

Sinnvoller Einsatz infektionsserologischer Methoden

Dr. med. Daniela Huzly
Abt. Virologie, Uniklinik Freiburg



Aufbau



- Historisches
- Theoretischer Hintergrund: welche Infektionen kann man überhaupt serologisch nachweisen und warum
- Fallbeispiele – Fallstricke (virologisch)
- Wo machen serologische Untersuchungen wenig Sinn
- Diskussion

Historisches

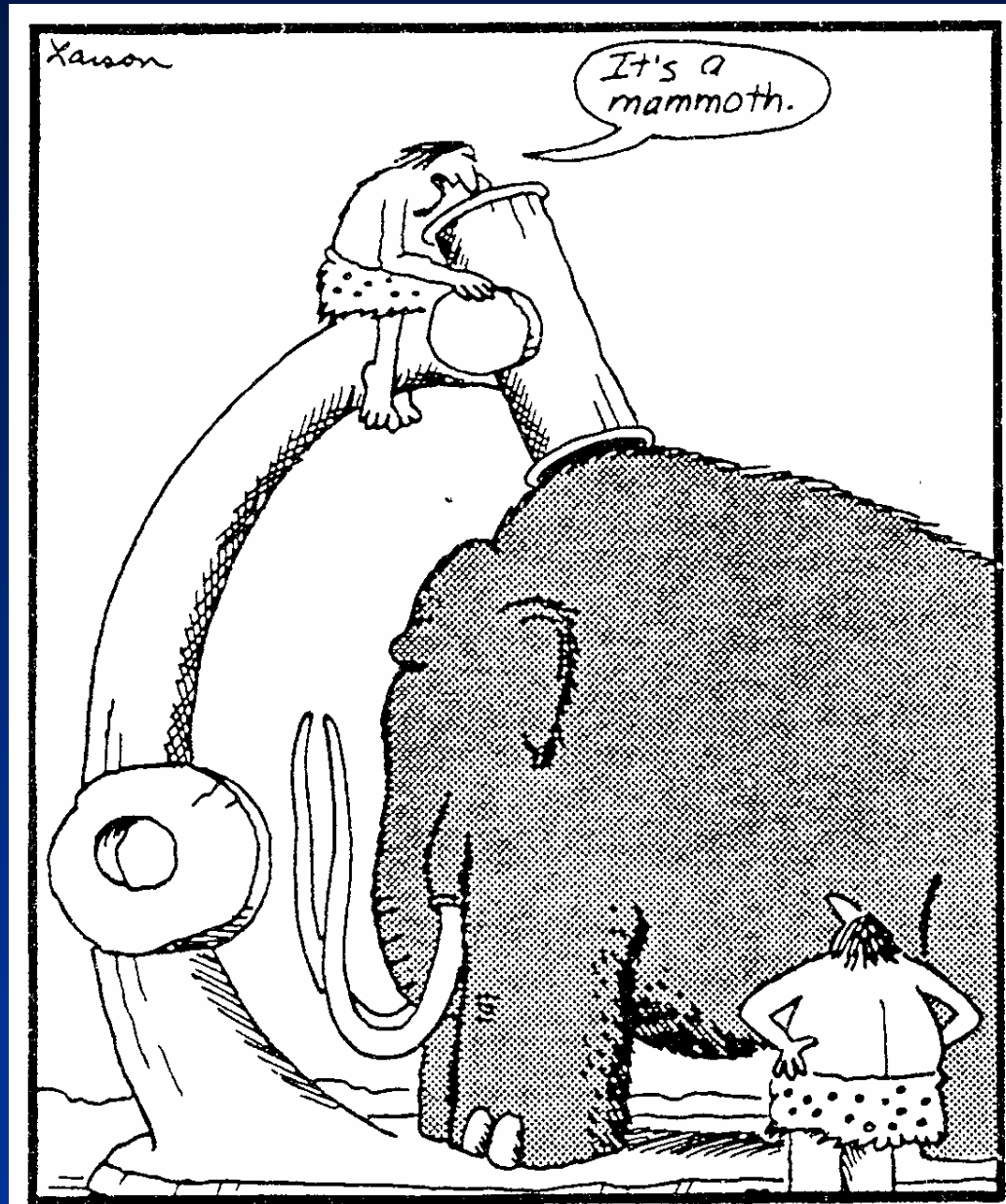
- Infektionsserologische Teste entwickelt für Erreger, die schwer oder gar nicht anzüchtbar waren
 - Viren, atypische Bakterien
- HAH, KBR – Methoden, die auf Verlaufsseren angewiesen waren und mit Verdünnungsstufen arbeiteten (Titer!)



