



Bundesgesundheitsblatt

**Jahrgang 52 · Heft 1 ·
Januar 2009**

**Mitteilungen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit
Arboprotzoen. Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des
Bundesministeriums für Gesundheit**

122



Arboprotozoen

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern werden als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl., 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C* (Hepatitis-G-Virus), (Bundesgesundheitsbl., 41, 78–90, 1998), *HTLV-I/-II*, (Bundesgesundheitsbl., 41, 512, 1998), *Yersinia enterocolitica*, (Bundesgesundheitsbl., 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl., 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)*, (Bundesgesundheitsbl., 43, 240–248, 2000) und *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)*, (Bundesgesundheitsbl., 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundheitsbl., 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl., 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl., 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl., 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl., 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q (query) Fiebers* (Bundesgesundheitsbl., 48, 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl., 48, 1082–1090, 2005), *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl., 50, 1184–1191, 2007),

Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien) (Bundesgesundheitsbl., 50, 1192–1207, 2007), *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl., 1, 90–97, 2008) und *Malaria* (Bundesgesundheitsbl., 2, 236–249, 2008).

Arboprotozoen sind über Arthropoden übertragbare protozoale Infektionserreger. In diesem Beitrag werden nur die Arboprotozoen behandelt, die epidemiologisch relevant über Bluttransfusion übertragen werden können. Es werden wesentliche Eigenschaften und Übertragungsmöglichkeiten für folgende Arboprotozoen beschrieben:

- a) *Leishmania*
 - b) *Trypanosoma brucei gambiense* und *rhodiense*
Trypanosoma cruzi
 - c) *Babesia microti* bzw. *divergens*
 - d) *Toxoplasma gondii*
- Plasmodium* sp. wurde gesondert beschrieben [1].

Infektionserreger wie *Giardia lamblia*, *Dientamoeba* sp, *Entamoeba* sp, *Cryptosporidium parvum* und *Isospora belli* sind ebenfalls Protozoen, die den Menschen je nach Region, Nahrungsmittelhygiene und Wasserhygiene befallen, und die ausnahmsweise über Blut übertragen werden [2]. Sie lösen Infektionen des Gastrointestinaltraktes aus und führen gelegentlich zur Penetration von Gewebsschichten, sodass sie nach Phagozytose durch Makrophagen/Monozyten kurzfristig, z.B. wenige Tage bis eine Woche, auch im Blut vorhanden sind. Nach Sistieren der gastrointestinalen Symptomatik sind diese Erreger normalerweise nicht mehr im

Blut vorhanden. Bisher sind Übertragungen durch diese Protozoen in Deutschland nicht berichtet worden, und deshalb werden sie nicht näher abgehandelt. Da akut infizierte Spender für 4 Wochen nach einer Durchfall-Episode von der Blutspende ausgeschlossen werden, ist die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung vernachlässigbar gering. Die Möglichkeit einer Übertragung ist dennoch nicht vollständig ausgeschlossen, wie die Berichte von Übertragungen durch Organe und Stammzellen zeigen [3].

Die 3 klinischen Krankheitsbilder der Malaria und die Übertragung der 4 Plasmodienarten (*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax* und *P. malariae*) durch Blut sind bereits durch die Untergruppe des Arbeitskreises Blut beschrieben [1] und werden deswegen in dieser Zusammenstellung nicht weiter behandelt. Plasmodien haben sich so an den Menschen adaptiert, dass sie nicht auf eine andere Spezies (seltene Ausnahme Schimpanse) und umgekehrt übertragen werden können. Sie sind also – im Gegensatz zu den hier behandelten Erregern – keine Zoonose.

Die im Folgenden aufgeführten Protozoen sind auch unter Tieren weit verbreitet und definitionsgemäß typische Erreger von Zoonosen und somit nicht ausrottbar. Die Verminderung der Übertragung erfolgt vorzugsweise über Fernhalten und Bekämpfung des Vektors oder des Vehikels. Versuche, einen protektiven Impfstoff gegen diese Protozoen zu entwickeln, haben bisher nicht zum Erfolg geführt und werden sich auch zukünftig wegen der großen Variabilität der Oberflächenantigene der Protozoen als schwierig

Tabelle 1

Protozoale Infektionserreger: Übertragungsweg, Krankheitsbild und geographische Verbreitung					
Abschnitt	Protozoon	Übertragungsweg/Vektor	Krankheitsbild	Krankheitsdauer	Geographische Verbreitung
A	<i>Leishmania</i> sp <i>Viannia</i>	Sandfliege (<i>Phlebotomus</i> und <i>Lutzomyia</i>) Bremse (<i>Tabanidae</i>), Zecke (<i>Ornithodoros</i>)	kutan mukokutan viszeral	3 Wochen bis lebenslang	Vorderer Orient Mittelmeerraum Zentralasien Südasiens Mittelamerika Südamerika Mittelafrika
B	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Raubwanzen wie <i>Triatoma</i> , <i>Rhoni</i> , <i>Panstrongylus</i> über Kot	Chagas-Krankheit	1 Woche bis lebenslang	Lateinamerika Südamerika
B	<i>Trypanosoma brucei</i>	Tsetse-Fliege (<i>Glossina morsitans</i>)	Schlafkrankheit	3 Wochen bis 3 Jahre für <i>T. b. gambiense</i> und 3 Wochen bis 20 Jahre für <i>T. b. rhodiense</i>	Westafrika Ostafrika
C	<i>Babesia</i> sp	Zecke (<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ornithodoros</i> , <i>Dermacentor</i> , <i>Amblyomma</i>)	Babesiose	ca. 4 Wochen bis Jahre	Europa Nordamerika, dort besonders Rinder befallen
	<i>Plasmodium</i>	Anopheles-Mücke	Malaria tropica Malaria tertiana Malaria quartana	selten 11, üblich 17 Tage bis Jahrzehnte je nach Plasmodium species	Tropenzone siehe Lit. 1
D	<i>Toxoplasma gondii</i>	Schmierinfektion über Katzenkot, kontaminiertes Gemüse, Tierhaare, z.B. der Katze, oder Verzehr von rohem Fleisch. Selten auch Übertragung über Arthropoden z.B. Kakerlake oder Fliege durch Schmierinfektion von offenen Wunden der Haut oder Schleimhaut.	Toxoplasmose	ca. 3 Wochen, in Zysten (Bradyzoiten) über Jahrzehnte infektiös-fähig verbleibend. Nur kurze Phase der Verbreitung im Blut.	weltweit

erweisen. In diesem Zusammenhang sollte auch an eine Übertragung einer Protozoen-Infektion, wie oben erwähnt mit Ausnahme von Malaria, durch Haustiere gedacht werden (■ Tabelle 1).

A Leishmania sp.

A 1 Wissensstand über den Erreger

Diese Protozoen sind 1903 von Leishman und Donovan charakterisiert worden. Leishmanien sind in den Tropen und Subtropen-Zonen weltweit verbreitet, und Hinweise auf verstümmelnde Gesichtsinfektionen finden sich an über 1000 Jahre alten Tongefäßen in Mittelamerika und auf Bildern der spanischen Eroberer aus dem 16. Jahrhundert [4]. 1911 fand Gaspar Vianna den Unterschied im Vermeh-

rungszyklus zwischen *Leishmania* der Neuen und der Alten Welt heraus. Die Leishmaniose der Alten Welt wurde etwa 1500 AD beschrieben [4] in einer Region, die dem heutigen Afghanistan und dem Mittleren Osten entspricht. Zum ersten Mal wurde der Erreger *Leishmania* von dem russischen Militärarzt Borovsky 1898 in einer Hautwunde beschrieben [5].

Leishmanien gehören zur Familie der Trypanosomatiden in die Ordnung der Kinetoplastiden und sind von der Evolution her wahrscheinlich 1 Milliarde Jahre alt.

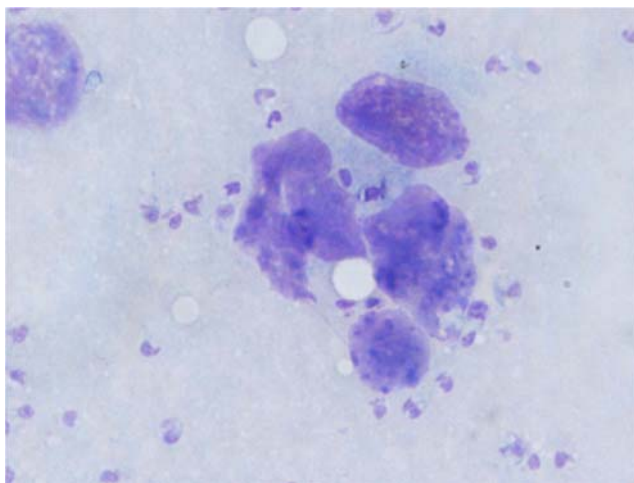
Etwa 350 Millionen Menschen sind von *Leishmania* bedroht [6], etwa 12 Millionen haben chronische Krankheitssymptome. Etwa 90 % aller Fälle von viszeraler Leishmaniose treten im östlichen Indien und in Bangladesch, im Sudan und in Bra-

silien auf. Etwa 90 % der Fälle von kutaner Leishmaniose treten in den Ländern des Mittleren Ostens, in Afghanistan bis Zentralasien und Lateinamerika bis Peru auf und etwa 90 % der Fälle von mukokutaner Leishmaniose in Brasilien, Bolivien und Peru. Der Genus *Leishmania* wird in die Subgenera *Leishmania* (weltweit verbreitet) und *Viannia* (nur in Amerika verbreitet) unterschieden. *Viannia* hat einen etwas unterschiedlichen Vermehrungszyklus im Vektor. Die Klassifikation der Leishmanien ist nicht abgeschlossen. Verschiedene *Leishmania* species können klinisch sich überlappende Krankheitssymptome verursachen. Bedeutende Leishmanien sind: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. major*, *L. chagasi*, *L. amazonensis*, *L. brasiliensis*, *L. mexicana*, *L. peruviana* und andere.

Abb. 1 ► *Leishmania*. Promastigoten mit polständiger Geißel, Tricon-Färbung. Originalpräparat aus dem Tropeninstitut der Ludwig-Maximilians-Universität München, Prof. Löscher



Abb. 2 ► *Leishmania* Geißellose Amastigoten, Tricon-Färbung. Originalpräparat aus dem Tropeninstitut der Ludwig-Maximilians-Universität München, Prof. Löscher



A 1.1 Erregereigenschaften

In Abhängigkeit vom Vermehrungsorgan oder Wirt haben die diploiden Leishmanien eine Geißel (Promastigoten) oder keine (Amastigoten), wenn sie z.B. in den Zellen des Retikuloendothelial-Systems von Säugern wachsen. Leishmanien penetrieren aktiv die Zellwand und vermehren sich dort. Sie werden über den Blutsaugakt von Sandfliegen der Spezies *Phlebotomus* in Europa und Asien und *Lutzomyia* beider Amerikas [7] in den Vektor aufgenommen, in deren Darm sie sich vermehren, um sich dann im Vorderdarm anzusammeln und mit dem Stich in die Haut des Säugers injiziert zu werden.

A 1.1.1 Aufbau

Leishmanien haben eine Länge von etwa 2–3 µm und sind 0,7–1 µm breit. Sie tragen als Promastigoten eine polständige Geißel von 2–3 µm Länge, wenn sie sich im Vektor befinden (■ Abb. 1) und wandeln sich

um in den länglichen bis runden, geißellosen Amastigoten (3–5 µm), wenn sie sich in menschlichen Makrophagen oder anderen Zellen befinden (■ Abb. 2). Der Zellkörper zeigt einen großen Kern und einen Kinetoplasten. Die Geißel des Amastigoten verbleibt in der Zellmembran. Über die Trichrom-, Giemsa- und Hämatoxylin-Eosin-Färbung sind Leishmanien anfärbbar.

A 1.1.2 Vermehrung

Eine sexuelle Vermehrungsphase ist bei Leishmanien bisher nicht beschrieben worden. Beim Menschen vermehrt sich *Leishmania* nach einer Inkubationszeit von ca. 10 Tagen in Makrophagen oder anderen mononukleären Zellen, Langerhans- und dendritischen Zellen der Haut, Kupfer-Zellen der Leber durch Teilung innerhalb der sauren parasitophoren Vakuole. Durch Zelltod werden Amastigoten freigesetzt, die weitere Zellen infizieren.

A 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Viszerale Leishmaniose, synonym Kala Azar.

Nach dem Stich der Sandfliege werden die Promastigoten durch Makrophagen aufgenommen und vermehren sich intrazellulär. Auf der Haut verbleibt an der Einstichstelle eine Papel, durch Einwanderung von Leukozyten kommt es zur Schwellung. Von der Einstichstelle aus kommt es zur generellen Aussaat mit Lymphadenopathie und zur progressiven Milz- und Leberschwellung. Je nach Immunantwort resultiert ein Überwinden der Infektion, chronischer Verlauf oder tödlicher Ausgang.

Kutane Leishmaniose.

Typische klinische Bilder sind die Orient- oder Aleppo-Beule im Vorderen Orient und die kutane, warzenförmige Leishmaniose in Südamerika. Nach dem Stich vermehren sich die Amastigoten innerhalb der Langerhanszellen der Haut. Nachfolgend wandern Leukozyten ein, der Randwall der Einstichstelle schwillt auf, es bildet sich eine Papel und schließlich nach Wochen ein Ulkus mit weißem Fibringrund. Teilweise sehen die Läsionen aus wie bei Lepra. Nach Abheilen des Ulkus kann es zu Rezidiven kommen, da Amastigoten in einigen Zellen persistieren und sporadisch freigesetzt werden können. Infizierte fallen auf durch lang andauerndes Fieber, Gewichtsverlust, Müdigkeit, Abgeschlagenheit und Hepatosplenomegalie. Laborchemisch finden sich Anämie, Leukopenie und Hypergammaglobulinämie.

A 1.3 Epidemiologie

Leishmania ist in den subtropischen Regionen der Welt verbreitet, in denen sich auch der Hauptvektor Sandfliege (*Phlebotomus* und *Lutzomyia*) findet und Habitate für seine Vermehrung wie das geeignete Wild- und Nutztier-Reservoir vorhanden sind (■ Abb. 3). Schlechte hygienische Verhältnisse fördern zusätzlich die Verbreitung des Vektors. Neben der Übertragung durch die Vektoren Sandfliegen, Bremsen und Zecken kann *Leishmania* auch parenteral durch Bluttransfusion, Nadelstichverletzung und beim intravenösen (i.v.) Drogenkonsum übertragen werden.

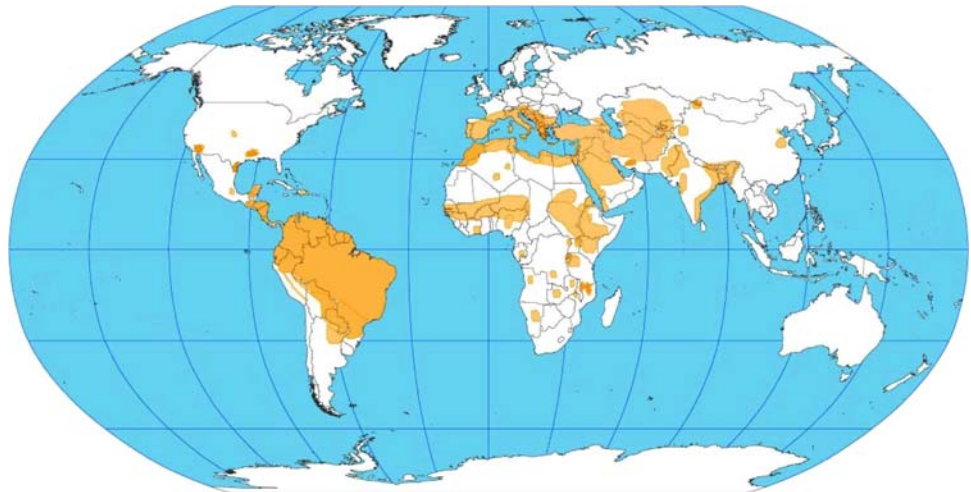


Abb. 3 ► Weltweite Verbreitung von *Leishmania* sp., entsprechend den im Jahr 2008 allgemein zugänglichen Informationen

L. donovani ist im östlichen Indien, in Bangladesh, in Ostafrika (besonders im Sudan und Kenia) und im gesamten mediterranen Raum verbreitet und führt zur viszeralen Form der Leishmaniose (Kala Azar). Bei chronischem Verlauf, besonders wenn die Erstinfektion bei Kindern erfolgt, ist auch die Haut befallen, und bei Stich und nachfolgender Blutaufnahme werden die Vektoren infiziert. Tierreservoir sind Rind, Hund, Katze, Ratte, Maus und weitere Kleintiere. Eine ähnliche Verbreitung wie *L. donovani* hat *L. aethiopicum*. Doppelinfektionen mit verschiedenen *Leishmania*-Spezies sind beschrieben.

In der Golfregion Arabiens haben sich US-amerikanische Soldaten während des Golfkrieges mit *Leishmania tropica* infiziert [8], Infektionen von Soldaten aus dem Irak und Afghanistan sind bekannt [9]. *Leishmania*-Übertragung über Bluttransfusion ist in Deutschland bisher nicht berichtet worden.

L. infantum/*L. chagasi* hat in ländlichen Regionen von Brasilien regional begrenzte Epidemien ausgelöst. *L. peruviana* löst eher die kutane Form der Leishmaniose aus, wie die weiteren dort verbreiteten Spezies von *L. mexicana*, *amazoniensis* und *brasiliensis*. *L. brasiliensis* ist auch für die mukokutane Form verantwortlich, die als Espundia bezeichnet wird und Entzündungen und Ulzera auslöst, die bis zu 6 Jahre bestehen können.

Viszerale Leishmaniose wurde bei Patienten mit HIV-Immunschwäche in der Schweiz beobachtet [10], auch bei einigen Patienten in Spanien [11]. Bis Ende 1995 wurden der WHO 734 AIDS-Patienten

mit Leishmaniose aus Frankreich, Italien, Portugal und Spanien gemeldet [33]. Weiterhin ist eine hohe Zahl von Leishmania- und HIV-Koinfizierten aus Brasilien, Äthiopien und Indien über WHO-Studien bekannt [12].

Eine chronische Infektion wurde in Deutschland bei einem Patienten mit erythematösen, infiltrativen Plaques nachgewiesen [13], bei 42 Patienten, die in den Jahren 2001–2004 [14] und bei 58 Patienten, die im Raum Berlin von 2000–2002 untersucht wurden [15]. Unter den 58 Patienten in Berlin waren 48 Deutsche, die ihre Infektion als Touristen in den folgenden Ländern erworben hatten: in Europa (Frankreich, Italien, Malta und Spanien), in Amerika (Brasilien, Bolivien, Ecuador, Französisch Guayana und Peru), in Asien (Afghanistan, Arabische Emirate, Syrien und Türkei) und in Afrika (Ägypten, Kenia und Libyen). Die Daten zeigen, dass auch in Deutschland *Leishmania* vorhanden ist, aber bisher endogene Übertragungen in Deutschland nicht beschrieben worden sind. Bei einem Fall einer viszeralen Leishmaniose bei einem Kind, welches nicht in einer endemischen Region war, ist die *Leishmania*-Übertragung in Deutschland nicht auszuschließen [16]. Bei 130 importierten *Leishmania*-Infektionen in Deutschland betrug die mittlere Zeit vom Auftreten von Symptomen bis zur Diagnose 3–4 Monate [17].

