



EBV, das diagnostische Chamäleon

Dr. med. Daniela Huzly

Abt. Virologie, Universitätsklinikum Freiburg



Fallbeispiel

- 14-jähriges Mädchen kommt wg. starken Unterbauchbeschwerden und Brennen beim Wasserlassen in Praxis
- Urin-Stix unauffällig, wird trotzdem mit Antibiotika bei V.a. Blasenentzündung nach Hause geschickt
- Leichte Besserung, nach 2 Tagen wieder Verschlimmerung, Notaufnahme Uniklinik





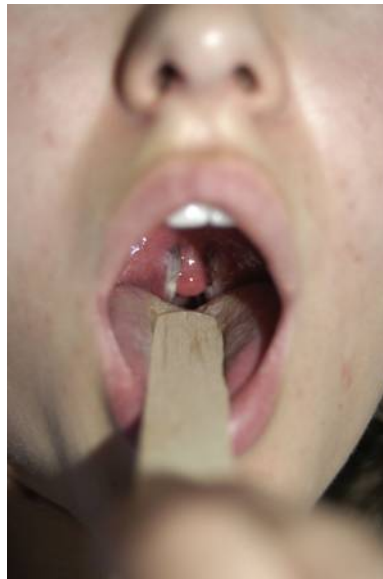
- Starker Druckschmerz im Unterbauch, Fieber 38°C, inguinale LK vergrößert
- Gynäkologische Untersuchung: Ulzerationen an den großen Labien



- Im BB rel. Lymphozytose
- V.a. genitale HSV-
Primärinfektion, Abstrich +
Serum in Virologie, Gabe
von Acyclovir



- Am 3. stat.Tag beginnende Halsschmerzen, LK-Schwellungen am Hals
- Vorstellung in der HNO: weißliche Beläge auf den Tonsillen



- Im Blutbild Anstieg der Lymphozyten, lymphatische Reizformen
- Virologische Befunde: HSV-IgG positiv, Isolierung bisher negativ

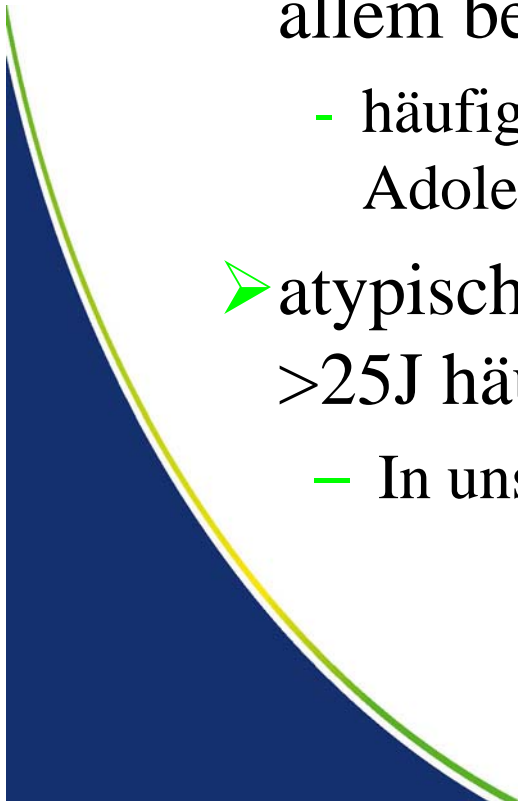


-
- EBV-Serologie nachgefordert aus HNO
 - EBNA-I-IgG negativ, VCA-IgM positiv, VCA-IgG positiv, niedrig avide
 - ☞ **FRISCHE EBV-Infektion**
 - HSV-Isolierung bleibt negativ, in Bakteriologie nur normale Flora



EBV - Variables Krankheitsbild

- Abhängig vor allem von Alter und Immunitätslage
 - typisches Krankheitsbild der „Mononukleose“ vor allem bei 15-25-jährigen
 - häufigste Ursache protrahierter Erkrankungen im Adoleszentenalter
 - atypische Verläufe möglich, bei Infektion <5J und >25J häufiger
 - In unserem Kollektiv: 18% <5J und 10% >25J





