

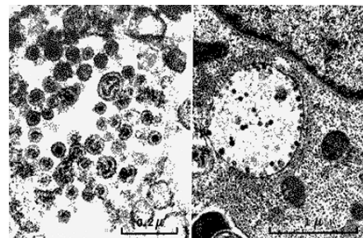
# Aktuelle Aspekte in der Röteln-Diagnostik

Dr. med. Daniela Huzly

Abt. Virologie

Universitätsklinikum Freiburg

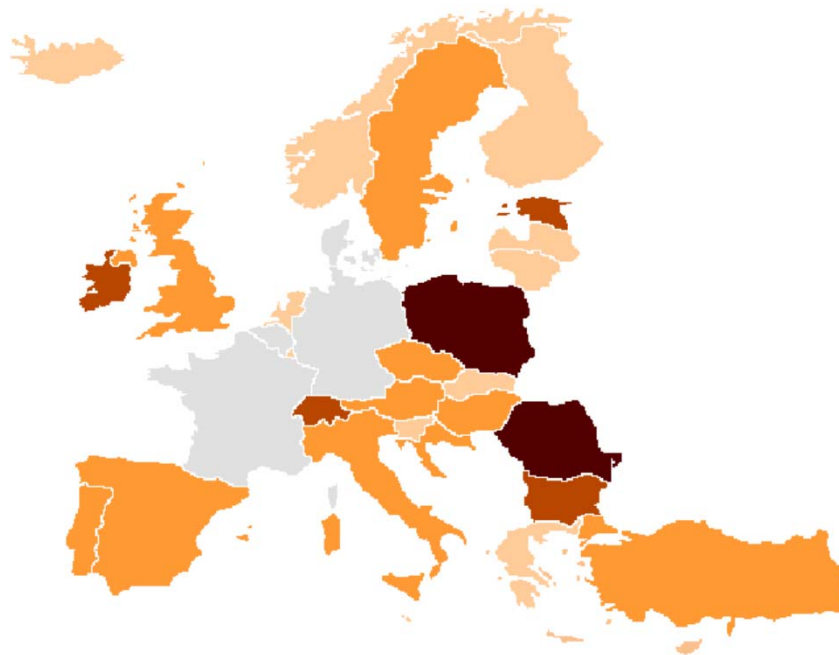
Potsdam November 2011



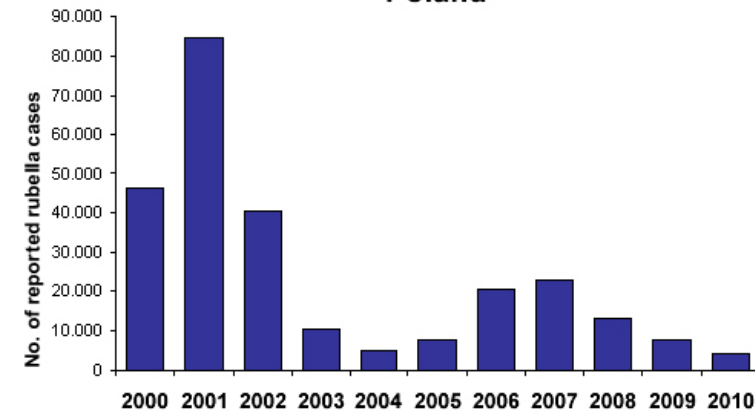
# Röteln - Epidemiologie

Figure 1. Incidence category of reported rubella per million inhabitants, 2010

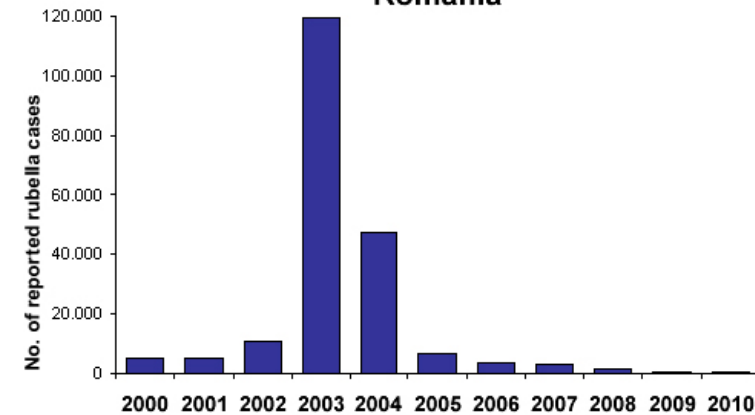
0 <1 1-10 >10 No national data



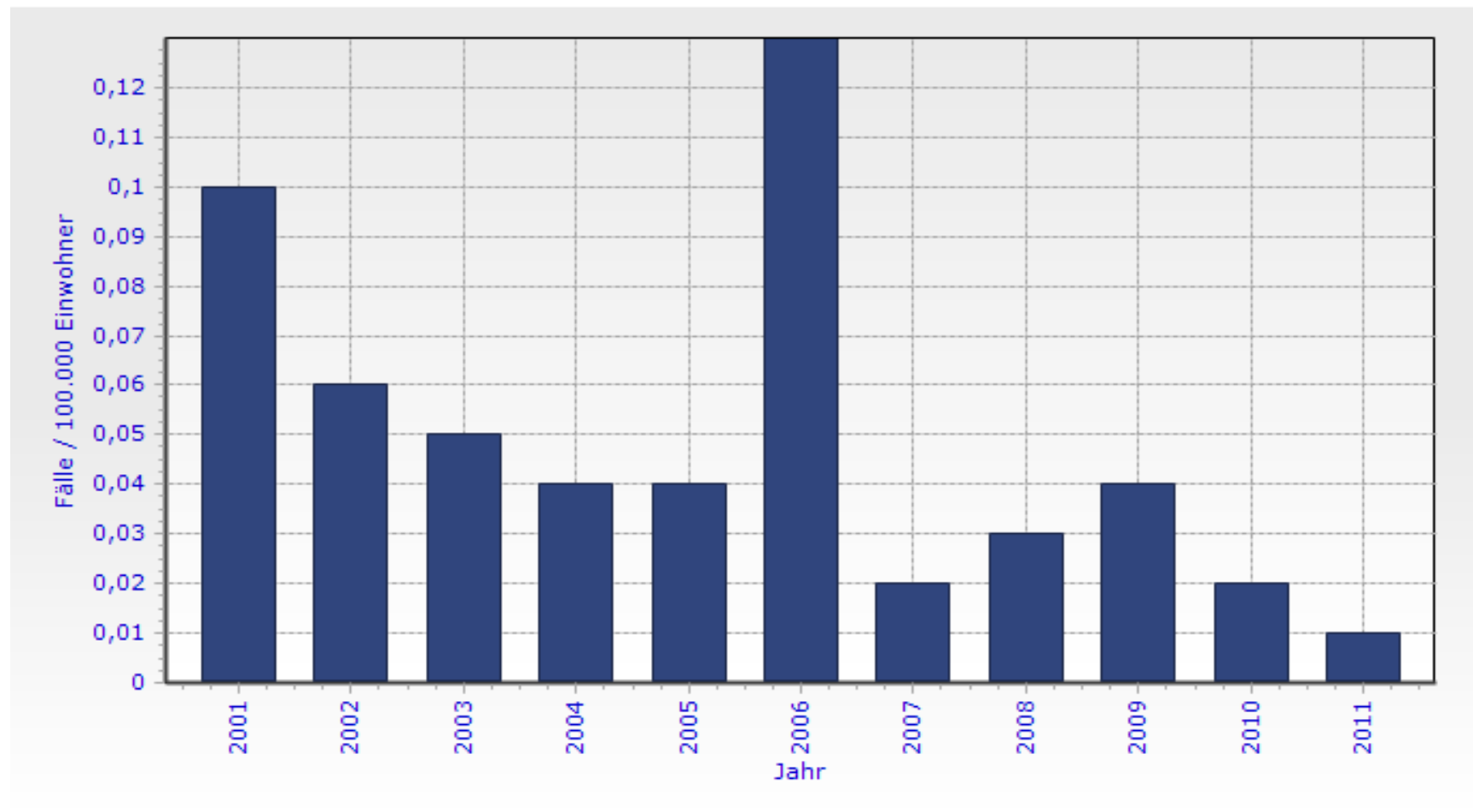
