

Fakultät für Gesundheitswissenschaften, Universität Bielefeld
WHO Collaborating Center

**Evaluation des
Toxoplasmosescreenings in Oberösterreich
im Rahmen der
Mutter-Kind-Pass-Vorsorgeuntersuchungen**

vorgelegt von

Dr. med. Ulrich Sagel, MSc
St. Pölten (Österreich)

zum Erwerb des Grades Doctor of Public Health (DrPH)

Erstbetreuer: Prof. Dr. Alexander Krämer
Zweitbetreuer: Prof. Dr. Rafael Mikolajczyk, MSc

2014

Summarium

Trotz mehr als drei Jahrzehnten bevölkerungsweiter Toxoplasmosevorsorge für Schwangere in Österreich fehlen belastbare Zahlen zur Indizienz maternaler Infektionen. Aus dem Bundesland Oberösterreich wurden serologische Screeningtests von 63.416 Schwangeren im Zeitraum vom 01.01.2000 bis 31.12.2007 untersucht.

Die beobachteten akuten Infektionen sind einer erheblichen Untererfassung unterworfen, weil nur bei 29,8 % der Schwangeren alle drei empfohlenen Vorsorgeuntersuchungen eingehalten wurden. Anhand von zwei Regressionsanalysen wurde die Häufigkeit geschätzt: Eine indirekte Methode auf der Grundlage von altersabhängigen Änderungen in der Seroprävalenz ergab eine Inzidenz von 0,5 % pro Schwangerschaft, jedoch sind erhebliche Bias zu beachten, die zu einer Überschätzung führen. Eine etwas weniger störanfällige, direkte Schätzung mittels Intervall-zensierter Regression ergab eine Inzidenz von 0,17 % pro Schwangerschaft (95 % Konfidenzintervall: 0,13 – 0,21 %).

Analysen auf jahreszeitliche Trends weisen eine Häufung von Diagnosen in den Wintermonaten, wahrscheinlich infolge gehäufter Infektionen im Herbst, aus. Das ergibt einen Hinweis auf unbekannte oder unterschätzte Risikofaktoren.

Langjährige erhebliche Mängel des Vorsorgeprogramms infolge unzureichender Überwachung, Steuerung und Infrastruktur konnten aufgedeckt werden. Besonders nachteilhaft ist der Umstand, daß das Screening in vielen Fällen große Teile der Schwangerschaft („blinde Zeiträume“) nicht erfaßt hat. Daher wurden viele akute Infektionen nicht zeitnah nachgewiesen und nicht noch in der Schwangerschaft frühzeitig einer prophylaktischen Behandlung zugeführt. Handlungsbedarf für Entscheidungsträger des öffentlichen Gesundheitswesens in Österreich ist zu erkennen und dazu werden konstruktive Vorschläge gemacht.

Inhaltsverzeichnis

1. Hintergrund	3
a. Toxoplasmosevorsorge als Teil des Mutter-Kind-Passes	3
b. Hintergrund zum Infektionserreger und zur Krankheit	4
c. Toxoplasmosevorsorge als Screeningprogramm	5
2. Forschungsfragen und Untersuchungsziele	6
3. Material und Methoden	7
a. Untersuchungsmaterial	7
b. Labormethodik	8
c. Datenbearbeitung und Datenschutz	9
d. Statistische Analyse	9
4. Zusammenstellung der vorliegenden Veröffentlichungen	11
5. Ergebnisse	12
a. Untersuchung von saisonalen Trends von durch Screening erfaßten Infektionen	12
b. Anteil des Datenmaterials an allen Schwangerschaften im Bundesland Oberösterreich	13
c. Seroprävalenz der Toxoplasmose bei Schwangeren	14
d. Verdachtsfälle und gesicherte Fälle von in einer Schwangerschaft nachgewiesenen <i>Toxoplasma</i> Primoinfektionen	14
e. Geschätzte Inzidenz von Primoinfektionen während der Schwangerschaft	14
f. Abdeckung der Schwangerschaft mit Screening-Tests bei seronegativen Frauen	15
6. Diskussion	15
a. Jahreszeitlicher Trend	16
b. Unzulängliche Bestimmung der Inzidenz mit deskriptiven Methoden	17
c. Schätzung der Inzidenz anhand von zwei unterschiedlichen Regressionsmodellen	18
d. Abschließende Einschätzung der Inzidenz von Primoinfektionen	20
e. Das Problem der „blinden Zeitintervalle“	21
f. Schwächen des österreichischen Toxoplasmosecreenings aus gesundheitswissenschaftlicher Sicht	24
7. Fazit	27
8. Tabellen und Abbildungen	29
9. Literatur	35

1. Hintergrund

a) Toxoplasmosevorsorge als Teil des Mutter-Kind-Passes

Schwere Krankheiten im Neugeborenen- und Kindesalter mit dauerhaften Folgeschäden sind besonders tragisch für die Betroffenen und ihre Familienangehörigen. Für die Versorgung kommen auf die Familien und das Gemeinwesen zudem erhebliche Belastungen und Kosten hinzu. Einige dieser Krankheiten werden durch Infektionen während der Schwangerschaft verursacht. Im Rahmen von Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchungen werden bislang in Deutschland (Mutterpass) und Österreich (Mutter-Kind-Pass) Erreger berücksichtigt, die dort prävalent sind und gegen die es präventivmedizinische Konzepte gibt: Rötelnvirus (Impfung), Hepatitis B (Impfung) und *Treponema pallidum* (Antibiotikabehandlung). Wenngleich nicht überall im deutschsprachigen Raum standardmäßig angeboten, sind hier auch Aktivitäten gegen HIV (Prophylaxe mit Virustatika), *Chlamydia trachomatis* (Antibiotikabehandlung) und *Toxoplasma gondii* (antiparasitäre Behandlung [1, 2]) zu nennen.

Aus Sicht der öffentlichen Gesundheit ist in diesem Zusammenhang *Toxoplasma gondii* in zweierlich Hinsicht bemerkenswert:

1. Es gibt international sehr unterschiedliche Herangehensweisen: Seit über 30 Jahren werden in Österreich [3] und Frankreich praktisch für die gesamte Bevölkerung Untersuchungen auf Toxoplasmose in der Schwangerschaft kostenfrei angeboten. In Italien und Slowenien wird das seit noch nicht so langer Zeit in einzelnen Regionen praktiziert [4, 5]. Dänemark hat sich bis 2007 auf Neugeborenenuntersuchungen beschränkt und diese danach ersatzlos eingestellt [6]. Ansonsten wird vielfach, wenn überhaupt, ein „wild screening“ durchgeführt [4]: Obwohl national einheitliche Vorgaben für eine Vorsorge und deren Finanzierung fehlen, werden die entsprechenden Untersuchungen von Fachgesellschaften oder gar Gesundheitsbehörden empfohlen, von vielen Arztpraxen und anderen Gesundheitseinrichtungen angeboten und oftmals von Privatversicherungen oder den Schwangeren selbst bezahlt. Das gilt auch für Deutschland [7] und die USA [2].
2. Etwa zwei bis drei Jahrzehnte nach Einführung des Toxoplasmose Screenings in Österreich und Frankreich gelingt in europäischen Multicenter-Studien nicht der unumstrittene Nachweis, daß durch etablierte Konzepte für eine Therapie in der Schwangerschaft eine Infektion des Fötus bzw. die daraus resultierenden Folgeschäden ausrei-

chend effektiv verhindert werden können [8 - 11]. Kritiker dieser Studien, darunter auch deren führende Autoren, weisen auf wichtige Bias und Mängel dieser Untersuchungen hin [12], verteidigen das Screeningkonzept [13 - 18] oder fordern weiterführende Studien [19]. Davon unbeeindruckt zweifeln aber viele Kostenträger nun zunehmend die Toxoplasmosevorsorge an und ziehen sich aus der Finanzierung zurück: So stellte die Schweiz ihr „wild screening“ (mit Ausnahme eines Surveillanceprojekts in der Region Basel) und Dänemark das Neugeborenen-Screening sogar konsequent ein [5, 20, 21].

Das Gesagte illustriert, wie unsicher die Toxoplasmosevorsorge in der Schwangerschaft von Entscheidungsträgern im öffentlichen Gesundheitsdienst und von Fachwissenschaftlern beurteilt wird. Dazu trägt auch ein beträchtlicher Mangel an soliden epidemiologischen Daten bei, sogar in den Ländern mit jahrzehntelangem bevölkerungsweisem Screening, also Österreich und Frankreich.

b) Hintergrund zum Infektionserreger und zur Krankheit

Toxoplasmose ist eine Infektionskrankheit, die durch das Protozoon *Toxoplasma gondii* hervorgerufen wird. Katzen und katzenartige Tiere sind die Endwirte, die Oozysten ausscheiden, die wenige Tage später zur Infektionstüchtigkeit ausreifen. Viele Tiere können durch Aufnahme dieser Oozysten zu Zwischenwirten werden, die infektiöse Zysten in ihrer Muskulatur und anderen Organen enthalten. Der Infektionszyklus schließt sich typischerweise, wenn Katzen infizierte Nagetiere fressen. Menschen infizieren sich als Fehlwirte durch perorale Aufnahme von reifen Oozysten (z. B. bei Gartenarbeit) oder von zystenhaltigem und unzureichend erhitztem Fleisch infizierter Tiere (z. B. Schweine). Bei immunkompetenten Menschen und auch bei Schwangeren geht eine Infektion nur selten mit offensichtlichen Krankheitserscheinungen (z. B. Lymphadenitis) einher. Innerhalb weniger Wochen bildet sich eine lebenslange Immunität aus, die den Erreger auf wenige Zysten im Körper begrenzt, solange nicht schwere Immunschwächezustände (z. B. maligne Erkrankungen, AIDS) eine Reaktivierung zulassen [1, 2, 15].

Bei Schwangeren, die erstmalig in ihrem Leben mit dem Erreger infiziert werden („Primoinfektion“), kann *Toxoplasma gondii* die Plazentabarriere überscheitern und den Fötus infizieren, während die Ausreifung einer schützenden Immunität noch Zeit in Anspruch nimmt. Je nach Schwangerschaftswoche kann das mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten zu Folgeschä-

den am zentralen Nervensystem führen, wie Hydrozephalus, intrakraniellen Verkalkungen und Retinochorioiditis. Das kann zu lebenslangen geistigen und körperlichen Behinderungen, besonders häufig Sehstörungen, führen. Diese Schäden sind oft noch nicht bei Geburt offensichtlich, sondern treten teilweise erst viele Jahre später offen in Erscheinung [22]. Besonders bei diesen Spätfolgen ist das Ausmaß an Untererfassung sehr groß, weil eine Toxoplasmose als Ursache oft nicht mehr in Erwägung gezogen wird oder die Diagnose nicht mehr zuverlässig gestellt werden kann.

Obwohl die kongenitale Toxoplasmose sehr selten auftritt, ist die „burden of disease“ wegen der gravierenden Folgen für die Betroffenen und ihre Familien groß. Sie wurde sogar in einer niederländischen Arbeit mindestens gleich hoch eingeschätzt wie die „burden of disease“ der Salmonellose, einer wichtigen, in der Lebensmittelwirtschaft gefürchteten Zoonose [23].

Nur die Primoinfektion in der Schwangerschaft stellt für das Kind ein relevantes Erkrankungsrisiko dar, weil eine früher erworbene Infektion praktisch immer eine schützende Immunität hinterläßt. Nun ist von Immunsupprimierten mit Primoinfektion oder Reaktivierung einer Toxoplasmose die Wirksamkeit von Folsäureantagonisten gegen *Toxoplasma gondii* bekannt. In der Frühschwangerschaft sind diese wegen möglicher teratogenen Wirkungen kontraindiziert. Es kann aber das gegen den Erreger wirksame Makrolidantibiotikum Spiramycin gegeben werden. Aus diesem Wissen heraus und aus eigener praktischer Erfahrung besteht seit einigen Jahrzehnten bei vielen Toxoplasmoseexperten die Überzeugung, daß eine frühzeitige Behandlung infizierter Schwangerer eine Übertragung auf den Fötus verhindern oder rechtzeitig heilen kann. Da Schwangere aber im allgemeinen symptomlos infiziert werden, kann die Infektion nur durch ein laborgestütztes Screening frühzeitig erkannt und behandelt werden.

c) Toxoplasmosevorsorge als Screeningprogramm

Ein Screeningprogramm macht Sinn unter der (allerdings nicht unumstrittenen) Prämisse, daß eine frühzeitige antimikrobielle Behandlung bei Erstinfektion der Mutter den Übergang des Erregers *Toxoplasma gondii* auf den Fötus verhindern oder, bei Einsatz von Folsäureantagonisten, bereits infizierte Föten vor Folgeschäden bewahren kann. Da die Erkrankung bei der Mutter meistens ohne Symptome, die zu einem Arztbesuch führen, verläuft, ist eine frühe Diagnose auf Laboruntersuchungen angewiesen.

Eine Erstinfektion führt in wenigen Tagen bis Wochen zu einer Bildung spezifischer Antikörper der Immunglobulinklasse G (IgG) gegen Antigene von *Toxoplasma gondii*, die lebenslang nachweisbar sind. In den ersten drei Monaten nach Erstinfektion sind praktisch regelmäßig auch erregerspezifische Antikörper der Immunglobulinklasse M (IgM) zu finden und IgG-Antikörper weisen stets als Ausdruck eines noch unreifen Bindungsvermögens an Antigene des Erregers eine niedrige Avidität auf. Leider sind IgM-Antikörper und eine niedrige IgG-Avidität keine zuverlässigen Marker für eine rezente Erstinfektion, weil es nicht selten Fälle gibt, in denen diese noch monatelang (nach persönlicher Erfahrung des Verfassers bis zu etwa anderthalb Jahren) nach Infektion nachweisbar sein können [24]. Steigende und hohe Antikörperspiegel („Titer“) können auf eine akute Infektion hinweisen, kommen aber auch bei Zweitinfektionen vor und manche Menschen haben auch nach längst abgelaufener Infektion noch hohe Antikörpertiter.

Es gibt eine Vielzahl an potentiell irreführenden Besonderheiten der Toxoplasmoseserologie: Die Produktion von IgG-Antikörpern kann untypische Verläufe nehmen [25], verschiedene Tests auf IgG-Antikörper reagieren in der Frühphase der Infektion unterschiedlich empfindlich [26], IgM-Teste können selten falsch-negative Ergebnisse liefern [24, 27, 28] und eine frühzeitig eingeleitete antimikrobielle Behandlung kann die Ausreifung der IgG-Avidität und die Produktion von IgG-Antikörpern beeinträchtigen [29] .

Bei Infektionsverdacht im Routinelabor empfiehlt es sich daher, ein erfahrenes Referenzlabor mit der oft nicht einfachen Bestätigungsdiagnostik zu betrauen. Zudem ist es ratsam, daß ein Referenzlabor auch bei der Auswahl von Suchtests und der Erstellung von Interpretationshilfen den Routinelaboren beratend zur Seite steht.

2. Forschungsfragen und Untersuchungsziele

Es besteht international ein beträchtliches Defizit an epidemiologischen Daten [30] zur Toxoplasmosis in der Schwangerschaft. Gerade für Österreich als das Land mit der weltweit längsten Tradition des bevölkerungsweiten Toxoplasmosescreenings stellt sich die bislang unzureichend geklärte Frage nach zuverlässig ermittelten epidemiologischen Kennzahlen und der Performance des Vorsorgeprogramms.

Es bestand, wie weiter unten näher ausgeführt wird, Zugriff auf ein Datenmaterial, das trotz gewisser Einschränkungen weltweit seinesgleichen sucht. Aus diesem Material soll durch eine

retrospektive Analyse und kritische Bewertung gesundheitswissenschaftlich verwertbare Informationen als Sachbeitrag zu der genannten kontroversen Diskussion beigesteuert werden. Dabei konnten nur maternale Infektionen untersucht werden, deren Verständnis aber einen wichtigen Teilaspekt der Prävention von kongenitaler Toxoplasmose umfaßt.

Auf diese Analyse aufbauend sollte das seit mehr als drei Jahrzehnten bestehende Screeningprogramm gesundheitswissenschaftlich evaluiert werden, um mögliche Defizite in der Performance aufzudecken und aufzuzeigen. Dazu sind folgende Untersuchungsziele zu verfolgen:

1. Bestimmung der Seroprävalenz bei Schwangeren
2. Bestimmung der Inzidenz maternaler Infektionen
3. Bestimmung von zeitlichen (saisonale Trends) und räumlichen (Landbevölkerung – Stadtbevölkerung) Unterschieden in der Verteilung von maternalen Infektionen
4. Ermittlung von Einschränkungen und Störfaktoren in dem retrospektiv zu analysierenden Datenmaterial und Versuch, diese durch besondere Analysemethoden bestmöglich auszugleichen
5. Ermittlung von Schwächen in dem Screeningprogramm auf der Grundlage der epidemiologischen Untersuchungen
6. Kritische Diskussion der ermittelten Schwächen und konstruktive Vorschläge zur Vermeidung derselben

3. Material und Methoden

a) Untersuchungsmaterial

In dem österreichischen Bundesland Oberösterreich gibt es seit vielen Jahren die vorteilhafte Situation, daß alle Toxoplasmoseuntersuchungen während der Schwangerschaft im Rahmen der Mutter-Kind-Pass-Untersuchungen für die größte gesetzliche Krankenkasse zentral von einem einzigen Labor durchgeführt werden: Die Oberösterreichische Gebietskrankenkasse (OÖGKK) vergütet nur der analyse BioLab GmbH, vormals (2002 – 2006) Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene Linz der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) bzw. vor 2002 Bundesstaatlich bakteriologisch-serologische Untersuchungsanstalt Linz (BBSUA), im folgenden Studienlabor genannt, diese Untersuchungen.

Der Verfasser hatte als Leiter des Studienlabors (Abteilungsleiter Serologie der analyse BioLab GmbH von 01.01.2007 – 31.03.2009) elektronisch Zugang zu den Untersuchungsergebnissen der Toxoplasmosediagnostik des Studienlabors. Daher wurden für den Zeitraum 01.01.2000 bis 31.12.2007 (bzw. 01.01.2000 – 31.12.2005 für die Analyse saisonaler Trends, die früher angefertigt wurde) Schwangere in den Studiendatensatz aufgenommen, deren letzte Toxoplasmosenvorsorgeuntersuchung in der Schwangerschaft in diesen Zeitraum fällt. War eine Frau in diesem Zeitraum mehrmals schwanger, so wurde die letzte Schwangerschaft berücksichtigt. Da Angaben zur Schwangerschaft bzw. zur Schwangerschaftswoche dem Studienlabor nur sehr lückenhaft mitgeteilt und nicht elektronisch erfaßt worden sind, wurde angenommen, daß Untersuchungen innerhalb eines Zeitfensters von 200 Tagen der gleichen Schwangerschaft zuzuordnen sind. Die Analysen wurden unter Annahme eines Zeitfensters von 300 Tagen wiederholt, um störende Auswirkungen dieser Annahme kontrollieren zu können.

Die offiziell für Österreich gültigen Empfehlungen sehen eine Testung auf Toxoplasmosis dreimal in der Schwangerschaft vor: Vor der 16. SSW (Schwangerschaftswoche) sowie im 5. und im 8. Schwangerschaftsmonat [3]. Später (2005) haben sich österreichische Toxoplasmosis-Experten nachdrücklich für deutlich kürzere, achtwöchige Screeningintervalle ausgesprochen [31].

b) Labormethodik

Toxoplasma-spezifische Gesamtantikörper (umfaßt IgG, IgM, IgA, IgD, IgE) wurden mittels indirektem Immunfluoreszenztest (IIFT) untersucht. Zur Bestimmung *Toxoplasma*-spezifischer Immunglobuline M (IgM) und der Avidität von Immunglobulin G (IgG) wurden Enzymimmunoassays eingesetzt. Erregerbeschichtete IIFT-Objektträger wurden bis Oktober 2004 von der Abteilung Medizinische Parasitologie des Klinischen Instituts für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Universität Wien erworben. Ansonsten wurden alle Tests (und ab Oktober 2004 ein IIFT-Testkit bzw. davor erforderliche Reagentien wie z. B. das Konjugat) als kommerzielle Produkte von der Firma bioMérieux, Marcy-l'Etoile (Frankreich), bezogen.

Der IIFT wurde ab einem Titer von 1:16 und der IgM-Test ab einem testspezifischen Signal von $> 0,65$ als positiv gewertet. Die IgG-Avidität wurde ab einem Anteil von $< 0,2$ (bzw. $< 20\%$) als niedrig gewertet.

Infektionsverdacht war bei einem positiven IIFT, positivem IgM und einer niedrigen Avidität gegeben. Die Infektion galt als gesichert, wenn zusätzlich zu den genannten Kriterien anhand von Vor- oder Verlaufsuntersuchungen eine Serokonversion oder ein vierfacher IIFT-Titeranstieg beobachtet werden konnte. An dieser Stelle sei bereits betont, daß viele Verdachtsdiagnosen nicht gesichert oder verworfen werden konnten, weil Voruntersuchungen bei positivem Ersttest zu Beginn einer Schwangerschaft naturgemäß nicht verfügbar waren und im übrigen auch Verlaufsuntersuchungen nicht selten fehlten.

c) Datenbearbeitung und Datenschutz

Die Daten wurden elektronisch dem Laborinformationssystem BasuLab (Berger Analysen und Informationstechnik GmbH, Puchenau, Österreich) entnommen und mit STATA Version 8.2 (Statacorp, College Station, TX, USA) ausgewertet.

In Übereinstimmung mit dem österreichischen Datenschutzgesetz 2000 (§ 46 (1) 2 und § 46 (5)) wurden alle personenbezogenen Daten vor der Analyse anonymisiert. Den Anonymisierungsvorgang konnte der Verfasser rechtskonform umsetzen, weil er dem Gesetz nach als Laborleiter mit der personenbezogenen Dokumentation der Untersuchungsergebnisse umgehen durfte. So verblieben in dem Datensatz je Person (naturgemäß nur Frauen) eine eindeutige Identifikationsnummer, das Alter in Kalenderjahren und die NUTS-3-Region [32] des Wohnorts (AT311 „Innviertel“, AT312 „Linz-Wels“, AT313 „Mühlviertel“, AT314 „Steyr-Kirchdorf“ und AT315 „Traunviertel“), sowie eine weitere Variabel, die den Wohnort den drei Großstädten Oberösterreichs Linz, Wels oder Steyr oder nicht diesen Städten zuordnet.

Die Studie wurde von der Ethikkommission des Krankenhauses der Elisabethinen Linz insofern geprüft, daß die Notwendigkeit eines Votums einer Ethikkommission als nicht erforderlich bescheinigt wurde (Exemption vom 30.11.2010, EK-Nr. 465).

d) Statistische Analyse

Vorab wurde anhand von Daten für die Kalenderjahre 2000 bis 2005 eine Untersuchung zur speziellen Fragestellung der saisonalen Verteilung von Toxoplasma-Infektionen bei Schwangeren durchgeführt. Anhand einer lokal gewichteten Regression wurden Änderungen in der wöchentlichen Inzidenz von labordiagnostisch nachgewiesenen Infektionen (Verdachtsfälle

und gesicherte Fälle) über die Zeit dargestellt und der Trend im Jahresverlauf untersucht. Da sich die Gesamtanzahl der Untersuchungen im Studienzeitraum nicht verändert hat, wurde eine Poissonverteilung angenommen. Die Trendanalyse wurde mit dem R-library gam [33] durchgeführt.

