

Zur Labordiagnostik von *Entamoeba histolytica*-Infektionen

The laboratory diagnosis of *Entamoeba histolytica*-infections

Egbert Tannich*

Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Abteilung für Molekulare Parasitologie, Hamburg, Deutschland

Zusammenfassung

Die klassische Stuhlmikroskopie zum Nachweis intestinaler Protozoen-Infektionen wird mehr und mehr ersetzt durch neue Detektionsverfahren wie Immunfluoreszenz, Antigen-ELISA oder PCR. Dies gilt insbesondere für die Diagnostik von *Entamoeba histolytica*, da dieser Parasit mikroskopisch nicht von anderen, apathogenen Amöbenspezies wie *Entamoeba dispar* oder *Entamoeba moshkovskii* unterschieden werden kann.

Schlüsselwörter: Antigen-ELISA; Diagnostik; *Entamoeba histolytica*; mikroskopische Stuhluntersuchung; PCR; Serologie.

Abstract

Classical stool microscopy for the identification of intestinal protozoan infections is more and more substituted by new detection assays such as immunofluorescence, antigen-ELISA or PCR. This is particularly important for the diagnosis of *Entamoeba histolytica*, as this parasite is microscopically indistinguishable from non-pathogenic amoeba species such as *Entamoeba dispar* or *Entamoeba moshkovskii*.

Keywords: antigen-ELISA; diagnosis; *Entamoeba histolytica*; microscopic stool examination; PCR; serology.

Einleitung

Entamoeba histolytica, der Erreger der Amöbiasis beim Menschen, ist weltweit verbreitet, findet sich aber vor allem in tropischen und subtropischen Gebieten mit niedrigem Hygienestandard. Die Infektion erfolgt durch die

orale Aufnahme der typischerweise vierkernigen, 10 bis 16 µm großen Zysten. Im Laufe der Darmpassage löst sich die Zystenwand auf und es entstehen die teilungsfähigen, einkernigen Trophozoiten, die vornehmlich den oberen Dickdarm besiedeln. Im distalen Kolon kommt es zur erneuten Enzystierung und nachfolgenden Ausscheidung reifer Zysten, die an der Außenwelt für mehrere Wochen infektiös bleiben können. Die Menge der ausgeschiedenen Zysten ist individuell sehr variabel, kann aber in Einzelfällen durchaus einige 100 Millionen pro Tag betragen. Neben einigen Affenarten ist der Mensch der einzige Wirt, sodass davon ausgegangen werden kann, dass *E. histolytica*-Infektionen direkt oder indirekt von Mensch zu Mensch erfolgen.

Während die meisten Infektionen mit *E. histolytica* asymptomatisch verlaufen (nicht invasive Amöbiasis), kommt es in ca. 10% der Fälle zur Invasion des Parasiten in das Gewebe (invasive Amöbiasis). Betroffen ist dabei der Dickdarm mit den klinischen Zeichen einer Kolitis von variablem Schweregrad. Bei typischen Verläufen finden sich ulzerative Schleimhautläsionen und eine blutig-schleimige Diarrhö (Amöbenruhr). Neben der intestinalen Infektion können die Amöben auch hämatogen in andere Organe gestreut werden und ausgedehnte Abszesse verursachen. Diese finden sich überwiegend in der Leber (Amöbenleberabszess) [1, 2].

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzt, dass weltweit jährlich ca. 50 Millionen Menschen an einer invasiven Amöbiasis erkranken und etwa 100.000 an Komplikationen, insbesondere von Amöbenleberabszessen, versterben [3, 4]. In Deutschland spielt die Amöbiasis vor allem als Reiserückkehrerkrankung eine Rolle. Autochthone Fälle sind in Westeuropa selten, wurden aber wiederholt bei Kanalarbeitern, männlichen Homosexuellen und Bewohnern von Behindertenheimen beobachtet [5–14]. Auch Übertragungen von asymptomatisch infizierten Reiserückkehrern auf Kontaktpersonen wurden beschrieben [15, 16]. Epidemiologisch bedeutsam ist die Tatsache, dass zwischen der Infektion mit *E. histolytica* und dem Auftreten einer invasiven Amöbiasis mehrere Monate bis Jahre liegen können, wobei die mittlere Latenzzeit für einen Amöbenleberabszess bei etwa drei bis fünf Monaten liegt [17, 18]. Darüber hinaus zeigen aktuelle Untersuchungen, dass die Halbwertszeit der *E. histolytica*-Ausscheidung bei unbehandelten Personen etwa 13 Monate beträgt und der Parasit in Einzelfällen

*Korrespondenz: Prof. Dr. Egbert Tannich, Abteilung für Molekulare Parasitologie, Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg, Deutschland
Tel: + 49 040-42818 477
Fax: + 49 040-42818 512
E-mail: tannich@bni-hamburg.de

mehrere Jahre persistieren kann [19]. Um sowohl die Transmission der Amöben auf andere Personen als auch die mögliche Progression von der asymptomatischen Besiedlung zur invasiven Erkrankung zu verhindern, empfiehlt die WHO, *E. histolytica*-Ausscheider frühzeitig zu identifizieren und grundsätzlich zu behandeln [4].