A 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Erregernachweis

- Mikroskopie: Amastigoten (■ Abb. 2) lassen sich in Gewebe, Tupfpräparaten des Ulkus, angereicherten mononukleären Zellen des Blutes und Knochenmarkszellen nachweisen.
- Kultur: Leishmanien können durch Kultur in Novy-, Mac Neal- und Nicoll-Medium (NNN) aus Gewebe angezüchtet werden [18]. Die Isolierung erfolgt aus peripheren, mononukleären Blutzellen (PBMC), die über Gradientenzentrifugation aus Blut angereichert für Monate in Kultur gehalten werden [19].
- NAT (*nucleic acid testing*): Für den Nachweis im Blut wird Kinetoplasten DNA aus PBMC (Periphere Blut Mononukleäre Zellen) verwendet [20]. Dazu wurde eine Duplex-PCR entwickelt [21] oder eine real-time PCR adaptiert [22, 23]. Eine Sensitivität von 1 Parasiten pro 8 µl Blut kann erreicht werden, wobei je nach Patient die Parasitämie zwischen 32 und 188.000 Parasiten pro ml Blut schwanken kann [22].

Auch über die DNA der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase des Erregers kann *Leishmania* nachgewiesen werden [24]. Dieser Test eignet sich besonders für den Nachweis von *Viannia*-Spezies, die in Brasilien zirkulieren. Eine real-time PCR wurde entwickelt, welche im Cytochrom b-Gen von *Leishmania* lokalisiert ist, mit der auch gleichzeitig die *Leishma-*

nia-Spezies erkannt werden kann [25]. Eine PCR, die die „minicircles“ in Kinetoplasten amplifiziert und gleichzeitig die Zuordnung der Leishmanien nach geographischen Regionen zulässt, ist 2008 beschrieben worden [26]. Die Sensitivität lag bei 5 Parasiten pro ml Blut.

Antikörpernachweis

Der Nachweis von Antikörpern belegt die immunologische Auseinandersetzung mit *Leishmania* und bedeutet nicht automatisch ein Überwinden der Infektion.

- a) ELISA sind als in-house- und kommerzielle Tests verfügbar mit einer Sensitivität von etwa 93%. Die Möglichkeit von falsch positiven Ergebnissen besteht durch kreuzreagierende Antikörper gegen *Mycobacterium leprae* und *Trypanosoma* [27].
- b) Westernblot: In Speziallabors können Westernblot-Streifen hergestellt werden, wobei die Reaktion mit Proteinen mit den Molekulargewichten 40, 18 und 14,4 kD besondere Aussagekraft haben [20, 28].

A 2 Blut- und Plasmaspender

Auch nach kutaner Inokulation und Manifestation der Primärinfektion kann es, wie in Mäusen gezeigt, zur Parasitämie kommen.

Leishmania bleibt bis zu 25 Tage nach Abnahme in einer Blutkonserve vermehrungsfähig. Vermehrungsfähige Leishmanien können auch in Erythrozytenkonzentraten und Thrombozytenkonzentraten nachgewiesen werden, nicht jedoch in gefrorenem Frischplasma (GFP) [8].

A 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Unter 565 Blutspendern in Südfrankreich waren 76 seropositiv, unter diesen konnte bei 9 über PCR und Kultur *Leishmania infantum* nachgewiesen werden, was einer Prävalenz von 1,2% entspricht. Diese Untersuchung zeigt, dass *L. infantum* mit undulierender Parasitämie periodisch in exponierten, aber gesunden seropositiven Blutspendern auftreten kann [20].

A 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Zum Ausschluss potenziell infektiöser Spender gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien für Blutspender nach den Richtlinien der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Instituts [29, 30].

Spezifische Ausschlusskriterien zur Verhinderung der Übertragung von *Leishmania* mussten bis jetzt für Deutschland nicht definiert werden. Eine zeitliche Rückstellung nach Aufenthalt in endemischen Regionen mit Sandfliegen-Exposition wäre denkbar. In Betracht zu ziehen ist auch eine Rückstellung von Personen, welche sich für längere Zeit in *Leishmania*-Endemiegebieten wie z.B. im Kosovo oder in Afghanistan aufgehalten haben.

In Spanien, welches von der Leishmaniose eher betroffen ist als Deutschland, werden außer der Rückstellung nach Reisen in Malaria-, HTLV-1- und Chagas-Endemiegebiete keine weiteren für *Leishmania* spezifischen Rückstellkriterien angewendet. Es wird nicht auf Leishmanien getestet, da die dort obligatorische Leukozytendepletion als geeignete Präventionsmaßnahme angesehen wird. Jedoch werden Spender, die in einer endemischen Region gewesen sind, in Spanien und Italien für 6 Monate von der Spende zurückgestellt [31].

A 2.3. Spendertestung und Aussagekraft

Ein Screeningtest auf Antikörper bei Blut- und Blutkomponenten-Spendern wird derzeit in Deutschland nicht durchgeführt. Wie unter A 1.4 beschrieben, ist bei ELISA-Tests mit einer Sensitivität von etwa 93% zu rechnen. Die epidemiologische Situation von wenigen jährlichen *Leishmania*-Infektionen, die aus Endemieländern importiert wurden, rechtfertigt derzeit ein allgemeines Testen auf *Leishmania*-Antikörper nicht.

Der Nachweis von *Leishmania* im Blut über die NAT ist möglich, die Sensitivität der NAT steigt, wenn mononukleäre Zellen des Blutes verwendet werden (siehe A 1.4) Die NAT wird zurzeit aufgrund der epidemiologischen Situation mit nur Einzelfällen einer klinischen Manifestation in der Normalbevölkerung und des Fehlens dokumentierter Fälle von Übertragungen

über eine Blutspende in Deutschland nicht durchgeführt.

A 2.4 Spezifische Spenderbefragung

Eine Befragung von Spendern nach Aufenthalt in endemischen Regionen oder nach Stichen von *Phlebotomus* im mediterranen Raum oder von *Lutzomyia* in Mittel- und Südamerika findet nicht statt. Ein Ausschluss für 6 Monate erfolgt jedoch, wenn *Leishmania*- und Malariagebiete überlappen.

A 2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine Spenderinformation bezüglich *Leishmania* und der Möglichkeit der *Leishmania*-Übertragung, sowie eine Beratung über Krankheitsbild und chronischen Verlauf finden nicht statt.

A 3 Empfänger

A 3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Zur Prävalenz und Inzidenz von *Leishmania* in Empfängern von Blut und Blutprodukten in Deutschland werden keine Untersuchungen durchgeführt.

A 3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Auch bei guter Abwehrlage können Leishmanien übertragen werden, und die Infektion kann wie unter A 1.2 beschrieben teils überwunden werden. Es ist mit einer klinisch sichtbaren Abwehrreaktion nach ca. 3 Wochen zu rechnen. Besonders schwere Krankheitsbilder bilden sich bei Immunschwäche, wie z.B. AIDS, aus [32, 33].

A 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Wie unter A 1.2 beschrieben, kann die Infektion spontan überwunden werden oder in die chronische Form mit kutaner oder viszeraler Manifestation übergehen, abhängig von der Inokulationsdosis, der *Leishmania*-Spezies, der initialen Abwehrreaktion und der durchgeführten Therapie. Die unbehandelte Leishmaniose kann tödlich verlaufen.

A 3.4 Therapie und Prophylaxe

Liposomales Amphotericin B (Ambisome) hat sich als Mittel der Wahl bei der Behandlung der viszeralen Leishmaniose erwiesen. Es wird wöchentlich einmal über 4 Wochen appliziert, bei Immunschwäche über 6 Wochen. Gegen pentavalentes Antimon sind in Indien ca. 40 % der Leishmanien resistent. Eine neuere, gut wirksame Substanz ist Miltefosin (Impavido), welches auch gegen die kutane Leishmaniose eingesetzt wird und ambulant gegeben werden kann [34]. An der Einstichstelle kann nach Ausbildung des Ulkus lokal mit 15 % Paromomycin und 12 % Methylbenzetoniumchlorid behandelt werden. Zur Behandlung der viszeralen Leishmaniose in Indien kann auch Miltefosin erfolgreich eingesetzt werden [35].

Für die Behandlung der kutanen Leishmaniose kann auch die Kombination von Imiquimod und Megluminiol-Antimoniat erfolgreich verwendet werden [36]. Pentamidin, welches als Zweit-Reihe-Medikament zur Verfügung steht, wird über den ABC-Transporter aus Amastigoten eliminiert [37]. Eine bessere Wirkung von Megluminiol-Antimoniat könnte dessen Verpackung in Liposomen haben [38].

Zur Prophylaxe stehen 3 Wege zur Verfügung:

1. Mechanischer Schutz vor den Stechattacken der Sandfliege,
2. Eradikation des Vektors durch Insektizide in Regionen mit besonders dichtem Befall und
3. Sanierung der Viehbestände und Haustiere durch regelgerechte Therapie oder Elimination infizierter Tiere. Überprüfen des Importes von lebenden Tieren, besonders Hunden, aus Endemiegebieten.

Eine medikamentöse Prophylaxe oder Impfung steht nicht zur Verfügung.

A 3.5 Übertragbarkeit

Wie unter A 1.2 beschrieben, kann *Leishmania* bis zu 25 Tage nach Abnahme in der Blutkonserven infektionsfähig bleiben, folglich ist Übertragbarkeit über Blut und Blutprodukte gegeben. Elf Übertragungen über Transfusion wurden berichtet [39], zusätzlich 32 über Hämodialyse in Brasilien [40]. Eine Mensch-zu-Mensch-Über-

tragung durch soziale Kontakte ist nicht beschrieben worden, bekannte Vektoren sind *Phlebotomus*, Tabaniden und *Lutzomyia*.

Die erste mögliche Laborinfektion fand 1930 in China statt. Über die erste bewiesene Laborinfektion mit *Leishmania donovani* wurde 1950 berichtet [41]. Insgesamt sind 12 Laborübertragungen mit *Leishmania* publiziert, davon 6 in USA, 3 in Lateinamerika und je eine in Asien, Kanada und Europa [42]. Über die Hälfte der beschriebenen Infektionen trat nach parenteraler Inokulation auf. Bei Beachten entsprechender Vorsichtsmaßnahmen sind diese Übertragungen vermeidbar.

A 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Leishmanien sind in Leukozyten angereichert [43], sie können über Erythrozyten-, Granulozyten- und Thrombozytenkonzentrate übertragen werden. Aufgrund der niedrigen Prävalenz und Inzidenz in Deutschland sind Art und Menge der Blutprodukte nicht von Bedeutung.

A 4 Blutprodukte

A 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Leishmania kann über Blut und Blutprodukte übertragen werden, was in endemischen Regionen nachgewiesen wurde [9, 20]. In einem beschriebenen Fall führte die Übertragung der Infektion durch Blut von einem asymptomatischen Träger auf ein Neugeborenes innerhalb eines Monats zu Fieber und Hepatosplenomegalie und nach 7 Monaten zum Tod des Säuglings [39]. Auch Thrombozytenkonzentrat kann *Leishmania* übertragen, die zur viszeralen Form führte, wie ein Bericht aus Indien zeigt [44].

A 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Da *Leishmania* zellgebunden ist, können alle zellhaltigen, kontaminierten Blutprodukte *Leishmania* übertragen [8]. Die Leukozytendepletion kann die Belastung um 3–4 \log_{10} Stufen vermindern, wenn sie zeitnah zur Abnahme stattfindet [43, 45]. Bei Verwenden von sterilfiltriertem Plas-

ma ist *Leishmania* ohne Bedeutung, da der Erreger im Filter zurückgehalten wird [43]. Bei der Fraktionierung von Plasma zur Herstellung von z.B. Gerinnungsfaktoren und Immunglobulin werden Leishmanien eliminiert und/oder inaktiviert.

Über DNA interkalierende Photoaktivatoren wie Thiopyrilium kann *Leishmania* nach Lichtbestrahlung um mehr als 5,7 \log_{10} TCID₅₀ inaktiviert werden [46]. Inaktivierung ist ebenfalls möglich durch Behandlung mit Psoralen und UV-Licht, wobei 4 \log_{10} reduziert wurden [47]; und mit Riboflavin und UV-Licht, wobei eine Reduktion von etwa 5 \log_{10} in Plasma und Thrombozytenkonzentraten erreicht wurde [48].

Leishmanien werden durch Sterilfiltration vollständig entfernt und haben daher keine Bedeutung für Plasmaderivate.

A 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

Nachdem *Leishmania* in Kultur und Zellkultur vermehrt sowie das Agens über die PCR identifiziert und quantifiziert werden kann, sind Speik-Experimente durch externe Kontamination möglich und wurden durchgeführt [43]. Filtration über Leukozytenfilter kann Promastigoten in Plasma bis zu 6–8 \log_{10} abreichern; Filtration von Erythrozytenkonzentraten nach 2 Wochen Lagerung führte zu einer Reduktion von bis zu 4 \log_{10} . Die Reduktion von freien Promastigoten und Amastigoten wird auf deren negative Oberflächenladung und Adsorption an die Filtermatrix zurückgeführt [49].

A 5 Bewertung

Bei Reisen in endemischen Regionen und Stichen der Vektoren werden auch Personen, die in Deutschland leben, mit *Leishmania* infiziert. Der wesentliche Vektor des Mittelmeerraumes (*Phlebotomus*) oder der amerikanischen Region (*Lutzomyia*) wurde vereinzelt in Deutschland nachgewiesen. Es fehlt jedoch bislang das hoch durchsuchte Tierreservoir, über welches der Vektor infiziert wird. Personen mit chronischer Leishmaniose werden aufgrund ihres reduzierten Allgemeinzustandes, teils mit Fieber und Anä-

mie, von der Spende ohnehin permanent ausgeschlossen. Spender mit nachgewiesener Leishmaniose, ob kutan oder viszeral, sind permanent von der Blutspende auszuschließen [9, 50].

In Deutschland ist das Risiko der Übertragung von *Leishmania* über Blut sehr gering, über Plasmaprodukte nicht vorhanden, und rechtfertigt derzeit nicht die Einführung einer Testung, sei es über den Antikörpertest oder die NAT. Trotzdem sollte die epidemiologische Entwicklung in Deutschland hinsichtlich Erreger und Vektor beobachtet werden.

B Trypanosoma

B 1 Wissensstand über den Erreger

Anfang des 20. Jahrhunderts hat Carlos Chagas in Brasilien die amerikanische Trypanosomiasis beschrieben [51]. Er fand auch den Übertragungsmechanismus der Trypanosomen über Raubwanzen heraus und übertrug die Trypanosomen aus dem Blut infizierter Patienten auf Meerschweinchen und Affen [52]. Der Erreger wurde von Oswaldo Cruz identifiziert. Von der Chagas-Krankheit sind etwa 18 Millionen Menschen betroffen [4].

Die afrikanische Trypanosomiasis wurde erstmals 1721 von John Atkin und dann 1803 von Thomas Winterbottom beschrieben [4, 53]. 1881 fand Griffith Evans Trypanosomen im Blut von an Surra-Krankheit erkrankten Pferden und Dromedaren, 1894 fand David Bruce sie bei einem Ausbruch der Nagana-Krankheit von Rindern in Südafrika, und 1891 identifizierte Gustave Nepveu sie in menschlichem Blut von erkrankten Jägern [54].

Der Genus *Trypanosoma* besteht aus etwa 20 Spezies, von denen 2 oder 3 humanpathogen sind [55]. *Trypanosoma cruzi*, welches auch als *Schizotrypanum cruzi* bezeichnet wurde, ist von Mexiko bis Mitte Argentinien und Chile verbreitet, *Trypanosoma brucei gambiense* in West- und Zentralafrika und *Trypanosoma brucei rhodesiense* in Ostafrika. Überträger von *T. cruzi* ist die Raubwanze (*Triatoma infestans*) und andere Wanzen; Überträger von *T. brucei* die Tsetse-Fliege. Amerikanische Trypanosomen lösen die Chagas-Krankheit aus, afrikanische die Schlaf-

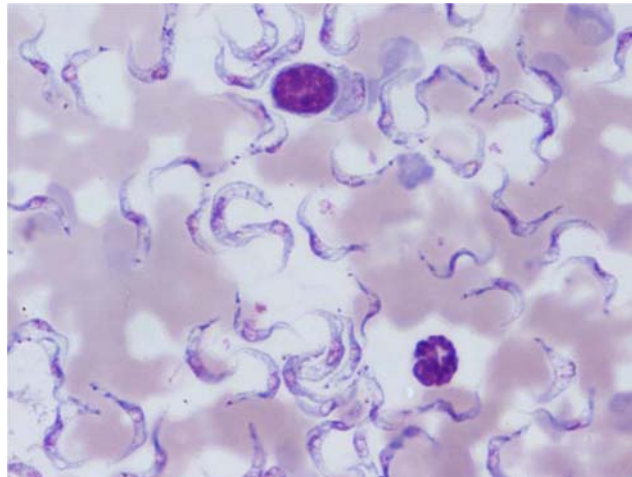


Abb. 4 ◀ Blutausstrich einer mit Trypanosomen infizierten Maus, May-Grünwald-Giemsa gefärbt. In dieser Darstellung sind *T. cruzi* und *T. brucei* nicht zu unterscheiden. Präparat aus dem Friedrich-Löffler-Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Greifswald

krankheit. Beide Krankheiten sind Zoonosen, wobei für *T. cruzi* die Haustiere Armadillo (Gürteltier) und Opossum Hauptwirte sind und unter den Invertebraten *Triatoma*. Wirte für *T. brucei* sind Wildtiere wie Antilopen, Gazellen und Buschbock, und Haustiere vom Hund bis zum Rind; unter den Nichtvertebraten ist bisher nur die Tsetse-Fliege bekannt.

B 1.1 Erregerigenschaften

Entsprechend ihrer Vermehrung im Vektor werden Trypanosomen in 2 Klassen unterschieden:

Stercoraria. Im Menschen bildet sich ein Amastigot, dessen Entwicklung im Enddarm des Vektors, z.B. *Triatoma*, beendet wird. Beispiel ist *T. cruzi*. Die aufgenommenen Amastigoten vermehren sich im Mitteldarm von *Triatoma* als Epimastigoten, die eine Geißel tragen, und schließlich als reife Trypomastigoten mit den Faeces ausgeschieden werden.

Salivaria. Das Trypomastigoten-Stadium findet sich in Mensch und Vektor, aber die Entwicklung wird im Vektor (*Glossina*) in der Speicheldrüse beendet. Beispiel ist *T. brucei*. Beim kurzen Weg penetrieren die Trypanosomen vom Mitteldarm in die Speicheldrüse. Beim klassischen Weg werden die Erreger bis zum Ende des Darms transportiert, penetrieren in den ektoperitrophen Raum und wandern innerhalb von 10–20 Tagen zum vorderen Ende des Mitteldarms, von wo sie in den Hypopharynx penetrieren und dann die Speicheldrüse infizieren.

Trypomastigoten bewegen sich in Körperflüssigkeiten wie Blut. Sie sind etwa 10 µm lang, 3 µm breit, tragen eine 10 µm lange Geißel, die über ein Pterygium am Körper befestigt ist. Intrazellulär liegen ein großer Nukleus, Kinetoplast, zytoplasmatische Granula und die üblichen Zellorganellen (◻ Abb. 4). Der Kinetoplast ist ein komplexes DNA-haltiges Mitochondrion, welches den gesamten Körper bei *T. brucei* durchspannt. Nur *T. cruzi* vermehrt sich im Menschen intrazellulär als Amastigot, wie bei *Leishmania* beschrieben. *T. brucei* hat keine intrazelluläre Form und zirkuliert als Trypomastigot in Blut und Gewebeflüssigkeiten. Trypanosomen können auf der Oberfläche viele verschiedene Proteine exprimieren, sodass sie z.B. nach Zellpassage das Immunsystem unterlaufen.