Probleme bei der EBV-Diagnostik

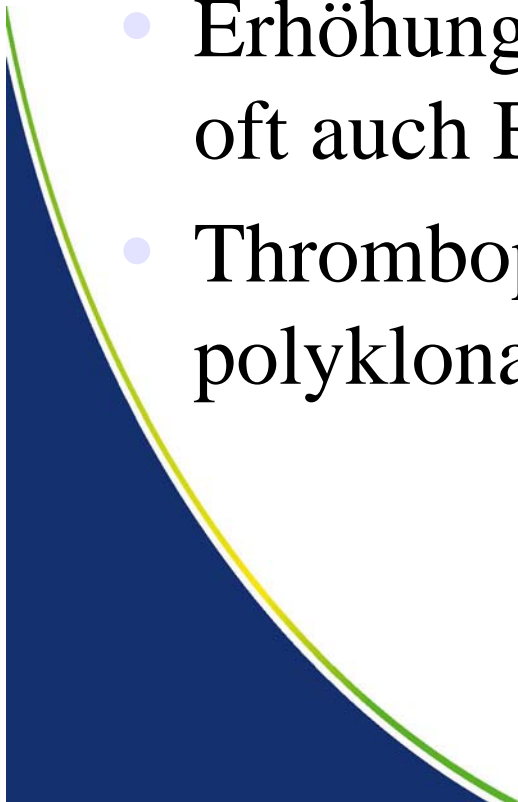
- Atypische Verläufe
 - Isolierte Thrombopenie, Anämie, Hepatitis
 - Isolierte Lymphknotenschwellung
 - Leistungsabfall ohne greifbare klinische Symptome
 - „Fieber unklarer Genese“
- Andere Infektionen (CMV, Mykoplasmen, Parvovirus B19, HIV) sehen ähnlich aus und können falsch positive Befunde verursachen



EBV - Primärinfektion

wegweisende Laborbefunde

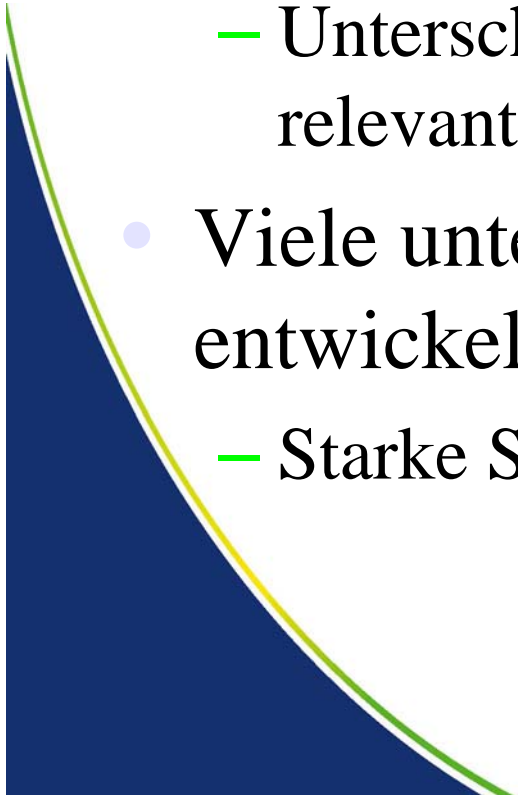
- Leukozytose mit atypischer Lymphozytose
 - Zu Beginn bis zu 50Mio/ μ l, 50-70% T-Zellen, 20% atypische CD8+ (DD ALL!!)
- Erhöhung der Transaminasen, AP und LDH, oft auch Bilirubin
- Thrombopenie, hämolytische Anämie, polyklonale Immunantwort (vor allem IgM)





Spezifische EBV-Diagnostik

- Herpesvirus: lebenslang persistierend
 - Nachweis von Virus oder IgM alleine nicht ausreichend für Diagnostik
 - Unterscheidung Primärinfektion – klinisch relevante Reaktivierung
- Viele unterschiedliche Parameter / Tests entwickelt und erhältlich
 - Starke Schwankungen in Spezifität und Sensitivität



