

EBV

Krankheitsbilder – Diagnostik
Neuester Stand

Dr. med. Daniela Huzly

Abt. Virologie, Universitätsklinikum
Freiburg i. Br.



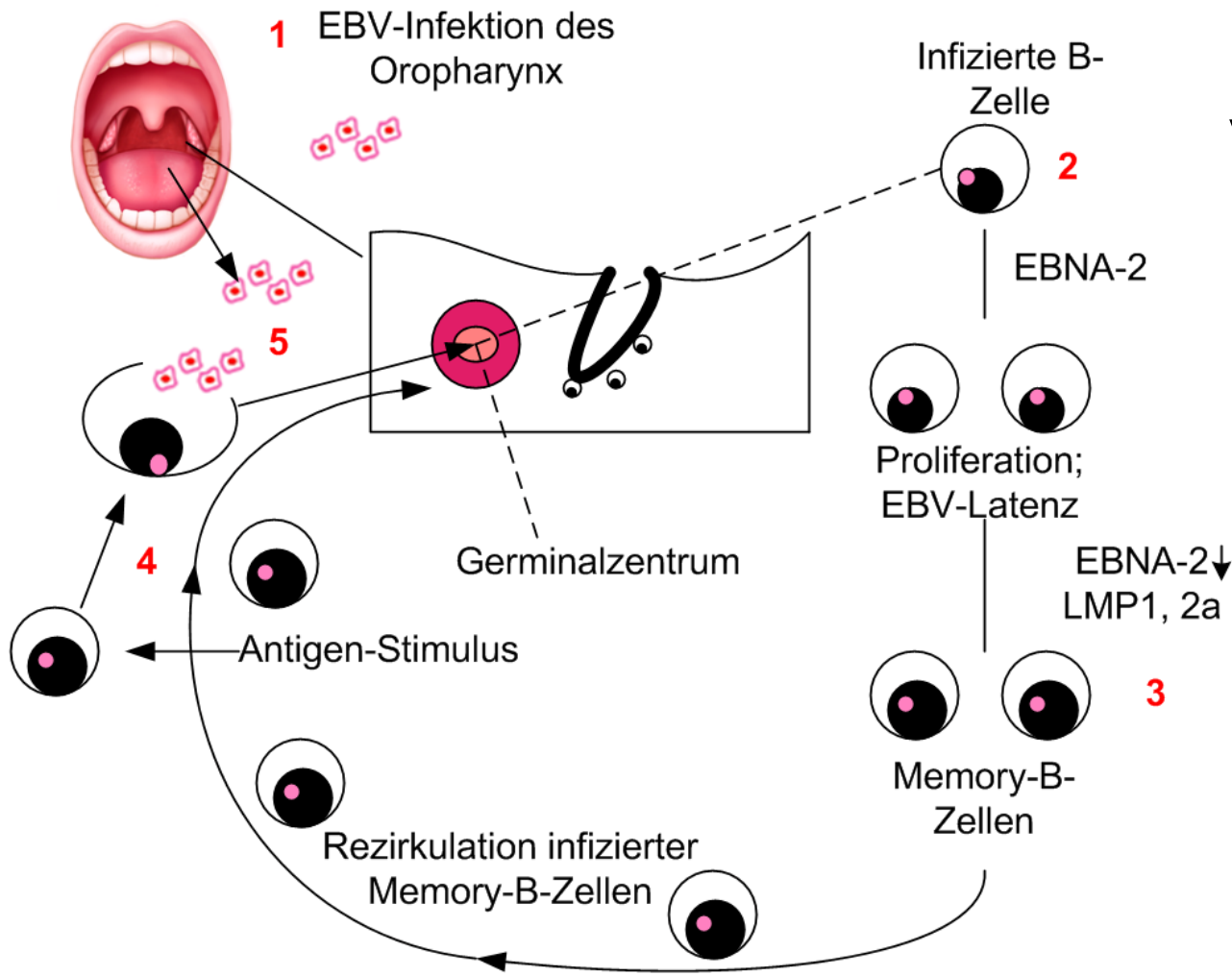
EBV - Historie

- Beobachtungen durch Denis Burkitt in Ostafrika: bis dahin unbekannte Tumorerkrankung im Kindesalter (BL)
- Tony Epstein und Yvonne Barr (Studentin) Tumorzellen in vitro propagiert, herpesvirusähnliche Strukturen im EM (1964)