B 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

T. cruzi. Nach Einreiben der im Kot der Wanze vorhandenen Trypomastigoten in die Haut erfolgt deren Vermehrung und Verbreitung im Körper. Lokal bildet sich ein Chagom aus, bestehend aus einem Ödem und entzündlicher Zellinfiltration. Zusammen mit einer wenig schmerzhaften Schwellung von Periorbita und Lid wird dieses Bild als Romaña-Zeichen bezeichnet. In den lokalen Muskel- und Gewebszellen finden sich Trypomastigoten und Amastigoten. Die befallene Zelle wird lysiert und die Trypanosomen freigesetzt.

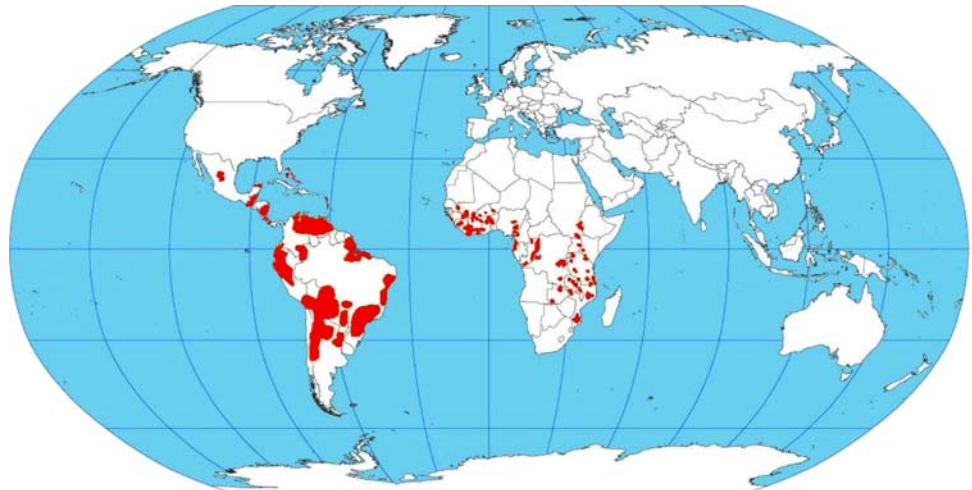


Abb. 5 ► Verbreitung von *Trypanosoma cruzi* in Südamerika und *Trypanosoma brucei* in Afrika, entsprechend den im Jahr 2008 allgemein zugänglichen Informationen

Im Gewebe können sich Pseudozysten ausbilden, die voll von Amastigoten sind. Eine lymphozytäre Infiltration ist sehr häufig vorhanden. Wird der Herzmuskel befallen, entstehen Nekrosen, die abhängig vom Ausmaß einen akuten Herztod oder chronische Herzmuskelbeschwerden auslösen können. Eine weitere Komplikation entsteht bei Befall des Reizleitungssystems des Herzens und der assoziierten Ganglien im Plexus.

Etwa 10–30 % der Infizierten entwickeln die Chagas-Krankheit, die chronisch verläuft. Der Herzmuskel ist dabei das am meisten betroffene Organ. Plötzlicher Herztod bei jungen Erwachsenen kann auf die Infektion des Herzmuskels und Lyse der Muskelzellen durch *T. cruzi* zurückzuführen sein. Rhythmusstörungen bei Befall sind häufig. Weitere typische Symptome sind Megakolon, Megaoesophagus, deren Lumen über 10 cm geweitet sein können, durch Lähmung der Nerven des Plexus myentericus. Im befallenen Gewebe findet sich eine starke lymphozytäre Infiltration.

Allgemeine Zeichen der Infektion sind Fieber und Abgeschlagenheit, Anorexie, Lymphadenopathie und geringe Hepatosplenomegalie. Eine Meningoenzephalitis ist selten. Nach der akuten Krankheit schließt sich die Intermediärphase an, in der hohe Antikörpertiter gegen *T. cruzi* vorhanden sind. Nach Jahren oder Dekaden folgt die chronisch symptomatische Chagas-Krankheit mit Befall von inneren Organen, Herzrhythmusstörungen und Thromboembolien mit möglichem Tod innerhalb von Monaten bis Jahren. Auch

bei asymptomatischem Verlauf führt eine Immunsuppression zur Reaktivierung der Trypanosomenvermehrung mit generellem Organbefall und schließlich Tod.

T. brucei. Etwa 300 Trypanosomen bilden eine human-infektiöse Dosis [56]. Nach Stich der Tsetse-Flye erfolgt Vermehrung im lokalen Gewebe, in das Entzündungszellen einwandern. Die lokalen Lymphknoten schwellen und werden schließlich fibrotisch. Es folgen Hepatosplenomegalie, Befall von Herzmuskel, Nieren, Knochenmark und auch der Haut. Es bildet sich eine Anämie aus, durch vermehrte Lyse der Erythrozyten, die mit Komponenten von *Trypanosoma* beladen sind. Bei Thrombozytopenie treten Blutungen auf. Typisch ist der Befall des Zentralnervensystems, der anfänglich den Arachnoidalraum und die Ventrikel betrifft, und dann den gesamten Flüssigkeitsraum. Der *Liquor cerebrospinalis* ist proteinreich, zellreich mit mononukleären Zellen und den besonderen Morula (sog. Marshalko)-Zellen.

Die Inkubationszeit beträgt 5 Tage bis 3 Wochen, bis sich ein lokaler Entzündungsherd ausbildet. Bis das Hirn befallen ist, vergehen bei *T. brucei gambiense* 1–2 Jahre, bei *T. brucei rhodiense* 3–6 Monate. Spontanes Abheilen ist möglich.

Allgemeine Zeichen sind wie oben beschrieben Fieber, Lymphadenopathie, Ödeme, Myokarditis und Neuralgien. Die Krankheit mit zunehmender Apathie und Persönlichkeitsverfall endet ohne Therapie bei chronischer Meningoenzephalitis

in der Schlafkrankheit, mit anfangs nur mentalem Verfall, gefolgt von Manie, Hemiplegie und schließlich Tod.

B 1.3 Epidemiologie

T. cruzi. Blutsaugende Raubwanzen sind die Überträger, die sich in Fugen von Mauerwerk, besonders bei Lehmziegeln oder Spalten von Baumrinden besonders in ländlichen Regionen vermehren. Viele Wildtiere sind Wirte. In diesen und auch im Menschen vermehren sich die Trypanosomen intrazellulär als Amastigoten, werden von den Wanzen mit der Blutmahlzeit aufgenommen, reifen im Enddarm heran (Epimastigoten) und werden mit dem Kot bei der Blutmahlzeit ausgeschieden (Trypomastigoten). Eintritt in den Körper erfolgt meist über kleine Hautläsionen, über Konjunktiva oder Schleimhaut beim Verschmieren des Wanzenkots, der starken Juckreiz auslöst. Viele Körperzellen werden befallen, in denen sich erneut die Amastigoten bilden. Der Mensch ist ein nicht notwendiger Wirt im Infektionskreislauf.

Entsprechend dem Wildtierreservoir und dem Habitat für die Entwicklung von *Triatoma* ist *T. cruzi* zwischen dem Süden der USA und Argentinien clusterförmig verteilt (■ Abb. 5). Über 150 Tierarten sind beschrieben worden, in denen sich *T. cruzi* vermehrt, teils werden sie infiziert, wenn sie die Raubwanzen fressen, z.B. Armadillo.

Vektoren für die Übertragung von *T. cruzi* auf den Menschen sind *Triatoma infestans* (■ Abb. 6) und *Rhodnius prolixus*



Abb. 6 ▲ Raubwanze der Gattung *Triatoma*, die ein Vektor zur Übertragung von *T. cruzi* ist. Gezeigt sind (links) die Eier, dann die Nymphenstadien und (rechts) die adulte Wanze, im Größenvergleich zu einem Euro. Präparat aus dem Instituto de Investigaciones en Ciencias de Salud, Asuncion, Paraguay

us, weniger *Panstrongylus megistus*, die in ländlichen Gebieten verbreitet sind und vor allem nachts stechen. Deswegen sind Kinder in Regionen mit einfacher Hygiene, die von *Triatoma* im Schlaf gestochen werden, besonders häufig betroffen (siehe Romaña-Zeichen unter B 1.2).

Die Prävalenz der *T. cruzi*-Infektion in der armen ländlichen Bevölkerung Südamerikas kann 9 % überschreiten. Etwa 12 % der Infizierten sterben an der Chagas-Krankheit; das entspricht etwa 45.000 Personen in beiden Teilen Amerikas jährlich. Das Bekämpfen von *Triatoma* ist theoretisch einfach, scheitert aber an ökonomischen und politischen Hürden und der konsequenten Durchführung von Präventionsmaßnahmen.

Touristen, die von Lateinamerika nach Europa zurückkehren, können *T. cruzi*-infiziert sein [57], und mit der Blutspende kann *Trypanosoma* übertragen werden (siehe B 2.1 und B 2.2).

T. brucei. Die betroffene Region in Afrika liegt zwischen dem nördlichen und südlichen 20. Breitengrad, die etwa von Senegal/Gambia im Westen bis Botswana/Zimbabwe im Süden reicht (■ Abb. 5). Die Übertragung ist an das Vorkommen der Tsetse-Fliege (*Glossina morsitans*, *G. swynnertoni*, *G. palipides*) gebunden, die sich in niedrigem Gebüsch in der Nähe von größeren Tierherden besonders gern aufhält, an den Tieren Blut saugt und im Kot der Tiere die Eier ablegt.

Je nach der Effektivität von Bekämpfungsprogrammen der Tsetse-Fliege variiert die Verbreitung der Schlafkrankheit und ihre Inzidenz. Eine hohe Übertragungswahrscheinlichkeit von *T. brucei* besteht in den afrikanischen Wildtierreservaten [58]. Reservoir für *T. brucei* sind Haustiere, be-

sonders Schweine, ferner Antilopen, Buschbock und Kaffernbüffel. Einige *Glossina*-Spezies, wie *G. palipides*, sind an das menschliche Habitat adaptiert, sodass sie zum regional gehäuftem Auftreten von *T. brucei* beitragen [59].

B 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Eine Infektion mit *T. cruzi/brucei* kann vorkommen, wenn ein Spender/Empfänger in einer hoch durchseuchten Region länger gelebt hat, als Tourist die Region unter hygienisch einfachen Bedingungen besucht hat und z.B. durch Stich von *Triatoma* bzw. *Glossina* mit Trypanosomen infiziert wurde oder er in einer endemischen Region eine Bluttransfusion bekommen hat.

Serologischer Nachweis (Antikörper- und Antigen-Tests, sog. immunologische Tests):

T. cruzi. Der Nachweis von IgM gegen *Trypanosoma* ist bei dieser chronischen Infektion wenig weiterführend. Derzeit sind viele ELISA zum IgG-Nachweis kommerziell erhältlich mit unterschiedlichen Antigen-Präparationen [60, 61], die auch für das Testen von Blutspendern verwendet werden. Der Line-immuno-Assay kann als Bestätigungstest verwendet werden [60]. Viele der Tests haben niedrige Sensitivität und Spezifität und zeigen Kreuzreaktionen mit *Leishmania*, *Plasmodium*, und anderen Protozoen-Erkrankungen sowie mit *Treponema pallidum*. In Endemieregionen werden aufgrund der niedrigen Spezifität teils 2 oder 3 ELISAs für das Screening von Blutspenden verwendet.

Neue (Schnell-)Tests zur Erkennung der *T. cruzi*-Antikörper auf Basis von Immunchromatographie erreichen eine Spe-

zifität von 99 % bei einer Sensitivität von etwa 93 % in Brasilien [62].

T. brucei. Um die Exposition festzustellen, ist ein Karten-Agglutinations-Test (CATT) entwickelt worden, der 3–4 Wochen nach Infektion positiv wird und etwa eine Sensitivität von 70–80 % erreicht [59]. Ferner steht ein Latex-Agglutinationstest zur Verfügung, der bei einer Sensitivität von 70–100 % eine Spezifität von 96–99 % aufweist [63].

Antigenteste für *Trypanosoma*-Oberflächenproteine auf ELISA- oder Agglutinationsbasis zeigen bisher eine ungenügende Spezifität [59].

Erregerisolierung

Xenodiagnose:

Traditionell wird für die Anreicherung der Trypanosomen die Maus mit verdächtigem Material, meist Blut oder Gewebe, inokuliert. Hohe Konzentrationen von Trypanosomen finden sich nach wenigen Wochen im Blut des Tieres und können mikroskopisch nach Giemsa-Färbung nachgewiesen werden (■ Abb. 4). Verfüttern von belastetem Material an *Triatoma* ist ein weiteres Verfahren, welches in einigen Speziallabors in Südamerika angewendet wird.

Zellkultur:

Zellkultursysteme, meist unter Benutzen von einer Hilfszellschicht (feeder layer), die von mehr als 20 verschiedenen Zelllinien gebildet werden kann, sind benutzt worden, sind jedoch für die Diagnostik von *T. brucei* ohne Bedeutung geblieben [64]. Für die Anzucht von *T. cruzi* sind L929-Zellen geeignet [65]. *T. cruzi* kann in zellfreiem wie zellhaltigem Medium kultu-

viert werden [66]. Die ersten Kultivierungsversuche gehen bis 1904 zurück, sog. Tomatenmedium [67]; dies zeigt, unter welch wenig anspruchsvollen Bedingungen sich Trypanosomen vermehren.

Mikroskopischer Nachweis:

Die Menge an Trypanosomen im peripheren Blut ist bei chronischer Infektion teilweise sehr niedrig. Folglich hat der mikroskopische Nachweis eine geringe Sensitivität und einen mäßigen Stellenwert. In der akuten Phase der Infektion können ausreichend Trypanosomen über einige Tage nachgewiesen werden. Histologisch können im Gewebe nach Biopsie oder postmortal große Mengen an Trypomastigoten bei *T. cruzi* und *T. brucei* und Amastigoten bei *T. cruzi*, vor allem in Herzmuskel und Intestinum, nachgewiesen werden.

Genomnachweis

T. cruzi. Da einige genomische Sequenzen der Trypanosomen im Kinetoplasten repetitiv vorhanden sind [68], mit etwa 100.000–120.000 Kopien pro Parasit, ist es mit der PCR möglich, 1–2 Parasiten pro Reaktionsansatz, normalerweise 100–200 µl, nachzuweisen [69, 70]. Die erhaltenen Amplifikate haben eine Größe von 200–300 Basenpaaren [71]. Die PCR ist sensitiver als die Verfahren der Xenodiagnose [72].

PCR-Tests wurden auch entwickelt, um den Erfolg einer Therapie mit Benznidazol [73] oder mit Nifurtimox [74] zu bestimmen. Eine Beobachtungszeit von mehreren Monaten ist notwendig, um einen Abfall der PCR-Amplifikate auf quantitativer Basis zu erkennen. Unter Therapie können resistente Stämme selektiert werden. Entsprechende Untersuchungen zeigen, dass bei etwa 12 % der Fälle Subpopulationen von *T. cruzi* vorhanden sind, und belegen die große genetische Heterogenität der zirkulierenden Trypanosomen [75].

T. brucei. Eine PCR, die die Heterogenität der vorhandenen Trypanosomenstämme in Kamerun berücksichtigt und innerhalb der mobilen genetischen Elemente amplifiziert, wurde beschrieben [76], ebenso

eine real-time PCR, in der 177 bp repeat-Satelliten-DNA nachgewiesen wird [77]. Über die PCR-Analyse konnte gezeigt werden, dass sich in der Tsetse-Fliege nach 11 Tagen eine Infektion mit *T. brucei* etabliert hatte. Nach 29 Tagen waren die Trypanosomen reif und nach 47 Tagen im Speichel nachweisbar [78]. Auch zur Analyse der Isometanidium-Resistenz kann die PCR verwendet werden [1]. Die Bedeutung positiver PCR-Ergebnisse, die durch andere parasitologische Nachweisverfahren nicht bestätigt werden konnten, bleibt wegen der variablen Spezifität unklar [63].

B 2 Blut- und Plasmaspender

Blut- und Plasmaspender werden in Deutschland nicht auf *Trypanosoma* getestet. Es liegen keine Publikationen über Übertragungen durch Blut oder Blutprodukte in Deutschland vor, die solche Tests derzeit aus infektiologischen Gesichtspunkten rechtfertigen würden.

B 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

In Los Angeles, wo ein hoher Anteil der zur Blutspende kommenden Bevölkerung mexikanischen Ursprungs (sog. Hispanics) ist, waren zwischen 0,001 % und 0,002 % *T. cruzi* exponiert bzw. infiziert [79]. Höhere Prävalenzen von 0,15 % in Los Angeles und 0,09 % in Miami werden von Leiby et al. [80] angegeben. Die Übertragung über Blut ist in Endemieeregionen kein seltenes Ereignis, die Wahrscheinlichkeit liegt bei 0,75 % der Spenden in Mexiko [81]. *Trypanosoma*-Übertragung kommt, wenn Spender aus Endemieeregionen ohne klinische Symptomatik spenden, auch in Nordamerika vor [82]. Auch über Herz- und weitere Organtransplantation wurde *T. cruzi* in USA übertragen [83], in Europa über Transplantation von Knochenmark in Spanien [84].

In Südamerika liegt die Prävalenz von *T. cruzi*-Exposition, bestimmt über Antikörperteste bezogen auf 100 Spender bei 4,5 in Argentinien, 9,9 in Bolivien, 1,0 in Guatemala, 2,8 in Paraguay und den übrigen südamerikanischen Ländern unter 1,0. In allen Ländern Südamerikas kommt *T. cruzi* vor [85]. In Brasilien sind etwa

0,6 % der Blutspenden *Trypanosoma*-Antikörper-positiv und werden verworfen. Innerhalb Brasiliens gibt es erhebliche geographische Unterschiede in der Prävalenz [31]. In Toronto, Kanada, hatten 1317 Blutspender nach ihrem Reiseland und ihrem Geburtsland ein mögliches Risiko zum Erwerb von *T. cruzi*; keiner von ihnen war Antikörper-positiv [86]. Hingegen war in Kalifornien, USA, bei 51 *T. cruzi*-Antikörper-positiven Blutspendern aus Mittel- und Südamerika nach 2 Dekaden nach Einwanderung bei 33 (63 %) der Parasit über die PCR nachweisbar, bei 3 auch über die Anzüchtung in Kultur [87].

B 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Zum Ausschluss potentiell infektiöser Spenden gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien für Blutspender nach den Richtlinien der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Instituts [29, 30].

Von der Spende auszuschließen sind Personen, die eine unter B 1.2 beschriebene Symptomatik aufweisen und einen Teil ihrer Lebenszeit in einer endemischen Region verbracht haben (siehe z.B. Malaria [1]). Bei lateinamerikanischen Immigranten in Berlin waren 2 % derjenigen, die unter diese Definition fallen, mit *T. cruzi* exponiert [88]. Nur zum Teil werden diese Personen wegen einer möglichen Malariaübertragung von der Blutspende ausgeschlossen. In Madrid waren 2003 6 von 659 (0,9 %) Spendern, die in *T. cruzi*-endemischen Regionen geboren waren, Antikörper positiv [31]. In Spanien und Italien werden Spender, die aus endemischen Regionen kommen, für 6 Monate von der Spende zurückgestellt [31].