Poland



Romania



# Röteln in Deutschland – neue Bundesländer (RKI)



# Röteln in Deutschland

## Entwurf

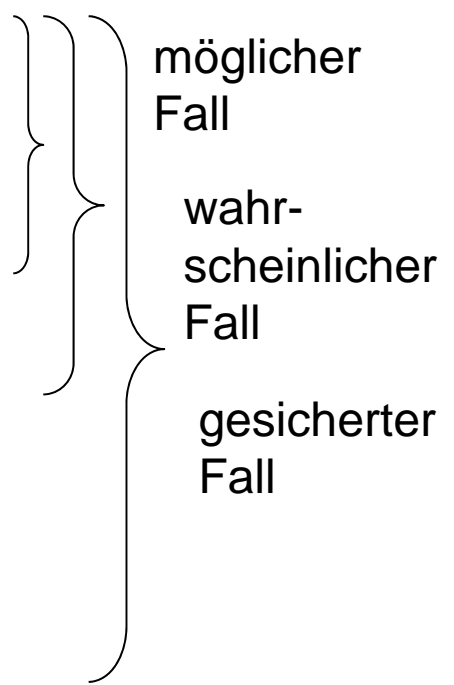
- **Gesetz zur Durchführung der Internationalen Gesundheitsvorschriften (2005) und zur Änderung weiterer Gesetze: Artikel 3**
  - **Änderung des Infektionsschutzgesetzes:**
  - § 6 Absatz 1 Nummer 1 wird wie folgt geändert:
  - a) Nach Buchstabe l wird folgender neuer Buchstabe m eingefügt:
  - „m) Röteln einschließlich Rötelnembryopathie“.