- Beobachtungen im Labor von Henle Anfang 70er Jahre: seronegativer TA erkrankte an „Mononukleose“, Virus aus peripherem Blut anzüchtbar
- Retrospektive Analysen bewiesen Assoziation von EBV mit dem Krankheitsbild der infektiösen Mononukleose (IM)

EBV-Lebenszyklus



Massive Reaktion von T-Zellen

EBV - kissing disease



Henry Toulouse-Lautrec



- Kontrolle der Infektion durch Gleichgewicht zwischen T-Zellreaktion und Latenz in B-Zellen
- Fehlende Kontrolle: Lymphoproliferation, Tumorgenese (+ genetische Faktoren)



EBV-assoziierte Erkrankungen bei fehlender Kontrolle

■ Gesicherte Tumorassoziation

- Nasopharynx-Ca; EBV-assoziiertes Magenca.
- Morbus Hodgkin / Hodgkin Lymphom
- Andere Lymphome (zerebrales Lymphom bei HIV)
- PTLD (Post-Transplantations-Lymphoproliferation)
- Lymphomatoide Granulomatose

■ Hämophagozytose



Akute EBV-Infektion

- Krankheitsbild abhängig vor allem von Alter und Immunitätslage
 - typisches Krankheitsbild der „Mononukleose“ vor allem bei 15-25-jährigen
 - häufigste Ursache protrahierter Erkrankungen im Adoleszentenalter