Die Ermittlung der Inzidenz wurde anhand von Daten für die Kalenderjahre 2000 bis 2007 durchgeführt. Da das Screeningprogramm in der Praxis empfindliche Lücken aufwies, weil viele Folgeuntersuchungen in der Schwangerschaft versäumt wurden, mußte die Inzidenz geschätzt werden, um Untererfassung durch das unvollständige Screening auszugleichen. Dazu wurden eine indirekte und eine direkte Methode parallel mit Hilfe von STATA eingesetzt:

Anhand eines binomialen Regressionsmodells wurde der Anstieg der Seroprävalenz in Abhängigkeit von Lebensjahren geschätzt, um diesen Anstieg auf eine Schwangerschaftsdauer von durchschnittlich 268 Tagen umzurechnen. Es wurde angenommen, daß diese Veränderungen in der Seroprävalenz je nach Lebensalter das Auftreten neuer Infektionen widerspiegelt (indirekte Methode) [34]. Diese Methode ist robust gegenüber labor diagnostische Irrtümer, weil die Seroprävalenz sicherer nachgewiesen werden kann als das vergleichsweise seltene Ereignis einer rezenter Infektion, das gelegentlich sogar Referenzlabore vor diagnostische Schwierigkeiten stellt.

Ferner wurde die Inzidenz von Toxoplasma-Infektionen in der Schwangerschaft von seronegativen Frauen mittels Intervall-zensierter Regression (direkte Methode) geschätzt [35]. Dieser Zugang stützt sich auf die Information, daß beim erstmaligen Auftreten eines positiven Tests in einer Folgeuntersuchung in der gleichen Schwangerschaft eine Infektion in dem Zeitintervall bis zum letzten vorangegangenen seronegativen Befund stattgefunden haben muß. Diese Schätzung wurde ebenfalls auf einen Zeitraum von 268 Tagen umgerechnet. Um die Inzidenz für alle schwangeren Frauen einschließlich der seropositiven angeben zu können, wurde das Ergebnis mit $1 - \text{Anteil der seropositiven Frauen}$ multipliziert. In die Analyse wurden nur solche Fälle einbezogen, bei denen die letzte seronegative Untersuchung noch in die gleiche Schwangerschaft fällt und wo positives IgM und niedrige Avidität gegen Pseudokonversionen durch Ungenauigkeiten im IIFT sprechen. Innerhalb einer Schwangerschaft folgten die Screeningtests in einem Abstand von etwa drei bis vier Monaten aufeinander, und das ist zugleich der Zeitraum, in dem nach akuter Infektion IgM zuverlässig positiv und die Avidität niedrig bleiben [24].

4. Zusammenstellung der vorliegenden Veröffentlichungen

Die retrospektive epidemiologische Analyse und kritische Diskussion des im Kapitel Material und Methoden beschriebenen Datenmaterials bildet die Grundlage der vorliegenden vier Publikationen:

1. Sagel U, Mikolajczyk RT, Krämer A
Seasonal trends in acute toxoplasmosis in pregnancy in the federal state of Upper Austria
Clin Microbiol Infect 2010;16:515-7
Impact factor: 4,578
2. Sagel U, Krämer A, Mikolajczyk RT
Incidence of maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy in Upper Austria, 2000 – 2007
BMC Infect Dis 2011;11:348
(online verfügbar unter: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/11/348>)
Impact factor: 3,025
3. Sagel U, Krämer A, Mikolajczyk RT
„Blind periods“ in screening for toxoplasmosis in pregnancy in Austria – a debate
BMC Infect Dis 2012;12:118
(online verfügbar unter: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/12/118>)
Impact factor: 3,025
4. Sagel U, Krämer A
Screening of maternal Toxoplasmosis in Pregnancy: Laboratory Diagnostics in the view of Public Health Requirements
J Bacteriol Parasitol 2013;S5-003
(online verfügbar unter: <http://www.omicsonline.org/2155-9597/2155-9597-S5-003.php?aid=11228>)

Der erste Beitrag widmet sich der Beobachtung einer saisonalen Häufung von *Toxoplasma*-Infektionen in der Schwangerschaft im Herbst, die Hinweise auf noch nicht ausreichend be-

kannte und verstandene Risikofaktoren für gibt. Im zweiten Beitrag wird die Inzidenz mütterlicher Erstinfektionen in der Schwangerschaft im Bundesland Oberösterreich mit biostatistischen Methoden geschätzt, weil die Daten aufgrund von Versäumnissen bei der Durchführung des Screenings empfindliche Lücken aufweisen. Trotz der methodischen Einschränkungen liegt hier eine der weltweit genauesten Untersuchungen zur Häufigkeit von Toxoplasmoseinfektionen in der Schwangerschaft in einer größeren Region vor. Im dritten Beitrag werden diese Lücken („blinde Zeiträume“) eingehender diskutiert. Denn wichtiger als die vergleichsweise unscharfen Schätzungen an sich ist die Erkenntnis, daß für das Screeningprogramm in Österreich und auch anderen Ländern wesentliches Verbesserungspotential besteht. Schließlich werden das Toxoplasmosecreening aus gesundheitswissenschaftlicher Sicht unter Berücksichtigung weiterer zu beobachtender Einschränkungen und Schwächen beleuchtet. Es werden konstruktive Empfehlungen für gesundheitspolitische Entscheidungsträger erarbeitet.

Die vorliegende Dissertation reflektiert kritisch die weltweit erste bevölkerungsweite, schon 1975 etablierte Toxoplasmosevorsorge in Österreich. Sie beschreibt ein Screeningprogramm, das nicht nur in Österreich medizinisch kompetent und engagiert implementiert ist, das aber aus gesundheitswissenschaftlicher Sicht nachlässig betrieben wird und infolge dessen an erheblichen Einschränkungen leidet. Viele der zu schützenden Kinder werden vom Screening nicht erreicht und mangelhafte Daten können dazu führen, daß das vermutlich effiziente Programm [13, 14] sozusagen aus Mangel an Beweisen gesundheitspolitisch nicht mehr zu halten ist und weitgehend eingestellt wird. Die Dissertation ergibt auch allgemeingültige Hinweise zu praktischen Problemen für das infektionsserologische Screening einer Schwangerschaftsassozierten Infektionskrankheit.

5. Ergebnisse

a) Untersuchung von saisonalen Trends von durch Screening erfaßten Infektionen

In den Kalenderjahren 2000 – 2005 wurden 191 Fälle von Verdacht auf Toxoplasma-Infektion nachgewiesen. Davon konnten 51 Fälle als gesichert angenommen werden, darunter 45 Fälle aufgrund einer Serokonversion. Es zeigten sich je nach Jahreszeit deutliche Schwankungen im Auftreten von Verdachtsfällen mit einer höheren Inzidenz in den Wintermonaten (Abb. 1 und 2). Die Trendanalyse ergab eine mehr als doppelt so hohe Inzidenz im Winter im Vergleich zum Sommer (Abb. 2, p-Wert < 0,05 im likelihood ratio test). Dieser saisonale Trend war in verschiedenen Jahren unterschiedlich stark ausgeprägt (Abb. 1). Die Ergebnisse

blieben gleich, als die Analyse auf gesicherte Fälle eingeschränkt wiederholt wurde. In Fällen mit Nachweis einer Serokonversion betrug im arithmetischen Mittel die Dauer zwischen dem letzten seronegativen und dem ersten seropositiven Befund 102 Tage (Spannweite: 30 – 181 Tage).

b) Anteil des Datenmaterials an allen Schwangerschaften im Bundesland Oberösterreich

Vom 01.01.2000 bis 30.06.2008 standen seitens des Studienlabors die Ergebnisse von 275.842 Untersuchungen auf Toxoplasmose von 94.679 Personen zur Verfügung. Davon wurden zur Erfüllung stringenter Kriterien für eine klar definierte Studienpopulation ausgeschlossen: 42.655 Tests von Personen, die nicht in Oberösterreich wohnhaft waren (einschließlich 533 ohne Angaben zum Wohnort), 20.404 Test von Personen, die nicht bei der Oberösterreichischen Gebietskrankenkasse versichert waren (einschließlich 605 ohne Angaben zur Krankenkasse), 1.660 Tests von nicht schwangeren Personen oder Männern (einschließlich 312 ohne diesbezügliche Angaben), 1.126 Test bei Personen im Alter von unter 15 oder über 45 Lebensjahren (einschließlich 397 ohne Angaben zum Alter), sowie 108 Tests mit unplausiblen Angaben zur Diagnose (einschließlich 43 ohne Angaben zur Diagnose).

Von den im Datensatz verbleibenden 73.612 Personen wurden weitere 10.196 Personen ausgeschlossen, bei denen im ersten Halbjahr 2008 noch Untersuchungen durchgeführt wurden. So wurde sichergestellt, daß zu allen eingeschlossenen Personen die jeweils letzte serologische Untersuchung auf Toxoplasmose während einer Schwangerschaft in den Zeitraum der Kalenderjahre 2000 bis 2007 fällt.

So umfaßt der bereinigte Datensatz 63.416 Schwangere, die im Studienzeitraum schätzungsweise 92.365 oder 90.795 Schwangerschaften (Folgeuntersuchungen innerhalb eines Zeitfensters von 200 bzw. 300 Tagen; siehe Untersuchungsmaterial im Abschnitt Material und Methoden) hatten.

Die Gesamtbevölkerung des Bundeslandes Oberösterreich belief sich im Studienzeitraum auf etwa 1,4 Millionen Einwohner und es wurden in dieser Zeit 109.327 Geburten registriert [36]. Wird die geschätzte Anzahl von 92.365 Schwangerschaften durch diese Zahl dividiert, so liegt der Schluß nahe, daß sich das Datenmaterial auf mindestens 84,5 % aller Lebendgeburten in Oberösterreich bezieht.

c) Seroprävalenz der Toxoplasmose bei Schwangeren

Die Seroprävalenz zeigte eine lineare Altersabhängigkeit (Abb. 3, p-Wert für Trend: $< 0,05$). Wird die jeweils erste Toxoplasmoseuntersuchung pro Frau im Datensatz herangezogen, so ergibt sich bei einem Altersmedian von 28,3 Lebensjahren (interquartile Spannweite 24,3 – 32,2 Jahre) eine Seroprävalenz von 30,6 %. Zum Zeitpunkt der jeweils letzten Toxoplasmoseuntersuchung im Datensatz waren die Frauen im Durchschnitt 1,3 Jahre älter und die Seroprävalenz betrug 31,7 %. Die Seroprävalenz war bei Frauen mit Wohnsitz in den Großstädten Linz, Wels oder Steyr niedriger als bei Frauen, die nicht im urbanen Raum wohnten (Tab. 1, $p < 0,01$ sowohl in der ersten, als auch in der letzten Untersuchung je Frau).

d) Verdachtsfälle und gesicherte Fälle von in einer Schwangerschaft nachgewiesenen *Toxoplasma* Primoinfektionen

Die Falldefinition eines Verdachts auf Primoinfektion in der Schwangerschaft wurde von 222 Frauen erfüllt. Im Median betrug ihr Alter 27,8 Lebensjahre (Interquartilsspanne: 24,6 – 32,2 Jahre). Von diesen Fällen wurden 66 Fälle (29,7 %) als gesichert eingestuft. Tab. 1 zeigt die Verteilung dieser Fälle je nach NUTS-3 Region und die entsprechenden Inzidenzraten. Hier kommt auch die niedrigere Inzidenz von Verdachtsfällen ($p < 0,01$) in den Großstädten im Vergleich zum ländlichen Raum (einschließlich Kleinstädte) zum Ausdruck, die sich aber bei gesicherten Infektionen nur unsicher ($p = 0,18$) abzeichnet. Die jährliche Anzahl von Verdachtsfällen schwankte zwischen 16 und 41 Verdachtsfällen (im arithmetischen Mittel 26,5) und davon zwischen 5 und 12 gesicherten Fällen (im arithmetischen Mittel 8,3). Im Jahresvergleich zeichnete sich kein klarer zeitlicher Trend ab.

e) Geschätzte Inzidenz von Primoinfektionen während der Schwangerschaft

Aus dem binomialen Regressionsmodell, das indirekt aus der altersabhängigen Seroprävalenz seine Informationen bezieht, ergibt sich eine Inzidenzrate von etwa 0,5 Primoinfektionen pro 100 Schwangerschaften (Einzelheiten siehe Tab. 2). Ein sich abzeichnendes Land-Stadt-Gefälle der Inzidenzrate erreicht hier nicht das 95 % Signifikanzniveau.

Das Intervall-zensierte Regressionsmodell ergibt eine wesentlich niedrigere Schätzung von 0,17 Primoinfektionen pro 100 Schwangerschaften (95 % Konfidenzintervall 0,13 – 0,21;

Einzelheiten siehe Tab. 2). Die Ergebnisse waren praktisch unverändert, wenn für die Zuordnung der Teste zu einer Schwangerschaft ein Zeitfenster von maximal 300 Tagen statt 200 Tagen zugrunde gelegt wurde. Wie beim binomialen Regressionsmodell waren Land-Stadt-Unterschiede nicht signifikant und die Einbeziehung von Kalenderjahren in ein weiteres Modell zeigte keine signifikanten Auswirkungen.

Auf der Grundlage der Ergebnisse des Intervall-zensierten Regressionsmodell lassen sich geschätzte 152 Fälle von akuter Toxoplasmose während 92.365 Schwangerschaften im Studienzeitraum der Kalenderjahre 2000 – 2007 errechnen (95 % Konfidenzintervall: 118 – 196).

f) Abdeckung der Schwangerschaft mit Screening-Tests bei seronegativen Frauen

Im Zeitraum der Kalenderjahre 2001 – 2007 wurde die letzte Untersuchung in der letzten Schwangerschaft (definiert durch das 200 Tage Zeitfenster zwischen den Screeninguntersuchungen) bei seronegativen Frauen für die Frage herangezogen, wie oft bei diesen Frauen in dieser letzten Schwangerschaft eine Toxoplasmose-Screening-Untersuchung durchgeführt wurde. Von 38.576 Frauen wurde so ermittelt, daß bei 13,8 % eine, bei 56,5 % zwei und nur bei 29,8 % drei oder mehr serologische Untersuchungen auf *Toxoplasma*-Antikörper befundet wurden. Von 2001 bis 2007 hat sich diese Situation allerdings kontinuierlich verbessert, so daß im Jahr 2007 35 % der seronegativen Frauen mindestens dreimal pro Schwangerschaft getestet wurden.

6. Diskussion

Auf den ersten Blick wirken die Ergebnisse der epidemiologischen Untersuchung wenig spektakulär. Die Seroprävalenz ähnelt den Angaben aus anderen europäischen Ländern [30]. Anhand des umfangreichen Datenmaterials konnte eine lineare Beziehung zwischen Seroprävalenz und Lebensalter zuverlässig mit engen 95 %-Konfidenzintervallen dargestellt werden (Abb. 3), aber neu ist das Phänomen der Linearität nicht. Ebenso sind Hinweise auf höhere Infektionsraten im ländlichen Raum im Vergleich zur Großstadt nicht überraschend.

a) Jahreszeitlicher Trend

Interessanter sind die Beobachtungen zur Saisonalität, weil in einer großen europäischen multizentrischen Fall-Kontroll-Studie [37] etwa 14 – 49 % der *Toxoplasma*-Infektionen in der Schwangerschaft nicht mit bisher bekannten Risikofaktoren (insbesondere Genuß von unzureichend erhitztem Fleisch und Kontakt zu potentiell kontaminiertem Erdreich) erklärt werden konnten. Jahreszeitliche Trends könnten Hinweise auf andere, bislang unbekannte Risikofaktoren geben.

Eine Studie aus Slowenien wies bereits auf eine Zunahme Schwangerschaftsinfektionen in der kalten Jahreszeit hin [38]. Zu dem Thema gibt es aber noch andere Arbeiten, die andere jahreszeitliche Trends berichten [39 - 41]. Allerdings haben sich diese Untersuchungen entweder nicht direkt auf Schwangere bezogen oder sie haben indirekte Schlüsse auf den wahrscheinlichsten Infektionszeitpunkt in der Schwangerschaft aufgrund von Fällen postnatal diagnostizierter neurologischer oder okulärer Krankheitsfolgen gezogen. Sie sind daher, anders als die slowenische Arbeit, nicht mit den vorliegend untersuchten Daten vergleichbar.

Wie in Slowenien konnte nun auch in Oberösterreich eine zunehmende Inzidenz von in den Wintermonaten diagnostizierten Infektionen gezeigt werden. Um den Trend sachgerecht zu interpretieren, muß aber bedacht werden, daß der Zeitpunkt der Infektion dem Zeitpunkt der Diagnose in einem gewissen zeitlichen Abstand vorausgeht. Dieser Abstand ergibt sich aus den routinemäßigen Screeningintervallen, weil die Infektion im allgemeinen asymptomatisch verläuft und nicht Anlaß zu einer zeitnahen Testung gibt. Der Zeitpunkt der Infektion fällt unseren Untersuchungen zufolge in einen Zeitraum von durchschnittlich 102 Tage vor der Diagnose.

Da demzufolge Infektionen den Diagnosen zeitlich um mehrere Wochen bis hin zu einzelnen Monaten vorausgehen, sollte eher nach einem Risikofaktor mit Assoziation zum Herbst als zum Winter gesucht werden. Denkbar wäre beispielsweise der Verzehr von Gemüse und Obst aus Hobbygärten und aus ökologischem Anbau im Herbst. Die Kontamination dieser Produkte durch infizierte Katzen scheint wahrscheinlicher zu sein als bei konventioneller Erzeugung auf großflächigen Plantagen. Ferner wäre denkbar, daß Oozysten in der warmen Jahreszeit leichter bis hin zum Herbst lebens- und infektionstüchtig bleiben.

Nach der Veröffentlichung der jahreszeitlichen Trends in Oberösterreich (2010) ist noch aus Frankreich eine Studie erschienen [42], die bei ländlicher Bevölkerung über signifikant weniger Infektionen in der ersten Jahreshälfte und Häufungen gegen Ende Sommer und Ende Herbst berichtet.

b) Unzulängliche Bestimmung der Inzidenz mit deskriptiven Methoden

Erstaunlich und die zentrale Erkenntnis der vorliegenden Arbeit ist die beobachtete Schwierigkeit, anhand umfangreicher Daten, die weltweit ihres Gleichen suchen, eine genaue Bestimmung der Inzidenz vorzunehmen. Hieraus werden im Folgenden wesentliche Schwächen eines mehr als 30 Jahre lang betriebenen landesweiten Vorsorgeprogramms offensichtlich. Mehr als 90.000 Schwangerschaften aus allen sozialen Schichten in einem räumlich klar definierten Bereich wurden vom Screening erreicht. Trotzdem gelingt es nicht, die genaue Inzidenz von Primoinfektionen sicherer anzugeben als in einem Intervall von 0,1 bis 0,5 % der Schwangerschaften. Umso hoffungsloser ist das praktisch wichtige Ansinnen, in einem solchen Setting eine exakte Quantifizierung pränatal infizierter Kinder und deren etwaige Folgeerkrankungen umzusetzen.

Ursache für diese Probleme ist der Umstand, daß viele geplante Untersuchungen in dem Datensatz fehlen, weil Folgeuntersuchungen bis zur Geburt versäumt wurden. Mehr als 70 % der seronegativen Schwangeren haben trotz fehlender Immunität die vorgesehenen drei Toxoplasmose-Vorsorgeuntersuchungen nicht vollständig absolviert.

In 0,07 % der Schwangerschaften konnten anhand von Serokonversion und anderen Markern der akuten Infektion (IgM, Avidität) sichere Primoinfektionen im Datensatz beobachtet werden. Wegen vieler fehlender Folgeuntersuchungen ist mit einer erheblichen Untererfassung zu rechnen. Dazu trägt zusätzlich der Umstand bei, daß mittels Serokonversionen erst nach der Durchführung des ersten Screeningtests in der Schwangerschaft Infektionen bewiesen werden können, so daß Infektionen in der Zeit vom Beginn der Schwangerschaft (Konzeption) bis zur ersten Toxoplasmose-Vorsorgeuntersuchung nicht relativ einfach und sicher durch Nachweis einer Serokonversion bewiesen werden.

Die Infektionen in der Zeit zwischen dem Beginn der Schwangerschaft und dem ersten serologischen Test können jedoch anhand der unsicheren Marker für akute Infektionen (IgM, Avidität) als Verdachtsfälle erfaßt werden. Sofern nicht Spezialuntersuchungen in Referenzlaboren viele falsch-positive Fälle ausschließen, leidet die statistische Nutzung der Verdachtsfälle wegen der geringen Spezifität der Marker an einer erheblichen Übererfassung.

c) Schätzung der Inzidenz anhand von zwei unterschiedlichen Regressionsmodellen

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß das Datenmaterial zu lückenhaft ist, um die Inzidenz mit Methoden der deskriptiven Epidemiologie zufriedenstellend zu beschreiben.

Nowakowska und Kollegen haben 2006 [34] ein binomiales Regressionsmodell mit Daten zur Seroprävalenz von *Toxoplasma*-spezifischen Antikörpern bei polnischen Schwangeren zur Schätzung der Inzidenz akuter Infektionen eingesetzt. Die lineare Beziehung zwischen Lebensalter und Seroprävalenz (Abb. 3, [30, 34]) wurde herangezogen, um aus dem Anstieg einen indirekten Rückschluß auf das Auftreten neuer Fälle zu ziehen. Die Anwendung dieser Methode auf die oberösterreichischen Daten ergab eine Schätzung der Inzidenz auf 0,5 pro 100 Schwangerschaften).

Das Verfahren ist vergleichsweise robust gegenüber labordiagnostischen Fehlern, weil nicht das seltene und diagnostisch oft nicht leicht faßbare Ereignis einer Primoinfektion der Analyse zugrundegelegt werden muß. Hingegen sind altersspezifische Unterschiede in der Seroprävalenz einem „age cohort effect“ [43] unterworfen, wenn Infektionen in früheren Lebensjahren häufiger aufgetreten sind als aktuell, weil etwa die Exposition gegenüber dem Erreger im Laufe der Zeit abgenommen hat. Bei älteren Probanden wäre dann die Seroprävalenz überproportional hoch, weil nicht nur Neuinfektionen, sondern auch übermäßig viele Infektionen in der Jugend den hohen Anteil an seropositiven Personen ausmachen und somit letztlich zur Überschätzung der Inzidenz führen.

Tatsächlich ist mit diesem Störeinfluß zu rechnen, weil in mehreren europäischen Ländern ein allgemeiner Rückgang der Seroprävalenz von *Toxoplasma*-Infektionen berichtet wurde [22, 34, 44, 45]. Damit übereinstimmend wurde 1995/96 für Oberösterreich eine Seroprävalenz von 41 % mitgeteilt [46], die deutlich höher ist als etwa 31 % in der hier vorliegenden Untersuchung. Die Zuverlässigkeit dieser Angaben wurde zwar angezweifelt [47], aber andere Berichte aus Österreich legten einen fallenden Trend in der Seroprävalenz nicht nur bei Menschen, sondern auch bei bestimmten Tieren, die wichtige Infektionsquellen für den Menschen darstellen, nahe [48].

Weitere Einschränkungen ergeben sich aus dem Umstand, daß die Seroprävalenz überwiegend durch Infektionen außerhalb einer Schwangerschaft bestimmt ist. Das Infektionsrisiko von Schwangeren kann anders sein als bei nicht-Schwangeren, weil z. B. Schwangere eher riskante Expositionen wie Genuß von unzureichend erhitztem Fleisch oder Kontakt zu kontaminierter Erde [37] meiden.