EBV-Primärinfektion

Serodiagnostik - Parameter

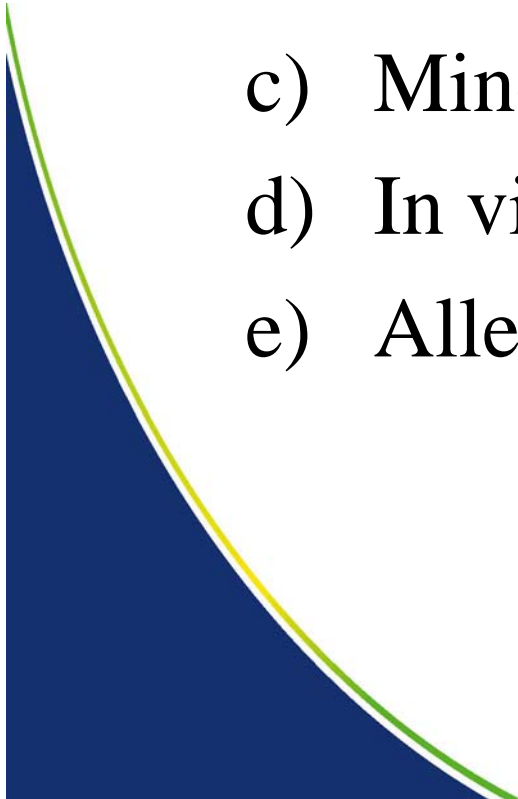


- Anti-EBNA-gesamt IgG
- Anti-EBNA-1-IgG
- Anti-EBNA1+2-IgG
- Anti-EBNA-IgM
- Anti-EBNA
- Anti-EA-IgG, IgM, IgA
- Anti-EA
- Anti-VCA-IgG
- Anti-VCA-IgA
- Anti-VCA-IgM
- Anti-EBV-IgG
- Anti-EBV-IgM
- Strip Immunoassay
 - IgG, IgA, IgM
- Heterophile AK



Wieviele Parameter braucht man wirklich?

- a) Der Schnelltest genügt
- b) Heterophile AK + mind. 4 serologische Parameter
- c) Mind. 4 serologische Parameter
- d) In vielen Fällen reicht schon 1 Parameter
- e) Alle





Diagnostische Parameter

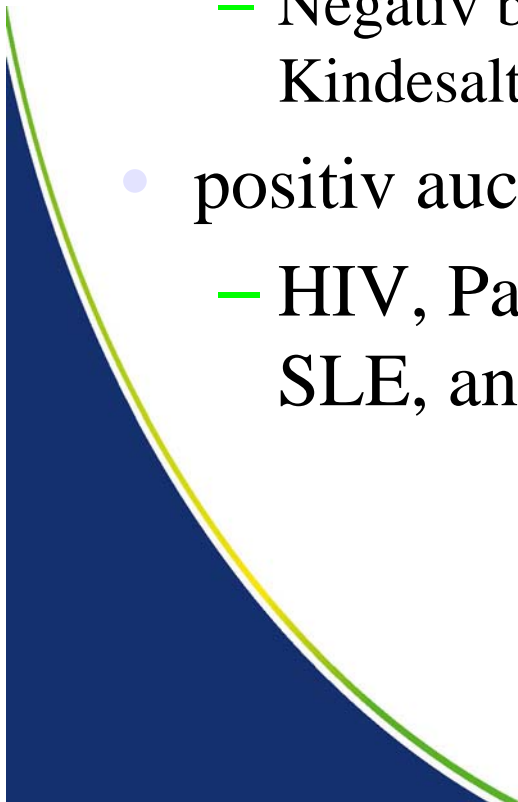
- Heterophile Antikörper
 - kreuzreagierende Ak gegen Antigene, die in verschiedenen Spezies existieren und nicht phylogenetisch verwandt sind
 - agglutinieren Schafs- oder Pferdeerys aber reagieren nicht mit EBV-Antigenen
 - Grund für deren Bildung unklar





EBV - Heterophile Antikörper

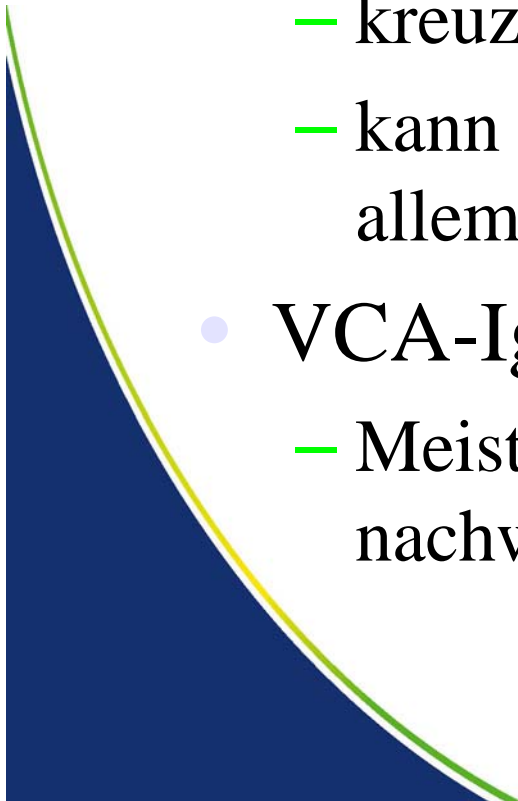
- Basis des „Schnelltest“ (Paul-Bunnell und Monospot)
 - Bei ca. 75% der typischen Verlaufsformen im bei 15-25jährigen positiv
 - Negativ bei atypischen Verlaufsformen, vor allem im Kindesalter
- positiv auch bei
 - HIV, Parvovirusinfektion, Röteln, Lymphomen, SLE, andere Autoimmunerkrankungen