Fieber, starke
Halsschmerzen,
Krankheitsgefühl



Labor: Relative Lymphozytose, Erhöhung von
GOT, GPT, AP und LDH

Leber tastbar vergrößert, LK nuchal und
zervikal

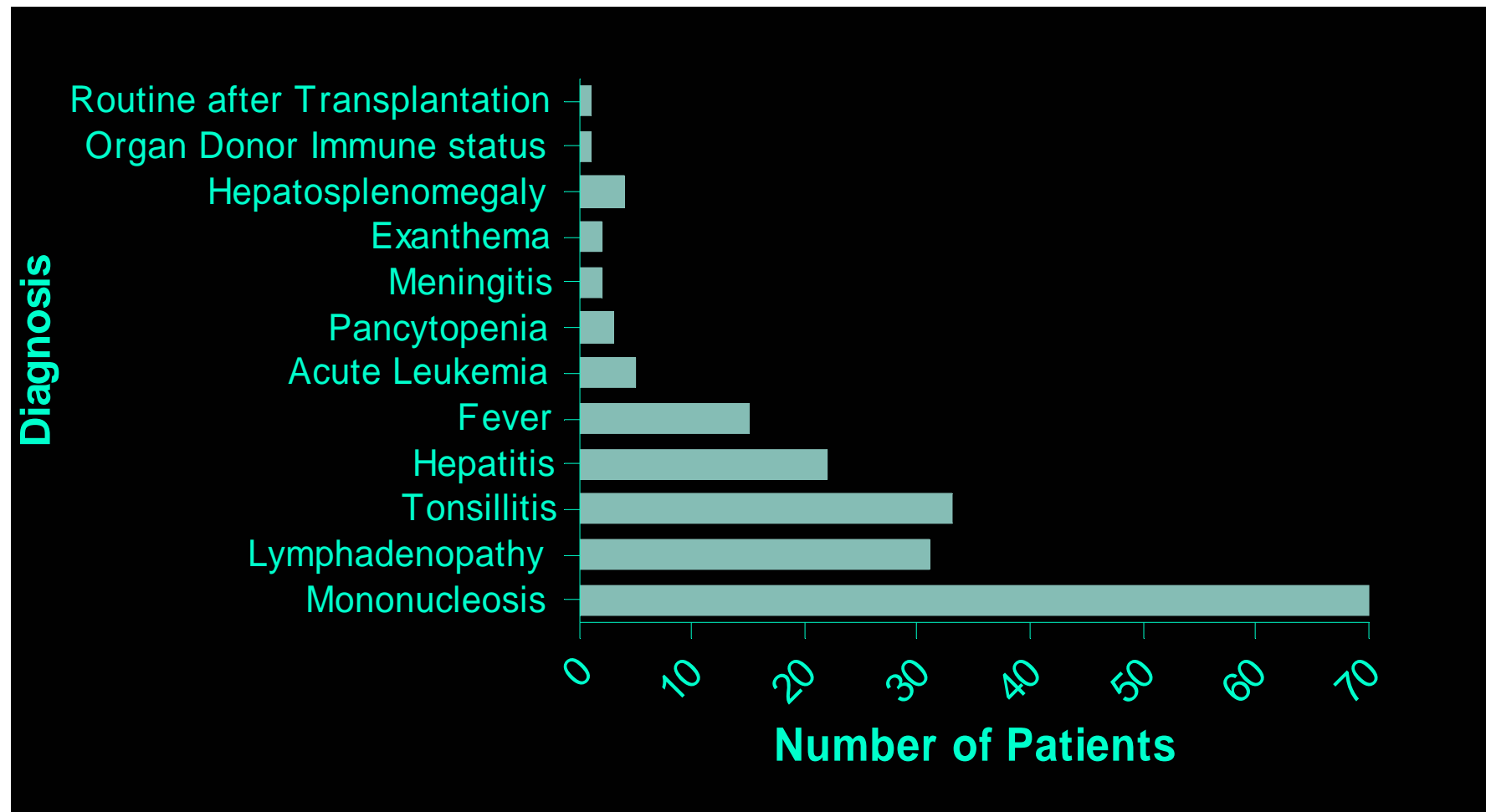
Sonographisch Hepatosplenomegalie



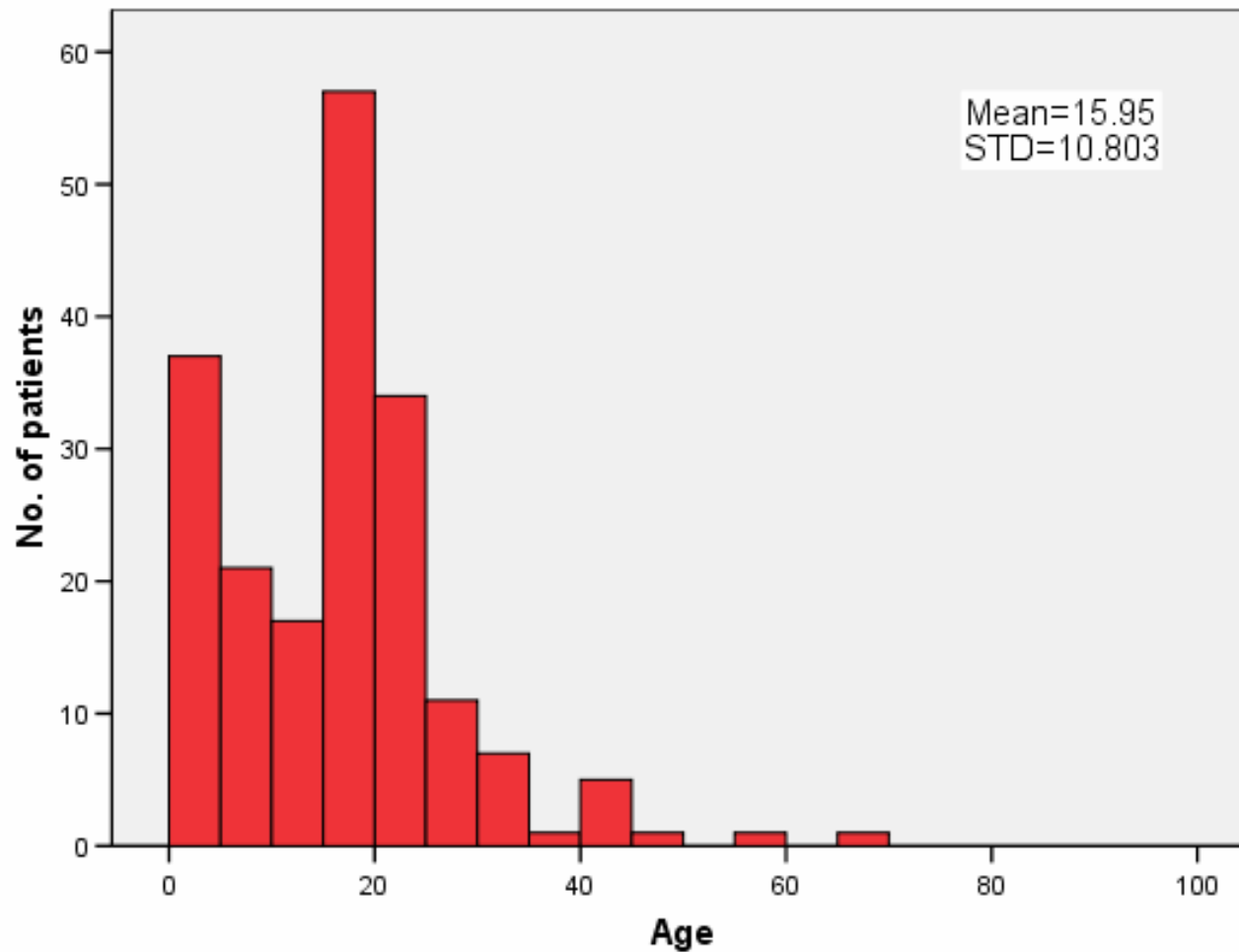
Atypische Verläufe

- Isolierte Thrombopenie, Anämie, Hepatitis
- Leistungsabfall ohne greifbare klinische Symptome
- Akute Hepatitis
- „Fieber unklarer Genese“, Fieberschübe
- Ulzerationen an der Vulva als beginnendes Symptom
- Atypische Verläufe besonders bei Infektion <5J und >25J

Gründe für EBV-Serologie – Patienten mit akuter EBV-Infektion



Altersverteilung akute EBV-Infektion





Diagnostik der akuten EBV-Infektion

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.

Aus den Beiheften zu den INSTAND Ringversuchen

EBV-Testsysteme

Die Qual der Wahl




- EIA: VCA-IgG, VCA-IgM, EBNA-1-IgG
- EBV-IgG, EBV-IgM
- EA-IgG, EA-IgM ??
- Strip Immunoassays
 - IgG, IgA, IgM
- Multiplex-Assays IgG und IgM
- Schnelltests
 - Spezifisch
 - Heterophile AK



Prospektive Studie

- Seren von Patienten mit Verdacht auf akute EBV-Infektion, keine Immunsuppression
- Diagnose durch Immunfluoreszenz + Avidität + Verläufe (vorher/nachher)