Insgesamt ist die Schätzung der Inzidenz auf der Grundlage der altersspezifischen Seroprävalenz mit erheblichen Zweifeln belastet, so daß zusätzlich eine direkte Methode eingesetzt wurde:

Die Intervall-zensierte Regression nutzt den Nachweis von Primoinfektionen in Zeiträumen, in denen das Datenmaterial ausreichende labor diagnostische Informationen enthält. Allerdings stützt sich dieser Zugang auf das seltene Ereignis einer akuten Infektion und ist daher stärker durch Mängel in der Spezifität von Laborergebnissen beeinflusst als die indirekte Methode. Das Verfahren hängt von der genauen Unterscheidung von seronegativen und seropositiven Befunden zur Ermittlung einer Serokonversion und richtigen Ergebnissen von IgM- und Aviditätsbestimmungen ab. Der im Studienlabor eingesetzte indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) wurde hinsichtlich der Unterscheidung zwischen seronegativ und seropositiv in einer durch den Autor betreuten, unveröffentlichten Bachelorarbeit (Elke Autengruber, Linz 2008) mit Enzymimmunoassays zum Nachweis von *Toxoplasma gondii*-spezifischen IgG-Antikörpern auf zwei Analyseautomaten, nämlich ARCHITECT und dem Vorläufergerät AxSYM (beide von Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA) anhand von 1.039 Blutseren verglichen. Der IIFT wurde von zwei Untersuchern abgelesen, um subjektive Unterschiede im Ableseverhalten kontrollieren zu können. Im Vergleich von IIFT mit AxSYM als Goldstandard betragen die Sensitivität und Spezifität beim ersten Untersucher 99,7 % bzw. 97,2 % und beim zweiten Untersucher 96,8 % bzw. 99,4 % beim zweiten Untersucher. Im Vergleich von IIFT mit ARCHITECT betragen diese Werte 99,7 % bzw. 98,3 % beim ersten und 96,6 bzw. 99,2 % beim zweiten Untersucher. Zum Test auf *Toxoplasma gondii*-spezifisches IgM auf dem VIDAS-Laborautomaten der Firma bioMérieux (Anschrift s. o.) gibt der Hersteller eine Sensitivität von 96,0 % (95 % Konfidenzintervall: 91,4 – 98,2 %) und eine Spezifität von 100 % an. Zum entsprechenden VIDAS IgG-Aviditätstest berichtet der Hersteller, daß bei 100 % der Schwangeren (95 % Konfidenzintervall: 98,1 – 100,0 %) mit einer nicht mehr als vier Monate alten Primoinfektion die Avidität als niedrig bestimmt wurde.

Pseudoserokonversionen und falsch positive IgM-Teste können vielfach durch den folgenden IgG-Aviditätstest als Fehlbestimmungen ausgeschlossen werden. Falsch negative Ergebnisse, die zu einer Unterschätzung führen könnten, sind angesichts der hohen Sensitivität der eingesetzten Tests selten. Ein anderer Umstand könnte sich aber störender im Sinne einer Unterschätzung auswirken: Die Nutzung von Zeitintervallen zwischen den Screeningtests in der Schwangerschaft schließt Zeiten in der Frühschwangerschaft bis zur Durchführung des ersten

Tests aus der Analyse aus. Zu dieser Zeit ist den Frauen aber oft nicht bewußt, daß sie schwanger sind und werden daher allgemeine Empfehlungen zur Expositionsprophylaxe gegen den Toxoplasma-Erreger nicht in dem Umfang befolgen, wie das informierte Schwangere nach Kenntnis der Schwangerschaft tun. Der genannte Umstand hängt vom Anteil ungeplanter Schwangerschaften und dem Bewußtsein zur Vermeidung potentieller Infektionsquellen ab.

d) Abschließende Einschätzung der Inzidenz von Primoinfektionen

In einem klar definierten Gebiet konnte auf Daten von mehr als 84,5 % aller Schwangerschaften von Frauen aller sozialer Schichten zugegriffen werden. Zur Parität und zur Schwangerschaftswoche waren keine Informationen verfügbar, so daß schätzungsweise Zuordnungen getroffen werden mußten. Das hat auch die Zuweisung zum Studienzeitraum erschwert, weil eine Schwangerschaft selbst eine Zeitperiode darstellt. Es wurde das Datum der letzten Untersuchung pro Schwangerschaft als Einschlußkriterium in den Studienzeitraum genutzt. Die Verwendung eines großen, achtjährigen Zeitraums konnte den Anteil der Schwangerschaften, die den Beginn oder das Ende des Studienzeitraums überschneiden, niedrig halten.

Alle Zugänge zur Bestimmung der Inzidenz von Primoinfektionen im vorliegenden Studienmaterial sind wesentlichen Einschränkungen unterworfen. Wir erachten den Anteil der beobachteten sichern Fälle an allen Schwangerschaften (0,07 %), da erheblicher Untererfassung unterworfen, als Untergrenze und den Anteil der indirekt anhand der altersspezifischen Seroprävalenz geschätzten Fälle (0,5 %), da offenbar deutlich überschätzt, als Obergrenze. Das Ergebnis der Intervall-zensierten Regression (0,17 %) dürfte im geringsten Maße Störeinflüssen ausgesetzt sein und ist somit als der verlässlichste Schätzer anzusehen.

e) Das Problem der „blinden Zeitintervalle“

Angesichts des umfangreichen und auf ersten Blick vielversprechenden Datenmaterials sind die vergleichsweise großen Unschärfen bei der Ermittlung der Inzidenz ernüchternd. Die folgenden Anforderungen 1. – 8. an die Daten sind erfüllt:

1. Ein definiertes Untersuchungsgebiet
2. Ein definierter Studienzeitraum (unter Berücksichtigung des Umstands, daß eine Schwangerschaft selbst einen Zeitraum darstellt)
3. Eindeutige Personenidentifikation
4. Lebensalter bekannt (wichtig wegen der Altersabhängigkeit der Seroprävalenz!)
5. Information über ländlichen oder großstädtischen Wohnort
6. Informationen über den sozialen Status, falls dieser für die untersuchte Bevölkerung nicht annähernd repräsentativ verteilt ist
7. Standardisiertes Probensammelschema
8. Angemessene Untersuchungsmethoden für das serologische Screening
9. Bestätigungsdiagnostik durch Referenzlabor bei Fällen von Infektionsverdacht im Screening
10. Information über Schwangerschaftswoche und Parität
11. Erster Test so früh wie möglich in Schwangerschaft durchgeführt
12. Letzter Test in Schwangerschaft bei Geburt durchgeführt

Wenn von der fehlenden Information zu Schwangerschaftswoche und Parität (dazu weiter unten einige Erläuterungen) abgesehen wird, liegt der schwerwiegendste Mangel des untersuchten Datenmaterials auf der Hand:

Große Zeiträume der untersuchten Schwangerschaften wurden nicht erfaßt, weil die erste Untersuchung in einer Schwangerschaft naturgemäß mit mehrwöchiger Verzögerung nach dem Konzeptionszeitpunkt erfolgt (Anforderung 11.) und der letzte Screeningtest oft in großem zeitlichen Abstand zur Geburt (Anforderung 12.) stattgefunden hat. Auf diese Weise fehlen dem Datensatz Informationen in Zeiträumen der Früh- und der Spätschwangerschaft, für die die statistische Auswertung somit „blind“ ist („blind periods“).

„Blinde Zeiträume“ in der Frühschwangerschaft haben andere praktische Auswirkungen als diejenigen in der Spätschwangerschaft. In den ersten vier Monaten geben IgM- und Aviditätsteste dem Screeninglabor einen sensitiven, aber unspezifischen Hinweis auf eine rezente Infektion. Die Bestätigungsdiagnostik im Referenzlabor (Punkt 9.) verliert umso mehr an Be-

deutung desto besser die Anforderung 11. erfüllt ist, denn nach dem ersten seronegativen Test in der Schwangerschaft ist auch das Screeninglabor in der Lage, die Diagnose einer Primoinfektion durch Darstellung einer Serokonversion sicher zu stellen, wenn sorgfältiges Vorgehen Pseudoserokonversionen weitestgehend ausschließt. Ein erster seropositiver Test mit unspezifischen Zeichen einer akuten Infektion (IgM positiv, Avidität niedrig) ist aber umso wahrscheinlicher eher einer präkonzeptionellen Infektion zuzuordnen, umso kürzer der Zeitraum zwischen Konzeption und der Blutabnahme ist. Gleichfalls ist die komplexe Diagnostik des Referenzlabors sicherer zu interpretieren, wenn dieser Zeitraum kurz ist.

Im vorliegenden Datenmaterial sind leider keine Vermerke zur Bestätigungsdiagnostik in Referenzlaboren verfügbar. Da auch Angaben zur Schwangerschaftswoche fehlen, können „blinde Zeiträume“ in der Frühschwangerschaft nicht beschrieben werden.

„Blinde Zeiträume“ in der Spätschwangerschaft verursachen nicht nur Einschränkungen bei der Bestimmung der Inzidenz. Viel gravierender ist der Umstand, daß akute Infektionen in diesem Zeitraum unentdeckt bleiben und somit Präventivmaßnahmen in diesen Fällen versäumt werden. In Oberösterreich führen zwar einige Geburtskliniken bei der Entbindung noch ein Toxoplasmosescreening durch, aber diese Daten sind wegen der strengen Datenschutzbestimmungen für epidemiologische Untersuchungen praktisch nicht verfügbar. Außerdem kommt die Diagnose zum Zeitpunkt der Geburt für ein erfolgversprechendes medikamentöses Eingreifen wahrscheinlich zu spät.

Das Problem der „blinden Zeiträume“ in der Spätschwangerschaft ist in Oberösterreich beträchtlich: In noch nicht einmal 30 % der seronegativen Schwangeren wurden mindestens die empfohlenen drei Screeningtests auf Toxoplasmose in der Schwangerschaft [3] durchgeführt. Es liegt die Vermutung nahe, daß in den Fällen von zwei Untersuchungen diese zumeist zu den im Mutter-Kind-Pass vorgegebenen zwei Zeiten für Routine-Blutuntersuchungen, nämlich vor der 16. Schwangerschaftswoche (Erythrozytenzahl, Hämoglobin, Blutgruppe, Rhesus-Faktor und serologische Untersuchungen auf Rötelnimmunität, *Treponema pallidum* und *Toxoplasma gondii*) und zwischen der 25. bis 28. Schwangerschaftswoche (Erythrozytenzahl, Hämoglobin und serologische Untersuchung auf Hepatitis B-surface antigen und *Toxoplasma gondii*) durchgeführt wurden. Es gibt zwar noch eine unauffällige Stelle, um Ergebnisse für weitere Toxoplasmoseuntersuchungen einzutragen. Aber diese Stelle ist nicht instruktiv gestaltet, um an die im achten Schwangerschaftsmonat für seronegative Frauen empfohlene dritte Untersuchung augenfällig zu erinnern.

Das Problem der „blinden Zeiträume“ ist offenbar nicht neu: 1992 wird aus den beiden österreichischen Referenzlaboren für die Jahre 1981- 1991 berichtet [3]: „..., in 0.68 % a primary infection during pregnancy was suspected, and in 0.32 % already at the first test.“ Etwa die Hälfte der Verdachtsfälle entfällt offenbar auf das erste Schwangerschaftsdrittel, obwohl wenig Grund für die Annahme besteht, daß sich die Infektionen nicht gleichmäßig über die gesamte Schwangerschaft verteilen. Daß tatsächlich schon vielfach empfohlene Folgeuntersuchungen bei seronegativen Schwangeren versäumt wurden, läßt folgende, in deren Beitrag nicht weiter kommentierte Forderungen der Autoren annehmen: „Close observation of the recommended time-table for blood sampling and the testing criteria.“

„Blinde Zeiträume“ sind auch kein exklusiv österreichisches Problem: 2009 wurde aus einer Region im Südosten Frankreichs mitgeteilt, daß bei nur 40 % der seronegativen Schwangeren die nach dem französischen Schema vorgesehenen Toxoplasmose-Screeningtests durchgeführt wurden [49]. Den Autoren zufolge war das die erste Studie in Frankreich, die sich dem Problem der Compliance mit dem Screeningschema gewidmet hat. 2010 wurde aus Norditalien entsprechend berichtet, daß bei weniger als 35 % der seronegativen Schwangeren die fünf dort empfohlenen Screeningtests vervollständigt wurden [50].

Für die epidemiologische Untersuchungen erzeugen „blinde Zeiträume“ ein weiteres Problem: Wenngleich Infektionen mit *Toxoplasma gondii* zu jedem Zeitpunkt einer Schwangerschaft eine potentielle Gefährdung für das Kind darstellen, so hängt das Risiko einer Mutter-Kind-Übertragung des Erregers und das Risiko von Folgeschäden nach intrauteriner Infektion von der Schwangerschaftswoche ab: Zu Beginn der Schwangerschaft ist das Risiko einer Übertragung gering und das Risiko von schweren Folgeschäden am zentralen Nervensystem (oder eines Aborts) hoch. Im Verlauf der Schwangerschaft ändert sich dieses Verhältnis so, daß sich diese Risiken am Ende der Schwangerschaft umgekehrt verhalten in dem Sinne, daß Übertragungen häufig, aber bei diesen Folgeschäden selten sind und eher „nur“ die Augen betreffen [13, 51]. Wenn nun nicht nur die Inzidenz maternaler Infektionen, sondern auch das Schicksal der betroffenen Kinder untersucht werden soll, ist zu erwarten, daß überproportional viele Fälle des späten ersten Trimenons und des zweiten Trimenons in die Analyse eingehen, wenn diese Verzerrung nicht durch Stratifizierung nach dem wahrscheinlichen Infektionszeitpunkt kontrolliert wird.

f) Schwächen des österreichischen Toxoplasmosecreenings aus gesundheitswissenschaftlicher Sicht

Trotz bevölkerungsweitem Screening unter Kostenübernahme durch das Bundesgesundheitsministerium und die Krankenkassen kann die Inzidenz vieler *Toxoplasma*-Infektionen in der Schwangerschaft in Oberösterreich nur ungenau geschätzt werden und es muß davon ausgegangen werden, daß in Österreich im Laufe der Jahre zahlreiche behandlungsbedürftige Infektionen durch den Mutter-Kind-Pass nicht erfaßt worden sind. Wie konnte es soweit kommen? „The prime example of minimal available data is France, ...“ [30]. Diese Aussage trifft zweifellos auch für Österreich zu. Beide Länder haben es drei Jahrzehnte lang versäumt, ihre Screeningprogramme durch eine adäquate Surveillance zu vervollständigen bis Frankreich im Mai 2007 immerhin überhaupt eine Meldepflicht eingeführt hat [5]. Hingegen ist paradoxerweise in vielen europäischen Ländern, in denen mangels geregelter Screening mit einer extremen Untererfassung zu rechnen ist, die kongenitale Toxoplasmose meldepflichtig [5]. Weit verbreitet ist dort ein „wild screening“ [4], daß also staatliche Stellen und viele Kostenträger das Screening nicht unterstützen, während medizinische Fachgesellschaften sich nachdrücklich dafür aussprechen und die Ärzteschaft diesem Aufruf teilweise folgt.

Das schwerste Versäumnis des österreichischen Screenings ist das Problem der „blinden Zeiträume“, das es bei einer stringenten Überwachung und Steuerung des Screeningprogramms nicht in größerem Ausmaß hätte geben dürfen. Toxoplasmoseexperten, vornehmlich Ärzte und Biologen, haben zwar neben ihrer engagierten Tätigkeit in Klinik und Labor immer wieder auch statistische Zahlen zusammengestellt und auch das Problem versäumter Folgeuntersuchungen angesprochen [3]. Aber ihnen fehlte die gesundheitswissenschaftliche Expertise sowie das politische Mandat und die Infrastruktur, um eine konsequente Surveillance durchzuführen, die nicht nur Daten auswertet, sondern zeitnah die Qualität kontrolliert und Gegenmaßnahmen ergreift.

Im Gegenteil haben entsprechend den Beobachtungen des Autors die „blinden Zeiträume“ die Labore insofern belastet, als viele durch Routinelabore relativ leicht (Serokonversion) und sicher nachweisbare akute Infektionen in der Spätschwangerschaft mangels Einsendungen verpaßt wurden, während sich überproportional viele Untersuchungen auf die erste Blutprobe in der Schwangerschaft bezogen haben. Dieser haftet aber das Problem an, daß eine Serokonversion naturgemäß nicht nachgewiesen werden kann und andere Zeichen einer Primoinfektion (IgM, Avidität) unspezifisch sind, so daß eine kostspielige, zeitaufwendige und oft nicht einfach zu entscheidende Spezialdiagnostik in Referenzlaboren der einzige Weg zu einer ver-

läßlichen Diagnose sind. „Blinde Zeiträume“ zu Beginn der Schwangerschaft kurzzuhalten reduziert auch die Anzahl der Schwangeren, die durch Verdachtsdiagnosen bis zum Rücklauf des definitiven Ergebnisses aus dem Referenzlabor psychisch belastet werden. Die resultierenden Ängste werden durchaus als erheblich eingeschätzt [52, 53].

Eine weitere Schwäche des österreichischen Screenings sind die empfohlenen Screeningintervalle. Traditionell wurden nur je eine Untersuchung pro Trimester und somit nur insgesamt drei pro Schwangerschaft allgemein empfohlen [3]. wengleich in neuerer Zeit kurze Screeningintervalle von etwa acht Wochen von österreichischen Experten eingefordert wurden [27, 31]. Denn eine große europäische Multicenter-Studie ergab einen knappen Hinweis, daß das Einleiten einer Behandlung innerhalb von drei Wochen nach Serokonversion die Rate der materno-fötalen Übertragung von *Toxoplasma gondii* im Vergleich zu einem späten Behandlungsbeginn (nach acht Wochen) reduzieren kann (OR: 0,48; p-Wert: 0,05) [8]. Diese Einschätzung wird auch von einer neueren Arbeit geteilt [14]. Wenn nun aber österreichische Frauenärzte schon mit drei Untersuchungen pro Schwangerschaft ihre Not haben, so ist die Praktikabilität kurzer Screeningintervalle kritisch zu diskutieren.

Nachdem Toxoplasmose-Vorsorgeuntersuchungen in der Schwangerschaft in vielen Ländern unter Druck geraten sind, befaßt sich auch das österreichische Gesundheitsministerium zur Zeit mit der Frage, sich hier zurückzuziehen (persönliche Mitteilung von Prof. Dr. Herbert Auer, Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin der Medizinischen Universität Wien). Dabei wäre Österreich weltweit nebst Frankreich eines der beiden Länder mit dem größten Potential, durch Verbesserung des Jahrzehnte-alten Screeningprogramms brennende offene Fragen zur Epidemiologie der kongenitalen Toxoplasmose und deren effiziente Vorbeugung und Behandlung zu klären. In Frankreich wird das Thema mit zuversichtlich stimmenden Ergebnissen weiter untersucht [13]. Da die epidemiologische Lage regional beträchtlich variieren kann [30], werden Beiträge aus anderen Ländern erforderlich sein, um die international vorherrschende, pessimistische Meinung ändern zu können.

Es bedarf nach Einschätzung des Autors in erster Linie eines klaren gesundheitspolitischen Willens und einer zentralen epidemiologischen Einheit, die unter Lösung melde- und datenschutzrechtlicher Probleme Zugriff auf Daten aller österreichischen Screeninglabore nehmen kann und bei Verdachtsfällen ein Follow-up bis hin zu relevanten Daten der kinderärztlichen Betreuung im Vorschulalter durchführen kann. Das Bundesgesundheitsministerium setzt für die epidemiologische Überwachung vieler zoonotischer Infektionskrankheiten, aber bemerkenswerterweise nicht der Toxoplasmose, das Kompetenzzentrum Infektionsepidemiologie

der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES, s. www.ages.at) ein. Eine geeignete Einrichtung mit epidemiologischer Expertise stünde also durchaus zur Verfügung.

Es sollte auch ein einziges Referenzlabor für die Bestätigungsdiagnostik und als Ansprechpartner für die Qualitätskontrolle serologischer Screeningdiagnostik in Routinelaboren eingesetzt werden. Bislang nehmen zwei Einrichtungen der Medizinischen Universität Wien, das Toxoplasma-Labor der Abteilung für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin an der Universitätskinderklinik und die Abteilung für Medizinische Parasitologie am Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin, diese Aufgaben langjährig wahr. Ferner sollten nur solche Labore am Screening teilnehmen dürfen, die vom Referenzlabor vorgegebene Testmethoden und diagnostische Algorithmen einsetzen, das erste Serum einer Schwangerschaft ein Jahr lang einfrieren und der zentralen epidemiologischen Einheit anonymisierte Daten in elektronischer Form zukommen lassen. Weitere Hinweise zur medizinischen Labordiagnostik sind in der Veröffentlichung von 2013 enthalten.

In Tabelle 3 sind Vorschläge zur Verbesserung des österreichischen Screeningsprogramms zusammengestellt. Sie ergeben sich sowohl aus den hier vorgestellten Untersuchungen als auch aus der persönlichen Erfahrung des Autors in der Leitung einer Laboreinheit für das Toxoplasmosescreening in Österreich. Wengleich es beim Screening zunächst um die Aufdeckung maternaler Infektionen in der Schwangerschaft geht, diese die Voraussetzung für alle folgenden Bemühungen darstellt und deshalb Untersuchungsziel der hier vorliegenden Arbeit ist, darf das eigentliche Ziel der Vermeidung kongenitaler Toxoplasmose mit Folgeschäden bei Kindern nicht aus dem Auge verloren werden. Leider fehlen bisher umfassendere epidemiologische Veröffentlichungen aus den österreichischen Referenzlaboren zu dieser Thematik.

Offensiv sollte in Österreich das Problem der „blinden Zeiträume“ angegangen werden. Enge Zusammenarbeit mit den Einsendern und elektronische Reminder-Systeme könnten eine mögliche Lösung sein.

Die international am meisten umstrittene Frage der Toxoplasmosevorsorge ist aber derzeit, ob eine präventive Behandlung von maternalen Infektionen die kongenitale Toxoplasmose mit Folgeschäden signifikant reduzieren kann. Neue Therapiestudien werden gefordert und G. Chêne und R. Thiebaut haben geschätzt, daß circa 260 – 350 akute Infektionen je Studienarm aus z. B. dem zweiten und dritten Schwangerschaftstrimenon benötigt werden, um den präna-

talen Einsatz von Pyrimethamin-Sulfadiazin mit Spiramycin vergleichen zu können [54]. Der weniger anspruchsvolle, zusätzliche Vorschlag einer Placebo-kontrollierten Fall-Kontroll-Studie sollte aus ethischen Erwägungen Zweifel an der Durchführbarkeit aufkommen lassen.

Aus dem Bundesstaat Oberösterreich, der 1,4 Millionen Einwohner bzw. ein Sechstel der österreichischen Bevölkerung umfaßt [36], können in Ableitung von den hier vorliegenden Schätzungen etwa 118 – 196 Fälle innerhalb eines Zeitraums von acht Jahren erwartet werden, die für eine Therapiestudie in Betracht kämen, sofern sich die Inzidenz nicht ändert und alle Infektionen durch das Screening erfaßt werden. In diesem Falle müßten auch der Mangel an Information über Schwangerschaftswoche und Parität behoben und enge Screeningintervalle eingeführt werden, weil aufgrund der bereits angesprochenen Unterschiede in der Risikoverteilung je nach Zeitpunkt in der Schwangerschaft stratifizierte Subanalysen erforderlich sind. Aus dem Genannten ist ersichtlich, daß Österreich nach Optimierung seines Screeningprogramms erhebliche Beiträge zu einer Therapiestudie leisten könnte.

7. Fazit

Laborgestützte Früherkennung und präventive Therapie zur Bekämpfung kongenitaler Toxoplasmoseerkrankungen schien jahrelang ein erfolgsversprechender Weg zu sein, um vielen Kindern das Schicksal schwerer Folgeschäden zu ersparen. Wenngleich nur in Frankreich und Österreich schon seit Ende der 70er Jahre flächendeckend etabliert, haben sich doch zahlreiche Ärzte und Mikrobiologen in aller Welt in ihren Ländern für dieses Vorsorgekonzept starkgemacht. Etwa drei Jahrzehnte später nutzen die widerstrebenden Kostenträger in vielen Ländern eine unschlüssige Studienlage, um sich aus dem Toxoplasmosescreening in der Schwangerschaft weitgehend zu verabschieden. Denn großangelegte multizentrische europäische Studien konnten anhand von mangelhaftem Datenmaterial die Effektivität der präventiven Therapie nicht auf dem 95 % Signifikanzniveau beweisen.