Zahlreiche Amöbenarten können den Darm des Menschen kolonisieren. Neben den verschiedenen Entamoeben (*E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. hartmanni*, *E. coli* und *E. polecki*) sind dies *Endolimax nana* und *Jodamoeba bütschlii*. Mit Ausnahme von *E. histolytica* sind alle diese Organismen reine Kommensalen und immer apathogen. Selbst im Falle eines Immundefektes, wie etwa bei AIDS, führen diese Infektionen nicht zu einer klinischen Symptomatik und bedürfen keiner Behandlung [20]. Da aber einerseits auch *E. histolytica*-Infektionen häufig asymptomatisch verlaufen (siehe oben) und andererseits Koinfektionen mit apathogenen Amöben und viralen oder bakteriellen Durchfallserregern eine symptomatische *E. histolytica*-Infektion vortäuschen können, muss eine suffiziente Amöbendiagnostik in der Lage sein, *E. histolytica* mit ausreichender Sensitivität zu detektieren und sicher von anderen Darmprotozoen abzugrenzen. Zum Direktnachweis von *E. histolytica* stehen heute verschiedene Methoden zur Verfügung. Jede dieser Methoden hat bestimmte Vor- und Nachteile, die im Folgenden diskutiert werden.

Mikroskopie

Bis vor wenigen Jahren wurde der Nachweis von Amöben in Stuhlproben praktisch ausschließlich mit Hilfe der Mikroskopie geführt. Die klassische Lichtmikroskopie ist grundsätzlich dazu geeignet, Amöben in Stuhlproben zu detektieren, allerdings bedarf es hierfür gut geschulten und erfahrenen Personals, das in der Lage ist, die verschiedenen Organismen zu erkennen und zu unterscheiden. Darüber hinaus ist die Sensitivität der Mikroskopie relativ gering. Selbst mit Hilfe von Anreicherungsverfahren und Anfärbung der Parasiten gelingt es einem erfahrenen Untersucher nur etwa 60% der positiven Stühle bei einer einmaligen Stuhluntersuchung zu identifizieren. Es wird daher empfohlen, mindestens drei unabhängige Stuhlproben eines Patienten zu analysieren [21].

Neben Einschränkungen bezüglich der Sensitivität besteht aber das Hauptproblem der Mikroskopie in der fehlenden Spezifität. Zwar lassen sich viele der apathogenen Darmamöben aufgrund morphologischer Kriterien von *E. histolytica* abgrenzen, dies gilt allerdings nicht für *E. dispar* und *E. moshkovskii* [22–24]. Alle Merkmale, die zur lichtmikroskopischen Differenzierung normalerweise herangezogen werden, wie etwa Größe, Struktur und Zahl der Zystenkerne oder Bewegung und Pseudopodienbildung, erlauben es nicht, zwischen *E. histolytica*, *E. dispar* und *E. moshkovskii* zu unterscheiden [22] (Abbildung 1). Die fehlende Unterscheidbarkeit ist Ausdruck der engen phylogenetischen Verwandtschaft der drei

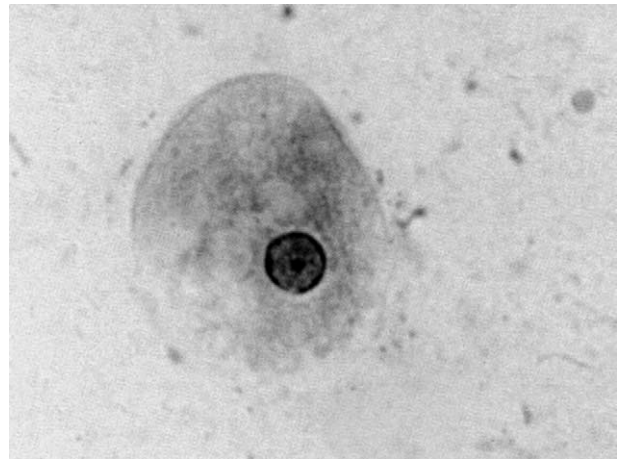


Abbildung 1 Stuhlprobe mit Trophozoit von *Entamoeba dispar*. Man beachte den typischen Entamoeben-Kern mit zentralem Karyosom. Diese Zelle ist morphologisch nicht von *E. histolytica* oder *E. moshkovskii* zu unterscheiden.

Arten. Genanalysen haben gezeigt, dass unter den vielen Entamoeba-Spezies, die man bis heute kennt, einschließlich solcher, die nicht beim Menschen gefunden werden, *E. dispar* und *E. moshkovskii* die höchste genetische Übereinstimmung mit *E. histolytica* aufweisen [25, 26]. Wenngleich spezifische Untersuchungen zu *E. moshkovskii* bisher nicht sehr umfangreich gewesen sind, scheinen alle drei Arten weltweit verbreitet zu sein, sodass auch Informationen über den Ort, an dem die Infektion möglicherweise erworben wurde, keinen Rückschluss auf die Identität der Amöbenspezies erlauben.