EBV – serologische Parameter

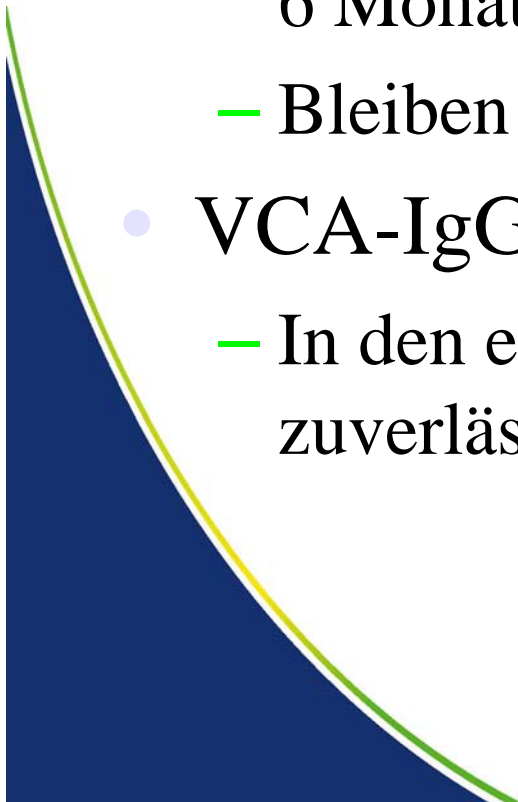
- VCA-IgM
 - bei ca. 90% der akuten, symptomatischen Infektionen hoch positiv
 - kreuzreagiert mit CMV-IgM
 - kann in niedrigem Niveau lange persistieren, vor allem bei Immunsuppression
- VCA-IgG
 - Meist bei akuter Symptomatik schon nachweisbar (verwendetes Antigen!, Alter!)





EBV – serologische Parameter

- EBNA-I-Antikörper
 - werden spät gebildet, frühestens 4 Wo. nach Erkrankungsbeginn nachweisbar, oft erst nach 3 - 6 Monaten
 - Bleiben bei ca. 5% der Personen negativ
- VCA-IgG-Avidität
 - In den ersten 3-4 Wochen der Symptome zuverlässiges Mittel

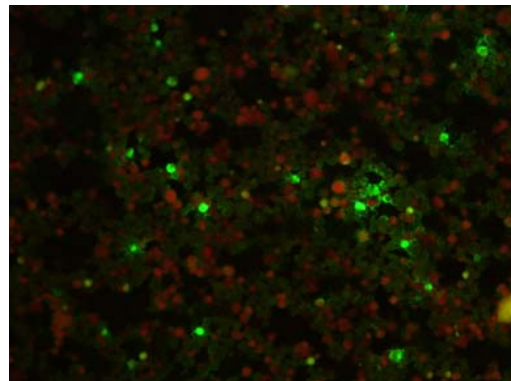




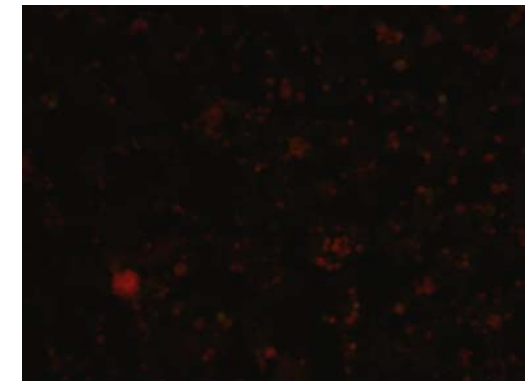
VCA-IgG Avidität

- Misst die Bindungsfestigkeit der Antigen-Antikörper-Komplexe
- Niedrige Avidität beweist frische/kürzliche Primärinfektion