Es ist zu befürchten, daß auch Österreich und Frankreich in nächster Zeit diesem Trend zum Opfer fallen. Das würde wahrscheinlich bedeuten, daß trotz überzeugender kleinerer Studien die kritische Frage der Effektivität der präventiven Therapie auf Dauer nicht mehr an einem großen Kollektiv untersucht werden kann. Für die Zukunft bleibt dann die bedrückende Frage ungeklärt, ob tatsächlich für viele Kinder mangels wissenschaftlicher Klärung dauerhaft und weltweit die Chance verpasst wird, Folgeschäden durch kongenitaler Toxoplasmose durch ein Vorsorgeprogramm effektiv zu vermeiden.

An der vorliegenden Dissertation ist erkennbar, wie mangelhaft unsere epidemiologischen Kenntnisse sogar in den wenigen Ländern mit bevölkerungsweitem Screening sind. Auch in Österreich ist sogar die genaue Zahl der maternalen Infektionen nicht bekannt und schon gar nicht die Anzahl der Kinder, die - behandelt oder unbehandelt - vorgeburtlich mit dem Erreger in Kontakt gekommen sind, geschweige denn das Ausmaß der daraus resultierenden Folgeschäden.

Immerhin wurde hier jetzt dem Mangel teilweise Abhilfe geschafft, zumindest diesen lückenhaften Daten so viel verwertbare Information wie möglich zu entnehmen. Es gibt nun erstmals in Österreich methodisch solide quantitative Schätzungen zur Häufigkeit maternaler Infektionen einschließlich orientierenden Zahlen zum Land-Stadt-Gefälle und zu jahreszeitlichen Trends, die auf besondere Risikofaktoren hinweisen. Weltweit können sich diese Zahlen trotz aller Einschränkungen sehen lassen, weil aus anderen Ländern auch keine besseren Daten zu erwarten sind [30, 49, 50].

Der eigentliche Grund für die Misere ist der Umstand, daß das Vorsorgekonzept gesundheitswissenschaftlich und epidemiologisch Jahrzehntlang praktisch sich selbst überlassen wurde – und zwar weltweit: Schon der Begriff „wild screening“ [4], der auf viele Industrieländer anzuwenden ist, stellt ein gesundheitspolitisches Armutszeugnis dar. Wissenschaftlich engagierte Mediziner und Biologen konnten dieses Defizit mangels spezifischer Qualifikation und gesundheitspolitischer Gestaltungsmöglichkeiten nicht ausgleichen.

Für Entscheidungsträger des öffentlichen Gesundheitswesens in Österreich werden konstruktive Vorschläge vorgelegt, um die Performance der Toxoplasmosevorsorge entscheidend zu verbessern und die Grundlage für schlüssige epidemiologische Studien zu schaffen. Die Empfehlungen fußen auf den Erfahrungen des Verfassers mit dem Datenmaterial aus dem Bundesland Oberösterreich einerseits in der praktischen Durchführung der Diagnostik als Laborbereichsleiter, in der epidemiologischen Auswertung der verfügbaren Informationen und in der Aufarbeitung von Mängeln des Screeningsprogramms aus gesundheitswissenschaftlicher Sicht.

Die nächsten Jahre werden zeigen, ob die Toxoplasmosefrüherkennung in der Schwangerschaft international noch eine Zukunft hat. Österreich kann bei entsprechendem gesundheitspolitischem Willen in diesem Prozeß eine wesentliche Rolle spielen, jahrzehntelange Versäumnisse noch ausgleichen und dazu beitragen, daß die Frage nach der Effektivität der Toxoplasmosevorsorge nicht allein „aus Mangel an Beweisen“ entschieden wird.

8. Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Seroprävalenz und beobachtete Primoinfektionen (Verdacht und bestätigte) je nach Region

Region ¹⁾	Prävalenz (erste U.) ²⁾	Prävalenz (letzte U.) ³⁾	Verdachtsinfektion ⁴⁾	Inzidenz Verdacht ⁵⁾	sichere Infektion ⁶⁾	Inzidenz sicher ⁷⁾	Schw. ⁸⁾	Einw. ⁹⁾
AT311	36,5	37,4	37	0,31	10	0,08	12.043	274.797
AT312	27,8	28,7	73	0,18	24	0,06	39.841	543.661
AT313	34,7	36,7	38	0,26	14	0,10	14.343	204.140
AT314	29,9	31,4	35	0,31	6	0,05	11.180	153.501
AT315	29,7	30,8	39	0,26	12	0,08	14.958	229.575
Stadt ¹⁰⁾	26,7	27,5	39	0,17	12	0,05	23.368	286.496
Land ¹¹⁾	32,0	33,2	183	0,27	54	0,08	68.997	1.119.178
Gesamt	30,6	31,7	222	0,24	66	0,07	92.365	1.405.674

¹⁾NUTS-3 Regionen [32] und die drei größten Städte Oberösterreichs

²⁾Seroprävalenz in Prozent zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung

³⁾Seroprävalenz in Prozent zum Zeitpunkt der letzten Untersuchung

⁴⁾Anzahl der Verdachtsfälle an Primoinfektion

⁵⁾wie 4), pro 100 Schwangerschaften („200 Tage Zeitfenster“)

⁶⁾Anzahl der gesicherten Primoinfektionen

⁷⁾wie 6), pro 100 Schwangerschaften („200 Tage Zeitfenster“)

⁸⁾geschätzte Anzahl an Schwangerschaften („200 Tage Zeitfenster“) in der Studienpopulation

⁹⁾Anzahl der Einwohner in Oberösterreich am 01.01.2007 [36]

¹⁰⁾d. h. Linz, Wels, Steyr

¹¹⁾Oberösterreich ohne die größeren Städte Linz, Wels, Steyr

Tabelle 2: Geschätzte Inzidenz an *Toxoplasma* Infektionen in der Schwangerschaft (pro 100 Schwangerschaften), 95 % Konfidenzintervall in Klammern, unterschiedliche Modellrechnungen in jeder Zeile

Region/Jahr ¹⁾	Indirekte Schätzung (Binomiale Regression)		Direkte Schätzung (Intervall-zensierte Regression)	
	Inzidenz (erste Untersuchung) ²⁾	Inzidenz (letzte Untersuchung) ²⁾	Inzidenz ²⁾	Inzidenz bei seronegativen Frauen ²⁾
AT311	0,50 (0,37-0,63)	0,48 (0,35-0,62)	0,14 (0,07-0,30)	0,22 (0,11-0,47)
AT312	0,49 (0,43-0,56)	0,48 (0,41-0,55)	0,12 (0,08-0,19)	0,17 (0,11-0,27)
AT313	0,54 (0,41-0,68)	0,49 (0,35-0,63)	0,30 (0,18-0,47)	0,45 (0,28-0,73)
AT314	0,44 (0,31-0,58)	0,44 (0,31-0,58)	0,15 (0,07-0,32)	0,22 (0,10-0,46)
AT315	0,58 (0,47-0,70)	0,51 (0,39-0,63)	0,17 (0,10-0,31)	0,25 (0,14-0,45)
Stadt ³⁾	0,46 (0,37-0,55)	0,43 (0,34-0,52)	0,12 (0,07-0,22)	0,17 (0,09-0,30)
Land ⁴⁾	0,52 (0,46-0,57)	0,49 (0,43-0,55)	0,18 (0,14-0,24)	0,26 (0,20-0,35)
Gesamt	0,50 (0,46-0,55)	0,48 (0,43-0,52)	0,17 (0,13-0,21)	0,24 (0,18-0,31)

¹⁾ NUTS-3 Regionen [32] und die drei größten Städte Oberösterreichs

²⁾ Inzidenz wurde pro Schwangerschaft errechnet, d. h. pro 268-Tage-Zeitintervall

³⁾ d. h. Linz, Wels, Steyr

⁴⁾ Oberösterreich ohne die größeren Städte Linz, Wels, Steyr

Tabelle 3: Praktische Empfehlungen für gesundheitspolitische Entscheidungsträger

1. Einrichtung einer zentralen epidemiologischen Einheit,
 - a. um über die Seroprävalenz und maternale Primoinfektionen zu berichten
 - b. um über kongenitale Infektionen bei Kindern zu berichten
 - c. um über Therapie und das Langzeit-Outcome bei kongenitalen Infektionen zu berichten
 - d. um die Einhaltung des Screening-Schemas zu überwachen („blinde Zeiträume“?)
2. Gesetzliche Meldepflicht für alle relevante Daten einführen, die von Screeninglaboren der zentralen epidemiologischen Einheit zu übermitteln sind *)
3. Ernennung bzw. Einrichtung eines einzigen Referenzlabors
4. Exklusive Ernennung von Toxoplasmose-Screeninglaboren,
 - a. die adäquate Datensätze elektronisch übermitteln können
 - b. die adäquate Tests durchführen
 - c. die sich einer Qualitätskontrolle durch das Referenzlabor unterziehen
 - d. die mit einem elektronischen Reminder-System ausgestattet sind, um die Einhaltung des Screening-Schemas durch die Einsender einzufordern
 - e. die mit der Möglichkeit zum Einfrieren von Erstseren in der Schwangerschaft für mindestens 12 Monate ausgestattet sind **)
5. Einbeziehung von Geburtskliniken (letzter Screeningtest bei Geburt!) in das Screeningprogramm
6. Enger Kontakt zu den Frauenärzten, die Schwangerschaftsvorsorge betreiben und deren Standesvertreter, um die Einhaltung des Screening-Schemas zu gewährleisten
7. Entscheidung über kürzestmögliche, machbare und leistbare Screeningintervalle

*) oder von schwangeren Frauen, die am kostenlosen Vorsorgetest teilnehmen wollen, Einverständiserklärung obligat einfordern, um Konflikte mit dem Datenschutzrecht zu vermeiden

***) ebenfalls hilfreich für die Bestätigungsdiagnostik bei Verdacht auf andere Infektionserreger wie Rötelnvirus, Zytomegalievirus oder *Treponema pallidum*

Abb. 1: Wöchentliche Inzidenz von Verdachtsfällen akuter Toxoplasma-Infektionen im Studienzeitraum (gepunktete Linien zeigen 95 % Konfidenzintervall an, X-Achse zeigt die Kalenderwochen, wobei die Zahlen den Beginn des jeweiligen Kalenderjahrs anzeigen)

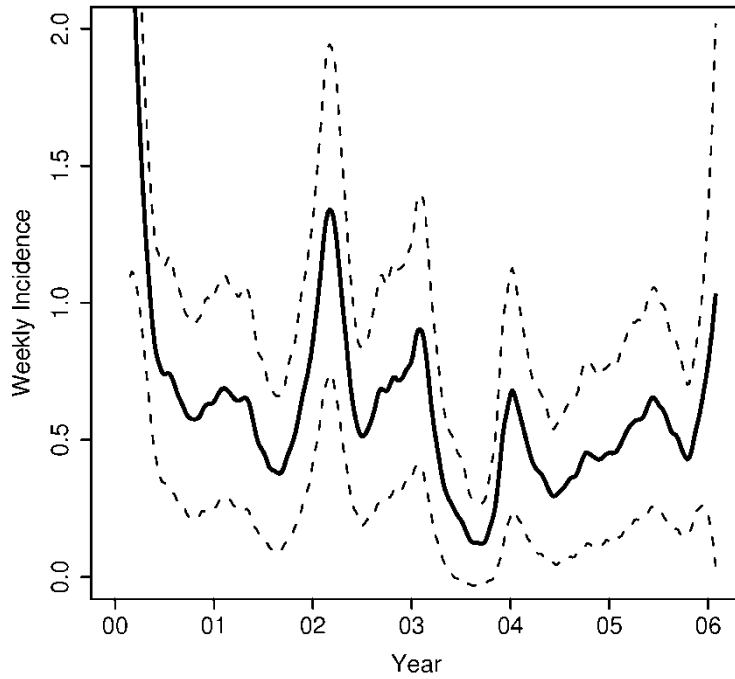


Abb. 2: Jahreszeitliche Trends in der Inzidenz von Verdachtsfällen von akuten Toxoplasma-Infektionen (gepunktete Linien zeigen 95 % Konfidenzintervall an, x-Achse zeigt die Kalenderwochen, wobei die Abkürzungen den Beginn des jeweiligen Kalendermonats angeben)

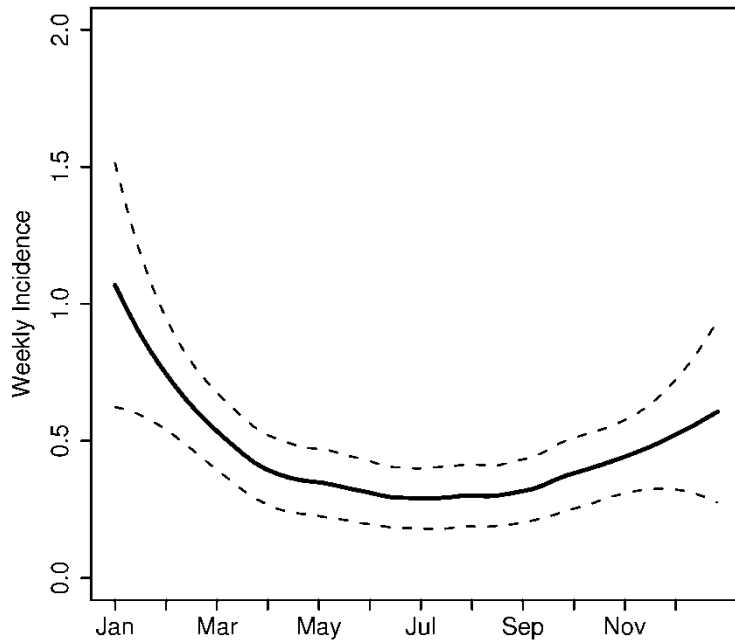
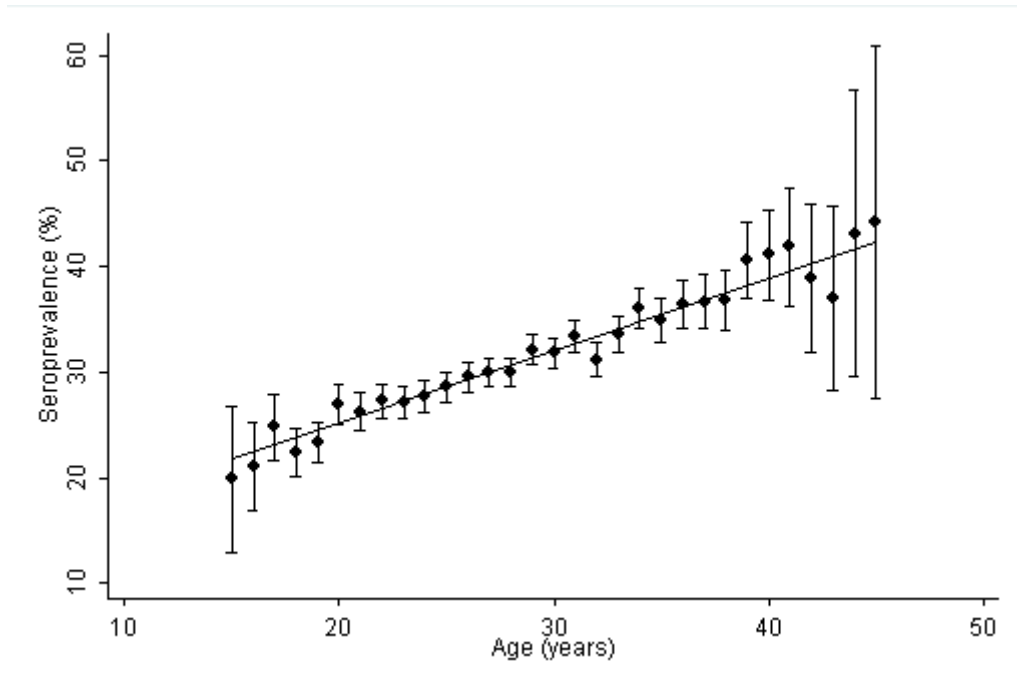


Abb. 3: Seroprävalenz von *Toxoplasma*-Infektionen in Abhängigkeit vom Lebensalter in Jahren zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung innerhalb des Studienzeitraums. Die Trendlinie ist nach der zugrundeliegenden Anzahl an Beobachtungen gewichtet worden. Vertikale Linien zeigen 95 % Konfidenzintervalle an.



9. Literatur

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G (2006) Toxoplasmosis. In: Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant. Edited by Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ. 6th ed. Philadelphia, Elsevier Saunders: 947-1091
2. Montoya JG, Liesenfeld O (2004) Toxoplasmosis. *Clin Infect Dis* 47: 554-566.
3. Aspöck H, Pollak A (1992) Prevention of Prenatal Toxoplasmosis by Serological Screening of Pregnant Women in Austria. *Scand J Infect Dis, Suppl*84: 32-38
4. Leroy V, Raeber P-A, Petersen E, and the European Toxo Prevention Study Group (2005) National public health policies and routine programs to prevent congenital Toxoplasmosis. Unpublished report, Bordeaux (France)
<http://eurotoxosped.u-bordeaux2.fr/>
5. Bénard A, Petersen E, Salamon R, Chêne G, Gilbert R, et al. (2008) The European Toxo Prevention Study Group: Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. *Eurosurveill* 13(15): pii=18834 <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18834>
6. Schmidt DR, Høgh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, et al. (2006) The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999–2003. *Arch Dis Child* 91: 661-665.
7. Gross U (2004) Prävalenz und Public Health Aspekte der Toxoplasmose. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 47: 692-697
8. Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R, and the Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis Study Group (2007) Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet* 369: 115-122
9. Gras L, Wallon M, Pollak A, Cortina-Borja M, Evengard B, et al.; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis Study Group (2005) Association between prenatal treatment and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis in infancy: A cohort study in 13 European centres. *Acta Paediatr* 94: 1721-1731
10. Gilbert R, Gras L, and European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis Study Group (2003) Effect of timing and type of treatment on the risk of

- mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. Br J Obstet Gynaecol 110: 112-120
11. Gilbert R, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, et al. (2001) Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. Int J Epidemiol 30: 1303-1308
 12. Thiébaud R, Leroy V, Alioum A, Binquet C, Poizat G, et al. (2006) Biases in observational studies of the effect of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis. Eur J Obstet Gynecol 124: 3-9
 13. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Bonithon Kopp C, Binquet C (2013) Congenital *Toxoplasma* infection : monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at 3 years. Clin Infect Dis 56: 1223-1231
 14. Hotop A, Hlobil H, Gross U (2012) Efficacy of rapid treatment initiation following primary *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Clin Infect Dis 54: 1545-1552
 15. Montoya JG, Remington JS (2008) Management of *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy. Clin Infect Dis 47: 554-566
 16. Kieffer F, Wallon M, Garcia P, Thulliez P, Peyron F, et al. (2008) Risk factors for retinochorioiditis during the first 2 years of life in infants with treated toxoplasmosis. Pediatr Infect Dis J 27: 27-32
 17. McLeod R, Kieffer F, Sautter M, Hosten T, Pelloux H (2009) Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? Mem Inst Oswaldo Cruz 104: 320-344
 18. Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, Paul M, Prusa A, et al. (2010) Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: An observational prospective cohort study. PLoS Med 7: e1000351
<http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1000351>
 19. Gilbert R (2009) Treatment for congenital toxoplasmosis: finding out what works. Mem Inst Oswaldo Cruz 104: 305-311
 20. Rudin C, Boubaker K, Raeber PA, Vaudaux B, Bucher HC, et al. (2008) Toxoplasmosis during pregnancy and infancy. A new approach for Switzerland.

- Swiss Med Wkly 138 (Suppl168): 1-8.
<http://www.smw.ch/docs/PdfContent/smw-12781.pdf>
21. Martinelli P, Agangi A, Maruotti G (2007) Screening for toxoplasmosis in pregnancy Lancet 369: 823-824
 22. Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brézin AP, et al. (2010) Congenital toxoplasmosis in France in 2007: First results from a national surveillance system. Eurosurveill 15(25): pii=19600
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19600>
 23. Havelaar AH, Kemmeren JM, Kortbeek LM (2007) Disease burden of congenital toxoplasmosis. Clin Infect Dis 44: 1467-1474
 24. Sensini A (2006) *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy : Opportunities and pitfalls of serological diagnosis. Clin Microbiol Infect 12: 504-512
 25. Jenum PA, Stray-Petersen B (1998) Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. J Clin Microbiol 36: 2907-2913
 26. Flori P, Belleste B, Crampe C, Maudry A, Patural H, et al. (2008) A technique for dating toxoplasmosis in pregnancy and comparison with the Vidas anti-toxoplasma IgG avidity test. Clin Microbiol Infect 14: 242-249
 27. Auer H, Vander-Möse A, Aspöck H (2003) The confusing diversity of IgM tests in the diagnosis of *Toxoplasma* infections: Efforts towards an optimal strategy. Wien Klin Wochenschr 115 [Suppl 3]: 18-22
 28. Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessières M-H, et al. (2001) Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 20: 467-474
 29. Meroni V, Genco F, Tinelli C, Lanzarini P, Bollani L, Stronati M, et al. (2009) Spiramycin treatment of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women impairs the production and the avidity maturation of *T. gondii*-specific immunoglobulin G antibodies. Clin Vaccine Immunol 16: 1517-1520
 30. Pappas G, Roussos N, Falagas ME (2009) Toxoplasmosis snapshots : Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalance and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. Int J Parasitol 39: 1385-1394
 31. Prusa AR, Hayde M, Gerstl N, Pollak A (2005) Infektionen mit *Toxoplasma gondii* in der Schwangerschaft. Gynäkologische Praxis 29: 41-44

32. Statistik Austria (2010) NUTS-Einheiten.
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/regionales/regionale_gliederungen/nuts_einheiten/index.html [Stand: 07.08.2010]
33. Hastie TJ (1991) Generalized additive models. In: Chambers JM, Hastie TJ (Hrsg.) Statistical models in S. Boca Raton, FL: Wadsworth & Brooks/Cole, Chapter 7: 249-308
34. Nowakowska D, Stray-Petersen B, Spiewak E, Sobala W, Małafiej E, Wilczyński J (2006) Prevalence and estimated incidence of *Toxoplasma* infection among pregnant women in Poland: a decreasing trend in the younger population. *Clin Microbiol Infect* 12: 913-917
35. Griffin J (2005) INTCENS: stata module to perform interval-censored survival analysis. <http://ideas.repec.org/c/boc/bocode/s453501.html> [Stand: 07.08.2010]
36. Statistik Austria (2010) Statistiken Bevölkerung.
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/bevoelkerung/index.html [Stand: 07.08.2010]
37. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, et al. (2000) Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control-study. *Brit Med J* 321: 142-147
38. Logar J, Šoba B, Premru-Sršen T Sr, Novak-Antolič Ž (2005) Seasonal variations in acute toxoplasmosis in pregnant women in Slovenia. *Clin Microbiol Infect* 11: 852
39. Tizard IR, Fish NA, Quinn JP (1976) Some observations on the epidemiology of toxoplasmosis in Canada. *J Hyg* 77: 11-21
40. Ryan M, Hall SM, Barrett NJ, Balfour AH, Holliman RE, Joynson DHM (1995) Toxoplasmosis in England and Wales 1981-1992. *Commun Dis Rep* 5: 13-21
41. Meenken C, Rothova A, Kijlstra A (1991) Seasonal variation in congenital toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol* 75: 636-638
42. Morin L, Lobry JR, Peyron F, Wallon M. (2012) Seasonal variations in acute toxoplasmosis in pregnant women in the Rhône-Alpes region (France). *Clin Microbiol Infect* 18: E401-E404
43. Giesecke J (2002) *Modern Infectious Disease Epidemiology*. London: Arnold
44. Benard A, Salmi LR, Mouillet E, the European Toxo Prevention Study Group (2005) Systematic review on the burden of congenital toxoplasmosis in Europe.