- Verblindete Testung und Auswertung in verschiedenen EIAs, Blots etc.
- Alle Seren in Serum-PCR (verblindet)



Prospektive EBV-Studie

Ergebnisse

- 195 Seren eingeschlossen, 194 auswertbar
- 25 seronegativ, 47 frühe akute Infektionen, 11 späte akute Infektionen, 111 alte Infektionen
- Übereinstimmende Bewertung: 29%



Leading Symptom	Other patients	EBV patients
Tonsillitis/Pharyngitis	30%	63%
Lymphadenitis	23%	15%
Fever	15%	8%
Hepatitis	10%	7%
Rash after antibiotics	1%	2%

Erkennung akuter Infektionen (früh und spät)

Schnelltest (Streifen)	65%
Monospot	50%

EIA A	81,70%
EIA B	63,30%
A+B kombiniert	58,30%
EIA C	85%
EIA D	76,70%
EIA E	85%
EIA F	88,30%
Chlia A	53,30%
Chlia B	91,70%

Multiplex	91,70%
Lineassay A	76,60%
Lineassay B	75%
Lineassay C	95%

IFA	96,70%
-----	--------

PCR	96,70%
-----	--------



EBNA-1-IgG-Bestimmung

- Spezifität EBNA-1-IgG: 2 Testsysteme messen auch zahlreiche seronegative positiv
- Frische Infektionen: Zwischen 2 und 21 positiv
- Kürzliche Infektionen: Zwischen 2 und 8 positiv



Symptombeginn vor...

Bis zu einer Woche	65,5%
Ein bis zwei Wochen	17,3%
Zwei bis drei Wochen	5,2%
Mehr als drei Wochen	12%

EBNA-1-positive eher aus der frühene Phase



IgM-Teste?