# Gründe für Röteldiagnostik

- Verdacht auf akute Infektion
  - Weitreichende Folgen bei Schwangerschaft
  - Sichere Diagnostik erforderlich
  - Niedrige Prävalenz: schlechterer Vorhersagewert bei positiven Ergebnissen
- Klärung der Immunität
  - Änderung der Mutterschaftsrichtlinie
  - Unterschiedliche Definition der Immunität

# Verdacht auf Röteln

## - Falldefinition (EU 2008)

- Klinische Kriterien für Verdacht: generalisierter makulopapulärer Ausschlag +
    - Zervikale/suboccipitale/retroaurikuläre Lymphadenopathie
    - Arthralgie/Arthritis
  - Epidemiologischer Zusammenhang
  - Laborkriterien für Fallbestätigung:
    - Virusisolierung
    - Rubella-RNA-Nachweis
    - IgG-Serokonversion
      - IgM nur Hinweis, muss bei Schwangeren IMMER bestätigt werden durch andere Methoden
- 
- möglicher Fall
- wahrscheinlicher Fall
- gesicherter Fall

# Diagnostik der akuten Rötelnvirusinfektion

Planet-  
wissen.de



Röteln

Cyberdoctor.de



Scharlach

Krea  
harma.de



Masern

Wikipedia.de



Arzneimittel-  
exanthem

# Diagnostik der akuten Rötelnvirusinfektion

## Serologie

- Nachweis einer IgG-Serokonversion: Beweis
- Positives IgM
  - Spezifität ca. 98%
  - Bei einer Prävalenz von 1/1000: PPW 4,6%
    - Überwiegende Anzahl der positiven Werte ist falsch positiv
- Antikörper meist zu Beginn der Symptomatik positiv (14.-18. Tag nach Infektion)



# Serodiagnostik Röteln

- IgG-Avidität
  - Niedrige Avidität in den ersten 3 Monaten
  - Hohe Avidität schließt akute Infektion aus
- IgG-Westernblot
  - Späte Antikörperbildung gegen E2 – Vorhandensein schließt frische Infektion aus
  - Nach Impfung häufig nur schwache oder sogar fehlende E2 - Bande

# Virusnachweis - Röteln

- Virusisolierung schwierig, da in vielen Zelllinien kein typischer CPE
- PCR
  - Sensitivität der Primerpaare unterschiedlich
  - Versand in Speziallabor dringend empfohlen
  - z.B. RKI Referenzzentrum für MMR Frau Dr. Mankertz
- Nachweis 1 Wo. vor bis 2 Wo. nach Beginn der Symptomatik im Speichel

# Diagnose der kongenitalen Infektion

- Bei akuten Röteln in der Frühschwangerschaft: PCR aus Nabelschnurblut ab 14.SSW
- Bei typischen Symptomen (Neugeborenes) und anamnestischen Symptomen während der Schwangerschaft Serologie und PCR (Speichel) beim Neugeborenen

# Nachweis der Rötelnimmunität

- Nur erforderlich wenn
  - Impfstatus unklar
  - Nur eine Impfung erfolgt ist UND eine Schwangerschaft vorliegt
    - Ohne Vorliegen einer Schwangerschaft und anderer Kontraindikationen wird eine zweite Impfung verabreicht, ohne einen Test durchzuführen

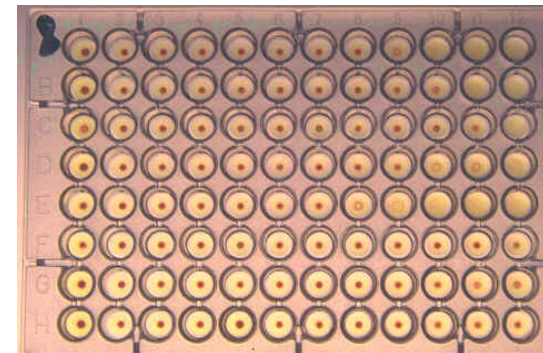
# Nachweis der Immunität – WIE?