- Unpublished report, Bordeaux (France) <http://eurotoxо.isped.u-bordeaux2.fr/>
[Stand 07.08.2010]
45. Hofhuis A, van Pelt W, van Dunyhoven YTHP, Nijhuis CDM, Mollema L, et al. (2011) Decreased prevalence and age-specific risk factors for *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in The Netherlands between 1995/1996 and 2006/2007. *Epidemiol Infect* 139: 530-538
 46. Hohenauer L, Nagl F, Vutuc Ch (1999) Serologische Untersuchungen zum Mutter-Kind-Pass. *Mitteilungen der Sanitätsverwaltung* 6: 8-12
 47. Hayde M, Prusa AR, Gratzl R, Pollak A (1999) Kommentar zur Publikation „Serologische Untersuchungen zum Mutter-Kind-Pass“ von Hohenauer et al. *Mitteilungen der Sanitätsverwaltung* 9: 9-12
 48. Edelhofer R, Prosinger H (2010) Infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy: seroepidemiological studies in Austria. *Zoonoses Public Hlth* 57: 18-26
 49. Cornu C, Bissery A, Malbos C, Garwig R, Cocherel, et al. (2009) Factors affecting the adherence to an antenatal screening programme: An experience with toxoplasmosis screening in France. *Eurosurveill* 14(9): pii=19137
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19137>
 50. De Paschale M, Agrappi C, Manco MT, Cerulli T, Clerici P (2010) Implementation of screening for *Toxoplasma gondii* in pregnancy. *J Clin Med Research* 2: 112-116
 51. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, et al. (1999) Mother-to-child transmission of toxoplasmosis : Risk estimates for clinical counselling. *Lancet* 353: 1829-1833
 52. Freeman K, Salt A, Prusa A, Malm G, Ferret N, et al. (2005) Association between congenital toxoplasmosis and parent-reported developmental outcomes, concerns, and impairments, in 3 year old children. *BMC Pediatrics* 5: 23
<http://www.biomedcentral.com/1471-2431/5/23>
 53. Khoshnood B, De Vigan C, Goffinet F, Leroy V (2007) Prenatal screening and diagnosis of congenital toxoplasmosis : A review of safety issues and psychological consequences for women who undergo screening. *Prenat Diagn* 27: 395-403
 54. Chêne G, Thiébaud R (2009) Options for clinical trials of pre- and post-natal treatments for congenital toxoplasmosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 299-304

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig unter Nutzung der angegebenen Hilfsmittel erstellt habe. Die vier dieser kumulativen Dissertation zugrundeliegenden Veröffentlichungen habe ich, wenngleich unterstützt durch die angegebenen Koautoren, federführend zum insgesamt überwiegenden und wesentlichen Anteil selbständig angefertigt. Die wörtliche oder sinngemäße Nutzung anderer Quellen ist als solche kenntlich gemacht worden.

Mit der vorgelegten Arbeit oder auch nur Teilen davon habe ich keine früheren Promotionsversuche an anderen Fakultäten oder Universitäten unternommen.

St. Pölten, 06.12.2013

Ulrich Sagel

Clearly defined antibiotic protocols to guide empirical therapy are available but need to be reinforced via regular education of and feedback to all doctors. An antibiotic pharmacist has recently been appointed at Beaumont Hospital, in accordance with a national strategy for the control of antibiotic resistance [6]. This individual has a key role in ensuring compliance with antibiotic guidelines, education of medical staff, and regular audit of antibiotic prescribing. Although there is a significant history of antibiotic stewardship in Beaumont Hospital [7,8], these data emphasize the need for daily review of the need for continued antibiotic treatment by a senior doctor (i.e. at the consultant level), a microbiologist, or an infectious disease physician.

Transparency Declaration

This HIS prevalence survey of HCAI was supported by the provision of a data collector by the Health Service Executive but, other than this, the study did not receive funding from any source. H. Humphreys is in receipt of research funding from Steris Corporation, 3M and Inova8 Technologies Ltd, and has also received lecture fees from 3M and Novartis (Ireland). The other authors declare the absence of dual interests.

References

1. Paskovaty A, Pflomm JM, Myke N, Seo SK. A multidisciplinary approach to antimicrobial stewardship: evolution into the 21st century. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 1–10.
2. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 159–177.
3. Annual Report for 2006 from the Health Protection Surveillance Centre, Ireland. Available at: <http://www.ndsc.ie/hpsc/AboutHPSC/AnnualReports> (15 July 2008).
4. Smyth ETM, McIlveney G, Enstone J et al. Four country healthcare-associated infection prevalence survey 2006: overview of the results. *J Hosp Infect* 2008; 69: 230–248.
5. Fitzpatrick F, McIlveney G, Oza A et al. Hospital Infection Society Prevalence Survey of Healthcare Associated Infection 2006: comparison of results between Northern Ireland and the Republic of Ireland. *J Hosp Infect* 2008; 69: 265–273.
6. Scientific Advisory Committee of the National Disease Surveillance System. *A strategy for the control of antimicrobial resistance in Ireland*. Dublin: National Disease Surveillance Centre, 2001.
7. Cunney R, Aziz H, Schubert D et al. Interpretative reporting and selective antimicrobial susceptibility release in non-critical microbiology results. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 705–708.
8. O'Neill E, Humphreys H, Smyth E. Impact of recommendations by clinical microbiologists on antimicrobial treatment in the intensive care units of a Dublin teaching hospital. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 636–638.

Seasonal trends in acute toxoplasmosis in pregnancy in the federal state of Upper Austria

U. Sagel^{1,2,3,*}, R. T. Mikolajczyk^{1,*} and A. Krämer¹

1) School of Public Health, University of Bielefeld, Germany 2) Analyze BioLab GmbH, Linz, Austria and 3) Austrian Agency of Health and food Safety (AGES), Vienna, Austria

Abstract

Knowledge about seasonal trends in acute toxoplasmosis in pregnancy may help to understand and avoid risk factors for infection. Analysing regular screening records of 51 754 pregnant women, members of the largest statutory health insurance company in the federal state of Upper Austria from 2000 to 2005, we found a twofold increase of diagnoses of acute toxoplasmosis during winter months. Taking the delay between infection and screening into account, the increased number of detections in winter points towards more frequent infections in autumn. We propose a higher consumption of contaminated vegetables and fruit from gardening as one of the potential explanations.

Keywords: Acute infection, incidence, pregnancy, season, toxoplasmosis

Original Submission: 5 September 2008; **Revised Submission:** 2 December 2008; **Accepted:** 3 December 2008

Editor: G. Pappas

Article published online: 20 July 2009

Clin Microbiol Infect 2010; **16**: 515–517
10.1111/j.1469-0691.2009.02880.x

Corresponding author and reprint requests: U. Sagel, AGES (IMED Wien), Waehringerstr. 25a, A-1096 Wein, Austria
E-mail: ulrich.sagel@ages.at

* Both authors contributed equally to the work.

Acute toxoplasmosis in pregnant women carries a risk of infection for the unborn that might result in moderate to severe ocular and neurological disorders [1]. Secondary prevention using general screening during pregnancy and antimicrobial treatment is cumbersome, still disputed and offered

free to all pregnant women only in few European countries, i.e. France, Austria, Italy and Slovenia [2–4]. Pregnant women should be advised to avoid risk factors for infection, especially eating of undercooked meat and contact with soil (multicentre case–control study by Cook *et al.* [5]: population attributable risk of 30–63% and 6–17%, respectively). Many infections (14–49%) cannot yet be completely explained by known risk factors. A recent study from Slovenia reported a significant increase during winter months in the incidence of acute toxoplasmosis detected by screening in pregnant women [6]. We used a dataset from the federal state of Upper Austria to corroborate this finding in a different population. Upper Austria is characterized by a transitional climate between mild and continental zones, with average temperatures during summer months around 20°C and close to 0°C in winter. There is sufficient precipitation throughout the year (annual average 1000 mm).

We retrospectively investigated records from toxoplasmosis screening of pregnant women participating in the mother–child–booklet (<http://www.help.gv.at/Content.Nock/143/Seite.1430100.html#child>) preventive programme. The analysis included 51 754 women who were members of the largest statutory health insurance company in Upper Austria (OÖGKK—Oberösterreichische Gebietskrankenkasse) and screened between 1 January 2000 and 31 December 2005. The indirect immunofluorescence test (IIFT) was used for screening to detect specific antibodies of all immunoglobulin classes. In case of seropositivity (titre $\geq 1:16$) a second specimen collected >2 weeks later was checked for any titre rise. If the titre increased or if it was $\geq 1:64$ already in the first test, an IgM test (VIDAS TOXO IgM) was performed, and if this IgM test was not clearly negative, an IgG avidity test (VIDAS TOXO IgG AVIDITY) was carried out. A negative result for IgM or positive IgM but high avidity index was assumed to rule out acute infection (all tests from bioMérieux, Marcy-l’Etoile, France; before October 2004 an in-house IIFT test was used).

A case was regarded as a ‘suspected case’ if the test constellation was: IIFT positive, IgM positive and avidity low. If seroconversion or a more than fourfold titre rise in IIFT during pregnancy had occurred, we classified the case as a ‘certain case’. Based on these definitions, suspected cases included also certain cases. We used locally weighted regression to visualize the changes in weekly incidence of toxoplasmosis over time and to estimate the seasonal trend during a calendar year. Since the overall number of examinations did not change over the studied period, we used Poisson distribution to model the incidence of toxoplasmosis cases. The analysis was conducted with R-library *gam* [7].

In total, there were 191 suspected cases, including 51 certain cases of acute toxoplasmosis infections in our study

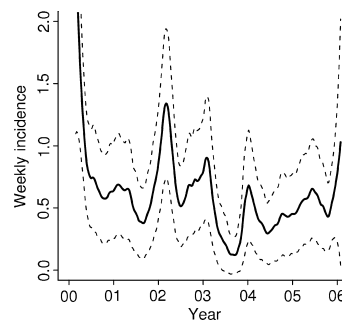


FIG. 1. Weekly incidence of acute toxoplasmosis during the study period (suspected cases, dotted lines indicate 95% confidence intervals, x-axis in weeks with numbers indicating the beginning of the corresponding year).

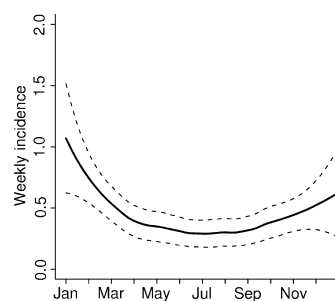


FIG. 2. Seasonal trend in acute toxoplasmosis incidence (suspected cases, dotted lines indicate 95% confidence intervals, x-axis in weeks with abbreviations indicating the beginning of the corresponding month).

population. In 45 of the 51 certain cases seroconversion was observed. There was substantial variability across time in the weekly incidence of suspected cases, with a higher incidence during the winter months (Fig. 1). This was confirmed in the seasonal trend analysis, with a more than two times higher incidence of toxoplasmosis during the winter months (Fig. 2, p -value < 0.05 in likelihood ratio test). This result remained unchanged when additionally calendar years were taken into account (data not shown). Across years there was a falling trend in the number of cases with borderline evidence supporting higher incidence in every second year (Fig. 1). The results were similar when the analysis was restricted only to certain cases (data not shown). In the cases when seroconversions ($n = 45$) were documented, the mean duration between the last seronegative and the first seropositive result was 102 days (range 30–181 days).

Our findings confirm the seasonality in diagnosis of acute toxoplasmosis infections during pregnancy observed by Logar *et al.* [6] in Slovenia using an independent sample from Upper Austria. Some previous studies have reported different seasonal patterns [8–10], but these studies either did not

directly refer to pregnant women or drew only indirect conclusions on the most probable time point of infection in pregnancy from postnatally diagnosed neurological or ocular disorders, and therefore are not directly comparable to our data.

While the temporal increase in the number of cases diagnosed during screening observed by us and Logar *et al.* [6] occurred in winter, it is likely that the increase of infections occurs earlier in the calendar year, most likely in autumn. Since acute toxoplasmosis is asymptomatic in adults, the infection does not affect the timing of screening. Given that elevated IgM persists for several months, a short period of increased infections will be reflected in several months with higher numbers of detections starting after the infection period. The period until IgM can be detected (1–2 weeks) contributes only little to this delay [11].

Therefore, we suggest that a specific risk factor associated with autumn rather than winter has to be identified. One of the potential explanations could be a higher consumption of vegetables and fruit from hobby gardens and organic farming during autumn, because contamination of the soil and its products by infected cats may be more likely in these settings than in industrial-style farming. Furthermore, the increased risk could be caused by mild temperatures in autumn, facilitating survival of toxoplasma oocysts. Our data do not allow testing the hypothesis, and the large study by Cook *et al.* [5] did not assess this potential association. The twofold risk increase observed in our study warrants further studies in order to prove and explain the association.

In addition to the seasonal trend, we observed an overall decrease in the incidence of acute toxoplasmosis and possibly a bi-yearly rhythm with a higher incidence in the alternate years. However, both phenomena are difficult to judge based on the short time period (just six units of analysis, while the seasonal analysis was based on 6 times 52 weeks).

Acknowledgements

Preliminary results from this work have been presented at the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Barcelona, 2008). The authors acknowledge the dedication of the former head of the serology unit of Analyze BioLab GmbH, Dr Monika Kaindl, to the laboratory examinations that yielded the data analyzed in this study.

Transparency Declaration

Since 2007, U.S. has been head of the serology unit of analyze BioLab GmbH, which performs exclusively all serological screening tests for toxoplasmosis in pregnancy based on an agreement between OÖGKK and Analyze BioLab for all members of OÖGKK. Neither institution provided financial support or was involved in the analysis or publication of the results. Furthermore, the authors declare that they do not have any other conflicting or dual interests, if at all.

References

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, eds. *Infectious diseases of the fetus and the newborn infant*, 6th edn. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006; 947–1091.
2. SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group, Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet* 2007; 369: 115–122.
3. Gross U. Prevalence and public health aspects of toxoplasmosis [German]. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 2004; 47: 692–697.
4. Leroy V, Raeber PA, Petersen E *et al.* for the Eurotox Group (Panel 3). *National public health policies and routine programs to prevent congenital toxoplasmosis, Europe [Unpublished report]*. Bordeaux (France): The Eurotox Group, 2005; Available from: http://eurotox.isped.u-bordeaux2.fr/WWW_PUBLIC/DOC/EUROTOXO_R1_P3_European_national_policies_Dec2005.pdf.
5. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W *et al.* Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ* 2000; 321: 142–147.
6. Logar J, Šoba B, Premru-Sršen T Sr, Novak-Antolič Ž. Seasonal variations in acute toxoplasmosis in pregnant women in Slovenia. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 852.
7. Hastie TJ. Generalized additive models. In: Chambers JM, Hastie TJ, eds. *Statistical models in S*, Chapter 7. Boca Raton, FL: Wadsworth & Brooks/Cole, 1991; 249–308.
8. Tizard IR, Fish NA, Quinn JP. Some observations on the epidemiology of toxoplasmosis in Canada. *J Hyg* 1976; 77: 11–21.
9. Ryan M, Hall SM, Barrett NJ, Balfour AH, Holliman RE, Joynson DHM. Toxoplasmosis in England and Wales 1981–1992. *Commun Dis Rep* 1995; 5: 13–21.
10. Meenken C, Rothova A, Kijlstra A. Seasonal variation in congenital toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol* 1991; 75: 636–638.
11. Montoya JG, Kovacs JA, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, 6th edn. Philadelphia: Elsevier, 2005: 3182.

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Incidence of maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy in Upper Austria, 2000-2007

Ulrich Sagel^{1,2,3}, Alexander Krämer¹ and Rafael T Mikolajczyk^{1,4*}

Abstract

Background: Despite three decades of prenatal screening program for toxoplasmosis in Austria, population-based estimates for the incidence of maternal infections with *Toxoplasma gondii* during pregnancy are lacking. We studied the incidence of primary maternal infections during pregnancy in the Federal State of Upper Austria.

Methods: Screening tests for 63,416 women and over 90,000 pregnancies (more than 84.5% of pregnancies in the studied region) in the time period between 01.01.2000 and 31.12.2007 were analysed. The incidence of toxoplasmosis was estimated indirectly by binomial and directly by interval censored regression.

Results: During the studied period, 66 acute infections (risk of 0.07% per pregnancy) were detected, but only 29.8% of seronegative women were tested at least three times during their pregnancies. The seroprevalence of *Toxoplasma* antibodies among all tested women was 31%. Indirectly estimated incidence (from differences in prevalence by age) was 0.5% per pregnancy, while directly estimated incidence (interval censored regression) was 0.17% per pregnancy (95% confidence interval: 0.13-0.21%).

Conclusions: Calculating incidence from observed infections results in severe underreporting due to many missed tests and potential diagnostic problems. Using statistical modelling, we estimated primary toxoplasmosis to occur in 0.17% (0.13-0.21%) of all pregnancies in Upper Austria.

Background

Congenital toxoplasmosis is among the infections associated with a high risk of complications, but fortunately acute infections during pregnancy are relatively rare [1,2]. Due to the potential to cause life-long disability, the burden of disease of congenital toxoplasmosis is considerable [3]. In order to prevent foetal infections and complications of toxoplasmosis, screening programs during pregnancy and a subsequent treatment of identified maternal primoinfections were introduced in a few countries [1,2,4-6].

Austria was the first country to start with population-wide free screening and treatment of maternal infections in 1975, soon followed by France. Nonetheless, little is known about the incidence of these infections from these countries despite of their long tradition of toxoplasmosis prevention [7]. We used data from a screening laboratory that covers most of the population of one

federal state in Austria in an attempt to determine the incidence in this region.

Methods

Sample

We retrospectively analysed serological data of all pregnant women aged 15-45 years insured by the OÖGKK ("Oberösterreichische Gebietskrankenkasse": Upper Austrian Regional Health Insurance) and place of residence in Upper Austria. The OÖGKK is the largest statutory health insurance company in Upper Austria. Based on a special agreement with the health insurance company, all serological tests for *Toxoplasma*-specific IgG and IgM antibodies were conducted in one single laboratory (analyse BioLab GmbH, Linz). Information on gestational week when the screening was performed and the date of delivery was not available. We included only women for whom it could be assumed that their last test in a given pregnancy was conducted in the period from 01.01.2000 to 31.12.2007. Tests were classified as belonging to the same pregnancy when they were performed within a time window of 200 days (the analysis

* Correspondence: miko@bips.uni-bremen.de

¹Department of Public Health Medicine, School of Public Health, University of Bielefeld, P.O. Box 10 01 31, D-33501 Bielefeld, Germany
Full list of author information is available at the end of the article

was also repeated using 300 days as a time window). According to the regulations in Austria, screening has to be performed before the sixteenth week of gestation and repeated in seronegative women in the fifth and eighth pregnancy month [4]. Austrian experts recommended the application of shorter, eight-week screening intervals in 2005 [8].

Diagnostic tools

The diagnostic algorithm is presented in Figure 1. Before October 2004, coated slides for IIFT were provided by the Clinical Institute of Hygiene and Medical Microbiology of the Medical University of Vienna, Division of Medical Parasitology and used with FITC-marked anti-human-IgG/A/M/D/E-conjugate from Dia-Sorin S.p.A., Saluggia, Italy. Since October 2004, the IIFT slides were replaced by a commercially available IIFT kit (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France). IgM-test (VIDAS TOXO IgM, bioMérieux) and IgG-avidity-test (VIDAS TOXO IgG AVIDITY, bioMérieux) were performed in cases of a positive IIFT test to rule out an acute infection.

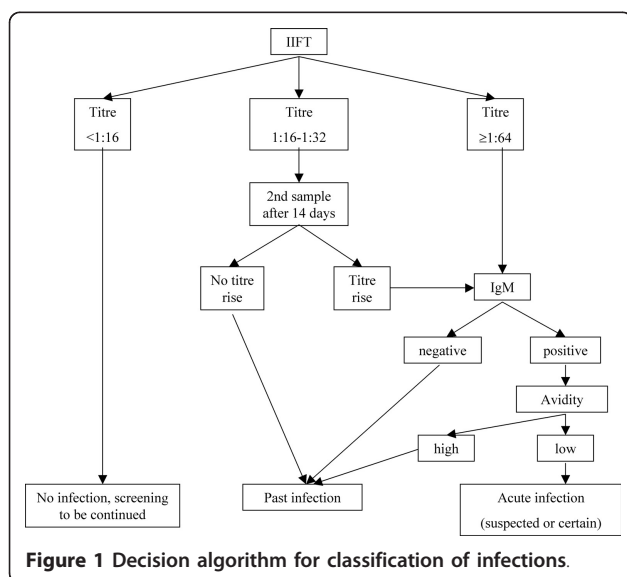
All tests with an IIFT titer of 1:16 or higher were defined as seropositive. A suspected acute infection in pregnancy was defined by the following findings: anti-*Toxoplasma*-specific IgM-antibodies positive (>0.65) and low (<0.2) *Toxoplasma*-specific IgG-avidity. A suspected infection was considered as proven (and classified as certain infection in our analysis) when there was a more than fourfold antibody-titre rise. Given the difficulties of assessing the threshold in the IIFT when seroconversions occurred in a short time period, but were not accompanied by a positive IgM or a low avidity they were considered false positive and were excluded.

Data flow and data protection

Data was extracted from the laboratory software Basu-Lab (Berger Analysen und Informationstechnik GmbH, Puchenu, Austria) and imported into STATA, version 8.2 (Statacorp, College Station, TX, USA) for all subsequent analyses (STATA-log-file available from the corresponding author on request). To ensure data protection and to meet the obligations of the Austrian data protection law (§ 46 (1) 2 and § 46 (5) Datenschutzgesetz 2000), personal identifiers were replaced by unique pseudonyms. Furthermore, the place of residence and its postal code were replaced by the corresponding NUTS-3 regions (AT311: "Innviertel", AT312: "Linz-Wels", AT313: "Muehlviertel", AT314: "Steyr-Kirchdorf", AT315: "Traunviertel" [9]) and an indicator variable for the three big cities of Linz, Wels or Steyr (the former two being part of region AT312 and the latter part of AT314). The study was reviewed and approved by the ethics committee of the Elisabethinen Hospital Linz, Austria.

Statistical analysis

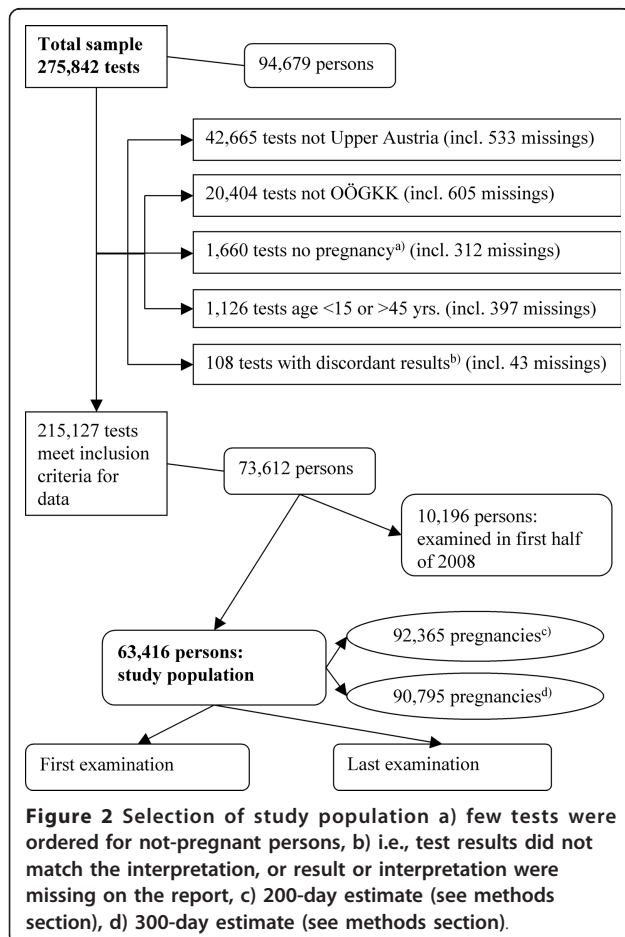
Firstly, we estimated the crude incidence from observed primo-infections during pregnancy. As testing did not cover the whole pregnancy for many seronegative women, we expected to miss a lot of infections and to underestimate the incidence. We therefore used further indirect and direct methods to estimate the true infection rate in pregnancy. From a binomial regression model, we estimated the increase in the seroprevalence per year of age and calculated the increase corresponding to the pregnancy duration of 268 days to obtain incidence under the assumption that differences in prevalence by age reflect new infections (indirect method) [10]. Since diagnosing seroprevalence is less error prone than correctly assessing the very rare event of acute infection, this method was robust against diagnostic errors. We subsequently analysed the incidence of *Toxoplasma* infections during pregnancy in seronegative women by means of interval censored regression (direct method) [11]. Interval censored regression allows one to account for the fact that in the case of a positive test it was only known that the infection occurred in the preceding time interval since the last negative test. Again, the estimate was recalculated to the period of 268 days. In order to obtain the incidence in relation to all pregnant women (as typically reported in other studies), the result was multiplied by (1-seropositive fraction). Since this analysis was based only on time during pregnancy, we were able to use information about IgM and avidity to rule out false positive results of the IIFT test. Within a pregnancy, screening tests were usually only about 3 or 4 months apart, and IgM remains positive and avidity low in this time span after an acute infection [12].