Weiterentwicklung

- Nachweis verschiedener Antikörperklassen
- Automatisierung der Testverfahren – schnell, preiswert
- Spezifisch?
- Beweis für die Spezifität?
- Fehlen von kontrollierten Studien, fehlender Goldstandard, fehlende Evidenz





Early microscope

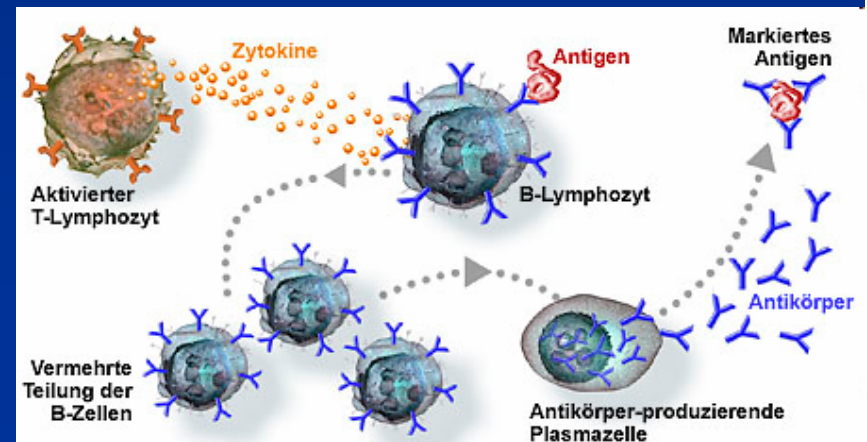
Die Chlamydien-Story

- *C. pneumoniae* ursprünglich als häufigster Erreger ambulant erworbener Pneumonien
- Seit Verwendung der PCR: extrem selten nachgewiesen
- Bei positiver PCR Serologie negativ (MIF)
- Häufigkeit der Infektionen durch positive serologische Tests vorgetäuscht



Ein kurzer Ausflug in die Immunologie...

- Antikörperbildung beim ersten Kontakt benötigt mindestens 5 Tage
- Das immunogene Epitop muss präsentiert werden, je nach Erreger zusätzlich Zeit nötig (Infektionsort, Transportwege, Aufbau des Erregers)
- Ähnliche Epitope führen zu Kreuzreaktionen



Vorraussetzungen für den serologischen Nachweis von akuten Infektionen

- Ausreichend lange Inkubationszeit bis zum Auftreten von Symptomen
- Hohe Spezifität der Antikörper für das Erregerepitop
- Ggf. die Möglichkeit, durch spezielle Untersuchungen Primärinfektionen von früheren Infektionen zu unterscheiden
- Vorhandensein klinischer Angaben (z.B. Zeit seit Symptombeginn!) und die Möglichkeit Verlaufseren zu erhalten



Akute Infektionen die (halbwegs) sicher serologisch nachgewiesen werden können

- Einmalige Infektionen

- Masern, Mumps, Röteln
- Hepatitis A
- Ringelröteln (Parvovirus B19)
- FSME

- IgM nur bei frischer Infektion nachweisbar
- Hohe Spezifität der Teste (schon lange auf dem Markt)



Oder???

Fallbericht – Pneumonie+Exanthem

- 60-jährige Pat. , Stammzelltx vor 10 Jahren
- Respiratorischer Infekt, Fieber, Entwicklung einer atypischen Pneumonie
- Am 3. Tag kleinfleckiges Exanthem am Stamm
- Kontakt zu Kind, das Masern hatte, vor 3 Wo.
- Serologie: IgG + IgM negativ



Pneumonie+Exanthem ff.