VCA-IgG IFT
ohne



und mit 7M
Urea



Lineassay ohne und
mit Urea

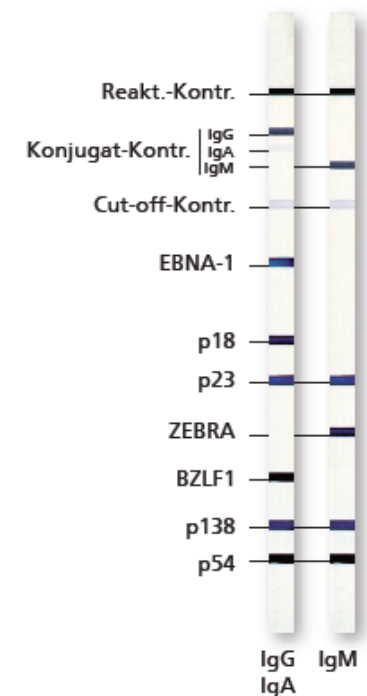
IgG	+	-	-	++	+++	++	++	positiv
Avid.								p23 niedrig





EBV-Western- /Lineblots

- Antigene mit später und früher Antikörperantwort auf einem Streifen
- Zusätzlich zu EBNA-1-Komponente Anteil vom VCA
 - P18 (Mikrogen, Virotech)
 - P22 (Euroimmun)
- Keine eindeutigen Daten, ab wann „Späte Antigene“ reaktiv werden





Weitere serologische Parameter

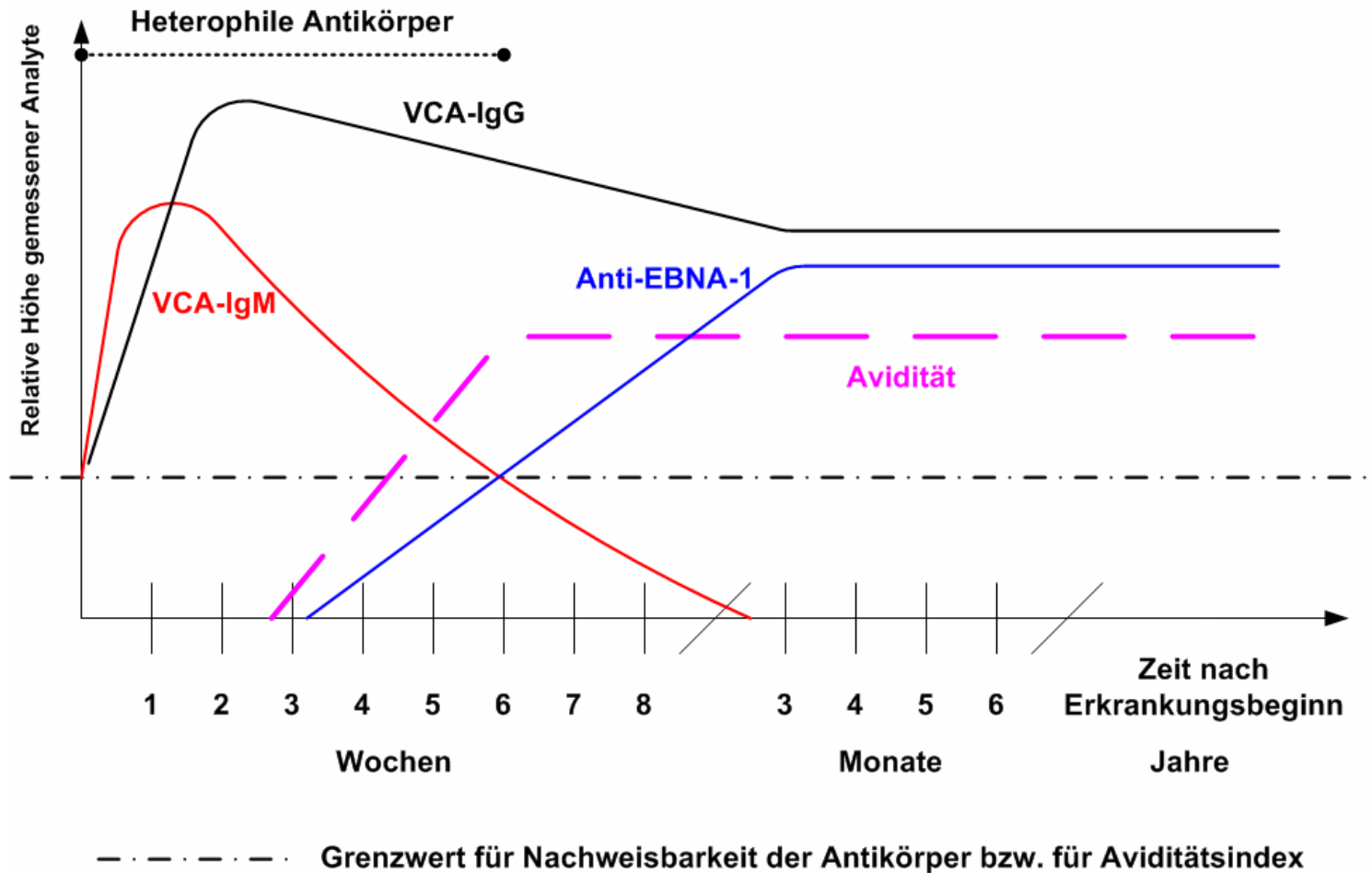
- EBV-EA-IgG/IgM/IgA
 - Nicht erforderlich für diagnostische Sicherheit
 - Nur ca. 70% der Primärinfektionen positiv
 - In vielen Fällen auch in der Latenz positiv
 - Nicht hilfreich bei der Diagnostik von Reaktivierungen
 - Noch 50% der Labore geben EA-Antikörper bei Ringversuchen an