Results

Seroprevalence of *Toxoplasma* infections among pregnant women

There were 275,842 test results in the database in total (Figure 2). Inclusion criteria for the study population were met by 63,416 women in the dataset. These women contributed 92,365 pregnancies, based on the 200 days estimate. This number only slightly decreased when a more conservative estimate of 300 days was used. The total population for the studied region is around 1.4 million. In Upper Austria, there were 109,327 life births in total in the years 2000-2007 [13]. The total number of pregnancies including spontaneous and induced abortion and stillbirths was certainly substantially higher, but most of the spontaneous and induced abortions will happen before the seroprevalence testing, leaving only the stillbirths (<0.1% of life births) which are unaccounted for. Dividing 92,365 pregnancies included in our study by 109,327 life births in the region, we concluded that our data covered more than 84.5% of all life births in Upper Austria during this period.



At their first examination in the study period, women were in median 28.3 years old (interquartile range (IR) 24.3 to 32.2 years). The seroprevalence at the first examination was 30.6%. At their latest examination, women were on average 1.3 years older and the seroprevalence was slightly higher (31.7%). The seroprevalence increased in a linear manner with age ($p < 0.01$ for trend, Figure 3) and was significantly lower in cities (Table 1) than in the larger regions ($p < 0.01$, regardless of whether prevalence at first or latest examination was studied).

Suspected and certain *Toxoplasma* primo-infections detected during pregnancy

The case definition for a suspected primo-infection during pregnancy was met by 222 women. Their median age was 27.8 years (IR 24.6-32.2 years). Of those 222 cases, 66 (29.7%) were classified as certain (i.e., these women had at least two tests with discordant results during the same pregnancy). Table 1 shows the distribution of the cases by regions and the corresponding incidence rates, with lower rates in cities than in regions including rural areas. The rural-urban difference was significant for suspected infections ($p < 0.01$), but not for certain infections ($p = 0.18$). The yearly numbers of cases ranged from 16 to 41 (mean: 26.5) for suspected infections and from 5 to 12 (mean: 8.3) for certain infections. No clear trend over time was observed (data not shown).

Estimated incidence of acute *Toxoplasma* infections during pregnancy

The results of indirectly estimating incidence rates from age-related differences in seroprevalence are presented in Table 2 (first two columns). Consistent with estimates

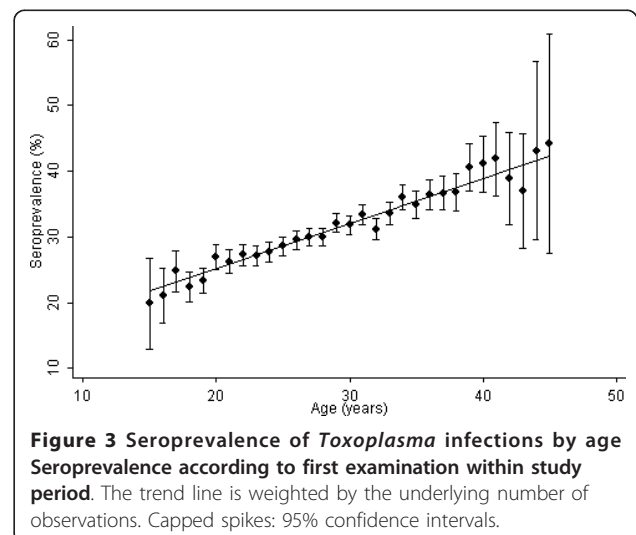


Table 1 Seroprevalence and observed (suspected and certain) primoinfections by region

Region ¹⁾	Prevalence (first) ²⁾	Prevalence (last) ³⁾	Suspected infections ⁴⁾	Incidence suspected ⁵⁾	Certain infections ⁶⁾	Incidence certain ⁷⁾	Pregn. ⁸⁾	Inhab. ⁹⁾
AT311	36.5	37.4	37	0.31	10	0.08	12,043	274,797
AT312	27.8	28.7	73	0.18	24	0.06	39,841	543,661
AT313	34.7	36.7	38	0.26	14	0.10	14,343	204,140
AT314	29.9	31.4	35	0.31	6	0.05	11,180	153,501
AT315	29.7	30.8	39	0.26	12	0.08	14,958	229,575
city ¹⁰⁾	26.7	27.5	39	0.17	12	0.05	23,368	286,496
no city ¹¹⁾	32.0	33.2	183	0.27	54	0.08	68,997	1,119,178
Total	30.6	31.7	222	0.24	66	0.07	92,365	1,405,674

¹⁾NUTS-3 regions [9] and the three biggest cities of Upper Austria

²⁾seroprevalence in percent at first examination

³⁾seroprevalence in percent at latest examination

⁴⁾number of suspected primoinfections

⁵⁾per 100 pregnancies (200-day estimate)

⁶⁾number of certain primoinfections

⁷⁾per 100 pregnancies (200-day estimate)

⁸⁾estimated number of pregnancies in study population (200-day estimate)

⁹⁾number of inhabitants in Upper Austria at 01.01.2007 [13]

¹⁰⁾i. e. Linz, Wels, Steyr

¹¹⁾Upper Austria without Linz, Wels, Steyr

based on observed cases, the incidence rates appeared to be lower in the cities than in other regions, but the difference is not significant.

The interval censored regression yielded a substantially lower estimate for incidence of toxoplasmosis in all pregnancies with 0.17% (0.13-0.21%) (Table 2, columns 3 and 4). The results were virtually unchanged when 300 days were used instead of 200 days to define tests belonging to one pregnancy. Similarly to the binomial regression model, the estimated incidence rates were slightly lower in the three biggest cities than in overall Upper Austria, but again the difference was statistically not significant. A model including calendar

years did not show a significant change over time. Based on the findings from interval censored regression, we estimated that there were 152 (95% confidence interval: 118-196) acute *Toxoplasma* infections during pregnancy in the years 2000-2007 in the study sample (based on 92,365 pregnancies in the same period).

Coverage of pregnancy with screening in seronegative women

In the study population, 38,576 women had their latest screening (based on the 200 days time window) and were seronegative in this examination. When only the latest pregnancy for each woman was included, we

Table 2 Estimates of incidence of *Toxoplasma* infections during pregnancy (per 100 pregnancies), 95% confidence intervals in parentheses, separate models in each line

Region/year ¹⁾	Indirect estimate (Binomial regression model)		Direct estimate (Interval censored regression model)	
	Incidence (first examination) ²⁾	Incidence (latest examination) ²⁾	Incidence ²⁾	Incidence in seronegative women ²⁾
AT311	0.50 (0.37-0.63)	0.48 (0.35-0.62)	0.14 (0.07-0.30)	0.22 (0.11-0.47)
AT312	0.49 (0.43-0.56)	0.48 (0.41-0.55)	0.12 (0.08-0.19)	0.17 (0.11-0.27)
AT313	0.54 (0.41-0.68)	0.49 (0.35-0.63)	0.30 (0.18-0.47)	0.45 (0.28-0.73)
AT314	0.44 (0.31-0.58)	0.44 (0.31-0.58)	0.15 (0.07-0.32)	0.22 (0.10-0.46)
AT315	0.58 (0.47-0.70)	0.51 (0.39-0.63)	0.17 (0.10-0.31)	0.25 (0.14-0.45)
city ³⁾	0.46 (0.37-0.55)	0.43 (0.34-0.52)	0.12 (0.07-0.22)	0.17 (0.09-0.30)
no city ⁴⁾	0.52 (0.46-0.57)	0.49 (0.43-0.55)	0.18 (0.14-0.24)	0.26 (0.20-0.35)
Total	0.50 (0.46-0.55)	0.48 (0.43-0.52)	0.17 (0.13-0.21)	0.24 (0.18-0.31)

¹⁾NUTS-3 regions [9] and the three biggest cities of Upper Austria

²⁾incidence is calculated per pregnancy, i.e. per 268-day interval

³⁾i. e. Linz, Wels, Steyr

⁴⁾Upper Austria without Linz, Wels, Steyr

estimated that in 13.8% of those pregnancies one examination, in 56.5% two examinations, and in only 29.8% three or more examinations had been performed. From 2001 to 2007 the situation improved continuously, and in 2007, 35.5% of seronegative women were tested at least three times during pregnancy.

Discussion

Our study estimated prevalence and incidence of toxoplasmosis and coverage with screening in pregnant women in Austria. The estimated seroprevalence of about 31% in pregnant women is in line with findings from other countries in Europe [7]. As expected, seroprevalence was higher in rural areas than in cities. The three recommended screening tests were conducted in only about 29.8% of seronegative women, despite the fact that about 95% of OÖGKK members attended all the check-ups of the Austrian maternal care program in pregnancy [14]. A recent study from a region in south-east France reported similar problems: Only 40% of pregnant women had all seven or more recommended tests [15]. Poor compliance to a complete screening program jeopardizes a direct analysis of the incidence of *Toxoplasma* infections in pregnancy. Consequently, incidence based on observed cases only resulted in severe underestimation if only certain diagnoses (0.07%) were considered. A certain diagnosis requires more than one test in pregnancy and, therefore, misses infections that occurred in early pregnancy before the first test. In addition, the period between the latest examination and birth is not included in the analysis. If only a single test result was available, infection could be only suspected, since high IgM and low avidity do not rule out a past infection [12,16]. Therefore, incidence based on observed suspected infections suffers from both an underestimation due to cases which were not observed, and an overestimation caused by false positive IgM and avidity tests.

Statistical methods are therefore necessary to derive estimates of true incidence. We used an indirect approach [10]: the age-specific seroprevalence suggested a linear association between age and seroprevalence (Figure 3), as also observed by others [7,10]. The estimates derived for incidence using this approach were higher than those obtained from observed suspected cases (0.5% per 100 pregnancies). While false test results are unlikely to cause a substantial overestimation in this method, differences in age-specific prevalence can be subject to age cohort effects, with a share of infections taking place in younger years of life but decreasing over time [17]. A decrease in the seroprevalence of *Toxoplasma* infections over time that may lead to overestimation in the indirect estimate has been observed in several European countries [10,18,19]. Consistently, a

seroprevalence of 41% reported for 1995/96 in Upper Austria was considerably higher than our findings for 2000-2007 [20]. The reliability of the data for 1995/96 was questioned [21], but other reports from Austria also suggested a decreasing seroprevalence in the region, not only in humans but also in animals that are important for the transmission of disease to humans [22]. A decreasing trend is also in line with findings in The Netherlands comparing 1995/1996 and 2006/2007 [23]. Furthermore, the seroprevalence estimate is mostly based on the non-pregnant time. Women during pregnancy might be more conscious about avoiding potential sources of infection, such as eating undercooked meat and contact with contaminated soil [24]. Therefore, incidence of *Toxoplasma* infections during pregnancy in the same age group could be lower than in non-pregnant women. This effect might be partly compensated by an opposite bias, as pregnancy has been shown to be a risk factor for *Toxoplasma* infection in an epidemiological study from Brazil [25]. The authors assumed changes in lymphocyte functions during late pregnancy, which led to some level of immunosuppression towards protozoal infections and to explain this increased susceptibility. As late stages of pregnancy were underrepresented in our study due to the poor adherence to the screening scheme, changes in immunity might not play a major role. Overall, we conclude that estimating incidence from age-specific prevalence might not provide valid results for the true incidence.

The interval censored regression directly assessing incidence during pregnancy, appears to be the most appropriate approach to estimate the true incidence. However, the method is based directly on the rare event of acute infections and is therefore more affected by an imperfect specificity of testing. Interval censored regression depended on clear cut IIFT tests distinguishing seronegative from seropositive results and on IgM and avidity test results. We identified the following information regarding test characteristics: in the laboratory of analyse Biolab GmbH, 1,039 sera tested by IIFT were compared to the AxSYM and ARCHITECT test kits for anti-*Toxoplasma gondii*-IgG (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois), with two investigators reading the IIFT. Sensitivity and specificity were 99.7% and 97.2% for the first investigator and 96.8% and 99.4% for the second investigator for AxSYM, and 99.7% and 98.3%/96.6% and 99.2% for ARCHITECT, respectively [Auten-gruber E, Linz 2008, unpublished bachelor's thesis]. According to the manufacturer's product information regarding sera from pregnant women, sensitivity of VIDAS IgM is 96.0% (95% confidence interval: 91.4-98.2%) and 100% of pregnant women with an acute infection not more than 4 months old show a low IgG antibody avidity (95% confidence interval: 98.1-100.0%).

False positive results can be ruled out in the subsequent avidity testing, while false negative tests escape further diagnostics. Fortunately, sensitivity is particularly high, resulting in a marginal underestimation only. However, there is a potential mechanism which could cause a more substantial underestimation: using only times between tests during pregnancy excludes early pregnancy in which women might not be aware of being pregnant and thus be less careful in avoiding the exposure to toxoplasmosis. The contribution of this mechanism depends on the fraction of unplanned pregnancies and consciousness in avoiding sources of infection during early pregnancy.

Strengths and limitations

The strength of our study is that we were able to analyse more than 84.5% of pregnancies leading to life births in Upper Austria. OÖGKK covers all social classes, the catchment area was clearly defined and only pregnant women were included. In most regions in Austria, screening is performed in several laboratories and it is difficult to assemble their screening data. Analysis of subsequent tests requires personal identifiers and exchange of this information between several institutes is complicated by personal data protection requirements. The use of routine data on toxoplasmosis testing in most other countries in the world (including the USA) is hampered by the fact that usually only privileged groups have access to screening.

Due to the missing information on parity, we could not provide separate estimates by parity. As seroprevalence increases with age, rates are also typically lower in primipara than in multipara. Unfortunately, we did not have any information about the gestational week at the time of infection. This information is important if complications of the infection should be studied. However, it is beyond the scope of this analysis to provide information about maternal-foetal transmission rates and the rate of children with clinical sequels in cases of congenital toxoplasmosis. Various studies gave heterogeneous information about these rates and were questioned with regard to their data quality [18,26].

We did not have information to study individual risk factors affecting incidence beyond place of residence. In an earlier analysis using the same data, a seasonal trend with a slight increase of diagnoses in winter (probably reflecting more infections in the fall) has been described [27,28].

Another problem is the clear allocation of patients to the study period. A pregnancy with several serological checks is not a time point but a time span. We used the last examination per pregnancy to decide on its allocation. In addition, we investigated a large, eight-year

study period to reduce the number of pregnancies crossing the start or the end of the study period.

Conclusions

Using statistical models, we estimated the incidence of maternal *Toxoplasma* primoinfections in pregnancy in Upper Austria, 2000 - 2007. All approaches to determine the incidence of *Toxoplasma* infections in pregnancy suffered from limitations. We consider the proportion of observed certain cases only (0.07%) the low bound and the estimate based on age-specific seroprevalence (0.5%) the high bound, and propose the interval censored regression model (0.17%) as the best estimate.

Acknowledgements

We thank analyse BioLab GmbH (head: Petra Apfalter), Linz, Austria, for kindly providing data for this study and the staff of the serology unit for their work.

Author details

¹Department of Public Health Medicine, School of Public Health, University of Bielefeld, P.O. Box 10 01 31, D-33501 Bielefeld, Germany. ²analyse BioLab GmbH, Eisenhandstr. 4-6, A-4020 Linz, Austria. ³Institute of Hygiene and Mikrobiologie, Lower Austria State Hospital of St. Pölten-Lilienfeld, Probst-Führer-Str. 4, A-3100 St. Pölten, Austria. ⁴Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine, Achterstr. 30, D-28359 Bremen, Germany.

Authors' contributions

All authors contributed to the design of the study and prepared and approved the final manuscript. US and AK conceived of the study. US prepared and anonymised the data for investigation. US and RTM performed the statistical analysis.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 1 June 2011 Accepted: 14 December 2011

Published: 14 December 2011

References

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G: *Toxoplasmosis*. In *Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant*. 6 edition. Edited by: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006:947-1091.
2. Montoya JG, Liesenfeld O: *Toxoplasmosis*. *Lancet* 2004, **363**:1965-1976.
3. Havelaar AH, Kemmeren JM, Kortbeek LM: *Disease burden of congenital Toxoplasmosis*. *Clin Infect Dis* 2007, **44**:1467-1474.
4. Aspöck H, Pollak A: *Prevention of prenatal toxoplasmosis by serological screening of pregnant women in Austria*. *Scand J Infect Dis Suppl* 1992, **84**:32-38.
5. Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R, the Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis study group: *Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data*. *Lancet* 2007, **369**:115-122.
6. Bénard A, Petersen E, Salamon R, Chêne G, Gilbert R, Salmi LR, et al: *The European toxo prevention study group: survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis*. *Eurosurveill* 2008, **13**(15)[http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18834], pii = 18834. [cited 2010 Aug 7].
7. Pappas G, Roussofs N, Falagas ME: *Toxoplasmosis snapshots: global status of Toxoplasma gondii seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis*. *Int J Parasitol* 2009, **39**:1385-1394.
8. Prusa AR, Hayde M, Gerstl N, Pollak A: *Infection with Toxoplasma gondii during pregnancy [in German]*. *Gynäkologische Praxis* 2005, **29**:41-44.

9. Statistik Austria: NUTS-Einheiten. 2010 [http://www.statistik.at/web_de/statistiken/regionales/regionale_gliederungen/nuts_einheiten/index.html], [cited 2010 Aug].
10. Nowakowska D, Stray-Petersen B, Śpiewak E, Sobala W, Małafiej E, Wilczyński J: **Prevalence and estimated incidence of *Toxoplasma* infection among pregnant women in Poland: a decreasing trend in the younger population.** *Clin Microbiol Infect* 2006, **12**:913-917.
11. Griffin J: **INTCENS: stata module to perform interval-censored survival analysis.** 2005 [<http://ideas.repec.org/c/boc/bocode/s453501.html>], [cited 2010 Aug 7].
12. Sensini A: ***Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis.** *Clin Microbiol Infect* 2006, **12**:504-512.
13. Statistik Austria: **Statistiken Bevölkerung.** 2010 [http://www.statistik.at/web_de/statistiken/bevoelkerung/index.html], [cited 2010 Aug 7].
14. Pass C: **Inanspruchnahme des Mutter-Kind-Passes. Ein Beispiel für die Wechselwirkung zwischen sozialer Lage und Gesundheit?** *Schriftenreihe Gesundheitswissenschaften* Linz: Oberösterreichische Gebietskrankenkasse; 2001, [German: Utilization of the Mother-Child-Booklet. An example for the interaction of social condition and health?].
15. Cornu C, Bissery A, Malbos C, Garwig R, Cocherel C, Ecochard R, et al: **Factors affecting the adherence to an antenatal screening programme: an experience with toxoplasmosis screening in France.** *Eurosurveill* 2009, **14**(9)[<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19137>], pii = 19137. [cited 2010 Aug 7].
16. Meroni V, Genco F, Tinelli C, Lanzarini P, Bollani L, Stronati M, et al: **Spiramycin treatment of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women impairs the production and the avidity maturation of *T. gondii*-specific immunoglobulin G Antibodies.** *Clin Vaccine Immunol* 2009, **16**:1517-1520.
17. Giesecke J: *Modern Infectious Disease Epidemiology* London: Arnold; 2002.
18. Bénard A, Salmi LR, Mouillet E, the European Toxo Prevention Study Group: **Systematic review on the burden of congenital toxoplasmosis in Europe.** 2005 [<http://eurotoxosped.u-bordeaux2.fr/>], [Unpublished report]. Bordeaux (France), [cited 2010 Aug 7].
19. Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brézin AP, Thulliez P, Toxosurv network and National Reference Centre for Toxoplasmosis, et al: **Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system.** *Eurosurveill* 2010, **15**(25)[<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19600>], pii = 19600. [cited 2010 Aug 7].
20. Hohenauer L, Nagl F, Vutuc Ch: **Serologische Untersuchungen zum Mutter Kind Pass.** [German: Serological examinations for Mother-Child-Booklet]. *Mitteilungen der Sanitätsverwaltung* 1999, **6**:8-12.
21. Hayde M, Prusa AR, Gratzl R, Pollak A: **Kommentar zur Publikation „Serologische Untersuchungen zum Mutter Kind Pass“ von Hohenauer et al.** *Mitteilungen der Sanitätsverwaltung* 1999, **9**:9-12, [German] [Commentary to publication "Serological examinations for Mother-Child-Booklet" by Hohenauer et al.].
22. Edelhofer R, Prossinger H: **Infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy: seroepidemiological studies in Austria.** *Zoonoses Public Hlth* 2010, **57**:18-26.
23. Hofhuis A, van Pelt W, van Dunyhoven YTHP, Nijhuis CDM, Mollema L, van der Klis FRM, Havelaar AH, Kortbeek LM: **Decreased prevalence and age-specific risk factors for *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in The Netherlands between 1995/1996 and 2006/2007.** *Epidemiol Infect* 2011, **139**:530-538.
24. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al: **The European research network on congenital Toxoplasmosis: sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control-study.** *BMJ* 2000, **321**:142-147.
25. Avelino MM, Campos D Jr, do Carmo Barbosa de Parada J, et al: **Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion.** *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003, **108**:19-24.
26. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R: **Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling.** *Lancet* 1999, **353**:1829-1833.
27. Logar J, Šoba B, Premru-Sršen T, Novak-Antolič Ž: **Seasonal variations in acute toxoplasmosis in pregnant women in Slovenia.** *Clin Microbiol Infect* 2005, **11**:834-855.
28. Sagel U, Mikolajczyk R, Krämer A: **Seasonal trends in acute toxoplasmosis in pregnancy in the federal state of upper Austria.** *Clin Microbiol Infect* 2010, **16**:515-517.

Pre-publication history

The pre-publication history for this paper can be accessed here:
<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/11/348/prepub>

doi:10.1186/1471-2334-11-348

Cite this article as: Sagel et al: Incidence of maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy in Upper Austria, 2000-2007. *BMC Infectious Diseases* 2011 **11**:348.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



CORRESPONDENCE

Open Access

“Blind periods” in screening for toxoplasmosis in pregnancy in Austria – a debate

Ulrich Sagel^{1,2,3}, Alexander Krämer¹ and Rafael T Mikolajczyk^{1,4*}

Abstract

Recent studies from Austria, France and Italy have shown that there is a poor adherence to the screening scheme for maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy demonstrated by the fact that many recommended examinations are missed. This leads to undetected infections and limits our knowledge of incidence of the disease. We discuss the negative consequences of this situation on research on treatment effectiveness and the outcomes of congenital toxoplasmosis. The responsible public health institutions should assume responsibility for appropriate surveillance of the screening programme and take measures to improve screening adherence during pregnancy. Screening should start as early as possible in pregnancy and the latest test should be done at delivery. Screening schedule should allow distinguishing infections from the first, second and third trimester of pregnancy, as the risk of materno-foetal transmission and outcomes in case of foetal infections varies by time.

Background

Few conditions in medicine are more tragic than life-long disabilities in children already acquired in pregnancy, like in congenital toxoplasmosis [1]. Some countries, most notably France and Austria, have engaged in preventive programmes to fight this disease: These countries were the first to implement population-wide, free of cost prenatal screening programmes more than three decades ago [2-4]. The idea of this approach is an early detection of maternal infection in pregnancy to implement the treatment as early as possible. Prenatal screening must be clearly distinguished from neonatal screening even if screening and treatment of newborns have beneficial effects on the course of disease [5].