Trotz aller Einschränkungen hat die Mikroskopie für die Diagnostik von *E. histolytica*-Infektionen nach wie vor ihre Bedeutung, da sie im Falle einer invasiven intestinalen Amöbiasis mit blutiger Diarrhö hämatophage Trophozoiten nachweisen kann. Hierbei handelt es sich um Amöben, die ganze Erythrozyten phagozytiert haben und die man lichtmikroskopisch vor allem in Nativpräparaten gut erkennen kann. Obwohl auch *E. dispar* Erythrozyten phagozytieren kann [27], gilt der mikroskopische Nachweis hämatophager Trophozoiten nach wie vor als typisch für eine *E. histolytica*-Infektion [4] (Abbildung 2). Die Stuhlmikroskopie ist in der Routinediagnostik weiterhin sinnvoll, da sie als kostengünstige "Screening-Methode" neben einer möglichen Amöbeninfektion gleichzeitig auch andere medizinisch bedeutsame Darmprotozoen wie etwa *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Balantidium coli* etc. oder die verschiedenen intestinalen Wurminfektionen nachweisen kann. Die Mikroskopie sollte daher nach wie vor Bestandteil einer parasitologischen Stuhldiagnostik sein.

Amöbenkultur und Isoenzymmusterbestimmung

Die Anzucht von Amöben aus Stuhlproben [28] mit anschließender Typisierung durch Bestimmung von

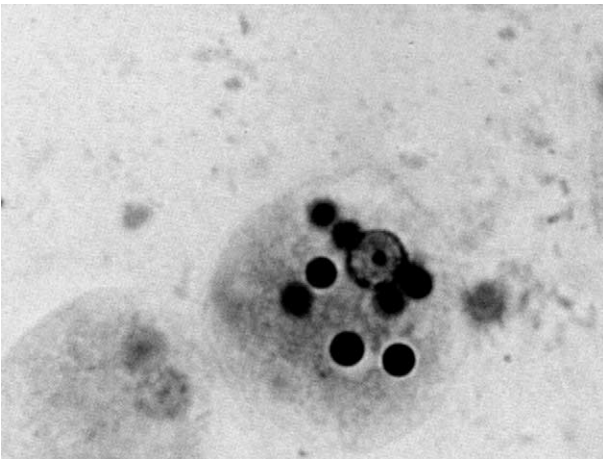


Abbildung 2 Stuhlprobe mit Trophozoit von *Entamoeba histolytica*. Man beachte die zahlreichen phagozytierten Erythrozyten. Dieser Befund ist typisch für eine invasive intestinale Amöbiasis.

Isoenzymmustern [29, 30] war bis vor wenigen Jahren die einzige Methode, um *E. histolytica* von *E. dispar* bzw. *E. moshkovskii* zu unterscheiden. Zur Kultivierung verwendet man zunächst komplexe diphasische Flüssigmedien versetzt mit Reisstärke, in der die Amöben sich aber nur langsam vermehren. Nach Etablierung der Kultur kann im Weiteren zur Generierung größerer Zellzahlen auf ein monophasisches Medium übergegangen werden [28]. Die Anzucht gelingt aber nur in etwa 50% der Fälle und ist abhängig von der Menge der Amöben im Stuhl [31]. Darüber hinaus ist die Kultivierung der Parasiten sehr arbeits- und zeitintensiv. Die verschiedenen Medien sind nicht lagerungsstabil und müssen regelmäßig frisch angesetzt und die Kulturen täglich neu überschichtet werden. Außerdem muß der Erfolg der Kultur durch mikroskopische Kontrolle überprüft werden, und es dauert in der Regel mindestens vier bis sieben Tage, bis ein Anwachsen der Zellen nachgewiesen werden kann. Daher spielt die Amöbenkultur in der Routinediagnostik der Amöbiasis heute praktisch keine Rolle und wird nur in wenigen spezialisierten Laboratorien durchgeführt. Vorteile der Kultur gegenüber der Mikroskopie liegen in der Möglichkeit der Resistenztestung bei Versagen der eingesetzten amöbiziden Therapie und der näheren Differenzierung der Amöben in *E. histolytica* und andere Darmamöben. Bereits 1978 hatte man mit Hilfe von Isoenzymen des Kohlenhydratstoffwechsels, und hier insbesondere der Hexokinase, festgestellt, dass sich die Amöben, die bis dahin aufgrund mikroskopischer Kriterien als *E. histolytica* klassifiziert wurden, in mindestens zwei Gruppen unterteilen lassen [32]. Die eine Gruppe fand sich regelmäßig bei Patienten mit invasiver Amöbiasis, während die andere Gruppe nie bei Patienten mit invasiver Amöbiasis gefunden wurde. Man bezeichnete diese damals als pathogene (p) und nicht-pathogene (np) *E. histolytica*. Erst Jahre später, mit der Einführung der DNA-Technologie in der Amöbenforschung, wurde klar,

dass es sich dabei um unterschiedliche Spezies handelt [33, 34], die genetisch klar voneinander abgegrenzt werden können und die heute *E. histolytica* (sensu stricto) und *E. dispar* genannt werden [23]. Grundsätzlich können also die beiden Arten durch Kultur und anschließende Isoenzymmusterbestimmung unterschieden werden. Allerdings muss man beachten, dass auch Doppelinfektionen möglich sind und eine Amöbenspezies die andere überwachsen kann, sodass selbst bei kulturellem Nachweis von *E. dispar* eine behandlungsbedürftige *E. histolytica*-Infektion nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Im Gegensatz zu *E. dispar* kann *E. moshkovskii* allein durch die Kultur und ohne weitere Isoenzymmusterbestimmung von *E. histolytica* unterschieden werden, da *E. moshkovskii* zum einen eine primäre Emetinresistenz aufweist und zum anderen eine breite Temperaturtoleranz besitzt und sich auch bei Raumtemperatur kultivieren lässt [24].