- Negative Seren: 0 bis 1 falsch positiv
- Abgelaufene Infektionen: 1 bis sieben positive, einige Grenzwertige
- Aber: In Kombination mit EBNA-1-IgG gute Spezifität, Falschdiagnose EBV-Infektion kommt selten vor

„Unresolved cases“

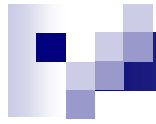
Assay System	Unresolved cases
Enzygnost EIA	0
Novagnost EIA	32
Enzygnost with Novagnost EBNA	31
Medac EIA	19
Serion EIA	36
Mikrogen EIA	15
Virotech EIA	17
Immulite	42

Assay System	Unresolved cases
LIAISON	14
Bioplex 2200	14
Mikrogen Lineassay	10
Viramed Lineassay	12
Virotech Lineassay	2
Biorad rapid test	12
IFA	6



Unresolved cases...

- EBNA-1-negative durchgemachte Infektionen:
 - Zw. 2 und 15 (IFT) - Frage der Sensitivität?
 - IFT-negative häufig in Testen mit rekombinanten Einzelantigenen positiv oder grenzwertig
- IgM-negative frische Infektionen:
 - 2 frühe + 1 späte Phase
 - 2 frühe komplett seronegativ, durch PCR entdeckt



Erkennung frischer Infektionen

Kombination
Testsysteme mit
PCR bei
Seronegativität oder
unklarem Befund

Novagnost	93%
MikrogenEIA	98%
VirotechEIA	97%
Medac	97%
Serion	95%
Immulite	93%
Liaison	100%
Bioplex2200	98%
Viramed Line	88%
Virotech Line	97%
Mikrogen Line	98%
Biorad Schnelltest	93%
IFA	100%



Fazit EBV-Studie

- Schnellteste erkennen zu wenige frische Infektionen
- IgG- und IgM-Teste sollten mit einem guten EBNA-1-Test kombiniert werden
- Serum-PCR kann bei fraglichen Fällen helfen
 - Achtung! Kontext!
 - <200 Kopien: 2 ohne frische Infektion positiv



Fall

- 27-jähriger Mann. Diagnose: Fieber unklarer Genese, LK-Schwellung
- VCA-IgM niedrig positiv, VCA-IgG deutlich positiv, Avidität grenzwertig, EBNA-1-IgG negativ
- Serum-PCR: 1580 Kopien/ml
- Diagnose: Sepsis im Rahmen einer AML (Erstdiagnose)
- Vorserum von 2008: EBV-Seropositiv




Fall

- 20-jähriger mit massiven LK-Schwellungen, subfebrilen Temperaturen, erhöhter LDH und GOT
- VCA-IgG grenzwertig, nach Harnstoff negativ, IgM negativ, EBNA-1 negativ
- Serum-PCR im Labor zugefügt: 1500 Kopien/ml
- Bei Anruf: Patient in Onkologie verlegt, sollte KM-punktiert werden
- Verlauf 4 Tage später: VCA-IgG 1:128, IgM mittelgradig positiv



Diagnostik der EBV-assoziierten PTLD (Transplant-Patienten)

- Messung der Viruslast in Vollblut oder Plasma?
 - *Ruf et Al. Journal of Clinical Virology, Volume 53, Issue 3, March 2012, Pages 186–194*
 - Vollblut: niedrigere Spezifität, Kombination mit Plasma-PCR sinnvoll
 - Plasma-PCR: >1000 Copies/ml PPW 54%, >100 PPW wie Vollblut mit Cut-off >20000



Diagnostik der EBV-Infektion

Nasopharynx-CA

- Früher üblich: VCA-IgA
 - Keine standardisierten Testverfahren
 - Ja/Nein Aussage, kein Verlaufsparemeter
- Heute: Plasma-PCR (Viruslast) Sensitivität 91-93% , bei Positivität gut als Verlaufsparemeter (Tumormarker) geeignet



Diagnostik der EBV-Infektion

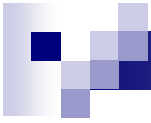
Lymphome

- Messung im Tumor: In Situ-Hybridisierung der EBER, Nachweis von LMP-1 und EBNA-1 in Tumorzellen
 - Cave: Background durch positive Lymphozyten mit latenter Infektion
- Bei EBV-assoziierten Lymphomen teils hohe Plasma-Viruslast messbar (Tumormarker)



EBV-PCR bei anderen Erkrankungen

- Liquor: im Rahmen von B-Zell-Aktivierungen messbar (bei anderen Infektionen)
- EDTA-Blut: bei allen Formen der Immunkompromittierung regelmäßig messbar, im Rahmen akuter Infektionen messbar (Ausschwemmung von Memory-B-Zellen)



Danke für Ihre Aufmerksamkeit!