Given the long-lasting experience of prenatal screening in France and Austria, there is comparably little epidemiological information from these countries about the incidence of maternal infections. Not only epidemiological research is hampered, but also the information is lacking to assess the diagnostic performance of these programmes. As stated in a recent review on the

epidemiology of toxoplasmosis in pregnancy: “The prime example of minimal available data is France, ...” [6]. Without doubt, this statement holds true for Austria as well. Interestingly, both countries did not complement their screening activities with appropriate surveillance systems for congenital toxoplasmosis for about three decades until at least France introduced mandatory reporting in May 2007 [2].

This situation is disappointing as the treatment concept has been questioned a few years ago. Despite earlier promising findings [4,7], more recent multi-centre observational studies failed to confirm the effectiveness of treatment provided during pregnancy [8-11]. In the context of these discussions, Denmark and Switzerland have stopped their nationwide screening programs for toxoplasmosis [12-14]. Although definitive answers on treatment effectiveness can only be obtained from randomized controlled studies [15], most recent publications provide arguments in favour of treatment effectiveness [16-19]. It must be kept in mind regarding the mentioned multi-centre studies that they cannot refute the effectiveness of treatment, as a failure to reject the null hypothesis does not mean that the alternative hypothesis must be false. More importantly, many potential biases of these studies which could disguise true effects have been discussed [20].

Why is it so difficult to determine the incidence of maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy in a

* Correspondence: miko@bips.uni-bremen.de

¹Department of Public Health Medicine, School of Public Health, University of Bielefeld, P.O. Box 10 01 31, Bielefeld D-33501, Germany

⁴Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine, Achterstr 30, Bremen D-28359, Germany

Full list of author information is available at the end of the article

country with a long-standing screening tradition? We discuss problems encountered in the analysis of screening data from Austria.

Discussion

We recently reported in this journal a study to determine the incidence of maternal toxoplasmosis [21]. Our analysis was based on data from the federal state of Upper Austria for the time period 2000 to 2007. Based on these experiences, we formulate some general requirements for a database from serological laboratories which would allow assessing the seroprevalence and incidence of primoinfections in pregnancy:

1. a defined catchment area
2. a defined study period (taking into consideration that pregnancy is a time period)
3. unique personal identifiers
4. age of the tested person (because of age dependency of seroprevalence!)
5. information about rural or urban residence
6. information about social status (if probability to be included into the study might depend on social factors as it can be the case for immigrants)
7. appropriate serological screening techniques
8. confirmatory testing from reference laboratory if infection is suspected by screening methods
9. standard specimen sampling scheme
10. information about gestational week and parity
11. first test as soon as possible in early pregnancy
12. latest test conducted at birth

Fortunately, the retrospectively available data from Upper Austria fulfilled many of these requirements: Using data from a single laboratory, we had access not to all but most of pregnant women of this federal state and to their personal identifiers. In contrast, there would be problems in other settings in Austria, as in many federal states several laboratories conduct screening for toxoplasmosis and data exchange is difficult due to the strict data protection regulations. Information on social factors was less important, as the study population was from all social classes. The diagnostic techniques were almost identical (single laboratory) and unchanged during the study period (indirect immunofluorescent test was replaced by another immunoassay in 2008, i.e. after the end of the study period).

A severe problem was the poor compliance with the screening scheme: Only about 30% of seronegative pregnant women had all three or more recommended tests. Apparently, this problem is not restricted to Upper Austria: A recent study from a region in south-east France reported that only 40% of seronegative pregnant women had all seven or more screening tests according

to the French scheme [22]. According to the authors, this was the first study to evaluate the compliance with the screening scheme in France. From northern Italy, adherence of less than 35% with recommended five or more screening tests was reported [23]. With regard to Austria, we are not aware of previous studies that addressed this problem.

We believe that predominantly tests in the late pregnancy were neglected in Austria: The general prenatal care programme (mother child pass, issued by Austrian Ministry of Health) schedules routine blood sampling before the 16th gestational week (erythrocyte count, haemoglobin, blood group, Rhesus factor, serology for rubella immunity, *Treponema pallidum* and *Toxoplasma gondii*) and between the 25th to 28th gestational weeks (erythrocyte count, haemoglobin, Hepatitis B surface antigen and *Toxoplasma gondii*) if the woman was seronegative in the previous test. There is some small space to record additional blood tests in the prenatal care booklet for additional tests on toxoplasmosis, but it must be remembered by the gynaecologist if (previous tests seronegative) and when (recommendation: 8th gestational month) to do so. Based on the analysis, we assume that many seronegative pregnancies had no further serological testing for *Toxoplasma* infection beyond the 28th gestational week (except for some hospitals voluntarily testing at delivery, but these results are not accessible for data analysis). As our dataset did not contain information about the gestational week, we could not check this hypothesis. As a result of missing tests in the late pregnancy, large periods between the corresponding latest examinations and births remained "blind" i.e. it was not known whether infections occurred. These periods were under risk for congenital toxoplasmosis and a recent study emphasised the importance of infections in late pregnancy and of testing at delivery [24].

With long time periods without a diagnostic test ("blind periods"), it is impossible to calculate incidence from observed data only. We used two different regression models to estimate incidence and considered their limitations and biases. The estimates showed that incidence calculated from laboratory results of proven infections only suffered from severe underreporting.

In 1992, the leading Austrian toxoplasmosis experts H. Aspöck and A. Pollak presented rates of suspected infections from 1981 to 1991 referred to routine examinations from their laboratories [4]. "... in 0.68% a primary infection during pregnancy was suspected, and in 0.32% already at the first test." Noteworthy, about half of suspected infections were made at the first test. Usually the first test is made early in the first trimester and we would expect no more than about a third of all infections to occur in this period. Probably the problem of

poor compliance with screening in the late pregnancy already existed in the 1980's. This view is supported by the authors' uncommented postulate [4]: "Close observation of the recommended time-table for blood sampling and the testing criteria."

"Blind periods" at the end of pregnancy unfortunately miss those infections that are easy to diagnose, while suspected infections in the first test in pregnancy are difficult to confirm even by reference laboratories [25]. In contrast, seroconversions during pregnancy are easily determined if women were seronegative in early pregnancy. With regard to the diagnostic difficulties with suspected infections in the first test, it is important to do the first test as early as possible in pregnancy to keep the diagnostically difficult period from conception until the first test short.

"Blind periods" produce further problems: *Toxoplasma* infections are dangerous during any time in pregnancy, but the risks of transmission to the foetus and the resulting clinical affections differ from trimester to trimester [26]. Any analysis of outcomes of congenital toxoplasmosis will be limited, if some periods of pregnancy are underrepresented in assessment of infections.

Chêne and Thiébaud [27] explained the need for new treatment trials and estimated that about 260 – 350 acute infections, for example, in the second or third trimester of pregnancy have to be included per arm for a reasonable comparison of prenatal treatment with pyrimethamine-sulphadiazine to spiramycine. The authors also suggested a less demanding, placebo-controlled study, but in our view, placebo controlled study is not possible for ethical reasons. The Federal State of Upper Austria with a total population of 1.4 million inhabitants (= 1/6 of the Austrian population), could theoretically contribute about 118 – 196 cases of acute infection within an eight-year period for treatment trials, if incidence remains stable and if all infections were detected and included in the study.

In 2010, a multicentre study of 293 cases of congenital toxoplasmosis collected from six European countries investigated treatment effects on development of serious neurological sequelae [19]. The authors want their results to "be interpreted with caution because of the low number of ... cases and uncertainty about the timing of maternal seroconversion." Again, this attempt underlines the need to improve adherence to appropriate screening intervals and documentation of gestational week when screening test is conducted.

What has to be done? Austrian public health decision makers should assume responsibility for their prenatal toxoplasmosis screening program. Its performance should be assured by an appropriate epidemiological surveillance. Therefore, necessary information should be provided by prenatal care doctors, collected in electronic

data sets and evaluated by public health epidemiologists. Doctors who miss recommended examinations should receive a reminder in order to improve their testing adherence.

In addition, the screening scheme should be modified to provide optimum coverage of the entire pregnancy from the very first visit of the pregnant woman in a prenatal care facility until birth. Screening intervals should at least distinguish the three trimesters of pregnancy. Keeping the gap between infection and diagnosis/treatment close, shorter intervals have been proposed [28], however economical analyses are needed to assess the cost-effectiveness of the added value of more frequent testing.

Any further research on follow-up in congenital toxoplasmosis and on efficacy of prenatal treatment would improve with complete registration of prenatal *Toxoplasma* infections given that the disease of interest is rare and that risks and outcomes of infection differ by the trimester of pregnancy.

Summary

"Blind periods" in prenatal screening of *Toxoplasma* infections lead to missed infections and limit our knowledge of their incidence. This compromises research on treatment effectiveness and outcomes of congenital toxoplasmosis. "Blind periods" can be avoided by appropriate surveillance of the screening programme. For optimum evaluation, a minimum of electronically recorded data about the serological tests including gestational week, parity and unique personal identifiers are needed.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

All authors contributed to literature search and prepared and approved the final manuscript. US prepared the first draft of the manuscript.

Authors' information

US is a medical microbiologist and epidemiologist and has been head of the serology unit of analyse BioLab GmbH (head: Petra Apfalter), Linz, Austria, from January 2007 to March 2009. AK is professor of public health medicine at School of Public Health, Bielefeld, Germany. RTM is clinical epidemiologist with the Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine.

Acknowledgements

The authors declare that they have not received any funding.

Author details

¹Department of Public Health Medicine, School of Public Health, University of Bielefeld, P.O. Box 10 01 31, Bielefeld D-33501, Germany. ²Analyse BioLab GmbH, Eisenhandstr 4-6, Linz A-4020, Austria. ³Institute of Hygiene and Mikrobiologie, Lower Austria State Hospital of St. Pölten-Lilienfeld, Probst-Führer-Str. 4, St. Pölten A-3100, Austria. ⁴Bremen Institute for Prevention Research and Social Medicine, Achterstr 30, Bremen D-28359, Germany.

Received: 6 December 2011 Accepted: 1 May 2012

Published: 16 May 2012

References

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G: **Toxoplasmosis**. In *Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant*. 6th edition. Edited by Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006:947–1091.
2. Bénard A, Petersen E, Salomon R, Chêne G, Gilbert R, Salmi LR, et al: **The European Toxo Prevention Study Group: Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis**. *Eurosurveill* 2008, **13**(15):pii=18834 [cited 2010 Aug 7. http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18834].
3. Leroy V, Raeber P-A, Petersen E, The European Toxo Prevention Study Group: **National public health policies and routines programs to prevent congenital Toxoplasmosis [Unpublished report]**. Bordeaux (France). 2005, [cited 2010 Aug 7 http://eurotoxosped.u-bordeaux2.fr/].
4. Aspöck H, Pollak A: **Prevention of Prenatal Toxoplasmosis by Serological Screening of Pregnant Women in Austria**. *Scand J Infect Dis* 1992, (Suppl84):32–38.
5. Petersen E, Remmer Schmidt D: **Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: what are the options?** *Expert Rev Anti-infect Ther* 2003, **1**:175–182.
6. Pappas G, Rousson N, Falagas ME: **Toxoplasmosis snapshots: Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis**. *Int J Parasitol* 2009, **39**:1385–1394.
7. Mombrò M, Perathoner C, Leone A, et al: **Congenital toxoplasmosis: 10-year follow up**. *Eur J Pediatr* 1995, **154**:635–639.
8. Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R, Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis study group: **Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data**. *Lancet* 2007, **369**:115–122.
9. Gras L, Wallon M, Pollak A, Cortina-Borja M, Evengard B, Hayde M, European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis study group, et al: **Association between prenatal treatment and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis in infancy: a cohort study in 13 European centres**. *Acta Paediatr* 2005, **94**:1721–1731.
10. Gilbert R, Gras L, European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis study group: **Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii***. *Br J Obstet Gynaecol* 2003, **110**:112–120.
11. Gilbert R, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, Dunn DT: **Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France**. *Int J Epidemiol* 2001, **30**:1303–1308.
12. Schmidt DR, Hogh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, Petersen E: **The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999–2003**. *Arch Dis Child* 2006, **91**:661–665.
13. Rudin C, Boubaker K, Raeber PA, et al: **Toxoplasmosis during pregnancy and infancy. A new approach for Switzerland**. *Swiss Med Wkly* 2008, **138** (Suppl168):1–8 [cited 2010 Aug 7. http://www.smw.ch/docs/PdfContent/smw-12781.pdf].
14. Martinelli P, Agangi A, Maruotti G: **Screening for toxoplasmosis in pregnancy**. *Lancet* 2007, **369**:823–824.
15. Gilbert R: **Treatment for congenital toxoplasmosis: finding out what works**. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009, **104**:305–311.
16. Kieffer F, Wallon M, Garcia P, Thulliez P, Peyron F, Franck J: **Risk factors for retinochorioiditis during the first 2 years of life in infants with treated toxoplasmosis**. *Pediatr Infect Dis J* 2008, **27**:27–32.
17. Montoya JG, Remington JS: **Management of *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy**. *Clin Infect Dis* 2008, **47**:554–566.
18. McLeod R, Kieffer F, Sautter M, Hosten T, Pelloux H: **Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis?** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009, **104**:320–344.
19. Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, et al: **Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study**. *PLoS Med* 2010, **7**:e1000351 [cited 2011 Sep 30. http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1000351].
20. Thiébaud R, Leroy V, Alioum A, et al: **Biases in observational studies of the effect of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis**. *Eur J Obstet Gynecol* 2006, **124**:3–9.
21. Sagel U, Krämer A, Mikolajczyk RT: **Incidence of maternal *Toxoplasma* infection in pregnancy in Upper Austria, 2000–2007**. *BMC Infect Dis* 2011, **11**:348 [cited 2012 May 4. http://www.biomedcentral.com/1471-2334/11/348].
22. Cornu C, Bissery A, Malbos C, Garwig R, Cocherel C, Ecochard R, et al: **Factors affecting the adherence to an antenatal screening programme: an experience with toxoplasmosis screening in France**. *Eurosurveill* 2009, **14**(9):pii=19137 [2010 Aug 7 http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19137].
23. De Paschale M, Agrappi C, Manco MT, Cerulli T, Clerici P: **Implementation of Screening for *Toxoplasma gondii* in Pregnancy**. *J Clin Med Research* 2010, **2**:112–116.
24. Lago EG, Carvalho RL, Jungblut R, et al: **Screening for *Toxoplasma gondii* antibodies in 2,513 consecutive parturient women and evaluation of newborn infants at risk for congenital toxoplasmosis**. *Sci Med* 2009, **19**:27–34 [cited 2011 Sep 27. http://revistas.eletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientificmedica/article/view/5004/5074].
25. Sensini A: ***Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis**. *Clin Microbiol Infect* 2006, **12**:504–512.
26. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R: **Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling**. *Lancet* 1999, **353**:1829–1833.
27. Chêne G, Thiébaud R: **Options for clinical trials of pre and post-natal treatments for congenital toxoplasmosis**. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009, **104**:299–304.
28. Prusa AR, Hayde M, Gerstl N, Pollak A: **Infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy [German]**. *Gynäkologische Praxis* 2005, **29**:41–44.

doi:10.1186/1471-2334-12-118

Cite this article as: Sagel et al.: "Blind periods" in screening for toxoplasmosis in pregnancy in Austria – a debate. *BMC Infectious Diseases* 2012 12:118.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Screening of Maternal Toxoplasmosis in Pregnancy: Laboratory Diagnostics from the Perspective of Public Health Requirements

Sagel U^{1,2*} and Krämer A¹

¹Department of Public Health Medicine, School of Public Health, University of Bielefeld, P.O. Box 10 01 31, D-33501 Bielefeld, Germany

²Institute of Hygiene and Microbiology, Lower Austria State Hospital of St. Pölten-Lilienfeld, Propst-Führer-Str. 4, A-3100 St. Pölten, Austria

Abstract

Serological screening for maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy has been questioned recently. We analyze some diagnostic difficulties for routine laboratories, poor public health guidance of existing screening programs, and their mutual worsening impact on the efficacy of the programs and on toxoplasmosis research. False positive screening tests may be more likely than true maternal *Toxoplasma* infections and diagnosis often depends on confirmatory testing in experienced reference laboratories. Apart from clear seroconversions, any marker to assign the time point of infection to the ongoing pregnancy (IgM, IgG avidity, etc.) suffers from important limitations. With poor screening compliance, many screening alerts come from first serum samples in pregnancy that are cumbersome to test, while seroconversions are seldom observed due to missing follow-up samples in late pregnancy. From a public health perspective, inadequate epidemiological assessment and research, insufficient quality control for compliance and little consideration of diagnostic peculiarities for the design of more effective preventive programs has resulted in poor performance. These shortcomings have contributed to the present doubts about preventive *Toxoplasma* screening in pregnancy. We recommend that a team of public health decision makers, epidemiologists and experts from toxoplasmosis reference laboratories reevaluates the existing activities in a given country to build up a well-designed preventive program that avoids these drawbacks.

Keywords: Screening; toxoplasmosis; pregnancy; *Toxoplasma* infections

Introduction

For more than three decades, mother-child care programs have included screening for *Toxoplasma* infections in pregnancy by means of laboratory tests from blood samples in some countries (esp. Austria and France) [1-3]. Recently, despite much international research, the efficiency of this approach in preventing toxoplasmosis in the fetus has been questioned, more on the ground of inconclusive data than on convincing study results [4-8].

We will discuss here how poor public health guidance on laboratory screening has contributed to this unfortunate development and how to improve the existing programs, e.g. in Austria. Emphasis is placed on particular aspects of the routine laboratory in this process, while reference testing and management of prenatal toxoplasmosis is dealt with only briefly. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis will not be discussed here, as recent research suggests that, aside from general doubts about treatment efficacy, an early treatment in pregnancy is the most promising approach [4,9].

Toxoplasmosis in Pregnancy

Toxoplasmosis is a protozoan disease caused by *Toxoplasma gondii*. Cats are the definitive hosts, shedding oocysts that become infective a few days later. Many animals may be infected to become intermediate hosts, carrying infective cysts in various organs including muscles. Closing the cycle, cats typically become infected when eating rodents that contain cysts. Humans acquire infection from ripe oocysts or eating meat from infected animals (e.g. pork). In immunocompetent persons and pregnant women, infection rarely produces symptoms (like lymphadenitis). Within a few weeks, infection is limited to a few cysts followed by life-long specific immunity unless hampered by severe immunodeficiency (e.g. cancer, AIDS).

Women who are infected for the first time in their life by the parasite ("primoinfection") lack protective immunity. In these cases,

Toxoplasma gondii may cross the placental border and infect the fetus. Depending on the gestational week, infection may cause, to various probabilities, different afflictions of the central nervous system, such as hydrocephalus, intracranial calcifications and retinochorioiditis leading to life-long disabilities in children. Often, congenital toxoplasmosis is asymptomatic at birth and sequels may appear later in life [10] leading to underreporting if the outcome is only studied at delivery.

Havelaar et al. [11] compared the public health impact of congenital toxoplasmosis to salmonellosis as another important zoonotic disease. Although the latter is much more frequent in the general population of the Netherlands, the burden of disease of both conditions has been calculated to be similar. This is due to severe and long-lasting sequels in patients suffering from congenital toxoplasmosis [11].

In women who have already had *Toxoplasma* infection before pregnancy, immunity usually prevents access of the pathogen to the fetus, and it is regarded as protective. Therefore, preventive efforts focus on seronegative women who can be clearly distinguished from "immune" women, who will remain seropositive throughout their child-bearing lives.

Folic acid antagonists have proved to be an effective treatment in primoinfections and recurrences of immunocompromised patients.

***Corresponding author:** Dr. Ulrich Sagel, Institute for Hygiene and Microbiology, Regional Hospital St. Pölten-Lilienfeld, Propst-Führer-Str. 4, A-3100 St. Pölten, Austria, Tel: ++43-2742-300-13223; E-mail: ulrich.sagel@stpoelten.lknoe.at

Received October 18, 2012; **Accepted** January 25, 2013; **Published** February 10, 2013

Citation: Sagel U, Krämer A (2013) Screening of Maternal Toxoplasmosis in Pregnancy: Laboratory Diagnostics from the Perspective of Public Health Requirements. J Bacteriol Parasitol S5-003. doi:10.4172/2155-9597.S5-003

Copyright: © 2013 Sagel U, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Therefore, and from personal experience, toxoplasmosis experts believed for some decades that early treatment of maternal infections in pregnancy prevented or cured transmission and adverse sequels in the fetus. But early treatment requires serological screening as the vast majority of maternal infections go clinically unperceived [12-14].

Prevention of toxoplasmosis by mother-child care programs

In about 1975, Austria was the first country, soon to be followed by France, to introduce a free population-wide screening for primoinfections into its general mother-child care program. A few other countries joined this approach later (e.g., some regions of Italy and Slovenia). Denmark restricted its program to newborn screening of specific IgM antibodies in cord blood, believing that late treatment would still be beneficial for the offspring [15]. In many European countries, there is some kind of “wild screening”, i.e., screening is neither recommended on a national level nor free for all women, but due to the advocacy of scientific associations or even official institutions, it is widely practiced [2].

Recently, large European multicenter studies have questioned the effectiveness of preventive treatment of maternal infections in pregnancy [4-7]. Due to this news, many public health authorities and health care payment providers have withdrawn their support for screening (e.g., Denmark stopped its neonatal screening in 2007 [1] and Switzerland even voted against voluntary screening except for a surveillance project in the Basel region in 2008 [16]). Nonetheless, many limitations and biases of these studies have been discussed [8] and many toxoplasmosis experts propose important arguments in favor of the treatment concept [9,13,17-19]. At present, further high quality studies are urgently needed to clarify the issue of treatment effectiveness [20].

Laboratory tests for screening and confirmation of maternal *Toxoplasma* infections

Screening tests and algorithm: Screening for maternal *Toxoplasma* primoinfections in pregnancy relies on the serological testing of blood samples to detect primoinfections. The first test used was Sabin-Feldman's dye test in the 1970s, but this was soon replaced by the less laborious and cheaper indirect immunofluorescence test (IIFT). Both tests are capable of detecting *Toxoplasma*-specific antibodies from all immunoglobulin classes (or at least IgG, IgM and IgA).

If test results were negative, in Austria the test was performed once per trimester [3], while France recommended monthly testing throughout pregnancy [10]. Positive results in following tests hinted at primoinfection (seroconversion). If the result was positive for the first test in the first trimester, a sample taken 14 days later was required to check for significant titer rise. If the titer remained stable and if tests for specific IgM were negative, immunity and no future risk was assumed. In the case of significant titer rise and/or detection of specific IgM antibodies, acute infection was considered possible and aid from a reference laboratory was required.

Enzyme-linked immunoassays (EIA) improved mass screening, as these tests can be fully automated to reduce the cost of trained laboratory personnel. From an economic point of view, laboratories now faced the disadvantage that most tests are designed to test the immunoglobulin classes separately. Instead of one “catch-all” IIFT test, for most EIAs at least two tests-for IgG and IgM-were needed to rule out acute infection in seronegative persons. In many countries, the majority of pregnant women are seronegative (e.g. nearly 70% in Austria [21]). These women

need several checks during pregnancy. This requirement may have a decisive impact on the cost of a screening program.

Although IgM-antibodies appear first in acute infections (about 1-2 weeks after infection), production of detectable levels of IgG antibodies will follow soon (within 4 weeks of infection), but some individual variation must be taken into account [22]. Some laboratories decide to test only for *Toxoplasma*-IgG, unless a positive test leads to additional testing of IgM to rule out acute infection. The diagnostic loss due to the small time frame between the production of IgM and IgG antibodies must be balanced against time loss due to large screening intervals: e.g., the effectiveness of testing IgG monthly may be comparable to testing IgG and IgM every two months. Only particular IgG tests are suitable for laboratories with a first line IgG screening: e.g., IgG antibodies appear earlier in the AxSYM Toxo-IgG tests compared to the Access Toxo-IgG tests in such a way that a ratio taken from both tests helps to distinguish early from late infection [23].