Antigen-ELISA

In den letzten Jahren wurden vermehrt Immunodetektionsverfahren entwickelt, um Parasiten in Stuhlproben nachzuweisen [35–37]. Diese beruhen in der Regel auf der Verwendung monoklonaler Antikörper, welche spezifisch mit Oberflächenstrukturen oder mit gelösten Koproantigenen reagieren. Entsprechend können durch Immunfluoreszenz ganze Parasiten in fixierten Stuhlproben dargestellt werden oder es können mit Hilfe von ELISA-Verfahren die gelösten Parasiten-Proteine aus Stuhlproben angereichert und nachgewiesen werden. Gegenwärtig sind konfektionierte "Test-Kits" kommerziell erhältlich für *E. histolytica*, *Giardia lamblia* und *Cryptosporidium parvum*. Solche Nachweisverfahren haben eine Reihe von Vorteilen. Sie sind relativ leicht durchzuführen, zeigen eine gute Reproduzierbarkeit und sind gleichzeitig unabhängig von der Mikroskopiererfahrung des Untersuchers. Im Falle der Amöbendiagnostik besteht ein weiterer Vorteil in der Tatsache, dass zumindest einige der angebotenen Test-Kits spezifisch sind für *E. histolytica* und nicht mit Antigenen apathogener Darmamöben wie *E. dispar* oder *E. moshkovskii* reagieren [38]. Allerdings ist zu beachten, dass viele der angebotenen Tests ähnlich wie die Mikroskopie nicht zwischen *E. histolytica* und *E. dispar* unterscheiden können. Der Nutzer sollte sich vorab beim Hersteller bezüglich der Spezifität genau erkundigen, denn häufig ist diese Information in den entsprechenden Produktbeschreibungen (Beipackzettel) nicht klar ausgeführt. Weiterhin problematisch sind die derzeit unzureichende Evaluierung der einzelnen Tests und die fehlende Klarheit hinsichtlich ihrer Sensitivität. Für einige Produkte liegen keine publizierten Daten vor, für andere existieren lediglich Einzelberichte [38–42]. Auf der Basis der zur Verfügung stehenden Informationen wird die Sensitivität der verschiedenen kommerziellen Antigenteste zum Amöbenachweis mit 70 bis 100% angegeben. Allerdings