B 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Testung der Spender auf *Trypanosoma* oder Antikörper gegen *Trypanosoma* findet in Deutschland nicht statt und ist aufgrund der epidemiologischen Situation nicht angezeigt. Die meisten serologischen Tests haben wegen niedriger Sensitivität und Spezifität eine geringe Aussagekraft (siehe B 1.4). Mit der PCR könnte die Infektion früher als mit serologischen Tests erfasst werden (siehe B 1.4).

B 2.4 Spenderbefragung

Eine Befragung der Spender nach kurzfristigem oder länger andauerndem Aufenthalt in den Tropen und Endemieeregionen findet wegen der möglichen Übertragung von Malaria statt. Eine Befragung von Spendern nach Stichen von Raubwanzen und Tsetse-Fliegen und Aufenthalt unter einfachen hygienischen Bedingungen findet nicht statt. Überlappen die endemischen Regionen mit denen, in denen Malaria übertragen wird, erfolgt ein Abschluss für 6 Monate.

B 2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine Information kann im Rahmen der Reisetätigkeit in tropische Regionen erfolgen. Eine Spenderinformation bezüglich *Trypanosoma*, der Möglichkeit der *Trypanosoma*-Übertragung und Beratung über das auftretende akute Krankheitsbild und den chronischen Verlauf der Infektion findet nicht statt. Für die Infektion mit *Trypanosoma* besteht keine Meldepflicht, insofern sind belastbare infektionsepidemiologische Daten nicht verfügbar.

B 3 Empfänger

B 3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassozierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Über Prävalenz und Inzidenz von *Trypanosoma*-Infektion in Empfängern von Blut liegen für Deutschland keine Erhebungen vor. In den letzten 20 Jahren ist über eine endogen in Deutschland übertragene Infektion von *Trypanosoma* oder einen Verdacht einer Übertragung durch Blut nicht berichtet worden; ebenso nicht aus europäischen Ländern wie Spanien, Italien und Frankreich [31].

B 3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Auch bei guter Abwehrlage erfolgt die Infektion mit *Trypanosoma cruzi*, wenn diese aus dem Arthropodenkot in die Haut eingerieben wurde. Die Infektion verläuft nur bei 10–30 % der Infizierten chronisch mit klinischer Manifestation (siehe B.1.2). Bei abnehmender Immunität kann sich *Trypanosoma* im Körper wieder verbreiten

[74, 82]. Bei *T. brucei* muss ein Stich der Tsetse-Fliege, der schmerzhaft und deswegen gut wahrnehmbar ist, vorangegangen sein.

B 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Bei klinischer Manifestation und ohne Therapie, teils auch unter Therapie, kann die Infektion tödlich verlaufen unter dem Bild des akuten Herzversagens, der Komplikationen von Megaoesophagus und Megakolon und von zerebralen Defekten (siehe B 1.2).

B 3.4 Therapie und Prophylaxe

T. cruzi. Der Erfolg der Behandlung der Chagas-Krankheit ist immer noch unbefriedigend. Nifurtimox, ein Nitrofurant-Abkömmling wurde von Bayer hergestellt (Lampit – 8–10 mg/kg Körpergewicht für 60–90 Tage) und 20 Jahre lang benutzt. Es reduziert die Symptome und die Todesrate, hat jedoch erhebliche Nebenwirkungen bei etwa 70 % der Patienten. Benznidazole (Rochagan, Roche oder Radanil – 5 mg/kg Körpergewicht für 60 Tage) hat ähnliche Wirkungen und Nebenwirkungen wie Nifurtimox. Aus diesem Grund werden derzeit nur symptomatische Patienten behandelt und eine Heilung wird nur in etwa 10 % erreicht. Posaconazol (Noxafil, Essex) kann nach ersten Studien wirksam sein, während Fluconazol, Ketoconazol, Veronazol und Itraconazol keine Wirkung zeigen. Gamma-Interferon kann, in der akuten Infektionsphase gegeben, zum Eliminieren der Protozoen führen [55]. Mögliche neue Therapieansätze ergeben sich aus der Interferenz von Peptiden mit der Dimerbildung von Enzymen, wie an der erregerspezifischen Triosephosphat-Isomerase gezeigt [89].

T. brucei. Suramin wurde vor etwa 100 Jahren als erstes Medikament von Bayer eingeführt, es hat erhebliche Nebenwirkungen. Pentamidin intramuskulär verabreicht wirkt wesentlich effektiver und wird heute verwendet, eine Ausheilung kann nur teilweise erreicht werden. Dihydroxyaceton führt in niedrigen Dosen zur Abtötung von *T. brucei* in Zellkultur und ist möglicherweise zur Therapie geeignet [90]. Difluormethylornithin und Melar-

soprol könne für die Behandlung der *T. brucei-gambiense*-Infektion in Afrika verwendet werden, bei einer Erfolgsrate von etwa 80 % [91]. Antikörper gegen *T. brucei gambiense* wurden in dieser Studie über einen Latex-Test gemessen.

Zur Prophylaxe der *Trypanosoma*-Übertragung ist keine Chemotherapie und kein Impfstoff verfügbar. Die bisher geprüften Impfstoffkandidaten haben keine ausreichende Wirkung gezeigt.

B 3.5 Übertragbarkeit

Etwa 65 Laborübertragungen von *T. cruzi* sind bekannt, davon 11 über parenterale Verletzung und 3 über Benetzung der Schleimhaut und 2 durch Stich des Vektors [42]. Nur eine der 6 berichteten Laborübertragungen mit *T. brucei* geschah nicht in Europa, 5 der Übertragungen erfolgten durch Stichverletzungen [42]. Laborübertragungen von *T. brucei* sollten in afrikanischen Endemieeregionen häufiger vorkommen, sie sind jedoch nicht dokumentiert.

Hochrechnungen zur Übertragung von *T. cruzi* durch Bluttransfusion in Südamerika für die Jahre 2000/2001 in einer WHO-Studie geben die Zahl pro 1000 Spenden mit 68 für Bolivien, 11 für Chile, 2 für Kolumbien, 29 für Costa Rica, 11 für Guatemala, 360 für Mexiko, 2 für Nicaragua, 52 für Panama und 1 für Paraguay an [85]. Bei diesen Angaben ist von einer Zahl an der unteren Grenze der stattfindenden Übertragungen auszugehen. In Blut und zellulären Blutprodukten bleibt *Trypanosoma* auch bei Abkühlen auf 4°C infektiös. In Plasmaprodukten ist aufgrund des Herstellungsverfahrens nicht mit infektiösen Trypanosomen zu rechnen.

B 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Eine gering kontaminierte Blutkonserve kann für die Übertragung einer *Trypanosoma*-Infektion ausreichend sein. Es kann davon ausgegangen werden, dass eine Übertragung in Deutschland nicht oder extrem selten stattfindet, da bisher über eine Übertragung von *Trypanosoma* über Bluttransfusion oder Blutprodukte nicht berichtet worden ist.

B 4 Blutprodukte

B 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Es kann davon ausgegangen werden, dass die Belastung des Ausgangsmaterials in Deutschland sehr niedrig ist. Testmethoden über die gegen *Trypanosoma* gebildeten Antikörper stehen zur Verfügung, sie sind in Deutschland wegen der niedrigen Spezifität und geringen Prävalenz wenig hilfreich. Da über keine Trypanosomen-Übertragungsfälle berichtet wurde, ist ein Einführen der Tests derzeit nicht notwendig.

B 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Bei zellulären Blutprodukten ist nur in der Akutphase der Infektion eine hohe Parasitämie vorhanden. In Makrophagen können Trypanosomen angereichert sein. Bei der Leukozytendepletion von Blut erfolgt eine wesentliche Abreicherung durch Entfernen *Trypanosoma*-tragender Zellen, ferner durch Anhaften der Trypanosomen an der Matrix des Filtermaterials aufgrund der negativen Oberflächenladung [45]. Bei Verwenden von sterilfiltriertem Plasma ist *Trypanosoma* ohne Bedeutung, da der Erreger im Filter zurückgehalten wird [45]. Bei der Fraktionierung von Plasma zur Herstellung von z.B. Gerinnungsfaktoren und Immunglobulin werden Trypanosomen inaktiviert und/oder über die Sterilfiltration entfernt.

Inaktivierung in zellhaltigen Produkten: Mit Amotosalen und UV-Bestrahlung können bis zu $5 \log_{10}$ Trypanosomen abgetötet werden, wenn sie in Zellkultur gezüchtet und dem buffy coat zugesetzt worden waren, unabhängig vom verwendeten *T.-cruzi*-Stamm [92].

B 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

Blut bzw. Blutprodukte können mit *T. cruzi* experimentell kontaminiert werden und die Abreicherung bzw. Inaktivierung evaluiert werden. Wegen der sehr niedrigen Prävalenz von *Trypanosoma*-Infektionen in Deutschland ist diese Untersu-

chung zur Abreicherung derzeit nicht angezeigt, könnte aber, was die technischen Voraussetzungen betrifft, durchgeführt werden [92]. Der Umgang mit *Trypanosoma* erfordert Labore der Sicherheitsstufe 2.

B 5 Bewertung

Trypanosoma kann in 10–30 % der Infizierten eine chronische Infektion auslösen, die nach Monaten oder Jahren von Siechtum tödlich verlaufen kann. *T.-cruzi*- und *T.-brucei*-Übertragungen sind an das Vorhandensein der Vektoren gebunden (*Triatoma* und *Rhodnius* bzw. *Glossina*), die in Mitteleuropa nicht vorkommen.

Bis heute sind *Trypanosoma*-Übertragungen über Blut, Knochenmark oder Organspende in Deutschland nicht berichtet worden. Nach Wertung der vorhandenen epidemiologischen und pathogenetischen Daten zur Übertragung und Manifestation von *Trypanosoma* werden folgende präventive Maßnahmen als derzeit indiziert angesehen:

- Ausschluss von allen Spendern, die in den Endemieeregionen Mittel- und Südamerikas und Afrikas eine Bluttransfusion erhalten haben,
- temporärer Ausschluss von Spendern nach Aufenthalt in *Trypanosoma*-Endemieeregionen für 6 Monate. Die *Trypanosoma*-befallenen Regionen überlappen teilweise mit den Endemieeregionen von Malaria (■ Abb. 5),
- Ausschluss von Spendern, die zeitweise ihren Lebensmittelpunkt in *Trypanosoma*-Endemieeregionen gehabt haben für 6 Monate nach Verlassen der Endemieergion, und Zulassung zur Blutspende nur nach ärztlicher Entscheidung.

C Babesia

Der Erreger wurde 1888 von Viktor Babes bei einer fieberhaften Hämoglobinurie bei Rindern in Rumänien in den Erythrozyten der Tiere identifiziert. 1893 wurde ein ähnlicher Erreger, bezeichnet als *Pyrosoma*, in Texas beschrieben, der heute als *Babesia bigemina* bezeichnet wird [93]. 1957 wurde *Babesia divergens* bei einem splenektomierten Bauer aus Jugoslawien postmortal beschrieben. 1969 wurde in

Massachusetts *Babesia microti* bei einem Mann mit Fieber und Kopfschmerzen gefunden [93].

C 1 Wissensstand über den Erreger

Babesia ist ein Mitglied der Familie der Apicomplexa (*apical microtubule complex*, ■ Abb. 7), in der Ordnung Piroplasmidra und der Familie der Theileriidae, zusammen mit *Plasmodium* und *Toxoplasma* und anderen Protozoen wie *Cryptosporidium*, *Isospora*, *Microsporidia* und *Sarcocystis*. Babesien werden in der Alten Welt im Wesentlichen durch den Stich der Zecke *Ixodes ricinus* und in der Neuen Welt *Ixodes scapularis* (auch bezeichnet als *Ixodes dammini*) übertragen. Die Babesiose ist eine typische Zoonose.

Babesien sind oval oder rund, haben eine Siegelring-ähnliche Form wie *Plasmodium falciparum*, sind aber kleiner und wachsen intraerythrozytär, meist als 3–5 Trophozoiten, die sich asexuell teilen, sog. Merogonie. Die sexuelle Vermehrung läuft nur innerhalb der Zecke ab, die schließlich zu Sporozoiten führt, die in die Speicheldrüse der Zecke einwandern.

C 1.1 Erregerereigenschaften

Entsprechend ihrer Größe werden Babesien in 2 Gruppen eingeteilt:

- a) Die kleine Form hat einen Durchmesser von 1–2,5 μm und umfasst *B. gibsoni* (*canines Piroplasma*), *B. microti* und *B. rodhaini*. Trophozoiten teilen sich in 4 Tochterzellen und bilden teils Strukturen, die wie ein Malteserkreuz im Giemsa-gefärbten Bild des Erythrozyten aussehen. Sie können in der Zecke transovariell übertragen werden.
- b) Die große Form hat einen Durchmesser von 2,5–5 μm und umfasst *B. divergens*, *B. bovis*, *B. canis* und *B. odocoilei*. Trophozoiten dieser Form teilen sich in 2 Tochterzellen. Sie werden in der Zecke nicht transovariell übertragen.

Zur weiteren Charakterisierung der Babesien wird die nukleäre *small subunit ribosomal DNA* (nss-rDNA) herangezogen. *B. divergens* gehört vom genetischen Code her zu der kleinen Form, von der Morphologie zu der großen. Kleine Babesien

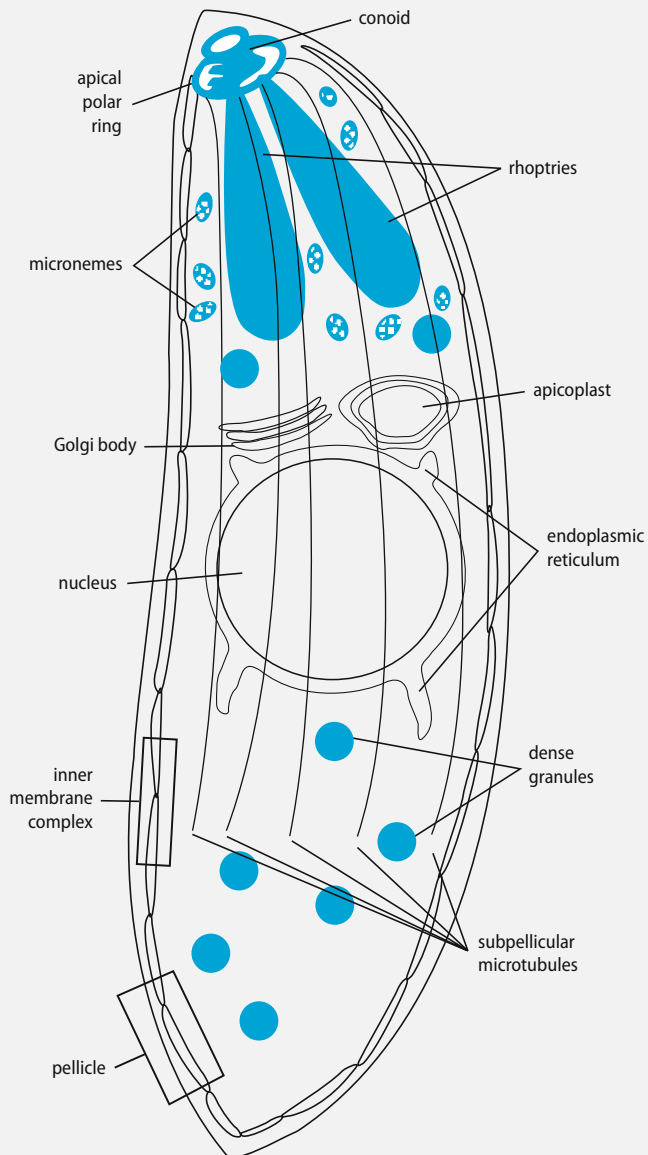


Abb.7 ▲ Schematischer Aufbau von Protozoen, die den Apicomplexa zugeordnet werden. Die verschiedenen Organellen sind eingezeichnet. Der Kinetoplast, in dem DNA Fragmente über 200-fach angereichert sein können, durchzieht den gesamten Körper des Erregers, was schematisch mit den Längsstrichen angegeben ist. Schema entnommen aus Morrissette NS, Sibley LD. Cytoskeleton of apicomplexan parasites. Microbiol Mol Biol Rev 2002; 66:21–38, page 23

sind den *Theileria* ähnlicher als den großen Babesien. Babesien sind nicht wirtsspezifisch, sie infizieren viele Tiere und auch den Menschen. *B. divergens* führt in Europa zur Babesiose, *B. microti* in Nordamerika vor allem an der Ostküste und im Bereich der großen Seen. Nicht alle bekannten *Babesia*-Stämme sind bisher klassifiziert und nicht alle *Babesia*-Stämme können alle Tierspezies infizieren.

Vermehrung in der Zecke. Etwa 10 Stunden nach Blutmahlzeit aggregieren *Babe-*

sia-infizierte Erythrozyten im Darm der Zecke und es bildet sich das Zytosom, eine endozytische Organelle. Etwa 40–50 Stunden später kondensieren die Microtubuli an einem Ende und bilden den sog. „Strahlenkörper“, um damit die Grundlage für die Fusion der Gameten zur Zygote zu bilden. Die Zygote penetriert in die Darmzellen der Zecke, tritt dann in die Hämolymphe ein und entwickelt sich zum Ookineten, der in die Speicheldrüse einwandert. Dort entwickelt sich der Sporoblast, der sich bei warmer Temperatur

durch Sporogonie vermehrt (Sporozoitent). Die Sporogonie kann sich auch beim Saugakt auf dem befallenen Tier durch Erwärmung entwickeln. Ein Sporoblast kann 10.000 Sporozoitent erzeugen.

Vermehrung im Wirbeltier. Etwa 10.000 Sporozoitent werden in der Haut des Opfers deponiert und wandern dort wahrscheinlich direkt in die Erythrozyten ein und entwickeln sich zu Merozoitent. Die Merozoitent-Freisetzung führt zur Lyse des Erythrozyten. Nach Einwandern in den Erythrozyten wandelt sich der Merozoitent teils in einen Trophozoitent um, der sich frei im Zytosol der Zelle bewegen kann. Der genaue Mechanismus des Ausknospung bezeichneten Verlassens der Zelle ist unbekannt.

C 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Klinische Symptome entwickeln sich 1–4 Wochen nach dem Zeckenstich mit Unwohlsein, Müdigkeit, Appetitlosigkeit und schließlich Fieber und Schüttelfrost. Das Fieber kann als Kontinua bis 40°C erreichen und bei Immunschwäche über Monate anhalten. Photophobie und Erbrechen können weitere Symptome sein. Ein Exanthem findet sich ausnahmsweise, Petechien sind selten. Während eine Lymphknotenschwellung fehlt, kann sich eine Splenomegalie und Hepatomegalie ausbilden.

Laborbefunde weisen auf eine hämolytische Anämie hin, bei erniedrigtem Haptoglobin und erhöhten Retikulozytenwerten. 1–10% der Erythrozyten enthalten bei intakter Immunabwehr Babesien, bei Immunschwäche bis zu 85%. Eine Thrombozytopenie ist häufig [93]. Bei Infektion mit *B. divergens* ist in Immunkompetenten in Europa mit einer spontanen Ausheilungsrate ohne Auftreten klinischer Symptome von über 25% zu rechnen.