- PCR aus Urin und Serum und Rachenabstrich positiv
- Vier Tage später IgM und IgG deutlich nachweisbar



Fallbericht

Exanthem+Halsschmerzen

- 20-jähriger Mann entwickelt Fieber, Halsschmerzen, am 3. Tag kleinfleckiges Exanthem am Oberkörper
- Zur Zeit Masernfälle in mehreren Schulen der Umgebung gemeldet, kein direkter Kontakt bekannt, Impfstatus unbekannt (Impfpass verloren)
- Masern-IgG und IgM relativ deutlich positiv





Fallbericht Exanthem und Halsschmerzen

- Auch Röteln-IgG und –IgM positiv
- Auch EBV-(VCA)IgG und –IgM positiv
- Auch CMV-IgG und –IgM positiv
- Zusatzuntersuchungen: EBV-Primärinfektion mit polyklonaler Stimulierung



Fallstricke - Masern



- Späte Antikörperbildung!
 - Bei beginnender Symptomatik häufig noch keine Ak nachweisbar
- Je nach Test falsch positive IgM-Reaktionen möglich (niedrig positiv), IgM nach Impfung auch positiv (Anamnese!)
- Bei akuter EBV-Infektion relativ deutlich positive IgM-Teste möglich
- Im Zweifelsfall PCR aus Rachenabst. + Urin
 - RKI – Referenzzentrum für MMR



Fallstricke – Mumps



- Reinfektionen doch möglich
- Infektion trotz Impfung möglich
- Bei Reinfektion häufig fehlende IgM-Bildung und IgG-Boosterreaktion
- Fazit: sicherer Ausschluss serologisch nicht möglich
 - PCR aus Urin und Rachenabstrich (ggf. RKI)



Fallstricke – Parvovirus B19



- Immunkomplexbildung (Ursache der Symptome!) führt zu falsch negativen serologischen Testen
 - IgM und/oder IgG können falsch negativ sein
- Sicherer Ausschluss einer Infektion serologisch nicht möglich!
 - PCR aus Serum zuverlässig positiv



Fallstricke – FSME



- Kreuzreaktivität der IgG-Teste mit anderen Flavivirus-Antikörpern – z.B. nach Gelbfieberimpfung
- Persistierend niedrig positives IgM nach Impfung
- Infektion nach Impfung möglich: IgG-Boosterreaktion bei oft schwacher IgM-Reaktivität
 - Im Zweifelsfall Liquor-Serum-Index messen



Fallbericht „akute Hepatitis A“

- 54-jährige Pat. kommt mit ikterischer Hepatitis in peripheres KH, GPT > 1000 U/ml, Bilirubin steigend, plötzlicher Krankheitsbeginn
- Kein Auslandsaufenthalt, keine ungewohnten Speisen
- Im auswärtigen Labor HAV-IgM und Total positiv, Diagnose: Hepatitis A, Meldung an Gesundheitsamt



Fallbericht „akute Hepatitis A“

- 3 Mo. nach erster Episode erneuter Anstieg der Transaminasen, klinisch wieder wie akute Hepatitis
- Erneut HAV-IgM positiv, Einweisung in Uniklinik zur Abklärung
- Klinikärzte: Verdacht auf „relapse“
- Virologie-Labor: IgM nur knapp über dem Grenzwert



Fallbericht akute Hep. A

- Anruf in peripherem Labor: IgM vor 3 Monaten mit 1,2 ebenfalls nur knapp über dem Grenzwert
- Klinikärzte schicken Stuhlprobe nach Regensburg: PCR negativ
- Schließlich: Diagnose einer Autoimmunhepatitis (SMA + ANA positiv)



Fallstricke – HAV



- Niedrig positives IgM
 - a) persistierend
 - b) unspezifisch
 - vor allem bei Autoimmunerkrankungen
- Semiquantitative Auswertung! Akute Infektion hat hoch positive Werte!