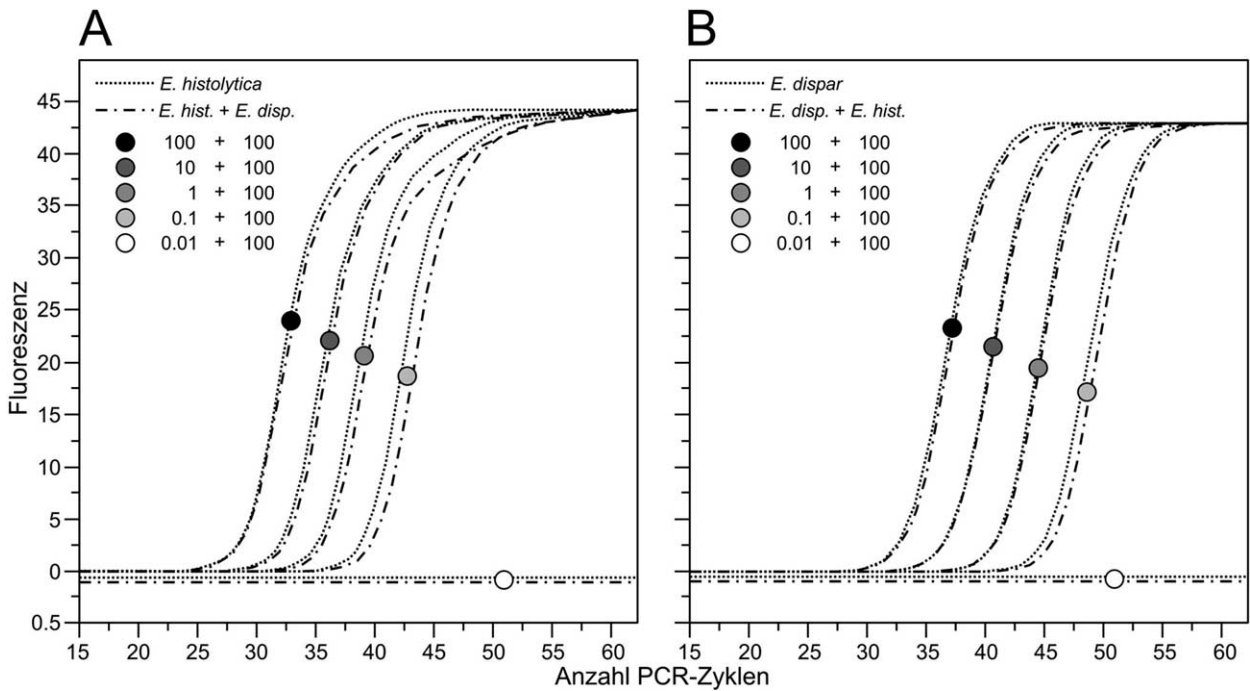


Abbildung 3 Nachweis von *E. histolytica* bzw. *E. dispar* aus Stuhlproben mittels Real-Time-PCR. Eine *Entamoeba*-negative Stuhlprobe wurde mit unterschiedlichen Mengen von *E. histolytica*- oder *E. dispar*-Trophozoiten versetzt. Anschließend wurde DNA extrahiert und das Äquivalent von 0,01 bis 100 Amöben wurde in parallele PCR-Ansätze gegeben (gepunktete Linie). In einem weiteren Experiment wurde die *E. histolytica*-positive Probe mit *E. dispar*-Trophozoiten versetzt und vice versa in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:10.000 (gestrichelte Linie). (A) PCR mit Primern spezifisch für *E. histolytica*; (B) PCR mit Primern spezifisch für *E. dispar*. Man beachte: (1) Die Methode erlaubt den Nachweis von weniger als einer Amöbe. (2) Das Ergebnis ist quantitativ. (3) Auch bei starkem Überschuss der nah verwandten Spezies ist die PCR absolut spezifisch (siehe Referenz [46]).

beruhen diese Zahlen auf Vergleichen der Antigenteste mit der Mikroskopie oder der Amöbenkultur. Da beide Methoden eine Sensitivität von etwa 50 bis 60% besitzen (siehe oben), ist zu vermuten, dass auch die Sensitivität der Koproantigen-Teste in diesem Bereich liegt. Eigene Untersuchungen im Labor des Autors haben gezeigt, dass die Ergebnisse einzelner Antigenteste sowohl von der Zahl als auch vom Stadium der Parasiten im Stuhl abhängig sind. So finden sich bei niedriger Amöbenzahl häufiger falsch negative Ergebnisse. Ebenso ist die Sensitivität vermindert bei asymptomatischen Amöbenausscheidern, die im Allgemeinen geformte, zystenhaltige Stühle absetzen, während deutlich bessere Ergebnisse mit trophozitenhaltigen, dünnflüssigen Stühlen erzielt werden. Offenbar sind die verwendeten monoklonalen Antikörper gegen Strukturen gerichtet, die vornehmlich in Trophozoiten und weniger während des Zystenstadiums exprimiert sind. Ein weiterer Nachteil der derzeit verfügbaren Antigenteste für den Amöbennachweis besteht in der Tatsache, dass für die Untersuchung Nativstühle ohne Zusatz von Konservierungstoffen verwendet werden müssen. Die entsprechenden Stuhlproben sind daher zeitnah zu untersuchen oder müssen bis zur Untersuchung tiefgefroren werden. Bei unsachgemäßer Lagerung oder während des Transportes können die unfixierten Antigene degradieren und somit zu falsch negativen Ergebnissen führen.

Aufgrund der genannten Einschränkungen sollten die derzeit verfügbaren Antigenteste zum Nachweis von *E. histolytica* mit entsprechender Vorsicht angewendet und die Ergebnisse kritisch beurteilt werden. Mit der ständigen Weiterentwicklung solcher Testsysteme ist aber zu erwarten, dass Antigen-Detektionsmethoden weiter verbessert und wegen ihrer einfachen Handhabbarkeit in Zukunft vermehrt Anwendung finden werden. Langfristig werden sich in der Amöbendiagnostik aber nur solche Testsysteme durchsetzen, die *E. histolytica* spezifisch detektieren und sowohl Trophozoiten- als auch Zystenmaterial mit ausreichender Sensitivität nachweisen können.

Nukleinsäure-Amplifikationstechniken

Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren auf der Basis der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) sind gegenwärtig die empfindlichsten Methoden, um *E. histolytica* in Stuhlproben nachzuweisen [43–46]. Diese Techniken erlauben die Detektion von weniger als einer Amöbe pro Gramm Stuhl und sind damit allen anderen Nachweisverfahren wie Mikroskopie oder Amöbenkultur deutlich überlegen (Abbildung 3). Aufgrund starker inhibitorischer Aktivität war es lange Zeit problematisch, DNS aus Stuhlproben zu amplifizieren. Mittlerweile sind aber geeignete Proto-