Bei amerikanischer Babesiose werden 25% der Infizierten hospitalisiert, etwa 25% der Hospitalisierten benötigen intensivmedizinische Behandlung, von denen wiederum 6,5% versterben. Todesursachen sind schwere Atemnot, intravasale Gerinnung und Herzversagen. Schwere Infektionen finden sich mit erhöhtem Alter und bei Immunschwäche [94]. Für das Überwinden der Infektion ist die Funkti-

on von T-Helfer-Zellen entscheidend. Das Entfernen der Babesien aus dem Gewebe und Gewebsflüssigkeit wird über die uneingeschränkte Funktion der Makrophagen reguliert.

C 1.3 Epidemiologie

Die Wahrscheinlichkeit der Übertragung auf den Menschen hängt von der Durchseuchung im Tierbestand ab. In der südlichen Schweiz (Tessin) wurde 2004 in ca. 1900 Zecken von Kühen, Schafen, Rotwild und Rehen einmal *Babesia bigemina* nachgewiesen, die dort früher nicht gefunden wurde [95]. Neben *Ixodes ricinus* wurden weitere Zeckenarten untersucht und in 6 Tieren *B. divergens*, in 2 *B. major* und in 14 *Babesia*, die nicht weiter charakterisiert wurden, gefunden [95].

Die meisten menschlichen *Babesia*-Infektionen in Europa, verursacht durch *B. divergens*, wurden aus Frankreich und England berichtet [96]. Im Jahr 2000 wurde über 31 Fälle berichtet, von denen 26 Patienten (84 %) splenektomiert waren. In 23 der Erkrankten war *B. divergens* das auslösende Agens [97]. Ein Fall eines Splenektomierten trat auf den Kanarischen Inseln auf [98]. Ein erster Fall von menschlicher *Babesia-divergens/odocoilei*-Infektion bei einem splenektomierten Patienten unter immunsuppressiver Therapie aus dem Hegau in Deutschland wurde 2007 berichtet. Der Patient erinnerte sich nicht an einen Zeckenstich und hatte keinen Auslandsaufenthalt [99]. Eine weitere Studie hatte das Ergebnis, dass in 31 von 3113 (1 %) Zecken, die in Südwestdeutschland gesammelt wurden, *B. divergens* über die PCR nachgewiesen werden konnte [100]. Hunde sind ein weiteres Reservoir für *Babesia*; so können Auwaldzecken (*Dermacentor reticulatus*) *Babesia* auf Hunde übertragen [101, 102]. Welche Bedeutung der Verbreitung von *Babesia* über Auwaldzecken zukommt, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

In Nordamerika sind die meisten menschlichen Fälle durch *B. microti* verursacht, die Zahl der beschriebenen Fälle übersteigt 300 [97]. Serologische Reaktionen gegen *B. microti* zeigten je ein Fall in Deutschland [103] und der Schweiz [104]. Aus Mexiko wurden menschliche Infektionen mit *B. canis* und *B. bigemina* berichtet, weitere endemische Infektionsherde

finden sich in Westafrika, Südafrika, Ägypten und China [105].

C 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Der klassische Nachweis von *Babesia* ist die Mikroskopie von Blutaussstrichen nach Anfärbung mit Giemsa-Lösung oder ähnlichen Methoden. Intraerythrozytär liegen 3–5 ovale Ringformen, die denen von *Plasmodium falciparum* ähneln, jedoch neben der blauen Farbe keine weitere Anfärbung zeigen. Bei schwerer Infektion können extrazelluläre Merozoiten nachgewiesen werden. Die sog. Malteserkreuz-Formation bei Infektion mit *B. microti* ist extrem selten.

Serologischer Nachweis (Antigen- und Antikörpertests)

Die indirekte Immunfluoreszenz gilt als positiv, wenn Titer > 1:64 bei *B. microti*-Infektion erreicht werden, meist liegen die Titer > 1:1.024. Die Sensitivität ist abhängig vom Babesienstamm, der für den Immunfluoreszenztest verwendet wird. ELISAs basierend auf synthetischen Peptiden von *B. microti* sind entwickelt worden und sind sensitiver als die indirekte Immunfluoreszenz [93, 105]. IgG-Antikörper sind normalerweise 2–4 Wochen nach Auftreten klinischer Symptome nachweisbar. Antigentests sind nicht kommerziell verfügbar.

Anzucht

Babesien können im Versuchstier wie Hamster und Maus durch Inokulation von Blut von Infizierten vermehrt und nachgewiesen werden [106]. In Erythrozyten kann *B. divergens* als kontinuierliche Kultur und mit hoher Parasitendichte gezüchtet werden [96, 107]. Kultivierte Babesienstämme adaptieren sich an die verwendete Kultur und verlieren an Virulenz.

Genomnachweis – NAT

Mit der PCR kann eine Parasitämie bei unbehandelten Patienten auch noch 27 Monate nach Infektion nachgewiesen werden [108, 109]. Insofern ist die PCR die zurzeit sensitivste Methode. Als Zielsequenz für die Primer wird die nss-rDNA verwendet (nukleäre *small subunit* ribosomale DNA – siehe C 1.1). Die Sensitivität

ist gering, wenn Primer für *B. microti* für den Nachweis von *B. divergens* verwendet werden. Ausgangsmaterial für die PCR ist EDTA-Blut.

Wenn in Patientenblut *Babesia*-DNA nachgewiesen wird, ist dies ein Indiz für eine aktive Infektion. Wenn die Infektion erfolgreich therapiert wurde, ist *Babesia*-DNA in wenigen Tagen im Blut nicht mehr nachweisbar [109, 110]. Auf Blutaussstrichen ist mit der PCR der Nachweis von *Babesia* (in situ-PCR) möglich [111].

C 2 Blut- und Plasmaspender

C 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Die Analyse eines Blutspenderkollektivs auf Vorkommen von *Babesia* ist in Deutschland nur einmal publiziert worden. Unter 120 gesunden Blutspendern fanden sich, getestet über die indirekte Immunfluoreszenz, 1,7 % (2 von 120) mit Antikörpern [103] – siehe dazu wegen der Spezifität unter C 3.1. Unter 798 Forstarbeitern in Süddeutschland, die berufsbedingt ein hohes Expositionsrisiko gegen Zecken hatten, hatten 2 Antikörper, die mit *B. microti* reagierten, waren aber ohne Parasitämie [112]. Unter 190 Blutspendern in Frankreich fanden sich 2, die gegen *B. divergens* Antikörper hatten [96].

Von 848 Blutspendern in Connecticut, die einen Zeckenstich angaben, hatten 3 (0,4 %) Antikörper gegen *Babesia*, und als Kontrolle unter 1.007 nicht befragten Spendern 6 (0,6 %) [113]. Bei Wiederholung der Untersuchung im Jahr 2005 hatten unter 1745 Spendern aus endemischer Region 24 (1,4 %) und aus nicht endemischer Region 6 (0,3 %) *Babesia*-Antikörper. Unter 19 seropositiven Spendern ließ sich bei 10 (53 %) über die PCR *Babesia*-DNA nachweisen. Der Gipfel der *Babesia*-Inzidenz lag in USA im Juli [114]. In den USA wird angenommen, dass etwa 50 *Babesia*-Übertragungen über Bluttransfusion vorgekommen sind [31].

C 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Zum Ausschluss potentiell infektiöser Spenden gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien für Blutspender nach den Richtlinien der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Instituts [29, 30]. Allge-

meine Ausschlusskriterien, die auf eine Infektion mit *Babesia* hinweisen können, sind Fieber, Kopfschmerzen, Müdigkeit und Abgeschlagenheit, seltener Arthralgie. Typisch für die chronische *Babesia*-Infektion ist eine Anämie.

Die Frage nach Zeckenstich in der Vergangenheit ist ein sehr ungenauer Parameter zur Verhinderung der *Babesia*-Infektion [114]. Blutspender, die sich an einen Zeckenstich erinnern, werden in Deutschland prophylaktisch, auch um andere virale und bakterielle Infektionen zu vermeiden, für 4 Wochen von der Spende zurückgestellt.

C 2.3 Spender testing und Aussagekraft

Eine Testung von Blutspendern auf *Babesia*-Antikörper findet in Deutschland nicht statt. Aufgrund der niedrigen Prävalenz von *Babesia*-Infektionen und dem Fehlen von Berichten zur Übertragung von *Babesia* sp. über Bluttransfusion in Deutschland ist ein Testen derzeit, solange sich die epidemiologische Situation nicht geändert hat (siehe C 1.3), nicht notwendig.

In USA sind etliche *Babesia*-Übertragungen von asymptomatischen Spendern erfolgt, auch wenn das Blut 5–35 Tage gekühlt gelagert worden war, und auch wenn Blut in Gegenwart von Glycerin eingefroren wurde [115, 116, 117, 118, 119]. In Kanada wurde 2001 die erste transfusionsassoziierte Babesiose berichtet [120]. *Babesia* kann über einen Zeitraum von mehr als 6 Monaten von einem asymptomatischen Spender übertragen werden [121].

C 2.4 Spenderbefragung

Eine Befragung der Spender nach allgemeinen Symptomen einer Infektion (siehe C 2.2) findet gemäß den Richtlinien statt. Nach Zeckenstich wird saisonal angepasst gefragt. Eine Befragung nach *Babesia*-Infektion erfolgt nicht, da diese Infektion und das damit verbundene Krankheitsbild in der allgemeinen Bevölkerung nicht bekannt ist; aufgrund der epidemiologischen Lage ist eine Befragung wenig informativ und kaum erfolgreich. Da bisher in Deutschland kein Fall einer durch Bluttransfusion übertragenen *Babesia*-Infektion berichtet wurde, ist eine spezielle Befragung nicht erforderlich.

C 2.5 Spenderinformation und -beratung

Da die *Babesia*-Infektion und das *Babesia*-Krankheitsbild sehr selten sind, besteht für eine Spenderberatung innerhalb des Blutspendedienstes derzeit keine Notwendigkeit.

C 3 Empfänger

Die Inkubationszeit von über Blut übertragenen *Babesia microti*-Infektionen beträgt zwischen 17 Tagen und 9 Wochen, von über Zecken übertragenen Infektionen 1–4 Wochen [119, 122].

C 3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Prävalenz und Inzidenz sind abhängig von der endemischen Region, im Wesentlichen von der Durchseuchung des Tierreservoirs (siehe C 1.3), der Zeckendichte, der Jahreszeit und entsprechender Zeckenaktivität und dem Freizeitverhalten der Empfänger. Hierzu liegt für Deutschland eine Untersuchung vor [103]. In der Rhein-Main-Region waren 11,5 % (26 von 225) der mit Zeckenstich Exponierten *Babesia*-Antikörper-positiv (indirekte Immunfluoreszenz, kein Bestätigungstest), im Gegensatz zu 2 % (2 von 120) bei den Blutspendern. Die Reaktivität gegen *Babesia* in dem Untersuchungskollektiv von 467 Seren war gegen *B. microti* mit 5,4 % (25 von 467) höher als gegen *B. divergens* mit 3,6 % (17 von 467). Der cut-off der Antikörper-Verdünnung lag für *B. microti* bei 1:64 und *B. divergens* bei 1:128 (siehe C 1.4).

In USA wurde über *Babesia*-Übertragungen durch Herztransplantation in einem Fall [123] und in 3 Fällen nach Nierentransplantation berichtet [124, 125, 126].

C 3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Die durch eine Splenektomie bedingte Immunschwäche fördert die Vermehrung von *Babesia* und führt häufig zu schweren, teils tödlichen Krankheitsverläufen. Die altersbedingte Immunschwäche begünstigt eine Infektion mit klinischer Sympto-

matik [93, 124]. Die relativ hohe Prävalenz von Antikörper-positiven Personen deutet darauf hin, dass Immungesunde die Infektion häufig ohne eine auf eine Babesiose hinweisende Erkrankung überstehen.

C 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Unter effektiver Therapie können Todesfälle auch bei immunsupprimierten und splenektomierten Patienten vermieden werden [119]. Die Infektion mit *B. microti* in Nordamerika verläuft häufig mit milden Symptomen, wie Müdigkeit oder Abgeschlagenheit und evtl. Anämie (siehe C 1.2 und C 2.2) oder subklinisch [93].

C 3.4 Therapie und Prophylaxe

Etwa 75 % der immunkompetenten Patienten, die mit *Babesia* infiziert werden, haben geringe Krankheitszeichen oder überwinden die Infektion mit geringen klinischen Symptomen ohne Therapie.

B. microti. Splenektomierte und Patienten mit Immunschwäche werden mit Clindamycin und oralem Chinin für 7–10 Tage behandelt. Chloroquin, welches für *Plasmodium falciparum* verabreicht wird, ist wirkungslos, ebenso Medikamente wie Primaquin, Pyrimethamin, Tetracyclin, Pentamidin und andere. Atovaquone kombiniert mit Azithromycin führt zum Absterben der Babesien und zeigt weniger Nebenwirkungen als die Kombination aus Clindamycin und Chinin. Atovaquone allein führt zu schneller Resistenz [93].

B. divergens. Neben der Kombination aus Clindamycin und Chinin kann die Kombination von Pentamidin und Trimethoprim-Sulfamethoxazol verwendet werden. Bei Patienten mit hoher Parasitämie und starker Hämolyse sind Bluttransfusionen indiziert [93].

Impfung. Zurzeit steht keine Impfung gegen *Babesia* zur Verfügung. Impfversuche gegen *Babesia divergens* und *Babesia bigemina*, auch in Rindern und mit attenuierten Babesien, waren erfolglos [127]. Unter den rekombinanten Antigenen hat das RAP-1 Protein (*rhoptry-associated protein*) eine hohe Antikörperantwort und auch eine T-Lymphozyten-Antwort induziert,

jedoch nicht zu einer schützenden Immunität geführt [128]. Bei Impfung von Rindern wird die Immunität zügig durch *Babesia* unterlaufen, die eine geänderte Aminosäurezusammensetzung in der hypervariablen Region des Merozoiten Oberflächen-Antigen 2 (MSA-2; *merozoite surface antigen*) haben [129] oder des MSA-1, wenn dieses für die Vakzinierung verwendet wurde [130].

C 3.5 Übertragbarkeit

Babesia in Blut wird weder durch Kühlen auf 4°C noch durch Einfrieren zerstört. Folglich ist Parasiten-haltiges Blut immer infektiös. *Babesia* wurde selten nach Nieren- und Herztransplantation über Blut übertragen, die Infektion manifestierte sich wahrscheinlich durch die Immunsuppression [123]. In Connecticut war 1993 das Risiko der *Babesia*-Übertragung durch Erythrozyten mit 0,17% höher als das der Übertragung von Borrelien, die in keinem Fall nachgewiesen werden konnte. Über Thrombozyten wurde in der genannten Studie keiner der Erreger übertragen [131]. Bis heute sind für *Babesia* keine akzidentellen Übertragungen im Labor berichtet worden [42].

C 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Mit vermehrter Applikation von Erythrozyten steigt auch das theoretische Risiko der Übertragung von *Babesia*. Da bisher in Deutschland über keine Übertragungen berichtet worden ist, ist auch das Risiko durch vermehrte Applikation vernachlässigbar. Um genauere Daten zu erhalten, sollten epidemiologisch abgesicherte Ergebnisse aus Studien mit validierten Tests abgewartet werden.

C 4 Blutprodukte

C 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Zur Belastung von Blutspenden sind in Deutschland bis auf die Studie von Hunfeld in Blutspendern [103] keine ausführlichen Untersuchungen durchgeführt worden. Wie unter C 1.4 beschrieben, kann *Babesia* bei höherem Befall in Erythrozyten mikroskopisch nachgewiesen werden. Die bessere und empfindlichere

Methode ist jedoch der Nukleinsäure-Nachweis über die PCR [108, 109, 110], siehe unter C 1.4. Da *Babesia* weitgehend zellgebunden im Blut vorliegt, ist die Plas-mabelastung ohne Bedeutung.

C 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern Filtration

Da *Babesia* vorzugsweise intraerythrozytär wächst, kann das Protozoon nicht aus den zellulären Blutbestandteilen, z.B. über Filtration, entfernt werden. Da in Granulozytenkonzentraten bis zu 10% der Zellfraktion aus Erythrozyten bestehen, und auch Thrombozytenkonzentrate Erythrozyten enthalten, kann *Babesia* aus diesen Präparaten ebenfalls nicht entfernt werden. Im Blutplasma ist *Babesia* nicht in solchen Mengen enthalten, die geeignet wären, eine Infektion auszulösen [121, 123]. Aufgrund ihrer Größe könnten freie Babesien über geeignete Filter (0,22 µm) zurückgehalten werden [64, 119]. Deswegen ist bei Verwenden von sterilfiltriertem Plasma *Babesia* ohne Bedeutung. Bei der Fraktionierung von Plasma zur Herstellung von z.B. Gerinnungsfaktoren und Immunglobulin werden Babesien abgereichert und/oder inaktiviert.

Inaktivierung

Eine Photoinaktivierung von *Babesia* in Plasma mit Amotosalen und UV-Bestrahlung ist möglich; es konnten nach experimenteller Kontamination (Speiken) mehr als 5,5 log₁₀ inaktiviert werden [132].

C 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

Da *Babesia* in Kultur vermehrt werden kann [64, 133], ist theoretisch ein Speiken von Blut möglich. Da der Erreger aber intraerythrozytär wächst, ist das Verfahren zur Messung der Belastung der Erythrozyten sehr aufwändig. Ferner hemmen Additive wie z.B. fötales Rinderserum das Wachstum von *Babesia* in Kultur [134]. Es könnte zur Validierung der Inaktivierungs-Verfahren ein Tiermodell mit Maus oder Hamster herangezogen werden, da viele *Babesia*-Stämme auch in diesen Versuchstieren wachsen [64].

C 5 Bewertung

Babesia ist ein intraerythrozytär wachsender Parasit, der über Zecken von Tieren auf den Menschen übertragbar ist. Normalerweise wird die Infektion häufig spontan überwunden, sie kann aber subklinisch chronisch verlaufen, sodass eine Parasitämie über Monate bestehen bleibt. Bei immungeschwächten Personen, wie z.B. nach Splenektomie, kam es in Nordamerika durch *Babesia microti* und in Europa durch *Babesia divergens* zu schweren, teils tödlichen Infektionen, wenn keine zügige Therapie mit Kombination von Chinin und Clindamycin oder Atovaquone und Azithromycin erfolgte.

Babesia divergens und ähnliche Spezies sind auch in Deutschland vorhanden [99]. Da bislang über transfusionsassoziierte *Babesia*-Übertragungen in Deutschland nicht berichtet worden ist, rechtfertigt die Präsenz dieser Erreger nicht ein allgemeines Testen aller Blutspenden auf Marker einer *Babesia*-Infektion. Das klinische Bild der chronischen Babesiose mit schwerer Anämie und Leber- und Milzschwellung, mit hohen LDH- und erniedrigten Haptoglobin-Werten als Zeichen einer Hämolyse, ist auffällig. Die *Babesia*-Infektion kann im Blutausschrieb bei hoher Parasitendichte während der akuten Infektionsphase mit den intraerythrozytären Merozoiten mikroskopisch diagnostiziert werden. Anhand dieser diagnostischen Parameter wären Übertragungsfälle in der Vergangenheit erkannt worden. Derzeit besteht in Deutschland aufgrund der epidemiologischen Situation, der wenigen Krankheitsfälle und der fehlenden Berichte zu Blut-Übertragungen zur Verhinderung einer potenziellen *Babesia*-Transmission über die allgemeinen Ausschlusskriterien hinaus kein Handlungsbedarf.