Akute Infektionen die mit „Tricks“
serologisch nachgewiesen werden können

- Primärinfektionen mit persistierenden Viren
 - Zusätzliche Parameter erforderlich
 - EBV, CMV, HBV
 - Nachweis der Serokonversion
 - HSV, VZV, HHV6, (EBV, CMV)



Nachweis von Primärinfektionen - EBV

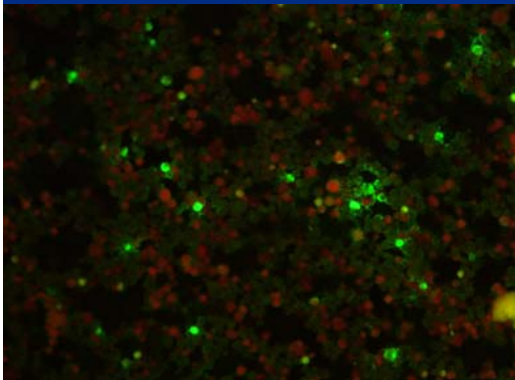
- Zusätzlich zu IgG und IgM (gegen VCA) spät gebildete Antikörper: EBNA-1 oder im Blotverfahren p18, p22
 - Nicht hilfreich und nicht mehr empfohlen: EA-Antikörper
- IgG-Avidität



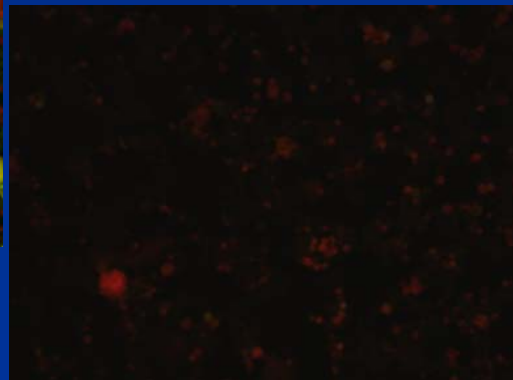
VCA-IgG Avidität

- 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



Fallbericht akute Thrombopenie

- 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



Fallbericht: akute Thrombopenie

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



Fallbericht akute Thrombopenie

- 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



Fallstricke - EBV

- Mangelhafte Sensitivität der Teste in der Frühphase der Infektion
- Manche EBNA-1-Testverfahren mit sehr schlechter Spezifität
 - frische Infektionen nicht erkannt
- Patienten kommen oft spät in der Infektionsphase: späte Marker werden schon positiv, IgM verschwindet
- Fehlende Verlaufsseren
- Serum-PCR hilfreich (Abrechnung?)



Fallstricke EBV

- Serologie kann höchstens zwischen Primärinfektionen und abgelaufenen Infektionen unterscheiden. Ab 4-6 Wo, Symptombdauer kaum mehr Chancen, das Ereignis nachzuweisen
- Keine Antikörperkonstellation korreliert mit positiver PCR (und damit „chronischer Infektion“)



Nachweis der CMV-Primärinfektion

- Zusätzlich zu IgG und IgM:
- IgG-Avidität
 - IgM häufig lange positiv
 - IgM in der Schwangerschaft oft positiv
- IgG-Westernblot: Antikörper gegen spezielle Epitope (späte/frühe Ak)



Fallstricke CMV

- Aviditätsteste haben stark unterschiedliche Werte und unterschiedliche Zeiträume, die sie abdecken (2-5 Monate)
- Westernblot: späte Banden nicht in allen Fällen nachweisbar, individuelle Unterschiede
- Bei Schwangeren: Speziallabor



HSV, VZV

- Späte Antikörperbildung
 - Bei Beginn der Symptomatik noch keine AK nachweisbar (VZV ab 5. Tag, HSV ab 7 Tage (HSV1) bis zu mehrere Monate (HSV2))
- Viruspersistenz: subklinische Reaktivierung kann zu IgM/IgA-Bildung führen
- Antikörper nur bei Serokonversion und zur Bestimmung des Serostatus sinnvoll

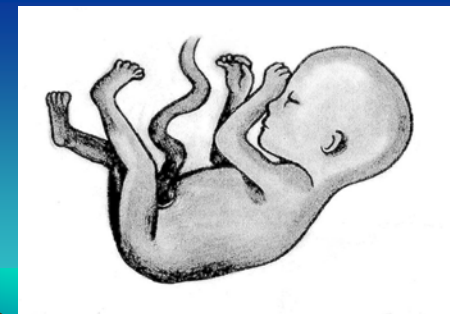


Besonderheit: Intrauterine/konnatale Infektion

Unterscheidung mütterlicher und kindlicher
Antikörper, kindliches Immunsystem

Intrauterine Infektion zu einem späteren
Zeitpunkt als Primärinfektion der Mutter

