten Parasitennachweis von einer noch aktiven, behandlungsbedürftigen Infektion zu unterscheiden.

Andererseits kann es vorkommen, dass bei Personen, die in Endemiegebieten aufgewachsen sind und schon diaplasentar infiziert wurden, keine messbaren Antikörper gebildet werden (Immuntoleranz).

Für die Interpretation immundiagnostischer Ergebnisse sind daher die Anamnese bezüglich Reise oder bereits erfolgter Therapie sowie die Klinik des Patienten dringend erforderlich.

Qualitätssicherung der parasitologischen Diagnostik

Qualitätssicherung beinhaltet neben dem Einsatz unterschiedlicher, standardisierter Testmethoden und Antigenpräparationen auch interne und externe Qualitätskontrollen, um eine ausreichende Sensitivität und Spezifität zu gewährleisten.

Die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) empfiehlt deshalb im Qualitätsstandard für mikrobiologisch-infektiologische Diagnostik, bei ausschließlich serologischer Diagnostik zwei unterschiedliche Testsysteme bzw. Antigenpräparationen zu verwenden (MIQ 4/1998) [10].

Das parasitologische Labor der tropenmedizinischen Ambulanz der Universität Heidelberg ist nach der europäischen Norm EN ISO 15189:2003 akkreditiert. Seit 2003 arbeitet es zusätzlich als Sollwertlabor für INSTAND (Institut für Standardisierung und Dokumentation im Medizinischen Laboratorium E.V.), das bundesweit regelmäßig Ringversuche durchführt, die auch die parasitologische Serodiagnostik und Direktnachweise einschließen. Für akkreditierte Labors ist die Teilnahme an externen Qualitätskontrollen Pflicht.

Seit 2003 führen wir zusätzliche Qualitätskontrollen, die vom Londoner Tropeninstitut (P. Chiodini, Hospital for Tropical Diseases, London) organisiert werden, in unserem Labor durch. Ziel dieser europäischen Initiative ist es, länderübergreifend die Qualität der Labordiagnostik seltener parasitärer Erkrankungen zu verbessern und vergleichbare Testverfahren und Interpretationen zu ermöglichen.

Fazit

Die Schistosomiasis ist keine meldepflichtige Erkrankung, daher fehlen in Deutschland Daten über die Häufigkeit dieser Erkrankungen bei Tropenreisenden.

Sie gehört aber sicherlich zu den seltenen Erkrankun-

gen nach Tropenreisen. Im Rahmen von TropNetEurop, einem Zusammenschluss mehrerer europäischer tropenmedizinischer Einrichtungen, wurden im Zeitraum von 1999–2001 in insgesamt 22 beteiligten Zentren 142 Patienten mit einer Bilharziose-Infektion erfasst [11].

Die Erfahrungen mit Schistosomiasis-Patienten unserer Ambulanz decken sich mit denen anderer europäischer tropenmedizinischer Einrichtungen, die bei nur kurzfristig exponierten Tropenreisenden, d. h. Patienten mit schwacher Infektion, nach der Reise lediglich positive AK-Titer nachweisen konnten und nur selten Schistosomeneier im Stuhl oder Urin.

Im Jahr 2003 konnten wir beispielsweise bei mehreren Patienten (Teilnehmer derselben Reisegruppe nach Uganda), die im Viktoriasee gebadet hatten, eine Schistosomiasis diagnostizieren (Eosinophilie und ansteigende AK-Titer in der Immundiagnostik ohne Einachweis). Der Großteil der Infizierten war bis zum Zeitpunkt der Diagnosestellung asymptomatisch, während die Index-Patientin unter stärksten Symptomen eines Katayama-Fiebers litt.

Umgekehrt diagnostizierten wir mehrere Fälle von aktiver Schistosomiasis bei Patienten, die in Endemiegebieten aufgewachsen waren, nur durch den direkten Parasitennachweis, bei negativer Immundiagnostik oder schwacher Reaktion (Immuntoleranz, siehe oben) in nur einem von zwei Tests (ELISA).

Insgesamt wurden im Jahr 2003 im Labor der tropenmedizinischen Ambulanz der Universitätsklinik Heidelberg über 400 serologische Untersuchungen auf Schistosomen-AK durchgeführt und mehr als 1.000 Anreicherungsverfahren (Urin und Stuhl) auf Schistosomeneier.

Wie für alle seltenen Erkrankungen gilt auch für die Schistosomiasis, dass die Indikation und Interpretation von Laboruntersuchungen fundierte Kenntnisse der Krankheit selbst und ihres Vorkommens erfordert und somit auf wenige spezialisierte Labors beschränkt werden sollte.

Literatur

1. Junghans T, Weiss N. Akute Schistosomiasis bei Tropenreisenden. *Dtsch Med Wochenschr* 1992;117:935–40.
2. Junghans T. Parasitosen. In: Ganten T, Geiss HK, Stremmel, eds. *Infektionen in der Gastroenterologie*. Uni-Med-Verlag, 2004.
3. Hanck C, Verbeke CS, Storm L, Junghans T, Singer MV. Chronische Abdominalschmerzen und Eosinophilie bei einer jungen Afrikanerin. *Z Gastroenterologie* 2000; 38:799–802.
4. Poggensee G, Kiwelu I, Weger V, Goppner D, Diedrich T, Kranitz I, et al. Female genital schistosomiasis of the lower genital tract: prevalence and disease-associated morbidity in Northern Tanzania. *J Infect Dis* 2000;181:1210–3.
5. Doenhoff MJ, Chiodini PL, Hamilton JV. Specific and sen-

- sitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? *Trends Parasitol* 2004;20:35–9.
6. Whitty CJM, Mabey DC, Armstrong M, Wright SG, Chiodini PL. Presentation and outcome of 1107 cases of schistosomiasis from Africa diagnosed in a non-endemic country. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000;94:531–4.
 7. Pontes LA, Oliveira MC, Katz N, Dias-Neto E, Rabello A. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with schistosoma mansoni. *Am J Trop Hyg* 2003;68:652–6.
 8. Weiss N, Junghans T. Serological techniques for diagnosing Schistosomiasis in the individual. In: Bergquist NR, editor. *Immunodiagnostic approaches in schistosomiasis*. 1992.
 9. Van Gool T, Vetter H, Verwoort T, Doenhoff MJ, Wetsteyn J, Overbosch D. Serodiagnosis of imported Schistosomiasis by a combination of a commercial indirect hemagglutination test with *Schistosoma mansoni* adult worm antigens and an enzyme-linked immunosorbent assay with *S. mansoni* egg antigens. *J Clin Microbiol* 2002;40:3432–7.
 10. Janitschke K, Kimmig P, Seitz HM, Frosch M, Groß U, Hlobil H, et al. Parasitosen. In: Mauch H, Lütticken R, Gatermann S, editors. *Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik*. Stuttgart: Gustav-Fischer Verlag, 1998:25–8.
 11. Grobusch MP, Mühlberger N, Jelinek T, Bisoffi Z, Corachan M, Harms G, et al. Imported Schistosomiasis in Europe: sentinel surveillance data from TropNetEurop. *J Travel Med* 2003;10:164–7.