Seroconversion: Routine laboratories can make quite a safe diagnosis of maternal primoinfection in pregnancy even without the aid of a reference laboratory, if the first screening test was clearly negative and a consecutive sample from the same pregnancy yields a clear positive result with high IgG antibody levels (corresponding to IIFT titer levels >1:64). In line with this result, the laboratory should expect IgM to be positive and IgG avidity to be low. Afterwards, a significant IgG titer rise supports the diagnosis, if high antibody levels have not been reached at the first seropositive test. If IgM is positive but IgG is negative (suggestive of very recent infection), seroconversion to IgG antibodies must be demonstrated in a further sample taken two weeks later. In rare instances, false negative IgM results in some commercially available tests in confirmed seroconversions have been reported [24-26].

Confusion and errors might occur if several laboratories were engaged in screening the same person. Results may not be comparable. The same problem will appear if a laboratory changes its tests (e.g. to test kits from another producer). In addition, results close to borderline zones should be interpreted with care, as seropositive may not be safely distinguished from seronegative, especially with manually read tests like the IIFT. Although EIA tests are not affected by subjective readings, they also give some borderline or close-to-borderline results that may produce conflicting results in serial testing. If economic resources allow the freezing of the first serum sample in pregnancy, retesting this sample with different serological tests may secure the diagnosis of seroconversion.

Single serum testing: In general, it takes several weeks for a woman to become aware of pregnancy and present herself to a doctor to participate in a prenatal care program. If the first sample yields a seropositive result, a negative IgM test rules out infection within the immediately preceding three or four months. If not so, high IgG avidity permits us to draw the same conclusion. Some laboratories secure it by checking a second sample taken two weeks later to ensure that the titer remains stable (i.e., a fourfold titer rise or more would not be concordant with the conclusion) as IgM might turn negative even within three months in a few instances [22] or be false-negative [24-26]. Past or preconceptual infection is considered to confer protective immunity throughout childbearing life and no harm to the current pregnancy will be expected.

Confusion may occur due to unspecific signals with the IgG tests [25], but these are very rare. These women, who are probably susceptible, might be excluded from further screening by erroneously

assuming immunity. This problem appears to be negligible compared to the much bigger losses in screening programs due to poor compliance.

If the first test takes place late in pregnancy (>16th gestational week), positive IgG and negative IgM cannot definitively rule out primoinfections in early pregnancy. Then, some part of the pregnancy remains “blind”, i.e., it is not covered by prenatal *Toxoplasma* screening.

Primoinfection will produce positive IgM followed soon by low IgG avidity. Unfortunately, this constellation is not indicative of recent primoinfection as positive IgM and low IgG avidity antibodies persist for more than three months up to one year or even more [25-27]: e.g., in a pregnant woman with these results in the 12th gestational week, she will perhaps be as likely to have a past infection as to have an acute infection within her current pregnancy. If the single serum results are IgM positive and IgG negative, this can be due to unspecific IgM signals in the serological test [25]. In this case, this pattern will persist in later serological checks (rechecked after 7-10 days – or even later as some tests detect IgG late in acute infections) and these women should be judged seronegative.

Confirmatory testing: Doubtful results that suggest possible primoinfection require confirmatory testing in reference laboratories. Suspicious single serum results are always challenging, as serological tests must inform retrospectively whether the time point of infection falls into the ongoing pregnancy or not. In addition to IgM and IgG avidity (to be performed in most routine laboratories), tests for IgA and IgE, differential agglutination AC/HS [13], AxSYM Toxo-IgG/Access Toxo-IgG ratio [23], and time-dependent reactions in a recombinant line assay [28] help to distinguish pre- and postconception infections. Titer kinetics are particularly difficult to study: “Due to the great individual variation, it seems impossible to estimate when the infection occurred based on results obtained from a single serum, and it may even be difficult to assess when a titer increase in paired sera is detectable unless the first sample is only marginally positive [22].” In addition, titer kinetics might be hindered by specific treatment if a decision for immediate intervention has been taken [25].

Maternal primoinfection is an infrequent incident in pregnancy (e.g. <0.5% in Upper Austria [21]) and just for statistical reasons misleading results may be at least as frequent as true infections. Therefore, it is advisable for even experienced laboratories to have all suspicious samples checked in a reference laboratory, even if routine tests were convincing. Nonetheless, in cases of clear seroconversions, a treatment decision should be taken without waiting for confirmation from reference laboratories or further testing of titer kinetics to avoid the possibility that “precious time can be lost in initiating therapeutic treatment to prevent transmission and/or to limit damage to the foetus” [25]. In suspected infections, preliminary treatment should also be considered until confirmatory test results indicate whether to continue or withdraw it.

Reference testing remains cumbersome, especially in single serum testing. In some instances, even reference laboratories will not be able to obtain a conclusive result.

Further management in case of maternal infection: It is beyond the scope of this article to deal with the further medical management of maternal infections in detail. From a public health perspective, it is important to learn that infected pregnant women can be offered antimicrobial treatment to avoid transmission of the pathogen to the fetus and to treat the fetus if already infected. Until the 16th gestational week, only spiramycin can be given. This antimicrobial has the disadvantage that it only prevents transmission. After the 16th [3] or

18th [13] gestational week, folic acid antagonists are another option with a presumed impact on the already infected unborn. Before choosing this treatment, it is possible to explore whether the fetus has already been infected by PCR-testing of amniotic fluid. Unfortunately, due to limited sensitivity, negative PCR results do not rule out congenital infections, especially if treatment with folic acid inhibitors has already been initiated in the mother [13,27].

Assessment of outcomes of maternal and congenital infections is hampered by the fact that sequels due to toxoplasmosis in pregnancy may often not be apparent at birth and may develop late in the course of childhood. Still, more follow-up studies of cases are needed to obtain complete and unbiased information about the outcome of treated and untreated infections [29].

Shortcomings of Current Screening Programs from a Public Health Perspective

As mentioned before, the effectiveness of early treatment in pregnancy has not been proven by placebo-controlled multicenter studies nor do we know for sure that early treatment really does not work despite several decades of practical experience with screening. Today, public health decision-makers tend to drop *Toxoplasma* screening in pregnancy due to its allegedly unproven effectiveness despite long-lasting and intensive experience and research. To the authors, this attitude appears to be somewhat unfair as public health principles have been neglected in the past, especially an appropriate epidemiological assessment of the programs in Austria and France. Not surprisingly, some shortcomings of *Toxoplasma* screening can be explained by this negligence:

Poor epidemiological data

Despite more than three decades of costly population-wide free screening, Austria and France have failed to provide regular (e.g. annual), extensive assessment and reporting on key epidemiological data like seroprevalence, incidence of maternal infections (stratified by gestational week of diagnosis and an estimated time point of infection), incidence of fetal infections (if amniocentesis was performed), treatments, and, most importantly, the clinical outcome in the child in the long run: “The prime example of minimal available data is France...” [30], but at least France introduced some mandatory reporting in May 2007 [1] and reported some first results about congenital toxoplasmosis [10]. Even worse, Austria is still waiting for these first steps in the right direction. Laboratory reporting of mandatorily reportable diseases could be supported by modern information technology and the incidence of proven maternal infections is not too high to implement an epidemiological follow-up service with individual data. Interestingly, in many European countries toxoplasmosis or congenital toxoplasmosis is a notifiable disease [1] despite the fact that the vast majority of cases will go undetected without widespread screening. The development of some kind of “wild screening” underlines the poor and unconvincing public health concepts in many countries. More reasonable is Switzerland’s new approach to at least continue some screening in the Basel region for surveillance purposes [16].

Optimum treatment scheme unclear

Failure to implement an epidemiological follow-up of proven infections means that there is not only very little systematic information on the outcomes but also about optimum treatment, optimum dosage, optimum duration and probability of side effects. Still, there are different treatment recommendations (e.g., four different treatment schemes

were used by the participants in the EMSCOT multicenter study [6]), and more published data on treatment-specific outcomes would help to find the most promising scheme.

“Blind periods”

Recently, we learned that in many regions all the recommended serological checks were completed throughout pregnancy in only 30-40% of pregnant women [21,31-33]. When screening is discontinued too early in pregnancy, infections occurring in the remaining time until birth [25,34] will go undetected by the program (“blind periods”). “Blind periods” not only leave the individual fetus without early treatment, but also lead to underreporting and may even introduce bias into studies: Underreporting mainly affects late pregnancies and in the latest European treatment studies, cases from the first and second trimester were overrepresented [6]. The results of these studies cannot be generalized to the third trimester (due to different probabilities of transmission to the fetus and of occurrence of apparent disease [9,35]). The first epidemiological information from the French surveillance system of congenital toxoplasmosis reports that 59% of cases were notified as late as “in the neonatal and postnatal periods” [10], i.e., at birth or later, despite seven scheduled free serological checks throughout pregnancy.

Screening intervals are too long

Although treatment effectiveness was not supported by the SYROCOT study, it did yield some evidence (OR 0.48, $p=0.05$) that treatment started “within three weeks of seroconversion” reduces the rate of materno-fetal transmission of *Toxoplasma gondii* compared to treatment beginning no earlier than eight weeks later [4]. Recent findings also support this assumption [9]. Some present programs put the main emphasis on early pregnancy and expensive reference testing in doubtful single serum samples; e.g., Austria traditionally recommended only one test per trimester [3], although shorter intervals (maximum eight weeks) were later advocated by Austrian experts [24,36]. Changing the emphasis to late pregnancy with short screening intervals while reducing costs per test (e.g. only IgG) could be the more effective approach, as risk of transmission that might be prevented is higher in late pregnancy. In addition, statistical estimation of the time point of infection (to study seasonality [37] and dependency of intrauterine transmission and outcome of disease by gestational week) is greatly improved with short screening intervals. Unfortunately, many investigators do not pay sufficient attention to the fact that time point of diagnosis does not equal time point of infection!

Late start of screening

The later that screening is initiated in pregnancy, the bigger is the proportional period of pregnancy that goes without the possibility of checking for seroconversion as the most reliable and immediately available marker for maternal primoinfection. If the first sample is taken beyond the 16th gestational week, “blind periods” in early pregnancy will remain for seropositive women with negative IgM and/or high IgG avidity as these tests only rule out acute infection during the immediately preceding three to four months. If confirmatory testing is required (positive IgM and low IgG avidity), the decision becomes harder for a reference laboratory the longer the time span between conception and the first serum sample. Therefore, any screening program must strive for an early first test in pregnancy. For women planning pregnancy (especially those attending *in vitro* fertilization clinics), serum samples should be examined before conception-if possible three months before. If *Toxoplasma* primoinfection is suspected, pregnancy should be withheld for the next six months [27].

Adverse effects of false positive alerts

In practice, there is often a delay of several days or even weeks between suspected primoinfection and definitive diagnosis due to: Mailing of samples to a reference laboratory, some confirmatory tests are not being performed daily in the reference laboratory, control of titer dynamics in second samples are taken about 10-14 days later, and amniocentesis to test for transmission of maternal infection to the fetus. In addition, in unfavorable circumstances, it may be impossible for even a reference laboratory to make a safe, definitive diagnosis. And if maternal infection is proven, a negative PCR from amniocentesis does not rule out infection of the fetus due to limited sensitivity of the test. This may have adverse psychological consequences for the parents due to notable anxiety [29,38]. Most problematic are suspected cases without confirmation of prenatal toxoplasmosis in the long run, because they are affected by the adverse effects of the screening without having any potential benefit. The more intensively screening is performed the more often unspecific positive test results will produce false alerts. In addition, unnecessary amniocentesis or induced termination of pregnancy may result from erroneously suspected infections [38].

Discussion and Recommendations

Today, *Toxoplasma* screening in pregnancy stands at a crossroads in several countries, e.g., Austria is waiting for a decision from its Ministry of Health about whether to discontinue the eldest program that is free for the entire population (personal communication: Prof. Dr. Herbert Auer, Institute of Specific Prophylaxis and Tropical Medicine at the Medical University of Vienna). In the authors’ opinion, poor performance was due to, firstly, the neglect of public health principles and, secondly, inappropriate consideration of specific limitations of laboratory tests:

Firstly: Public health authorities should have provided feasible, quality-controlled structures and processes that promise optimum results (Table 1) e.g., Austria should have installed an epidemiological unit to analyze all necessary epidemiological clue markers, as mentioned above. On behalf of the Ministry of Health, the Austrian Agency of Health and Food Safety (AGES) is commissioned and dedicated to the epidemiology of many zoonotic diseases in general, but interestingly not to toxoplasmosis in pregnancy. Another structural defect is the ambiguous nomination of a central reference laboratory: For many years, two laboratories at the Medical University of Vienna have competed for this function (the *Toxoplasma* Laboratory at the Department of Neonatology and Pediatric Intensive Care at University Children’s Hospital and the Department of Medical Parasitology at the Institute of Specific Prophylaxis and Tropical Medicine). A third structural defect has been poor support to encourage data flow by mandatory reporting. Without legal measures, the strict Austrian personal data protection legislation hinders the forwarding of personal data from the electronic databases of routine laboratories to a central epidemiological unit. To provide optimum processes, close collaboration with routine laboratories that participate in the screening program is necessary. Electronic reminder systems and inclusion in the program of a final screening test at birth clinics should get around the problem of “blind periods”. In addition, efforts should be made to have the first screening test as soon as possible in pregnancy. The efficiency of avoiding “blind periods” should be controlled by analysis of anonymized data sets by the central epidemiological unit. Delays in forwarding blood samples from the attending physician to the routine laboratory and, in cases of suspected infection, from the routine laboratory to the reference laboratory must be kept to a minimum.

Recommendation	Further comments
Implement a central epidemiological unit	<ul style="list-style-type: none"> To inform about seroprevalence and maternal infections To inform about prenatal infections in offspring To inform about treatment and long-term outcomes of prenatal infection To control compliance with the screening schedule
Introduce mandatory reporting of all relevant data to the epidemiological unit	or require informed consent from pregnant women who want to participate in the free prenatal care program to prevent obstacles from personal data protection legislation
Implement a single reference laboratory	
Nominate screening laboratories	<ul style="list-style-type: none"> Able to provide appropriate electronic data records Equipped with appropriate tests Quality controlled by the national reference laboratory Equipped with an electronic reminder system Equipped with facilities to store frozen sera for a minimum of 12 months*)
Include birth clinics (test at delivery!) in the screening program	
Maintain close contact with prenatal care doctors and their representatives to foster adherence to the national screening scheme	
Decide on shortest possible, feasible, and affordable screening intervals	

*) also helpful to confirm prenatal infections from other pathogens like rubella virus, cytomegalovirus, or *Treponema pallidum*.

Table 1: Recommendations for Public Health Decision Makers.

Secondly: Single serum testing is demanding (difficult diagnosis, expensive special test, time consuming). There should be more emphasis on detecting seroconversions, especially in the second and third trimesters, as often a sufficiently safe diagnosis can be made immediately to decide about early treatment to prevent transmission to the fetus. Later confirmatory testing from a reference laboratory will just be a matter of care and quality control and should not delay urgent intervention. Therefore, routine laboratories should be able to test for IgM, IgG avidity, and have two different tests for IgG (to confirm seroconversion by a second test). Frozen sera from first samples in pregnancy may support confirmatory testing of seroconversions. Shorter screening intervals with IgG tests may have more impact than less IgG/IgM testing. Development of point-of-care tests from capillary blood could improve compliance and the feasibility of short-interval screening.

The crucial question about treatment effectiveness must be studied further, and the countries with a screening tradition, i.e., Austria and France, should assume responsibility for world-wide toxoplasmosis research, contributing more and better-defined study cases by improving their screening programs. Appropriate controls for Austrian cases might be found in birth clinics in the German province of Bavaria as its population is culturally, socially, and genetically quite similar to the Austrian people. Mother-child care documents of all enrolled children could be examined at the age of three years for signs of neurological disorders or eye disease. If these are found, detailed examinations for probable congenital toxoplasmosis should follow. If toxoplasmosis screening in pregnancy is effective, the incidence of disease should be lower in Austrian than in Bavarian children.

The fact that many European countries without a clear national mandate have the phenomenon of “wild screening” underlines the unwillingness of experts and physicians to accept the reluctant or disinterested attitude of public health officials owing to inconclusive study results.

In conclusion, close collaboration and mutual understanding between public health experts, prenatal care and birth clinic physicians, and medical microbiologists can overcome decisive past shortcomings in screening for *Toxoplasma* primoinfections in pregnancy.

Acknowledgment

We are indebted to Prof. Dr. Herbert Auer, Institute of Specific Prophylaxis and Tropical Medicine at the Medical University of Vienna for critical reading of the manuscript.

References

- Bénard A, Petersen E, Salamon R, Chêne G, Gilbert R, et al. (2008) Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. Eurosurveillance 13.
- Leroy V, Raeber PA, Petersen E, Salmi LR, Kaminski M, et al. (2005) National public health policies and routine programs to prevent congenital Toxoplasmosis, Europe, 2005. Unpublished report, Bordeaux, France.
- Aspöck H, Pollak A (1992) Prevention of Prenatal Toxoplasmosis by Serological Screening of Pregnant Women in Austria. Scand J Infect Dis Suppl 84: 32-37.
- Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R, SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis Study Group) (2007) Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. Lancet 369: 115-122.
- Gras L, Wallon M, Pollak A, Cortina-Borja M, Evengard B, et al. (2005) Association between prenatal treatment and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis in infancy: a cohort study in 13 European centres. Acta Paediatr 94: 1721-1731.
- Gilbert R, Gras L, European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (2003) Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. BJOG 110: 112-120.
- Gilbert R, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, et al. (2001) Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. Int J Epidemiol 30: 1303-1308.
- Thiébaud R, Leroy V, Alioum A, Binquet C, Poizat G, et al. (2006) Biases in observational studies of the effect of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 124: 3-9.
- Hotop A, Hlobil H, Gross U (2012) Efficacy of rapid treatment initiation following primary *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Clin Infect Dis 54: 1545-1552.
- Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brézin AP, et al. (2010) Congenital toxoplasmosis in France in 2007: First results from a national surveillance system. Euro Surveill 15.
- Havelaar AH, Kemmeren JM, Kortbeek LM (2007) Disease burden of congenital toxoplasmosis. Clin Infect Dis 44: 1467-1474.
- Montoya JG, Liesenfeld O (2004) Toxoplasmosis. Clin Infect Dis 47: 554-566.
- Montoya JG, Remington JS (2008) Management of *Toxoplasma gondii* infection during Pregnancy. Clin Infect Dis 47: 554-566.
- Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G (2006) Toxoplasmosis. In: Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant. (6th edn), Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Schmidt DR, Høgh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, et al. (2006) The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999-2003. Arch Dis Child 91: 661-665.
- Rudin C, Boubaker K, Raeber PA, Vaudaux B, Bucher HC, et al. (2008) Toxoplasmosis during pregnancy and infancy. A new approach for Switzerland. Swiss Med Wkly 138 1-8.
- Kieffer F, Wallon M, Garcia P, Thulliez P, Peyron F, et al. (2008) Risk factors for

- retinochoroiditis during the first 2 years of life in infants with treated congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J* 27: 27-32.
18. McLeod R, Kieffer F, Sautter M, Hosten T, Pelloux H (2009) Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 320-344.
 19. Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, Paul M, Prusa A, et al. (2010) Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: An observational prospective cohort study. *PLoS Med* 7: e1000351.
 20. Gilbert R (2009) Treatment for congenital toxoplasmosis: finding out what works. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 305-311.
 21. Sagel U, Krämer A, Mikolajczyk RT (2011) Incidence of maternal *Toxoplasma* infections in pregnancy in Upper Austria, 2000-2007. *BMC Infect Dis* 11: 348.
 22. Jenum PA, Stray-Petersen B (1998) Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol* 36: 2907-2913.
 23. Flori P, Belleste B, Crampe C, Maudry A, Patural H, et al. (2008) A technique for dating toxoplasmosis in pregnancy and comparison with the Vidas anti-*Toxoplasma* IgG avidity test. *Clin Microbiol Infect* 14: 242-249.
 24. Auer H, Vander-Möse A, Aspöck H (2003) The confusing diversity of IgM tests in the diagnosis of *Toxoplasma* infections: Efforts towards an optimal strategy. *Wien Klin Wochenschr* 115: 18-22.
 25. Sensini A (2006) *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: Opportunities and pitfalls of serological diagnosis. *Clin Microbiol Infect* 12: 504-512.
 26. Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessières MH, et al. (2001) Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 20: 467-474.
 27. Reiter-Owona I (2005) Laboratory diagnosis of toxoplasmosis-possibilities and limitations. *J Lab Med* 29: 439-445.
 28. Pfrepper KI, Enders G, Gohl M, Krczal D, Hlobil H, et al. (2005) Seroreactivity to and avidity for recombinant antigens in toxoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 12: 977-982.
 29. Freeman K, Salt A, Prusa A, Malm G, Ferret N, et al. (2005) Association between congenital toxoplasmosis and parent-reported developmental outcomes, concerns, and impairments, in 3 year old children. *BMC Pediatrics* 5: 23.
 30. Pappas G, Roussos N, Falagas ME (2009) Toxoplasmosis snapshots : Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalance and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 39: 1385-1394.
 31. Sagel U, Krämer A, Mikolajczyk RT (2012) "Blind periods" in screening for toxoplasmosis in pregnancy in Austria-a debate. *BMC Infect Dis* 12: 118.
 32. Cornu C, Bissery A, Malbos C, Garwig R, Cocherel C, et al. (2009) Factors affecting the adherence to an antenatal screening programme: An experience with toxoplasmosis screening in France. *Euro Surveill* 14.
 33. De Paschale M, Agrappi C, Manco MT, Cerulli T, Clerici P (2010) Implementation of screening for *Toxoplasma gondii* in pregnancy. *J Clin Med Research* 2: 112-116.
 34. Lago EG, de Carvalho RL, Jungblut R, da Silva VB, Fiori RM (2009) Screening for *Toxoplasma gondii* antibodies in 2,513 consecutive parturient women and evaluation of newborn infants at risk for congenital toxoplasmosis. *SciMed* 19: 27-34.
 35. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, et al. (1999) Mother-to-child transmission of toxoplasmosis : Risk estimates for clinical counselling. *Lancet* 353: 1829-1833.
 36. Prusa AR, Hayde M, Gerstl N, Pollak A (2005) Infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy. *Gynäkologische Praxis* 29: 41-44.
 37. Sagel U, Krämer A, Mikolajczyk RT (2010) Seasonal trends in acute toxoplasmosis in pregnancy in the federal state of Upper Austria. *Clin Microbiol Infect* 16: 515-517.
 38. Khoshnood B, De Vigan C, Goffinet F, Leroy V (2007) Prenatal screening and diagnosis of congenital toxoplasmosis: A review of safety issues and psychological consequences for women who undergo screening. *Prenat Diagn* 27: 395-403.

Citation: Sagel U, Krämer A (2013) Screening of Maternal Toxoplasmosis in Pregnancy: Laboratory Diagnostics from the Perspective of Public Health Requirements. J Bacteriol Parasitol S5-003. doi:[10.4172/2155-9597.S5-003](https://doi.org/10.4172/2155-9597.S5-003)

This article was originally published in a special issue, **Diagnostic Methods of Microbial Pathogens** handled by Editor(s). Stefan Borgmann, Hospital of Ingolstadt, Germany

Submit your next manuscript and get advantages of OMICS Group submissions

Unique features:

- User friendly/feasible website-translation of your paper to 50 world's leading languages
- Audio Version of published paper
- Digital articles to share and explore

Special features:

- 250 Open Access Journals
- 20,000 editorial team
- 21 days rapid review process
- Quality and quick editorial, review and publication processing
- Indexing at PubMed (partial), Scopus, DOAJ, EBSCO, Index Copernicus and Google Scholar etc
- Sharing Option: Social Networking Enabled
- Authors, Reviewers and Editors rewarded with online Scientific Credits
- Better discount for your subsequent articles

Submit your manuscript at: <http://www.omicsonline.org/submission>