- Testsystem seit Änderung der MuRL nicht mehr vorgegeben
- Alle zertifizierten/validierten Testsysteme für IgG-Nachweis möglich
- Ein einheitlicher Grenzwert wird nicht mehr angegeben, es werden die Bewertungen des Testherstellers als richtig angenommen



# Nachweis der Röteln-Immunität

- Bislang: HHT – ab 1:32 positiv, 15IU/ml im Zweitest wurden als schützend angenommen
- HHT in allen Ländern, außer D und A, seit über 10 Jahren verlassen: zu insensitiv, zu schwer standardisierbar, arbeitsintensiv
  - Ringversuche bestätigen das Problem
- Deutscher Grenzwert von 1:32 sehr hoch, andere Länder 1:8 oder 1:16
  - Sensitivität bei 1:32 bei ca. 85%
  - Spezifität bei 1:16 bei 98-99%



# Woher kommen die Grenzwerte?

- HHT: bei Einführung des Tests erst ab 1:32 sicher spezifisch positiv – zusätzliche Maßnahmen zur Reduktion unspezifischer Reaktivitäten
- IgG-Teste: 15 IU/ml entsprachen dem Mittelwert der Testergebnisse bei einem positiven HHT von 1:8

# Grenzwert für Immunität?

- Nach Einführung des ersten Impfstoffs (HPV77) Challenge – Untersuchungen
  - Reinfektionen waren auch nach Wildvirusinfektion möglich
  - Virämie wurde nur nach Impfung beobachtet, größere Anzahl bei niedrigeren HHT-Werten
  - Einzelfallberichte von CRS
  - Nach Impfung mit neuem Impfstamm RA27/3 (ab ca. 1985) Reinfektionsraten vergleichbar mit Wildvirusinfektion



# Grenzwert für Immunität?

- Studien mit neuem Impfstamm (RA 27/3) zeigen keine Korrelation zwischen Antikörperhöhe und Ereignis der Reinfektion
- Empfehlungen in anderen Ländern: 10 IU/ml als Grenzwert
- Voraussetzung für einheitlichen Grenzwert: einheitliche Bewertung!