kolle erarbeitet und standardisierte Extraktionskits erhältlich, mit denen reproduzierbar DNS aus Stuhl isoliert werden kann, die sich in nahezu 100% der Fälle mittels PCR amplifizieren lässt [45, 46]. Als Zielsequenz für den Amöbennachweis verwendet man typischerweise den rDNA-Locus, der im Genom von *E. histolytica* in 200 bis 400 Kopien vorkommt [47] und somit eine sehr empfindliche Detektion erlaubt. Obwohl die rDNA-Sequenzen zwischen *E. histolytica* und *E. dispar* zu 98,4% identisch sind [34], finden sich mehrere geeignete Sequenzabschnitte für ein spezifisches "Primerdesign". In der Diagnostik bewährt haben sich vor allem solche Primer, die relativ kleine DNS-Fragmente amplifizieren. Wegen der hohen Komplexität der DNS aus Stuhlproben muss zur spezifischen Identifizierung des Amplikons immer mindestens eine interne diagnostische Hybridisierungsprobe verwendet werden. Es bietet sich an, in der Routinediagnostik geschlossene "Real-Time"-PCR-Verfahren zu wählen [48]. Diese sind relativ schnell, da keine weiterführende Analytik betrieben werden muss und sie haben den Vorteil, nicht nur ein qualitatives, sondern auch ein quantitatives Testergebnis zu liefern. Darüber hinaus minimieren geschlossene Systeme die Gefahr der Kontamination und verhindern so falsch positive Resultate. Obwohl bereits ein erster konfektionierter Real-Time-PCR-Test kommerziell erhältlich ist (Artus GmbH, Hamburg), hat die PCR in der Labordiagnose der Amöbiasis noch keine breite Anwendung gefunden. Auf der anderen Seite zeigen verschiedene in den letzten Jahren publizierte Studien die hohe Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit dieser Methodik für den Nachweis von *E. histolytica* in Stuhlproben. Es ist daher anzunehmen, dass die PCR in absehbarer Zeit die Kultur als "Goldstandard" in der Amöbendiagnostik ablösen wird und sich in Zukunft alle anderen Testsysteme hinsichtlich Sensitivität und Spezifität an der PCR orientieren müssen. Nachteile der PCR sind der größere technische Aufwand, die höheren Kosten und die Tatsache, dass im Gegensatz zur Mikroskopie die Untersuchung auf *E. histolytica* beschränkt ist. Aktuelle Anstrengungen, die Extraktion von DNS aus Stuhlproben zu automatisieren, und die Entwicklung von Multiplex-PCR-Systemen zum Nachweis unterschiedlicher intestinaler Parasiten in einer einzigen Real-Time-PCR [49] könnten möglicherweise in Zukunft die DNS-Amplifikation aus Stuhlproben zu einer echten Alternative zu anderen Parasitennachweisverfahren werden lassen. Als schnelle und zuverlässige Differenzierungsmethode [46] und als hochsensitive Erfolgskontrolle nach amöbizider Therapie [50] ist die Stuhl-PCR aber auch heute schon Methode der Wahl in der Diagnostik der intestinalen *E. histolytica*-Infektion.

Serologie

Neben dem differenzierten Amöbendirektnachweis aus Stuhlproben ist der serologische Nachweis spezifischer

Antikörper gegen *E. histolytica* eine wesentliche und oftmals richtungsweisende Hilfe in der Diagnostik der Amöbiasis, da solche Antikörper bei über 90% aller Patienten mit invasiver intestinaler, aber vor allem extraintestinaler Amöbiasis (Amöbenleberabszess) gefunden werden und meist bereits zu Beginn der klinischen Symptomatik vorhanden sind [17, 51, 52]. Im Gegensatz zu Infektionen mit *E. dispar* und *E. moshkovskii* ist selbst bei asymptomatischen Zystenausscheidern von *E. histolytica* in bis zu 80% der Fälle ein signifikanter Antikörpertiter zu beobachten [46], allerdings sind die Antikörperspiegel in der Regel nicht so hoch wie bei invasiven Verläufen.

Verschiedene Tests zum Nachweis von Serumantikörpern gegen *E. histolytica* sind kommerziell erhältlich und zeigen in der Regel eine relativ gute Sensitivität und Spezifität. Um die Sensitivität und Spezifität weiter zu verbessern, verwenden einige diagnostische Laboratorien "Inhouse"-Tests aus eigens präparierten Antigenen [51, 52]. Obwohl zum Teil sehr gut evaluiert, sind die verschiedenen Testverfahren häufig nicht direkt untereinander vergleichbar. Es ist daher ratsam, insbesondere bei Verlaufskontrollen die Antikörpertiter entweder im selben Labor oder in einem Labor mit vergleichbaren Testverfahren zu bestimmen.

Da Amöbenantigene eine relativ hohe Spezifität aufweisen, sind falsch positive Ergebnisse bei gut eingestellten Testen relativ selten. Es gilt allerdings zu bedenken, dass in einigen Endemiegebieten Seroprävalenzen von über 20% nachgewiesen wurden [53–55], sodass bei Personen, die sich längere Zeit in solchen Gebieten aufgehalten haben, gelegentlich Resttiter früherer *E. histolytica*-Infektionen gefunden werden, die dann bei entsprechenden Beschwerden eine Amöbiasis vortäuschen können. Grundsätzlich ist die Serologie eine indirekte Nachweismethode und stellt in der Diagnostik der Amöbiasis lediglich ein Hilfsmittel dar. Ein serologisches Testergebnis alleine, ob positiv oder negativ, kann weder eine Amöbiasis beweisen noch sicher ausschließen.