D Toxoplasma gondii

D 1 Wissensstand über den Erreger

Toxoplasma ist weltweit verbreitet und mehr als ein Viertel der Weltbevölkerung ist mit diesem Erreger infiziert. Da eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung bisher, mit Ausnahme während der Schwangerschaft, über soziale Kontakte nicht be-

obachtet wurde, ist es eine typische Zoonose. Die vertikale Infektionsübertragung, von der Mutter auf den Fötus, mit folgenschweren Fehlbildungen ist nur möglich bei Erstinfektion während der Schwangerschaft.

Toxoplasma wurde unabhängig voneinander 1908 entdeckt von Charles Nicolle und Louis H. Manceaux, die nach *Leishmania* in einem Nager (*Ctenodactylus gundi*) in Nordafrika suchten, und von Alfonso Splendore in Sao Paulo in Kaninchen [135, 136]. Die erste menschliche Infektion wurde 1923 von Josef Janku in Tschechien beschrieben [4] und die kongenitale Übertragung im gleichen Jahr durch Arne Wolf und David Cowen entdeckt und später publiziert [137].

D 1.1 Erregereigenschaften

Toxoplasma gondii gehört unter den *Apicomplexa* (Abb. 7) zur Klasse der *Sporozoa* und kommt in 3 verschiedenen Formen vor:

- als Oocyste, die die Sporozoitien bildet;
- als Tachyzoit, die sichelförmige Form, der entsteht, wenn Sporozoitien Gewebszellen infizieren, sich durch Längsteilung in ihnen vermehren und freigesetzt werden. Besonders befähigte Zellen sind Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Ependymzellen und Astrozyten; und
- als Gewebszyste, die die Bradyzoiten enthält, die viele Jahre lang in der Zyste infektiös bleiben.

Der sexuelle Entwicklungszyklus findet nur in Katzen bzw. Feliden statt, die asexuelle Vermehrung in vielen Tierspezies und dem Menschen [138].

Von *T. gondii* werden 3 Genotypen unterschieden:

Genotyp I und II sind bei kongenitaler Toxoplasmose gefunden worden [139]. Genotyp II ist der am häufigsten im Menschen gefundene Stamm, der zur Reaktivierung und chronischen Infektion neigt und der auch in AIDS-Patienten zu 65 % gefunden wird [140]. Genotyp III-Stämme kommen vor allem in Tieren vor und selten im Menschen.

Oozyste. Die Oozystenbildung findet in Jejunumzellen des Katzendarms statt, wenn Sporozoitien in die Zellen eingewandert sind. Beim sexuellen Zyklus kommt es zur Verschmelzung von Sporozoitien, die sich in Gametozyten gewandelt haben. Unsporulierte Oozysten haben einen Durchmesser von 10–12 µm, sie bilden sich 7–20 Tage nach Infektion, und 10 Millionen Oozysten können täglich ausgeschieden werden. Nur sporulierte Oozysten sind infektiös, sie enthalten 2 Sporozoitien, die ihrerseits 4 Sporozoitien enthalten. Bei 11°C dauert die Sporulation 2–3 Wochen, bei 24°C 2–3 Tage. Oozysten bleiben in feuchtem Boden länger als 18 Monate infektiös.

Tachyzoit. Er hat sichelförmige Gestalt mit einer Länge von 5–7 µm und Breite von 2–3 µm. Tachyzoiten können sich nur innerhalb von Zellen vermehren, Teilungszeit ist etwa 6–8 Stunden, bei zu hoher Zahl platzt die Zelle und freigesetzte Tachyzoiten infizieren Nachbarzellen oder durch aktive Fortbewegung Zellen in anderen Geweben. Phagozytiert werden sie durch Makrophagen und neutrophile Granulozyten im Blut transportiert. An einem Pol des Tachyzoiten findet sich ein Conoid, darin 8 Organellen (Rhoptrien und Mikronemen, Abb. 7), mit deren Enzymen die animale Zellwand penetriert wird. Tachyzoiten sind labil gegen Austrocknung, Einfrieren und Auftauen sowie saures Milieu [141].

Bradyzoit. Bradyzoiten finden sich in Gewebezysten, sie sind morphologisch unterschiedlich zu Tachyzoiten und vermehren sich sehr langsam. Unter dem Einfluss von z.B. Interferon gamma und Heat-shock-Proteinen wandeln sich Tachyzoiten in Bradyzoiten. Eine Gewebezyste kann über 1000 Bradyzoiten enthalten. Im Muskel werden die Bradyzoiten in Gewebezysten durch Erhitzen auf > 67°C und Einfrieren für 24 Stunden bei –20°C inaktiviert. Bradyzoiten können aus der Zyste auswandern und sich in Tachyzoiten wandeln [142]. Bradyzoiten können in Gewebezysten für Jahrzehnte infektiös bleiben [143].

D 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Am Eintrittsort vermehrt sich *Toxoplasma* im Menschen intrazellulär ohne Präferenz für irgendwelche Zellen, sei es als Sporozoitien, Tachyzoiten oder Bradyzoiten. Erster Auffangort für freigesetzte Toxoplasmen sind die regionalen Lymphknoten. Im Lymphknoten entsteht das Bild einer Histiozytose, begleitet von Mikroabszessen und Granulomen mit Langerhans-Riesenzellen. In Phagozyten können Tachyzoiten überleben, wenn sie die parasitophore Vakuole bilden, die vor der Fusion mit den Lysosomen schützt. Auch wenn Immunität aufgebaut ist, können intrazellulär oder in Gewebezysten liegende Protozoen nicht abgebaut werden. Bei 10 % der Seropositiven lassen sich solche Zysten in Gehirn, Auge, Herz- oder Skelettmuskel nachweisen [144].

Beim Immungesunden führt die Infektion mit *Toxoplasma* zur chronischen oder latenten Infektion. Aus den Gewebezysten können gelegentlich Bradyzoiten freigesetzt werden [142]. Die Infektion mit *Toxoplasma* führt zur humoralen und zellulären Immunität, die lebenslang bestehen bleibt durch Boosterung durch endogene oder exogene Reinfektion. Mit Aufbau der Immunität werden Toxoplasmen aus der Blutbahn eliminiert. Interferon gamma ist wesentlich am Aufbau der Immunität beteiligt [145]. Antikörper der Klassen IgG, A, M und E werden gebildet. Patienten mit dem Zelloberflächenmarker HLA-DQ3 haben eine höhere Wahrscheinlichkeit, eine Enzephalitis zu entwickeln [146].

Typische Zeichen der Erstinfektion treten nur in 10–20 % der Infizierten auf. Häufig finden sich Schwellung von zervikalen Lymphknoten, die induriert und bis zu 3 cm groß sind, begleitet von Fieber, Nachtschweiß, Unwohlsein und Muskelschmerzen. Das klinische Bild ähnelt dem der Mononukleose durch EBV (Epstein-Barr-Virus) und CMV (Cytomegalievirus). Differentialdiagnostisch sind maligne Lymphome wie z.B. Morbus Hodgkin abzuklären. Die Lymphknotenschwellung kann Monate andauern [138].

D 1.3 Epidemiologie

Toxoplasma gondii ist weltweit verbreitet. Der Mensch infiziert sich im Wesent-

lichen über die Nahrung durch Verzehr von rohem oder unzureichend gegartem Fleisch, kontaminiertem Gemüse und Wasser oder Verschlucken von Oozysten, z.B. mit Staub. Auch aus Hühnereiern konnte *Toxoplasma* isoliert werden [147]. Über rohe Ziegenmilch können Tachyzoiten übertragen werden und zur Infektion führen [148].

Die materno-fetale Infektion ist in Deutschland selten (2007 – 20 gemeldete Fälle, 2006 – 10 Fälle, 2005 – 18 Fälle, 2004 – 16 Fälle, 2003 – 19 Fälle, 2002 – 17 Fälle und 2001 – 37 Fälle, Daten Robert Koch-Institut). *Toxoplasma*-Übertragung über Bluttransfusion und Organtransplantation ist vorgekommen (siehe D 3.5), ebenfalls über Nadelstichverletzung [149].

Arthropoden, die sich auch von Kot ernähren (Koprophilie), wie Kakerlaken (Küchenschaben) und Fliegen, können, wenn auch sehr selten, Überträger sein, wenn sie offene Wunden oder die Schleimhaut kontaminieren. Insofern kann auch *Toxoplasma* zu den Arboprotzoen gezählt werden. Mit zunehmendem Lebensalter steigt beim Menschen die *Toxoplasma*-Antikörper-Inzidenz an; eine Geschlechtsabhängigkeit besteht nicht [138].

Die *Toxoplasma*-Seroprävalenz kann in Westeuropa und Afrika (Uganda, Zambia) bis 50 und 70 % betragen [150, 151]. In Frankreich waren 1215 (72,2 %) von 1683 HIV-Infizierten seropositiv für *Toxoplasma* [152]. In den USA ist die Prävalenz niedriger als in Europa. Unter Rekruten der US-Armee waren 1989 etwa 9,5 % seropositiv, 1965 waren es 14,4 %. Frauen im gebärfähigen Alter waren in San Francisco, CA, im Jahr 2003 zu 9 % positiv.

D 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Zum Nachweis der akuten Infektion ist die NAT (Amplifikation von *Toxoplasma*-DNA) in Blut oder anderen Körperflüssigkeiten die geeignetste Methode. Ein negatives NAT-Ergebnis sagt jedoch nicht aus, dass keine *Toxoplasma*-Infektion besteht, da *Toxoplasma* in Blut und Gewebe nicht gleichmäßig verteilt ist. Tachyzoiten können bei akuter Infektion in histologischen Präparaten vor allem der Lymphknoten nachgewiesen werden. Für den Nachweis der chronischen Infektion bzw.

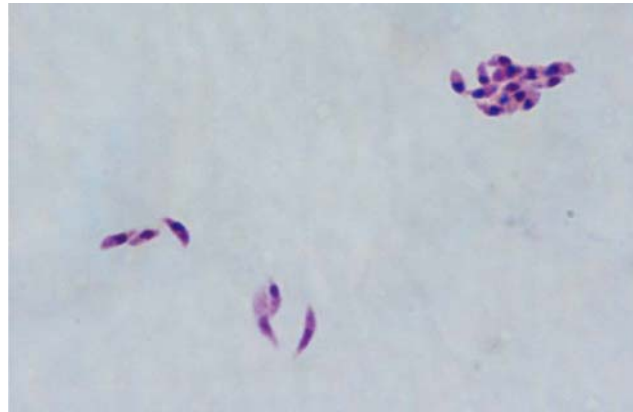


Abb. 8 ◀ **Sichelförmige Toxoplasmen, die in Kulturzellen vermehrt wurden und unter Lyse der Zelle in den Zellüberstand gewandert sind. May-Grünwald-Giemsa-Färbung. Präparat aus dem Friedrich-Löffler-Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Greifswald**

der Exposition ist die IgG-Antikörperbestimmung am besten geeignet.

Antikörpernachweis

Mit Antikörpertesten wird auch unter Blutspendern eine hohe Zahl von Exponierten erfasst. Die Tests sind nicht geeignet, infektiöse von nicht-infektiösen Spenden zu unterscheiden. Der Sabin-Feldman-Test wird kaum noch durchgeführt. Der meist verwendete Test ist der ELISA, der nicht frei von falsch negativen und falsch positiven Ergebnissen ist. Als Bestätigungstest kann der Immunoblot verwendet werden, der von verschiedenen Herstellern angeboten wird und eine Sensitivität von 52–67 % erreicht bei einer Spezifität von 96–99 %, wenn postnatal die Diagnose einer kongenitalen Infektion gestellt werden soll [153]. In einer weiteren Untersuchung wurden mit dem Westernblot eine Sensitivität von 82 % und eine Spezifität von 97 % erreicht. Neuere Tests haben eine Sensitivität von 99 % und eine Spezifität von 100 % [154]. Mit einer zweidimensionalen Immunoblot-Untersuchung kann die Differenzierung genauer vorgenommen werden [155]. Der Aviditätstest gibt nur im begrenzten Umfang einen Hinweis auf die Dauer der Infektion [156].

IgM-Antikörper fallen nach 12–18 Monaten nach erfolgter Immunreaktion wieder ab, IgA-Antikörper können für 6–9 Monate bis zu über einem Jahr persistieren [138, 156]. Die IgM-Tests haben eine geringe Spezifität, auch wenn sie nach dem Sandwich-Prinzip aufgebaut sind [157]. Es ist berichtet worden, dass für die Differenzierung einer akuten von der chronischen Infektion die IgE-Antikörperbestimmung besser geeignet ist als die

IgM-Bestimmung [158]. Eine IgE-Bestimmung kann zur Abklärung einer akuten Infektion wertvoll sein, da die IgE-Antikörper nach 4–6 Monaten abfallen, die IgM-Antikörper aber erst nach 12–18 Monaten [156].

Anzucht

Zur Erregerisolierung eignet sich die Inokulation der Maus oder die Zellkultur. Die Zellkultur ist einfacher und schneller, im gefärbten Ausstrich können Tachyzoiten nach 3–6 Tagen nachgewiesen werden (◻ **Abb. 8**). Als Zellen eignen sich periphere mononukleäre Zellen des Blutes von Nicht-*Toxoplasma*-Exponierten oder Granulozyten, die alle 2–3 Tage nachgegeben werden müssen. Ein gut etabliertes Zellsystem verwendet Fibroblasten der Zelllinie MRC5 [159].

Antigennachweis

ELISA und Agglutinationstest: Ein Antigentest, der wahrscheinlich nur Tachyzoiten erkannte, ist 1982 beschrieben worden [160], aber nicht kommerzialisiert worden. Diese Tests sind in den 1980er Jahren beschrieben worden und heute durch die NAT (*nucleic acid testing*) ersetzt.

Mikroskopie: Im mikroskopischen Präparat sind Tachyzoiten in der Giemsa-Färbung zu finden, wenn sie in großer Zahl vorhanden sind. Um die Sensitivität zu erhöhen, wurden fluoreszierende Antikörper verwendet, die allerdings auch mehr unspezifische Anfärbung verursachten [161].

Genomnachweis durch NAT (*nucleic acid testing*)

Viele Verfahren für die *Toxoplasma*-DNA-PCR sind beschrieben, vor allem zum

Nachweis von *Toxoplasma* bei AIDS-Patienten [162, 163]. Zur Amplifikation werden Primer aus dem B1-Gen von *Toxoplasma* verwendet, das mehrfach (meist 5-fach) im Protozoon vorhanden ist [68]. Neuere Verfahren verwenden die real-time PCR [164]. Die Sensitivität hängt von der Parasitendichte im Präparat ab. Mit der real-time PCR kann eine Sensitivität von 64 % und Spezifität von fast 100 % erreicht werden [165].

Die PCR kann zur Genotypisierung von *Toxoplasma* verwendet werden [166], wobei die Differenzierung durch Amplifikation von 5 verschiedenen Genen erfolgt. Werden verschiedene PCR miteinander verglichen, ist die real-time PCR das schnellste und die FRET (fluorescence resonance energy transfer) bzw. nested PCR das sensitivste Verfahren [167]. Die PCR wird für den *Toxoplasma*-Nachweis im Blut sensitiver, wenn Leukozyten für die Nukleinsäure-Extraktion verwendet werden. Aus angereicherten Leukozyten kann 1 *Toxoplasma* entsprechend etwa 200 µl Blut nach einer Lagerzeit von 1–6 Tagen nachgewiesen werden [168].

D 2 Blut- und Plasmaspender

D 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Die Prävalenz ist abhängig von der endemischen Region, der Exposition gegenüber Tieren, insbesondere Katzen, und dem Lebensalter und entspricht im Wesentlichen der Prävalenz in der Normalbevölkerung (siehe D 1.3). So wurde unter hämatopoetischen Stammzellspendern eine Antikörper-Prävalenz von 0,3–7,6 % angegeben [169]. Unter Blutspendern in Thailand wurde im Jahr 2000 eine *Toxoplasma*-Antikörper-Prävalenz von 4,9 % gefunden [170] und unter Blutspendern im Kanton Zürich, Schweiz, im Jahr 1995 eine Prävalenz von 52 %, bei Frauen zwischen 20 und 40 Jahren von 40 % [171].

D 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Zum Ausschluss potenziell infektiöser Spenden gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien für Blutspender sowie zusätzlich die Rückstellung nach Abklingen der Symptome einer Toxoplasmose für 6 Monate nach den Richtlinien der

Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Instituts [29, 30]. Für eine akute *Toxoplasma*-Infektion sind insbesondere Fieber, Unwohlsein, Abgeschlagenheit und zervikale Lymphknotenschwellung charakteristisch.

D 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Testung von Spendern auf *Toxoplasma*-Antikörper oder *Toxoplasma*-NAT wird derzeit nicht vorgenommen, sie ist aufgrund der fehlenden Berichte über *Toxoplasma*-Infektionen im Empfängerkollektiv nach Bluttransfusion auch derzeit nicht angezeigt.

D 2.4 Spenderbefragung

Spender werden nach Entzündungszeichen, besonders Fieber und Lymphknotenschwellung befragt und nach einer bekannten *Toxoplasma*-Infektion, nicht aber nach Haustierkontakt oder Genuss von unzureichend gegartem Fleisch.

D 2.5 Spenderinformation und -beratung

Da die *Toxoplasma*-Infektion und das *Toxoplasma*-assoziierte Krankheitsbild bei Blutspendern sehr selten sind, besteht für eine Spender-Beratung innerhalb des Blutspendedienstes derzeit keine Notwendigkeit. Sie kann bei Bedarf in einem infektiologischen Zentrum in Deutschland gegeben werden.

D 3 Empfänger

Empfänger haben wie Spender eine Durchseuchung, die der Normalbevölkerung entspricht, mit regionalen Unterschieden und der beschriebenen altersabhängigen Zunahme der Seropositivität. Bei einer Infektion im Empfänger ist zu unterscheiden zwischen einer Neuinfektion, Reinfektion und Reaktivierung. Eine Unterscheidung ist nur möglich, wenn serologische Vorbefunde vorhanden sind.

D 3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Das Empfängerkollektiv in Deutschland hat je nach Nahrungskonsum-Verhalten

und Alter eine Antikörperprävalenz von 20–30 %, teilweise auch höher bis 50 und 70 %, wie in der Schweiz gefunden [171]. Im Gegensatz dazu wurde in den USA eine Prävalenz von 9 bis 14 % beschrieben [138] (siehe D 1.3).

D 3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Die immunologische Abwehrlage ist für die Beherrschung der *Toxoplasma*-Infektion von wesentlicher Bedeutung. AIDS-Patienten mit einer CD4-Zellzahl von < 200/µl entwickeln durch endogene Reaktivierung häufig eine zerebrale oder pulmonale Toxoplasmose, die unbehandelt tödlich verläuft [172].

D 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Bei gestörter Immunantwort, auch unter Chemotherapie, vermehrt sich *Toxoplasma* im Körper weiter und kann auch noch 3 Jahre nach Knochenmarkstransplantation zu florider Erkrankung führen [159]. Über Leber-Transplantat kann *Toxoplasma* übertragen werden und zur Pneumonie führen [173]. Eine Pneumonie kann selten auch in immunkompetenten Personen auftreten [174]. Zerebrale Toxoplasmose verläuft bei Immunsupprimierten tödlich, wenn sie nicht ausreichend schnell erkannt und behandelt wird [175]. Die schwere Immunsuppression nach Stammzell- und Knochenmarks-Transplantation kann im Einzelfall ein Testen auf *Toxoplasma*-Antikörper in Spender und Empfänger erfordern [175].