# Röteln – IgG Testsysteme

- Enzymteste und Chemilumineszenzteste
  - Schnell
  - Automatisierbar
  - Echte Quantifizierung (nach RiLiBÄK noch erwünscht?)
  - Standardisierbar
    - Kalibration an internationalem Standard
      - Dann ist ja alles ganz einfach, oder?



# Internationale Einheiten?

- Entwicklung des „Standard-Serums“ (WHO-Standard RUBI I-94) ursprünglich für Standardisierung von Immunglobulin-Präparaten
- Der Internationale Standard ist ein Immunglobulin-Präparat
- Seit ca. 2 Jahren neuer Standard in Verwendung, neue Teste (z.B. Architect, Roche) damit standardisiert

# Röteln-Testvergleich

- Testvergleiche in der Literatur zeigen starke Differenzen
- Bei uns: Vergleich von 14 in Deutschland verfügbaren Rötelntests
- Messung von 150 Seren, die vorher im HHT gemessen wurden

# Testsysteme/Bewertung

## 1. Vollautomaten + Vidas

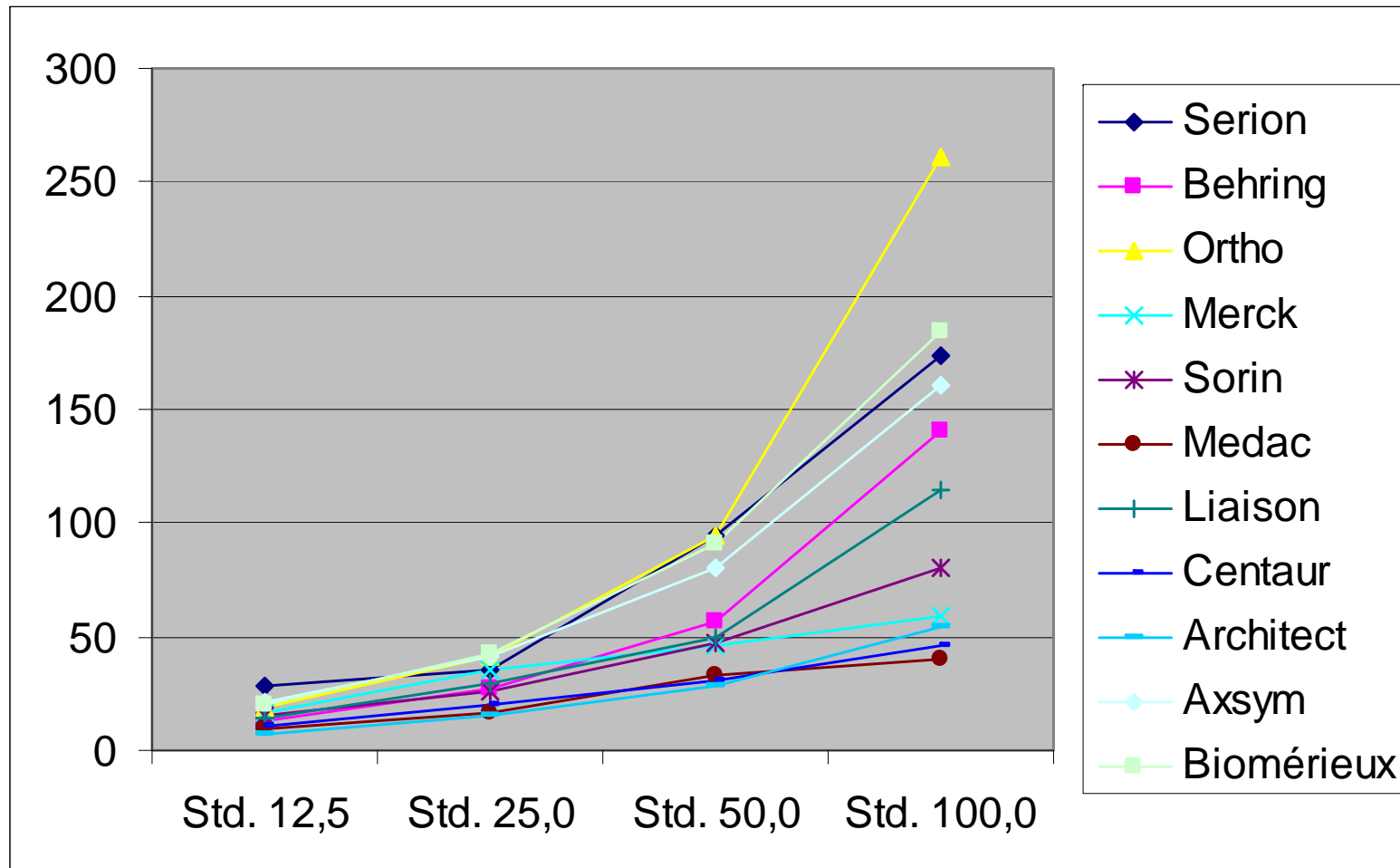
| <b>Testsystem</b>                 | <b>Negativ</b> | <b>Grenzwert</b> | <b>Positiv</b> |
|-----------------------------------|----------------|------------------|----------------|
| Abbott Axsym,<br>Abbott Architect | <5             | 5 bis <10        | ≥10            |
| DiaSorin Liaison                  | <5             | 5 bis 10         | >10            |
| Ortho ECI                         | <10            | 10 bis <15       | ≥15            |
| Roche Elecsys                     | <10            |                  | ≥10            |
| Siemens<br>Centaur                | <5             | 5 bis <10        | ≥10            |
| Vidas                             | <10            | 10 bis <15       | ≥15            |