Kind hat bei Geburt (auch) mütterliches IgG



Fallbeispiel perinatale Infektionen

- Schwangere entwickelt kurz vor Geburt fieberhaften Infekt mit oraler Mukositis und immer schlimmer werdender Ösophagitis
- Mikrobiologisch nichts nachweisbar, TORCH Serologie „unauffällig“
- Kaiserschnittgeburt in der 38. SSW



- Säugling entwickelt am 3. Tag p.p. Fieber, ansteigende Leberwerte, Verlegung in Uniklinik
- TORCH – Serologie beim Kind „unauffällig“
- V.a. bakterielle Sepsis, Antibiose
- Zustand des Kindes rapide schlechter, Leberversagen, Eintrübung, Tod am 6. Tag p.p.



- Obduktion: hämorrhagische Pneumonie, Leber nekrotisch, in den Leberzellen zahlreiche Einschlüsse
- Leberbiopsie: HSV-1-PCR hoch positiv
- Retrospektiv: Im Serum hoch positive HSV-1-PCR
- TORCH Mutter und Kind: HSV-IgG (+IgM) negativ
- HSV-Primärinfektion der Mutter



Problematik TORCH

- Kindliche IgM-Bildung schwach, bei Infektion in frühen SS-Monaten schon negativ
- Richtig: Erregernachweis, symptomorientiert
- Serologisch möglich:
 - Toxoplasmose – Vergleich mütterlicher und kindlicher AK mit Westernblot
 - Lues - Aktivitätsparameter



Grenzen der Serologie

- Lokale Infektion mit kurzer Inkubationszeit und häufigen Reinfektionen
 - Respiratorische Virusinfektionen
 - Gastrointestinale Infektionen
- Für respiratorische Erreger Tests auf dem Markt
 - Antikörperanstiege nach 14 Tagen nur evtl. messbar, selten Verlaufsserum
 - IgA/IgM – keine Korrelation



Respiratorische Erreger

- Mykoplasma pneumoniae: per PCR aus Rachenabstrich/NPS zuverlässig nachweisbar, Serologie hinkt hinterher
 - Positive Werte im Einzelserum nicht sicher interpretierbar
- Chlam. Pneumoniae: nicht mehr empfohlen
- Pertussis: Komplettes Fehlen kontrollierter Studien, IgM nach Impfung



Grenzen der Serologie

- Akute Myokarditis („kardiotrope Viren“)
 - Postinfektiöses Geschehen, das nach nahezu allen Virusinfektionen auftreten kann
 - Antikörpernachweis (z.B. Coxsackieviren) korreliert nicht mit tatsächlicher Infektion bzw. Ursache
 - Bei Säuglingen: häufigste Ursache Coxsackieviren, müssen durch PCR im Stuhl nachgewiesen werden



Grenzen der Serologie

- Reaktivierungen
- Chronische Infektionen
- Infektionen, die länger zurückliegen
(postinfektiöse Erkrankungen)



Gründe für den reduzierten, aber gezielten Einsatz der Infektionsserologie

- Falsch negative Ergebnisse: keine adäquate Therapie, zusätzliche Untersuchungen, im schlimmsten Fall letaler Ausgang (TORCH)
- Falsch positive Ergebnisse: falsche Therapie, Vernachlässigung zusätzlicher Untersuchungen, die zur eigentlichen Diagnose führen würden



Zusammenfassend

- Nur wenige Infektionen sind serologisch zuverlässig nachweisbar
- Infektionsserologie ist keine klinische Chemie – zwischen Schwarz und Weiß sind viele Grautöne
 - Skepsis ist immer angebracht!
- Klinische Daten sind wichtig für die korrekte Interpretation und Stufendiagnostik



Danke für Ihre Aufmerksamkeit...



Tel.: 0761 2036609 Email: daniela.huzly@uniklinik-freiburg.de