D 3.4 Therapie und Prophylaxe

Medikamente hemmen die Tachyzoiten am Wachstum, schädigen jedoch nicht die Bradyzoiten in den Gewebssystemen. Pyrimethamin als Folsäure-Antagonist ist das wirksamste Medikament, welches mit Sulfadiazin oder Clindamycin kombiniert werden sollte. Die Therapiedauer ist wenigstens 3 Wochen. Einerseits wirken auch Azithromycin, Clarithromycin, Atovaquone, Dapsone und Trimethoprim-Sulfomethoxazol, andererseits aber liegt über die Therapiedauer mit diesen Medikamenten wenig Erfahrung vor [138]. Während der Schwangerschaft kann Spiramycin erfolgreich gegeben werden. Bei

schwerer Immunsuppression wird unterstützend Interferon gamma gegeben, welches mit Roxithromycin oder Pyrimethamin bzw. Azithromycin kombiniert wird.

D 3.5 Übertragbarkeit

Toxoplasma kann in Citrat-Blut bei 4°C für > 50 Tage überleben [138]. *Toxoplasma* wurde durch Vollblut und durch Leukozytenkonzentrat übertragen, wobei Leukozyten das Risiko der Übertragung erhöhen [176]. Auch über Organtransplantation kann *Toxoplasma* übertragen werden [177]. Neben der Übertragung kann bei seropositiven Transplantierten auch eine Reaktivierung auftreten. Bei der Übertragung von hämatopoetischen Stammzellen wurde bei autologer Transplantation keine *Toxoplasma*-Infektion übertragen (0 von 6787), dagegen bei allogener Transplantation in 0,97% (41 von 4231) [178]. Pyrimethamin-Prophylaxe kann die *Toxoplasma*-Infektion nach Transplantation mit > 80% Wahrscheinlichkeit verhindern.

47 Laborinfektionen durch *Toxoplasma* sind beschrieben worden, 14 davon durch Stichverletzungen, 12 ohne erfasstes Unfallereignis, 8 durch Benetzung der Schleimhaut, 8 durch Aufnahme von Oozysten. Die mittlere Inkubationszeit lag bei 8,5 Tagen, mit einem Bereich von 2 Tagen bis 2 Monate; die meisten Verunfallten hatten eine Inkubationszeit von < 13 Tagen [42].

D 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Nicht Leukozyten-depletierte Blutkonserven haben ein höheres Risiko der Übertragung von *Toxoplasma-gondii*-Tachyzoiten. Das höchste Risiko besteht für Granulozytenkonzentrate [176]. Je mehr Spender für die Herstellung eines Granulozytenpräparates herangezogen werden, desto höher ist das Risiko der *Toxoplasma*-Kontamination. Plasmaproducte enthalten keine lebensfähigen Tachyzoiten, da sie während des Herstellungsprozesses und durch die Sterilfiltration eliminiert werden.

D 4 Blutprodukte

D 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Zellhaltige Blutprodukte können *Toxoplasma* enthalten, die Wahrscheinlichkeit einer Belastung ist besonders hoch, wenn sich ein Spender in der Akutphase der Infektion oder in einer chronisch rezidivierenden Phase des Infektionsverlaufes befindet.

D 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Nachdem die Tachyzoiten von *Toxoplasma* hauptsächlich in Phagozyten vorkommen, lassen sich die Protozoen über die Leukozytendepletion wirksam (> 3 log₁₀) entfernen. Thermoinaktivierung ist ab 67°C effizient [179], dieses Verfahren ist für zelluläre Blutprodukte und Plasmaderivate nicht anwendbar. Eine Abtrennung und Inaktivierung von Tachyzoiten erfolgt bei der Fraktionierung und Sterilfiltration von Plasmaproteinen. Bei Verwenden von sterilfiltriertem Frischplasma ist *Toxoplasma* ohne Bedeutung, da der Erreger aufgrund seiner Größe im Filter zurückgehalten wird [165]. Gefrorenes Frischplasma überträgt *Toxoplasma* nicht, da der Erreger bei Temperaturen < -20°C seine Infektiosität verliert. Bei der Fraktionierung von Plasma zur Herstellung von z.B. Gerinnungsfaktoren und Immunglobulin werden *Toxoplasmen* abgereichert und/oder inaktiviert.

D 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

Da *Toxoplasma* in Zellkultur vermehrt werden kann, ist ein Speiken von Blut und Blutprodukten möglich. Der wesentliche Aspekt bei der *Toxoplasma*-Kontamination ist jedoch das Wachstum in Phagozyten, welches über ein einfaches Speiken nicht simuliert werden kann und spezielle Kulturbedingungen und ein Speiken mit infizierten Leukozyten erfordert. Ein Zusetzen von infizierten MRC5-Zellen [159] aus der Zellkultur kommt dem natürlichen Infektionsprozess jedoch wenig nahe. Wenn die Abreicherung oder Inaktivierung in Plasma geprüft werden soll,

kann ein Speiken von Plasma mit in Kulturzellen angereicherten *Toxoplasmen* weiterführend sein, analog zum Speiken mit *Babesia* [132]. Spezifische Verfahren zur Elimination oder intrazellulären Inaktivierung sind bisher nicht beschrieben worden.

D 5 Bewertung

Toxoplasma gondii ist weltweit verbreitet, und je nach untersuchter menschlicher Population kann eine Infektionsprävalenz von bis zu 80% vorkommen. Die Infektion kommt nach erfolgreicher Immunantwort zum Stillstand, kann aber bei Immunschwäche reaktiviert werden. Eine Therapie ist nur gegen Tachyzoiten vorhanden, die Medikamentengabe kann *Toxoplasmen*, die sich im Ruhezustand befinden, nicht inaktivieren.

Bisher sind in Deutschland keine Infektionen durch Bluttransfusion berichtet worden. Folglich scheint das Regime der Spenderauswahl und die Leukozytendepletion derartige Infektionen zu verhindern. Somit sind keine zusätzlichen Maßnahmen, wie z.B. routinemäßiges Testen auf *Toxoplasma*-Antikörper, erforderlich.

Dieses Papier wurde fertig gestellt am 28.8.2008 und vom Arbeitskreis Blut am 29.10.2008 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut:

Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Christian Drosten, Dr. Albrecht Gröner, Dr. Margarethe Heiden, PD Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkerich, Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen, Prof. Dr. Carl-Heinz Wirsing von König

Literatur

1. Blümel J, Burger R, Drosten C, et al. (2008) Malaria. *Transfus Med Hemother* 35:122–134
2. Pozio E (2008) Epidemiology and control prospects of foodborne parasitic zoonoses in the European Union. *Parasitologia* 50:17–24

3. Kotton CN (2007) Zoonoses in solid-organ and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 44:857–866
4. Cox FE (2002) History of human parasitology. *Clin Microbiol Rev* 15:595–612
5. Hoare CA (1938) Early discoveries regarding the parasites of oriental sore. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 32:67–92
6. Jeronimo SM, Sousa ADQ, Pearson RD (2005) Leishmania species: visceral (Kala-Azar), cutaneous, and mucocutaneous leishmaniasis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and practice of infectious diseases, 6th ed, Elsevier. Churchill, Livingstone, pp 3145–3156
7. Burgess NRH, Cowan GO (1993) Medical Entomology. Chapman and Hall, London
8. Grogil M, Daugirda JL, Hoover DL, et al. (1993) Survivability and infectivity of viscerotropic Leishmania tropica from Operation Desert Storm participants in human blood products maintained under blood bank conditions. *Am J Trop Med Hyg* 49:308–315
9. Cardo LJ (2006) Leishmania: risk to the blood supply. *Transfusion* 46:1641–1645
10. Moradpour D, Markwaller K, Gremlinger P, Lüthy R (1990) Visceral leishmaniasis as an opportunistic infection. Case report and literature review. *Schweiz Rundsch Med Prax* 79:921–926
11. Martín-Sánchez J, Navarro-Mari JM, Pasquau-Liaño J, et al. (2004) Visceral leishmaniasis caused by Leishmania infantum in a Spanish patient in Argentina: What is the origin of the infection? Case report. *BMC Infect Dis* 4:20
12. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, et al. (2008) The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev* 21:334–359
13. Herrmann A, Wohlrab J, Sudeck H, et al. (2007) Chronic lupoid leishmaniasis. A rare differential diagnosis in Germany for erythematous infiltrative facial plaques. *Hautarzt* 58:256–260
14. Weitzel T, Mühlberger N, Jelinek T, et al. (2005) Surveillance importierter Infektionen in Deutschland (SIMPID) Surveillance Network. Imported leishmaniasis in Germany 2001–2004: data of the SIMPID surveillance network. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 24:471–476
15. Harms G, Schöniag G, Feldmeier H (2003) Leishmaniasis in Germany. *Emerg Infect Dis* 9:872–875
16. Bogdan C, Schöniag G, Bañals AL, et al. (2001) Visceral leishmaniasis in a German child who had never entered a known endemic area: case report and review of the literature. *Clin Infect Dis* 32:302–306
17. Harms-Zwingenberger G, Bienle U (2007) Nach Deutschland importierte Leishmaniosen. *Dtsch Arzteblatt* 104:A3108–A3113
18. Bruckner DA, Labarca JA (2003) Leishmania and trypanosoma. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al. (eds) Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press, Washington, 1960–1969
19. Lima HC, Bleyenbergh JA, Titus RG (1997) A simple method for quantifying Leishmania in tissues of infected animals. *Parasitol Today* 13:80–82
20. Le Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuve JP, et al. (1999) Occurrence of Leishmania infantum parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol* 6:1953–1957
21. Disch J, Caligiorme RB, Maciel F, et al. (2006) Single step duplex kDNA-PCR for detection of Leishmania donovani complex in human peripheral blood samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 56:395–400
22. Mary C, Faraut F, Lascombe L, Dumon H (2004) Quantification of Leishmania infantum DNA by a real time PCR assay with high sensitivity. *J Clin Microbiol* 42:5249–5255
23. Wortmann G, Hochberg L, Houg HH, et al. (2005) Rapid identification of Leishmania complexes by a real-time PCR assay. *Am J Med Hyg* 73:999–1004
24. Castilho TM, Shaw JJ, Floeter-Winter LM (2003) New PCR assay using glucose-6-phosphate dehydrogenase for identification of Leishmania species. *J Clin Microbiol* 41:540–546
25. Foulet F, Botterel F, Buffet P, et al. (2007) Detection and identification of Leishmania species from clinical specimens by using a real-time PCR assay and sequencing of the cytochrome B gene. *J Clin Microbiol* 45:2110–2115
26. Selvapandian A, Duncan R, Mendez J, et al. (2008) A leishmania minicircle DNA footprint assay for sensitive detection and rapid speciation of clinical isolates. *Transfusion* 48:1787–1798
27. Braz RF, Nascimento ET, Martins DR, et al. (2002) The sensitivity and specificity of Leishmania chagasi recombinant K39 antigen in the diagnosis of American visceral leishmaniasis and in differentiating active from subclinical infection. *Am J Trop Med Hyg* 67:344–348
28. Suffia I, Quaranta JF, Eulalio MC, et al. (1995) Human T-cell activation by 14- and 18-kilodalton nuclear proteins of Leishmania infantum. *Infect Immun* 63:3765–3771
29. Bundesanzeiger (2005) Bekanntmachung der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Novelle 2005) vom 19. September 2005 ISSN 0720-6100 G 1990, Jahrgang 57. Ausgegeben am Sonnabend, dem 5. November 2005, Nummer 209a
30. Bundesanzeiger (2007) Bekanntmachung der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Änderungen und Ergänzungen 2007) vom 17. April 2007. Bundesanzeiger Nr 92, 10.5.2007, S. 5075
31. Reesink HW, Engelfriet CP, Wendel S, et al. (2004) Are current measures to prevent transfusion-associated protozoal infections sufficient? *Vox Sang* 87:125–138
32. Matheron S, Cabié A, Parquin F, et al. (1992) Visceral leishmaniasis and HIV infection: unusual presentation with pleuropulmonary involvement, and effect of secondary prophylaxis. *AIDS* 6:238–240
33. Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-Solar B, et al. (1997) Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: The first 10 years. *Clin Microbiol Rev* 10:298–319
34. Bhattacharya SK, Sinha PK, Sundar S, et al. (2007) Phase 4 trial of miltefosine for the treatment of Indian visceral Leishmaniasis. *J Infect Dis* 196:591–598
35. Jha TK, Sundar S, Thakur CP, et al. (1999) Miltefosine, an oral agent, for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *N Engl J Med* 341:1795–1800
36. Arevalo I, Tulliano G, Quispe A, et al. (2007) Role of imiquimod and parenteral meglumine antimoniate in the initial treatment of cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 44:1549–1554
37. Coelho AC, Messier N, Ouelette M, Cotrim PC (2007) Role of the ABC transporter PRP1 (ABCC7) in pentamidine resistance in Leishmania amastigotes. *Antimicrob Agents Chemother* 51:3030–3032
38. Ribeiro RR, Moura EP, Pimentel VM, et al. (2008) Reduced tissue parasite load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by Leishmania chagasi following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. *Antimicrob Agents Chemother* 52:2564–2572
39. Dey A, Singh S (2006) Transfusion transmitted leishmaniasis: a case report and review of literature. *Indian J Med Microbiol* 24:165–170
40. Luz KG, da Silva VO, Gomes EM, et al. (1997) Prevalence of anti-Leishmania donovani antibody among Brazilian blood donors and multiple transfused hemodialysis patients. *Am J Trop Med Hyg* 57:168–171
41. Terry LL, Lewis JL Jr, Sessoms SM (1950) Laboratory infection with Leishmania donovani; a case report. *Am J Trop Med Hyg* 30:643–649
42. Herwaldt BL (2001) Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clin Microbiol Rev* 14:659–688
43. Cardo LJ, Salata J, Harman R, et al. (2006) Leukodepletion filters reduce Leishmania in blood products when used at collection or at the bedside. *Transfusion* 46:896–902
44. Mathur P, Samantaray JC (2004) The first probable case of platelet transfusion-transmitted visceral leishmaniasis. *Transfus Med* 14:319–321
45. Cervia JS, Wenz B, Ortolano GA (2007) Leukocyte reduction's role in the attenuation of infection risks among transfusion recipients. *Clin Infect Dis* 45:1008–1013
46. Wagner SJ, Skripchenko A, Salata J, Cardo LJ (2006) Photoinactivation of Leishmania donovani infantum in red cell suspensions by a flexible thiopyrylium sensitizer. *Vox Sang* 91:178–180
47. Eastman RT, Barrett LK, Dupuis K, et al. (2005) Leishmania inactivation in human pheresis platelets by a psoralen (amotosolan HCl) and long-wavelength ultraviolet irradiation. *Transfusion* 45:1459–1463
48. Cardo LJ, Rentas FJ, Ketchum L, et al. (2006) Pathogen inactivation of Leishmania donovani infantum in plasma and platelet concentrates using riboflavin and ultraviolet light. *Vox Sang* 90:85–91
49. Mühlpfordt H (1975) Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchung über die Markierung von Leishmania donovani, Leishmania tropica, und Leishmania braziliensis mit Ferritin. *Tropenmed Parasitol* 26:385–389
50. Gasser RA Jr, Magill AJ, Oster CN, Tramont EC (1991) The threat of infectious disease in Americans returning from Operation Desert Storm. *N Engl J Med* 324:859–864
51. Umezawa ES, Simonsen Stolf AM, Corbett CEP, Shikanai-Yasuda MA (2000) Chagas' disease. *Lancet* 357:797–799
52. Chagas C (1909) Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre el morfoloía e o ciclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem – Über eine neue Trypanosomíase des Menschen. Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus des Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., Erreger einer neuen Krankheit des Menschen. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1:159–218
53. Atkin J (1734) The navy surgeon or a practical system of surgery. Caesar Ward and Richard Chandler, London, United Kingdom
54. Nepveu G (1898) Sur un trypanosome dans le sang de l'homme. *Compt Rend Soc Biol (Marseille)* 5:1172–1174