# Testsysteme/Bewertung

## 2. Enzymteste

| Testsystem | Negativ  | Grenzwert     | Positiv              |
|------------|----------|---------------|----------------------|
| Behring    | <4 IU    | 4-7           | >7 (Immunität ab 15) |
| DiaSorin   | <10 IU   |               | >10 IU               |
| Euroimmun  | <8 IU    | ≥8 bis <11    | ≥11 IU               |
| Medac      | <12 IU   | 12 bis 18     | >18 IU               |
| Merck      | <13,5 IU | 13,5 bis 16,5 | >16,5 IU             |
| Vircell    | <9 AU    | 9-11 AU       | >11 AU               |
| Serion     | <10 IU   | 10-20 IU      | >20 IU               |

# Messung des Rubellastandards RUBI 1-94 verdünnt in negativem Serum



# Übereinstimmung der Quantifizierung

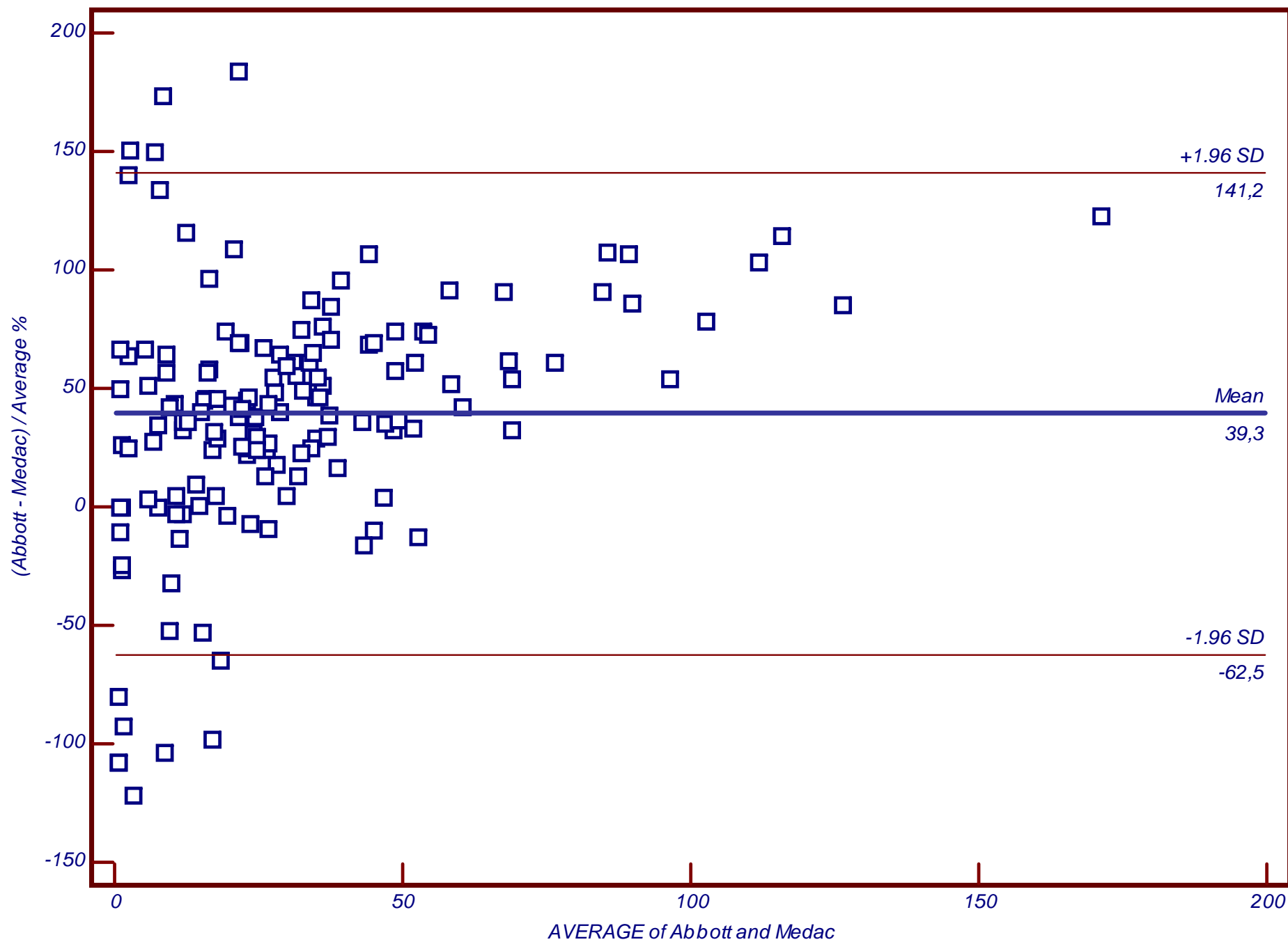
- Mittlerer VK (STAbw./MW bei allen Seren, die in mind. einem Test positiv gemessen wurden): 63% (21,3 – 312)
- Zunahme des VK-Wertes bei jedem zusätzlichen gemessenen Test!