Literatur

1. Stanley SL. Amoebiasis. Lancet 2003;361:1025–34.
2. Haque R, Huston CD, Hughes M, Houpt E, Petri WA Jr. Amebiasis. N Engl J Med 2003;17:1565–73.
3. Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amoebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. Rev Inf Dis 1986;8:228–38.
4. World Health Organization. Amoebiasis. Wkly Epidemiol Rec 1997;72:97–9.
5. Abe N, Nishikawa Y, Yasukawa A, Haruki K. Entamoeba histolytica outbreaks in institutions for the mentally retarded. Jpn J Infect Dis 1999;52:135–6.
6. Capron A, Wattre P, Capron M, Lefebvre MN. Autochthonous hepatic amoebiasis. Lille Méd 1972;17:956–9.
7. Doby JM, Duval JM, Beaucournu JC. Amoebiasis, an occupational disease of sewer men. Nouv Presse Méd 1980;9:532–3.

8. Gatti S, Cevini C, Marchi L, Novati S, Scaglia M. *Entamoeba histolytica* autochthonous isolates from mentally retarded Italian patients. *Parasitol Res* 1995;81:148–51.
9. Gatti S, Lopes R, Cevini C, Ijaoba B, Bruno A, Bernuzzi AM, et al. Intestinal parasitic infections in an institution for the mentally retarded. *Ann Trop Med Parasitol* 2000;94:453–60.
10. Knobloch J, Bialek R, Hagemann J. Intestinaler Protozoenbefall durch berufsbedingten Abwasserkontakt. *Dtsch Med Wochenschr* 1983;108:57–60.
11. Knobloch J, Funke M, Bienzle U. Autochthonous amoebic liver abscess in Germany. *Tropenmed Parasitol* 1980;31:414–6.
12. Scaglia M, Gatti S, Bruno A, Cevini C, Marchi L, Sargeant PG. Autochthonous amoebiasis in institutionalized mentally-retarded patients: preliminary evaluation of isoenzyme patterns in three isolates. *Ann Trop Med Parasitol* 1991;85:509–13.
13. Tachibana H, Kobayashi S, Nagakura K, Kaneda Y, Takeuchi T. Asymptomatic cyst passers of *Entamoeba histolytica* but not *Entamoeba dispar* in institutions for the mentally retarded in Japan. *Parasitol Int* 2000;49:31–5.
14. Yoshikawa I, Murata I, Yano K, Kume K, Otsuki M. Asymptomatic amoebic colitis in a homosexual man. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2306–8.
15. Gatti S, Cevini C, Bruno A, Novati S, Scaglia M. Transmission of *Entamoeba histolytica* within a family complex. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995;89:403–5.
16. Vreden SG, Visser LG, Verweij JJ, Blotkamp J, Stuijver PC, Aguirre A, et al. Outbreak of amoebiasis in a family in The Netherlands. *Clin Infect Dis* 2000;4:1101–4.
17. Knobloch J, Mannweiler E. Development and persistence of antibodies to *Entamoeba histolytica* in patients with amoebic liver abscess: analysis of 216 cases. *Am J Trop Med Hyg* 1983;32:727–32.
18. Wynants H, Van den Ende J, Randria J, Van Gompel A, Van den Enden E, Brands C, et al. Diagnosis of amoebic infection of the liver: report of 36 cases. *Ann Soc Belg Med Trop* 1995;75:297–303.
19. Blessmann J, Ali IK, Ton Nu PA, Dinh BT, Viet TQ, Van AL, et al. Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. *J Clin Microbiol* 2003;41:4745–50.
20. Allason-Jones E, Mindel A, Sargeant P, Katz D. Outcome of untreated infection with *E. histolytica* in homosexual men with and without HIV antibody. *Br Med J* 1988;297:654–7.
21. Hiatt RA, Markell EK, Ng E. How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa? *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:36–9.
22. Tanyuksel M, Petri WA Jr. Laboratory diagnosis of amoebiasis. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:713–29.
23. Diamond LS, Clark CG. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (emended Walker, 1911), separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *J Eukaryot Microbiol* 1993;40:340–4.
24. Ali IK, Hossain MB, Roy S, Ayeh-Kumi PF, Petri WA Jr, Haque R, et al. *Entamoeba moshkovskii* infections in children in Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 2003;9:580–4.
25. Clark CG, Diamond LS. Intraspecific variation and phylogenetic relationships in the genus *Entamoeba* as revealed by ribotyping. *J Eukaryot Microbiol* 1997;44:142–54.
26. Silberman JD, Clark CG, Diamond LS, Sogin ML. Phylogeny of the genera *Entamoeba* and *Endolimax* as deduced from small-subunit ribosomal RNA sequences. *Mol Biol Evol* 1999;16:1740–51.
27. Kebede A, Verweij JJ, Petros B, Polderman AM. Misleading microscopy in amoebiasis. *Trop Med Int Health* 2004;9:651–2.
28. Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:329–41.
29. Sargeant PG, Williams JE. Electrophoretic isoenzyme patterns of the pathogenic and non-pathogenic intestinal amoebae of man. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1979;73:225–7.
30. Sargeant PG, Williams JE. Electrophoretic isoenzyme patterns of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba coli*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978;72:164–6.
31. McMillan A, McNeillage GJ. Comparison of the sensitivity of microscopy and culture in the laboratory diagnosis of intestinal protozoal infection. *J Clin Pathol* 1984;37:809–11.
32. Sargeant PG, Williams JE, Grene JD. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978;72:519–21.
33. Tannich E, Horstmann RD, Knobloch J, Arnold HH. Genomic DNA differences between pathogenic and non-pathogenic *Entamoeba histolytica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:5118–22.
34. Clark CG, Diamond LS. Ribosomal RNA genes of 'pathogenic' and 'nonpathogenic' *Entamoeba histolytica* are distinct. *Mol Biochem Parasitol* 1991;49:297–302.
35. Gonzalez-Ruiz A, Haque R, Rehman T, Aguirre A, Hall A, Guhl F, et al. Diagnosis of amoebic dysentery by detection of *Entamoeba histolytica* fecal antigen by an invasive strain-specific, monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1994;32:964–70.
36. Haque R, Neville LM, Wood S, Petri WA Jr. Short report: detection of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* directly in stool. *Am J Trop Med Hyg* 1994;50:595–6.
37. Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA Jr. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol* 1995;33:2558–61.
38. Haque R, Mollah NU, Ali IK, Alam K, Eubanks A, Lysterly D, et al. Diagnosis of amoebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol* 2000;38:3235–9.
39. Jelinek T, Peyerl G, Löscher T, Nothdurft HD. Evaluation of an antigen-capture enzyme immunoassay for detection of *Entamoeba histolytica* in stool samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:752–5.
40. Pillai DR, Kain KC. Immunochromatographic strip-based detection of *Entamoeba histolytica*-*E. dispar* and *Giardia lamblia* coproantigen. *J Clin Microbiol* 1999;37:3017–9.
41. Pillai DR, Keystone JS, Sheppard DC, MacLean JD, MacPherson DW, Kain KC. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*: comparison of diagnostic methods in a setting of nonendemicity. *Clin Infect Dis* 1999;29:1315–8.
42. Garcia L, Shimizu SRY, Bernard CN. Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the Triage parasite panel enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 2000;38:3337–40.
43. Aguirre A, Warhurst DC, Guhl F, Frame IA. Polymerase chain reaction-solution hybridization enzyme-linked immunoassay (PCR-SHELA) for the differential diagnosis of pathogenic and non-pathogenic *Entamoeba histolytica*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995;89:187–8.
44. Britten D, Wilson SM, Mc Nerney R, Moody AH, Chiodini PL, Ackers JP. An improved colorimetric PCR-based meth-