Nach einer Empfehlung der Gemeinsamen Diagnostikkommission der DVV und GfV sollte zur serologischen Differenzierung zwischen "Erstinfektion" und "abgelaufener" EBV-Infektion bzw. negativem Status **primär auf Anti-EBNA-1-IgG** (Protokoll-Seite 1, Rubrik 15), **Anti-VCA-IgG** (Seite 6, Rubrik 50) und **Anti-VCA-IgM** (Seite 7, Rubrik 60), **ggf. auch auf heterophile Antikörper** (Seite 11, Rubrik 90) untersucht werden.

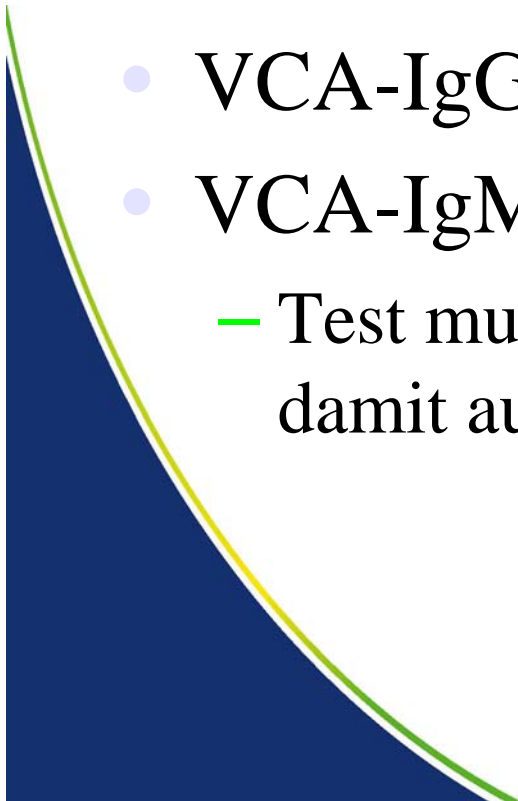
EBV - Idealisierter Verlauf der Parameter





Stufendiagnostik

- EBNA-1-IgG Screening
 - Test muss hoch spezifisch sein, damit frische Infektionen nicht durch das Raster fallen
- VCA-IgG mit Avidität
- VCA-IgM
 - Test muss möglichst sensitiv und spezifisch sein, damit auch spätere Phasen noch erfasst werden



Sensitivität und Spezifität verschiedener Testsysteme - Einzelteste

VCA-IgG (EBV-IgG)

Test-system	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
A	96,2	93,3
B	85,4	93,3
C	96,1	90
D	89,3	89,7
E	95	75

VCA-IgM (EBV-IgM)

Test-system	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
A	96,4	94,6
B	87,5	99,5
C	87,5	97,1
D	83,9	99
E	74	96,5

EBNA-1-IgG

Test-system	Sensitivität (%)	Spezifität allgemein/ frische Infektionen(%)
A	91,5	92,6/100,0
C	94	93,6/100,0
D	95	82,7/82,9
E	92,8	90,2/93,0



Probleme bei der EBV-Diagnostik

- Ca. 20-25% der Erkrankten gehen erst spät zum Arzt
 - Zusatzteste nicht immer hilfreich
 - Avidität schon intermediär oder hoch
 - Späte Banden schon sichtbar
- Verlaufsseren werden selten eingeschickt





Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Testsystem	frisch (%)	postakut (%)	alt (%)	sero-negativ (%)	ungeklärte Fälle (%)
A	100	76,9	81,4	86,7	9,8
B	83,9	53,8	91,5	93,3	3
C	90,6	53,8	87,8	86	9,4
D	60,9	38,4	89,8	73	23,3
E	86,0	46,1	89,9	82,7	9,4
F (IFT ohne Avidität)	100	76,9	92,6	100	6
Kombination A+F mit Avidität und angepasstem Cutoff A	100	93,1	100	100	1