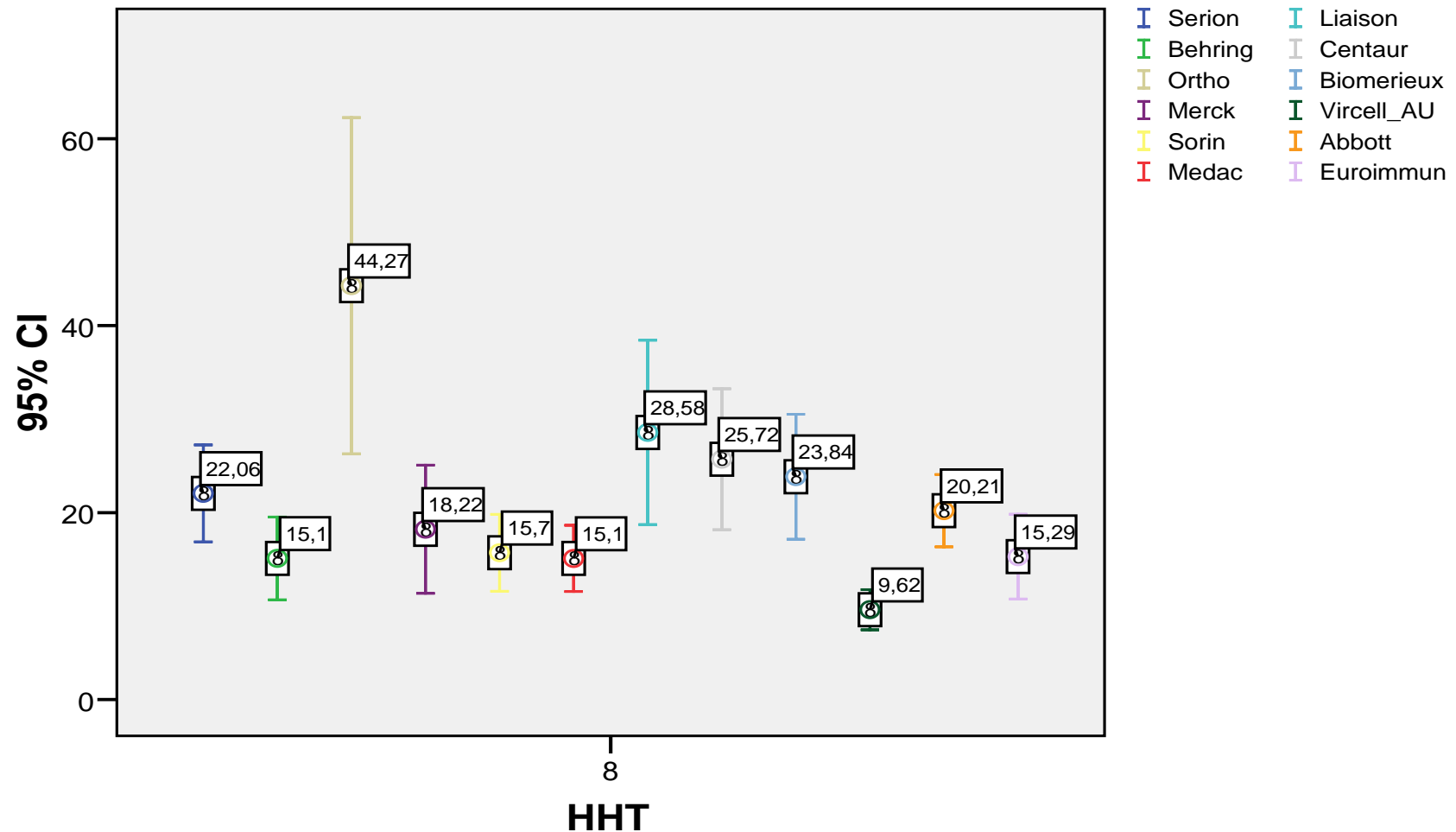
# Extreme Varianzen

| Sample No. | Measured Values |
|------------|-----------------|
| 78         | 18.1 – 500      |
| 83         | 22.1 – 191      |
| 85         | 24.7 – 201      |
| 90         | 6.7 - 94.7      |
| 95         | 7.5 – 72.6      |
| 99         | 2.2 – 158       |
| 102        | 23 – 225        |
| 147        | 41 - 500        |



# Korrelation mit HHT-Werten

Standard RUBI 1-94: HHT 1:8 entspricht **im Mittel** einem Wert von 15 IU/ml



# Was misst ein Antikörpertest?

- IgG-Antikörper = Surrogatmarker für Kontakt zu Virus
- Gemessene Antikörperhöhe macht keine Aussage über individuellen Schutz
  - Nur neutralisierende AK
- Grenzwerte sagen nur etwas über die Spezifität des Testergebnisses aus

# Herstellerebewertung oder 10 IU/ml?

|                | Cut-off<br>10IU/ml            | Firmen-Cut-off                |
|----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Negative Seren | 60%<br>einheitlich<br>negativ | 50%<br>einheitlich<br>negativ |
| Positive Seren | 73%<br>einheitlich<br>positiv | 59%<br>einheitlich<br>positiv |

# Sensitivität und Spezifität

- Spezifität
  - bei Cut-off 10 zwischen 75 und 100%
  - Bei Firmencutoff zwischen 75 und 100%
- Sensitivität
  - bei Cut-off 10 zwischen 87,9 und 100%
  - bei Firmencutoff zwischen 56,1 und 100%

# Herstellerebewertung oder 10 IU/ml?

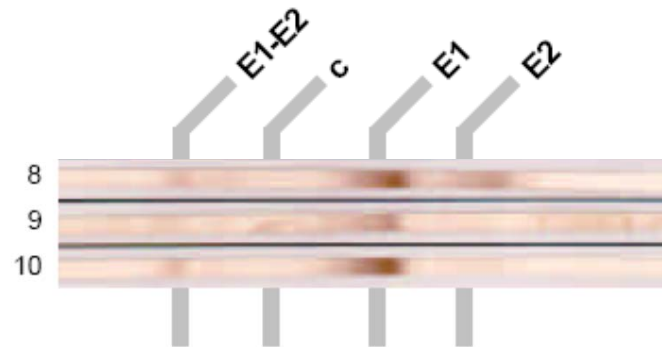
| Grenzwertige<br>Messung/Serum | Häufigkeit |
|-------------------------------|------------|
| 1                             | 21         |
| 2                             | 8          |
| 3                             | 4          |
| 4                             | 11         |
| 5                             | 6          |
| 6                             | 3          |

| Test             | Anteil Grenzwertige | Davon echt positiv   |
|------------------|---------------------|----------------------|
| Abbott Architect | 13%                 | 64,7%                |
| Abbott Axsym     | 6%                  | 33,3%                |
| Bayer Centaur    | 8%                  | 45,5%                |
| Enzygnost EIA    | 11,3%               | 64,7%                |
| Biomérieux Vidas | 8%                  | 91,7%                |
| DiaSorin EIA     | 4,7%                | 100%                 |
| DiaSorin LIAISON | 4,7%                | 14,3%                |
| Euroimmun        | 13%                 | 92,3%                |
| Medac EIA        | 14%                 | 100%                 |
| Merck EIA        | 0%                  | (25 falsch negativ!) |
| Ortho ECI        | 4%                  | 100%                 |
| Roche Modular    | 17%                 | 40%                  |
| Serion EIA       | 16%                 | 100%                 |