- od for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in feces. *J Clin Microbiol* 1997;35:1108–11.
45. Verweij JJ, Blotkamp J, Brienen EA, Aguirre A, Polderman AM. Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* cysts using polymerase chain reaction on DNA isolated from faeces with spin columns. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:358–61.
 46. Blessmann J, Buss H, Nu PA, Dinh BT, Ngo OT, Van AL, et al. Real time PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fecal samples. *J Clin Microbiol* 2002;40:4413–7.
 47. Bhattacharya S, Som I, Bhattacharya A. The ribosomal DNA plasmid of *Entamoeba*. *Parasitol Today* 1994; 14:181–5.
 48. Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *Biotechniques* 1997;22:130–8.
 49. Verweij JJ, Blange RA, Templeton K, Schinkel J, Brienen EA, van Rooyen MA, et al. Simultaneous detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples by using multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2004;42:1220–3.
 50. Blessmann J, Tannich E. Treatment of asymptomatic intestinal *Entamoeba histolytica* infection. *N Engl J Med* 2002;347:1384.
 51. Lotter H, Jackson TF, Tannich E. Evaluation of three serological tests for the detection of antiamebic antibodies applied to sera of patients from an area endemic for amebiasis. *Trop Med Parasitol* 1995;71:401–7.
 52. Lotter H, Mannweiler E, Schreiber M, Tannich E. Sensitive and specific serodiagnosis of invasive amoebiasis by using a recombinant surface protein of pathogenic *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol* 1992;30:3163–7.
 53. Choudhuri G, Prakash V, Kumar A, Shahi SK, Sharma M. Protective immunity to *entamoeba histolytica* infection in subjects with antiamebic antibodies residing in a hyperendemic zone. *Scand J Infect Dis* 1991;23:771–6.
 54. Caballero-Salcedo A, Viveros-Rogel M, Salvatierra B, Tapia-Conyer R, Sepulveda-Amor J, Gutierrez G, et al. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 1994;50:412–9.
 55. Blessmann J, Van Linh P, Nu PA, Thi HD, Muller-Myhsok B, Buss H, et al. Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in Central Vietnam. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66:578–83.