55. Kirchoff LV (2005) Trypanosoma species (American trypanosomiasis, chagas disease): Biology of trypanosomes. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds.) Principles and practice of infectious diseases, 6th edition. Elsevier Churchill, pp 3156–3164
56. Manson's Tropical Medicine 21 edition (2002) Elsevier; Amsterdam
57. Crovato F, Rebora A (1997) Chagas' disease: a potential plague for Europe? *Dermatology* 195:184–185
58. Jelinek T, Bisoffi Z, Bonazzi L, et al. (2002) European Network on Imported Infectious Disease Surveillance. Cluster of African trypanosomiasis in travelers to Tanzanian national parks. *Emerg Infect Dis* 8:634–635
59. Chappuis F, Loutan L, Simarro P, et al. (2005) Options for field diagnosis of human African trypanosomiasis. *Clin Microbiol Rev* 18:133–146
60. Oelemann W, Vanderborcht BO, Verissimo Da Costa GC, et al. (1999) A recombinant peptide antigen line immunoassay optimized for the confirmation of Chagas' disease. *Transfusion* 39:711–717
61. Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR, et al. (2003) An improved serodiagnostic test for Chagas' disease employing a mixture of Trypanosoma cruzi recombinant antigens. *Transfusion* 43:91–97
62. Roddy P, Goiri J, Flevaud L, et al. (2008) Field evaluation of a rapid immunochromatographic assay for detection of trypanosoma cruzi infection by use of whole blood. *J Clin Microbiol* 46:2022–2027
63. Jamonneau V, Solano P, Garcia A, et al. (2003) Stage determination and therapeutic decision in human African trypanosomiasis: value of polymerase chain reaction and immunoglobulin M quantification on the cerebrospinal fluid of sleeping sickness patients in Côte d'Ivoire. *Trop Med Int Health* 8:589–594
64. Schuster FL, Sullivan JJ (2002) Cultivation of clinically significant hemoflagellates. *Clin Microbiol Rev* 15:374–389
65. Coimbra VC, Yamamoto D, Khusal KG, et al. (2007) Enucleated L929 cells support invasion, differentiation and multiplication of Trypanosoma cruzi parasites. *Infect Immun* 75:3700–3706
66. Neva FA, Malone MF, Myers BR (1961) Factors influencing the intracellular growth of Trypanosoma cruzi in vitro. *Am J Trop Med Hyg* 10:140–154
67. Novy FG, McNeal WJ (1904) On the cultivation of Trypanosoma brucei. *J Infect Dis* 1:1–30
68. Wickstead B, Ersfeld K, Gull K (2003) Repetitive elements in genomes of parasitic protozoa. *Microbiol Mol Biol Rev* 67:360–375
69. Kirchoff LV, Votava JR, Ochs DE, Moser DR (1996) Comparison of PCR and microscopic methods for detecting Trypanosoma cruzi. *J Clin Microbiol* 34:1171–1175
70. Sturm NR, Degraeve W, Morel C, Simpson L (1989) Sensitive detection and schizodeme classification of Trypanosoma cruzi cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas disease. *Mol Biochem Parasitol* 33:205–214
71. Wincker P, Britto C, Pereira JB, et al. (1994) Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect Trypanosoma cruzi in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *Am J Trop Med Hyg* 51:771–777
72. Coronado X, Zulantay I, Reyes E, et al. (2006) Comparison of Trypanosoma cruzi detection by PCR in blood and dejections of Triatoma infestans fed on patients with chronic Chagas disease. *Acta Trop* 98:314–317
73. Galvão LMC, Chiari E, Macedo AM, et al. (2003) PCR assay for monitoring Trypanosoma cruzi parasitemia in childhood after specific chemotherapy. *J Clin Microbiol* 41:5066–5070
74. Solari A, Ortiz S, Soto A, et al. (2001) Treatment of Trypanosoma cruzi-infected children with nifurtimox: a 3 year follow-up by PCR. *J Antimicrob Chemother* 48:515–519
75. Martins HR, Silva RM, Valadares HM, et al. (2007) Impact of dual infections on chemotherapeutic efficacy in BALB/c mice infected with major genotypes of Trypanosoma cruzi. *Antimicrob Agents Chemother* 51:3282–3289
76. Simo G, Herder S, Njiokou F, et al. (2005) Trypanosoma brucei s.l.: characterisation of stocks from Central Africa by PCR analysis of mobile genetic elements. *Exp Parasitol* 110:353–362
77. Becker S, Franco JR, Simarro PP, et al. (2004) Real-time PCR for detection of Trypanosoma brucei in human blood samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 50:193–199
78. Ravel S, Grébaud P, Cuisance D, Cuny G (2003) Monitoring the developmental status of Trypanosoma brucei gambiense in the tsetse fly by means of PCR analysis of anal and saliva drops. *Acta Trop* 88:161–165
79. Shulman IA, Appleman MD, Saxena S, et al. (1997) Specific antibodies to Trypanosoma cruzi among blood donors in Los Angeles, California. *Transfusion* 37:727–731
80. Leiby DA, Read EJ, Lenes BA, et al. (1997) Seroepidemiology of Trypanosoma cruzi, etiologic agent of Chagas disease, in US blood donors. *J Infect Dis* 176:1047–1052
81. Kirchoff LV, Paredes P, Lomeli-Guerrero A, et al. (2006) Transfusion-associated Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: implications for transfusion medicine in the United States. *Transfusion* 46:298–304
82. Young C, Losikoff P, Chawla A, et al. (2007) Transfusion-acquired Trypanosoma cruzi infection. *Transfusion* 47:540–544
83. MMWR Weekly (2006) Chagas disease after organ transplantation – Los Angeles, California 2006. *MMWR* 55:798–800
84. Villalba R, Fornés G, Alvarez MA, et al. (1992) Acute Chagas' disease in a recipient of a bone marrow transplant in Spain: case report. *Clin Infect Dis* 14:594–595
85. Schmunis GA, Cruz JR (2005) Safety of the blood supply in Latin America. *Clin Microbiol Rev* 18:12–29
86. O'Brien SFO, Chiavetta JA, Fan W, et al. (2008) Assessment of a travel question to identify donors with risk of Trypanosoma cruzi: operational validity and field testing. *Transfusion* 48:755–761
87. Leiby DA, Herron RM, Garratty G, Herwaldt BL (2008) Trypanosoma cruzi parasitemia in US blood donors with serologic evidence of infection. *J Infect Dis* 198:609–613
88. Frank M, Hegenscheid B, Janitschke K, Weinke T (1997) Prevalence and epidemiological significance of Trypanosoma cruzi infection among Latin American immigrants in Berlin, Germany. *Infection* 25:355–358
89. Olivares-Illiana V, Rodríguez-Romero A, Becker I, et al. (2007) Perturbation of the dimer interface of triosephosphate isomerase and its effect on trypanosoma cruzi. *PLOS Negl Trop Dis* 1:e01–e08
90. Uzcátegui NL, Carmona-Gutierrez D, Denninger V, et al. (2007) Antiproliferative effect of dihydroxyacetone on Trypanosoma brucei bloodstream forms: cell cycle progression, subcellular alterations, and cell death. *Antimicrob Agents Chemother* 51:3960–3968
91. Lejon V, Roger I, Ngoyi DM, et al. (2008) Novel markers for treatment outcome in late stage Trypanosoma brucei gambiense Trypanosomiasis. *Clin Infect Dis* 47:15–22
92. Castro E, Gironés N, Bueno JL, et al. (2007) The efficacy of photochemical treatment with amotosalen HCl and ultraviolet A (Intercept) for inactivation of Trypanosoma cruzi in pooled buffy-coat platelets. *Transfusion* 47:434–441
93. Gelfand JA, Vannier E (2005) Babesia species. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds.) Principles and practice of infectious diseases, 6th edition. Elsevier Churchill, pp 3209–3215
94. White DJ, Talarico J, Chang HG, et al. (1998) Human babesiosis in New York State: Review of 139 hospitalized cases and analysis of prognostic factors. *Arch Intern Med* 158:2149–2154
95. Hilpertshauer H, Deplazes P, Schnyder M, et al. (2006) Babesia spp. identified by PCR in ticks collected from domestic and wild ruminants in southern Switzerland. *Appl Environ Microbiol* 72:6503–6507
96. Gorenflot A, Moubri K, Precigout E, et al. (1998) Human babesiosis. *Ann Trop Med Parasitol* 92:489–501
97. Kjemtrup AM, Conrad PA (2000) Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. *Int J Parasitol* 30:1323–1337
98. Olmeda AS, Armstrong PM, Rosenthal BM, et al. (1997) A subtropical case of human babesiosis. *Acta Trop* 67:229–234
99. Häselbarth K, Tenter AM, Brade V, et al. (2007) First case of human babesiosis in Germany – clinical presentation and molecular characterisation of the pathogen. *Int J Med Microbiol* 297:197–204
100. Hartelt K, Oehme R, Frank H, et al. (2004) Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of Anaplasma phagocytophilum (Ehrlichia sp.), Wolbachia sp., Rickettsia sp. and Babesia sp. in Southern Germany. *Int J Med Microbiol* 293(Suppl 37):86–92
101. Heile C, Heydorn AO, Schein E (2006) Dermacentor reticulatus (Fabricius, 1794) – Verbreitung, Biologie und Vektor für Babesia canis in Deutschland. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 119:330–334
102. Máthé A, Vörös K, Papp L, Reiczig J (2006) Clinical manifestations of canine babesiosis in Hungary (63 cases). *Acta Vet Hung* 54:367–385
103. Hunfeld KP, Lambert A, Kampen H, et al. (2002) Seroprevalence of Babesia infections in humans exposed to ticks in midwestern Germany. *J Clin Microbiol* 40:2431–2436
104. Foppa IM, Krause PJ, Spielman A, et al. (2002) Entomologic and serologic evidence of zoonotic transmission of Babesia microti, eastern Switzerland. *Emerg Infect Dis* 8:722–726
105. Boustani MR, Gelfand JA (1996) Babesiosis. *Clin Infect Dis* 22:611–615
106. Schuster FL (2002) Cultivation of Babesia and Babesia-like blood parasites: agents of an emerging zoonotic disease. *Clin Microbiol Rev* 15:365–373
107. Grande N, Precigout E, Ancelin ML, et al. (1997) Continuous in vitro culture of Babesia divergens in a serum-free medium. *Parasitology* 115:81–89

108. Persing DH, Mathiesen D, Marshall WF, et al. (1992) Detection of *Babesia microti* by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30: 2097–2103
109. Krause PJ, Telford S 3rd, Spielman A, et al. (1996) Comparison of PCR with blood smear and inoculation of small animals for diagnosis of *Babesia microti* parasitemia. *J Clin Microbiol* 34: 2791–2794
110. Krause PJ, Spielman A, Telford SR 3rd, et al. (1998) Persistent parasitaemia after acute babesiosis. *N Engl J Med* 339:160–165
111. Shayan P, Rahbari S (2005) Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR. *Parasitol Res* 97:281–286
112. Krampitz HE, Buschmann H, Münchoff P (1986) Gibt es latente Babesien-Infektionen beim Menschen in Süddeutschland? *Mitt Österr Ges Tropenmed Parasitol* 8:233–243
113. Leiby DA, Chung AP, Cable RG, et al. (2002) Relationship between tick bites and the seroprevalence of *Babesia microti* and *Anaplasma phagocytophila* (previously *Ehrlichia* sp) in blood donors. *Transfusion* 42:1585–1591
114. Leiby DA, Chung AP, Gill JE, et al. (2005) Demonstrable parasitemia among Connecticut blood donors with antibodies to *Babesia microti*. *Transfusion* 45:1804–1810
115. Grabowski EF, Giardina PJ, Goldberg D, et al. (1982) Babesiosis transmitted by a transfusion of frozen-thawed blood. *Ann Intern Med* 96: 466–467
116. Marcus LC, Valigorsky JM, Fanning WL, et al. (1982) A case report of transfusion induced babesiosis. *JAMA* 248:465–467
117. Mintz ED, Anderson JF, Cable RG, Hadler JL (1991) Transfusion-transmitted babesiosis: a case report from a new endemic area. *Transfusion* 31: 365–368
118. Popovsky MA (1991) Transfusion-transmitted babesiosis. *Transfusion* 31:296–298
119. Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR 3rd, et al. (2000) Babesiosis. *Clin Microbiol Rev* 13:451–469
120. Kain KC, Jassoum SB, Fong IW, Hannach B (2001) Transfusion-transmitted babesiosis in Ontario: first reported case in Canada. *CMAJ* 164: 1721–1723
121. Herwaldt BL, Neitzel DF, Gorlin JB, et al. (2002) Transmission of *Babesia microti* in Minnesota through four blood donations from the same donor over a 6-month period. *Transfusion* 42: 1154–1158
122. New DL, Quinn JB, Qureshi MZ, Sigler SJ (1997) Vertically transmitted babesiosis. *J Pediatr* 131: 163–164
123. Lux JZ, Weiss D, Linden JV, et al. (2003) Transfusion-associated babesiosis after heart transplant. *Emerg Infect Dis* 9:116–119
124. Gupta P, Hurley RW, Helseth PH, et al. (1995) Pancytopenia due to hemophagocytic syndrome as the presenting manifestation of babesiosis. *Am J Hematol* 50:60–62
125. Slovut DP, Benedetti E, Matas AJ (1996) Babesiosis and hemophagocytic syndrome in an asplenic transplant recipient. *Transplantation* 62:537–539
126. Perdrizet GA, Olson NH, Krause PJ, et al. (2000) Babesiosis in a renal transplant recipient acquired through blood transfusion. *Transplantation* 70: 205–208
127. Callow LL, Dagliesh RJ, de Vos AJ (1997) Development of effective living vaccines against bovine babesiosis – the longest field trial? *Int J Parasitol* 27:747–767
128. Ushe TC, Palmer GH, Sotomayor L, et al. (1994) Antibody response to a *Babesia bigemina* rhoptry-associated protein 1 surface-exposed and neutralization sensitive epitope in immune cattle. *Infect Immun* 62:5698–5701
129. Berens SJ, Brayton KA, Molloy JB, et al. (2005) Merozoite surface antigen 2 proteins of *Babesia bovis* vaccine breakthrough isolates contain a unique hypervariable region composed of degenerate repeats. *Infect Immun* 73:7180–7189
130. Leroith T, Brayton KA, Molloy JB, et al. (2005) Sequence variation and immunologic cross-reactivity among *Babesia bovis* merozoite surface antigen 1 proteins from vaccine strains and vaccine breakthrough isolates. *Infect Immun* 73:5388–5394
131. Gerber MA, Shapiro ED, Krause PJ, et al. (1994) The risk of acquiring Lyme disease or babesiosis from a blood transfusion. *J Infect Dis* 170: 231–234
132. Singh Y, Sawyer LS, Pinkoski LS, et al. (2006) Photochemical treatment of plasma with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates pathogens while retaining coagulation function. *Transfusion* 46:1168–1177
133. Holman PJ, Waldrup KA, Wagner GG (1988) In vitro cultivation of a *Babesia* isolated from a white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *J Parasitol* 74:111–115
134. Canning EU, Winger CM (1987) Babesidae. In: Taylor AER, Baker JR (eds.) *In vitro methods for parasite cultivation*. Academic Press, New York, pp 199–229
135. Nicolle C, Manceaux L (1909) Sur un protozoaire nouveau du gondi, *Toxoplasma*. *Arch Inst Pasteur Tunis* 2:97–103
136. Splendore A (1909) Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin, deuxième note préliminaire. *Bull Soc Pathol Exot* 2:462–465
137. Wolf A, Cowen D (1937) Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon (encephalitozoon encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. *Bull Neurol Inst New York* 6:306–371
138. Montoya JG, Kovacs JA, Remington JS (2005) *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6th edition, Elsevier Churchill, pp 3170–3198
139. Fuentes I, Rubio JM, Ramirez C, Alvar J (2001) Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. *J Clin Microbiol* 39:1566–1570
140. Howe DK, Honoré S, Derouin F, Sibley LD (1997) Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 35:1411–1414
141. Dubey JP (1998) Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* 28:1019–1024
142. Ferguson DJ, Hutchison WM, Pettersen E (1989) Tissue cyst rupture in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res* 75: 599–603
143. Hill D, Dubey JP (2002) *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect* 8:634–640
144. Remington JS, Cavanaugh EN (1965) Isolation of the endocysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. *N Engl J Med* 273:1308–1310
145. Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS (1988) Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science* 240:516–518
146. Suzuki Y, Wong SY, Grumet FC, et al. (1996) Evidence for genetic regulation of susceptibility to toxoplasmic encephalitis in AIDS patients. *J Infect Dis* 173:265–268
147. Swartzberg JE, Remington JS (1975) Transmission of *Toxoplasma*. *Am J Dis Child* 129:777–779
148. Krauss H, Weber A, Appel M, et al. (2003) Zoonoses. Infectious diseases transmissible from animals to humans, 3rd ed. ASM Press, Washington, pp 307–308
149. Heu HC (1967) Toxoplasmosis transmitted at autopsy. *J Am Med Ass* 202:284–285
150. Clumeck N (1991) Some aspects of the epidemiology of toxoplasmosis and pneumocystosis in AIDS in Europe. *Eur J Clin Microbiol Dis* 10: 177–178
151. Zumla A, Savva D, Wheeler RB, et al. (1991) Toxoplasma serology in Zambian and Ugandan patients infected with the human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85:227–229
152. Belanger F, Derouin F, Grangeat-Keros L, Meyer L, Hemoco and Seroco Study Groups (1999) Incidence and risk factors of toxoplasmosis in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients: 1988–1995. *Clin Infect Dis* 28:575–581
153. Rilling V, Dietz K, Krczal D, et al. (2003) Evaluation of a commercial IgG/IgM Western blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22:174–180
154. Franck J, Garin YJF, Dumon H (2008) LDBio-Toxo II Immunoglobulin western blot confirmatory test for anti-toxoplasma antibody detection. *J Clin Microbiol* 46:2334–2338
155. Nielsen HV, Schmidt DR, Petersen E (2005) Diagnosis of congenital toxoplasmosis by two-dimensional immunoblot differentiation of mother and child immunoglobulin G profiles. *J Clin Microbiol* 43:711–715
156. Kodym P, Machala L, Roháčová H, et al. (2007) Evaluation of a commercial IgE ELISA in comparison with IgA and IgM ELISAs, IgG avidity assay and complement fixation for the diagnosis of acute toxoplasmosis. *Clin Microbiol Infect* 13: 40–47
157. Liesenfeld O, Press C, Montoya JG, et al. (1997) False-positive results in immunoglobulin M (IgM) toxoplasma antibody tests and importance of confirmatory testing: the Platelia Toxo IgM test. *J Clin Microbiol* 35:174–178
158. Foudrinier F, Villena I, Jaussaud R, et al. (2003) Clinical value of specific immunoglobulin E detection by enzyme-linked immunosorbent assay in cases of acquired and congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 41:1681–1686
159. Saad R, Vincent JF, Cimon B, et al. (1996) Pulmonary toxoplasmosis after allogeneic bone marrow transplantation: case report and review. *Bone Marrow Transplant* 18:211–212
160. Van Knapen F, Panggabean SO (1982) Detection of toxoplasma antigen in tissues by means of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Am J Clin Pathol* 77:755–757
161. Frenkel JK, Piekarski G (1978) The demonstration of *Toxoplasma* and other organisms by immunofluorescence: a pitfall. (Editorial) *J Infect Dis* 138:265–266

162. Cinque P, Scarpellini P, Vago L, et al. (1997) Diagnosis of central nervous system complications in HIV-infected patients: cerebrospinal fluid analysis by the polymerase chain reaction. *AIDS* 11:1–17
163. Dupouy-Camet J, de Souza SL, Maslo C, et al. (1993) Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 31:1866–1869
164. Costa JM, Pautas C, Ernault P, et al. (2000) Real-time PCR for diagnosis and follow up of *Toxoplasma* reactivation after allogeneic stem cell transplantation using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *J Clin Microbiol* 38:2929–2932
165. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG (2004) Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 42:941–945
166. Ajzenberg D, Dumètre A, Dardé ML (2005) Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 43:1940–1943
167. Calderaro A, Piccolo G, Gorrini C, et al. (2006) Comparison between two real-time PCR assays and a nested-PCR for the detection of *Toxoplasma gondii*. *Acta Biomed* 77:75–80
168. Joss AW, Evans R, Mavin S, et al. (2008) Development of real-time PCR to detect *Toxoplasma gondii* and *Borrelia burgdorferi* infections in postal samples. *J Clin Pathol* 61:221–224
169. Goebel WS, Conway JH, Faught P, et al. (2007) Disseminated toxoplasmosis resulting in graft failure in a cord blood stem cell transplant recipient. *Pediatr Blood Cancer* 48:222–226
170. Pinlaor S, Leamviteevanich K, Pinlaor P, et al. (2000) Seroprevalence of specific total immunoglobulin (Ig) IgG and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* in blood donors from Loei Province, Northeast Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 31:123–127
171. Jacquier P, Nadal D, Zuber P, Eckert J (1995) The status of infection with *Toxoplasma gondii* in the Swiss population: contribution of a seroepidemiologic study from the Zurich canton. *Schweiz Med Wochenschr Suppl* 65:235–285
172. Levy JA (2007) HIV and the Pathogenesis of AIDS, 3rd edition. ASM – American Society of Microbiology, Washington
173. Assi MA, Rosenblatt JE, Marshall WF (2007) Donor-transmitted toxoplasmosis in liver transplant recipients: a case report and literature review. *Transpl Infect Dis* 9:132–136
174. Leal FE, Cavazzana CL, de Andrade HF Jr, et al. (2007) *Toxoplasma gondii* pneumonia in immunocompetent subjects: case report and review. *Clin Infect Dis* 44:e62–e66
175. Cibickova L, Horacek J, Prasil P, et al. (2007) Cerebral toxoplasmosis in an allogeneic peripheral stem cell transplant recipient: case report and review of literature. *Transplant Infect Dis* 9:332–335
176. Siegel SE, Lunde MN, Gelderman AH, et al. (1971) Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. *Blood* 37:388–394
177. Ryning FW, McLeod R, Maddox JC, et al. (1979) Probable transmission of *Toxoplasma gondii* by organ transplantation. *Ann Intern Med* 90:47–49
178. Martino R, Bretagne S, Rovira M, et al. (2000) Toxoplasmosis after hematopoietic stem cell transplantation: Report of a 5-year survey from the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 25: 1111–1114
179. Dubey J, Kotula A, Sharar A, et al. (1990) Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Parasitol* 76:201–204