# Was tun bei grenzwertigem Ergebnis?

- Empfehlung: Messung in zweitem, unterschiedlichen Testsystem
  - Z.B. ELISA – ChLIA
- Bestätigung der Spezifität auch durch Lineassay (z.B. Mikrogen) möglich



# Befundbericht



- Positiv
- Z.B.  $> 10 \text{ IU/ml}$  (wenn der Grenzwert des Herstellers bei 10 liegt)
- Immunität ist anzunehmen



# Andere Empfehlungen ...

- Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten (grünes Buch der Gesellschaft für Virologie):
  - HHT 1:32, ELISA >35 IU/ml : Immunität
  - HHT 1:8, 1:16 ELISA >7-10 IU/ml:  
„Basisimmunität mit unsicherem Schutz vor Erkrankung“
- Es handelt sich nicht um Leitlinien, die nach Leitlinienkriterien erstellt wurden!!!

# Prädiktive Werte

- Bei hoher Prävalenz ist der Vorhersagewert auch bei relativ schlechter Spezifität gut
  - > 98 % PPW auch bei den „schlechten“ Testen

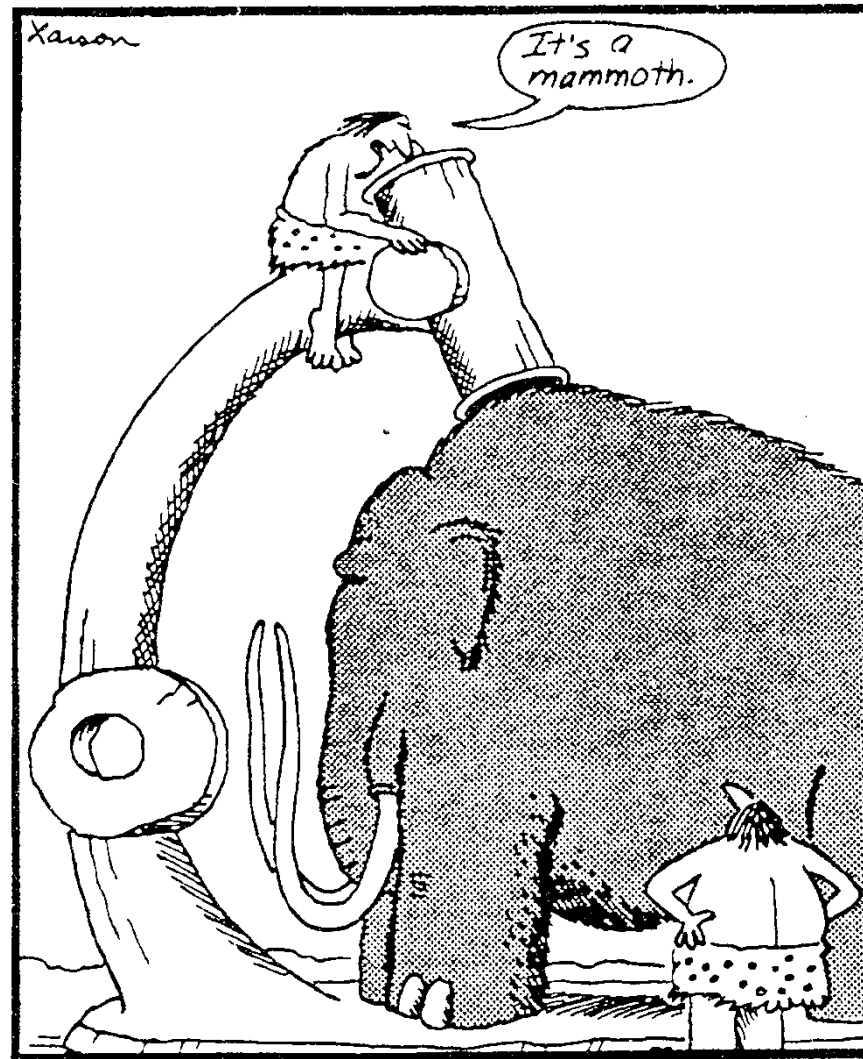


# Schutz durch Impfung

- Impfstoffe hoch immunogen, >95% lang andauernde Protektion schon nach 1 Impfung ab 9. LM
- Durchimpfung von  $\geq 85\%$  für Herdenimmunität und Schutz vor CRS notwendig – erfüllt in D
- CRS extrem selten geworden

- Bei der momentanen epidemiologischen Situation ist die Gefahr, dass eine Schwangere eine asymptomatische Rötelninfektion durchmacht und ihr Kind dadurch geschädigt wird, als vernachlässigbar einzustufen
- Ist ein Exanthem in der Anamnese, muss eine Rötelndiagnostik durchgeführt werden

# Vielen Dank!



Early microscope