Fallbeispiele - 1

- 20-jährige Patientin mit klassischer Symptomatik (und Anamnese)
- EBV-Serologie komplett negativ
- Erst eine Woche später VCA-IgG und –IgM deutlich positiv
- EBNA-Antikörper nach 3 Monaten
- (Retrospektiv: PCR im 1. Serum positiv)





Fallbeispiele - 2

- 18-jähriger Mann, Überweisung in die onkologische Ambulanz wegen ungeklärter Thrombopenie und Petechien
- Aufnahmelabor 34 Tsd. Thrombos, leichte GPT-Erhöhung, leichte Anämie. Petechien an den Schienbeinen. Unter der Diagnose ITP mit Hochdosis Steroiden nach Hause geschickt



Fallbeispiel Nr. 2

- Routinemäßig Virusserologien eingeschickt: CMV, EBV, HIV, Parvo, Hepatitis A-C
- EBNA-I-Ak negativ, VCA-IgM grenzwertig, VCA-IgG negativ.
 - Interpretation als mögliche ganz frische EBV-Infektion und Bitte um Verlauf oder EDTA-Blut für PCR





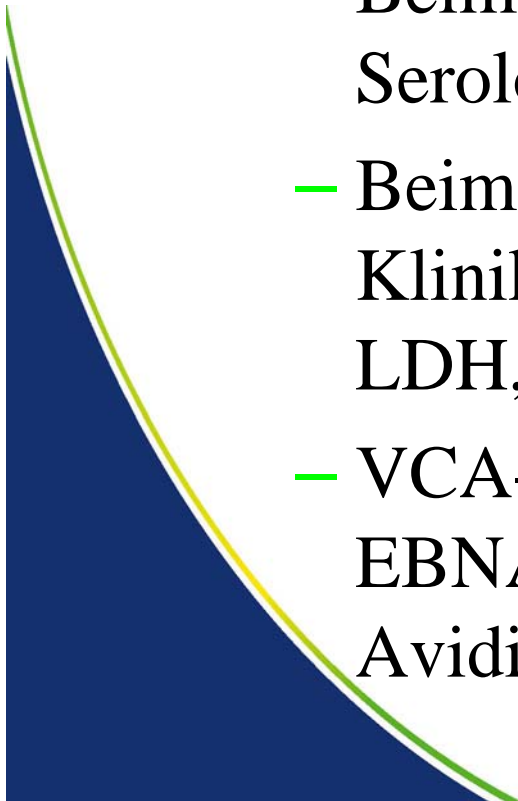
Fallbeispiel Nr. 2

- 5 Tage später wird der Patient schwer krank klinisch aufgenommen:
 - Hepatosplenomegalie, stark erhöhte Transaminasen, Hb weiter abgefallen, Lymphknotenschwellung am Hals, hohes Fieber
 - Ins Labor wird nur eine Anforderung auf HCV-PCR geschickt
 - VCA-IgM hoch positiv, VCA-IgG nachweisbar
 - Retrospektiv ist auch PCR im Erstserum positiv



Fallbeispiel Nr. 3

- Kind 2 Jahre alt
 - Seit >3 Wo. Fieberschübe, Appetitlosigkeit, Halsschmerzen
 - Beim 2. Arztbesuch Blutabnahme, EBV-Serologie in Fremdlabor angeblich negativ
 - Beim 3. Arztbesuch Überweisung in Klinikambulanz, erhöhte Transaminasen und LDH, Anämie, Hepatosplenomegalie
 - VCA-IgG hoch positiv, IgM hoch positiv, EBNA-I-IgG und ACIF schwach positiv, Avidität hoch





Fallbeispiel Nr. 3

- Interpretation als wahrscheinlich kürzlich zurückliegende EBV-Primärinfektion mit der Bitte um Verlaufsserum und EDTA für PCR
- PCR im EDTA-Blut schwach positiv
- Nach 6 Wo. hoch positive EBNA-I-Antikörper, negatives IgM, negative PCR



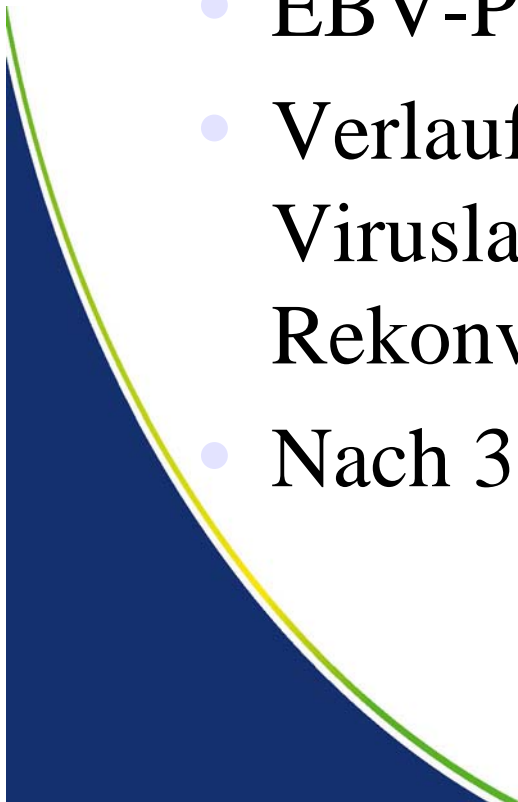
Fallbeispiele - 4

- 23-jährige Frau kommt aus Mallorca zurück
- 40°C Fieber, Halsschmerzen, Krankheitsgefühl
- Keine sichtbare Tonsillitis, laborchemisch deutliche Hepatitis (cholestatischer Verlauf)
- VCA-IgM im Fremdlabor negativ, bei uns deutlich positiv, EBNA-1-IgG negativ, Avidität intermediär bei hoch positivem VCA-IgG, p18/p22 positiv



Fallbeispiel Nr. 4

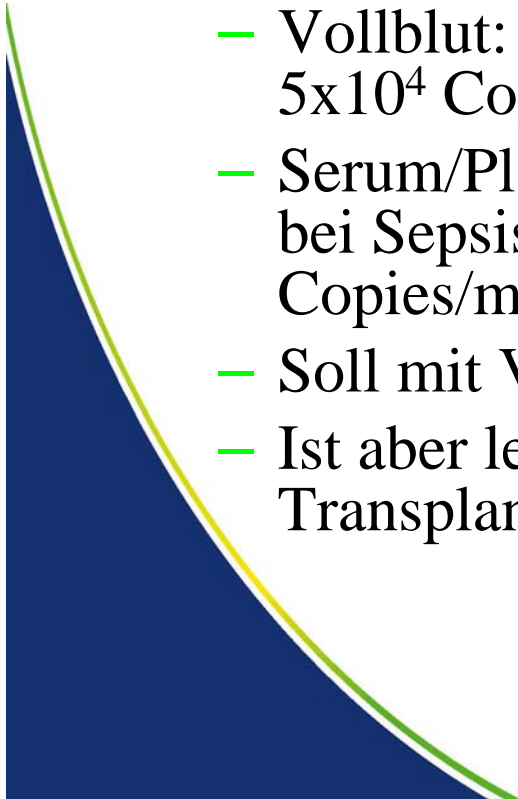
- Pat. Hat Angst vor HIV (Mallorcasünde...)
- HIV-PCR (negativ)
- EBV-PCR: 3×10^6 Copies/ml im Plasma!
- Verlauf: sehr langsame Reduktion der Viruslast bei gleichzeitiger langsamer Rekonvaleszenz
- Nach 3 Mo. EBNA-1-Serokonversion





Molekularbiologische Diagnostik

- PCR aus Vollblut/Serum als Hilfsmittel für die Diagnostik der Primärinfektion?
 - Bei akuter Infektion in den ersten drei Wochen in beiden Kompartimenten immer nachweisbar
 - Vollblut: auch bei nicht akut erkrankten Personen bis zu 5×10^4 Copies/ml nachweisbar (Hudnall 2008)
 - Serum/Plasma: selten bei Gesunden positiv, kann aber z.B. bei Sepsis auch recht deutlich positiv werden (bis 10^4 Copies/ml, eigene Daten)
 - Soll mit Verlauf korrelieren
 - Ist aber leider nicht abrechenbar (nur bei Transplantationspatienten)





Fazit

- Für eine sichere Diagnostik der EBV-Infektion braucht auch der Laborarzt klinische Angaben
- Kein Testsystem ist alleine in der Lage, alle Fälle sicher zu lösen
- Im Zweifelsfall sollte immer versucht werden, ein Verlaufsserum zu erhalten
- Die PCR aus Serum/Plasma kann im positiven Fall zur diagnostischen Sicherheit beitragen (ist aber nie beweisend und für diese Zwecke nicht abrechnungsfähig)