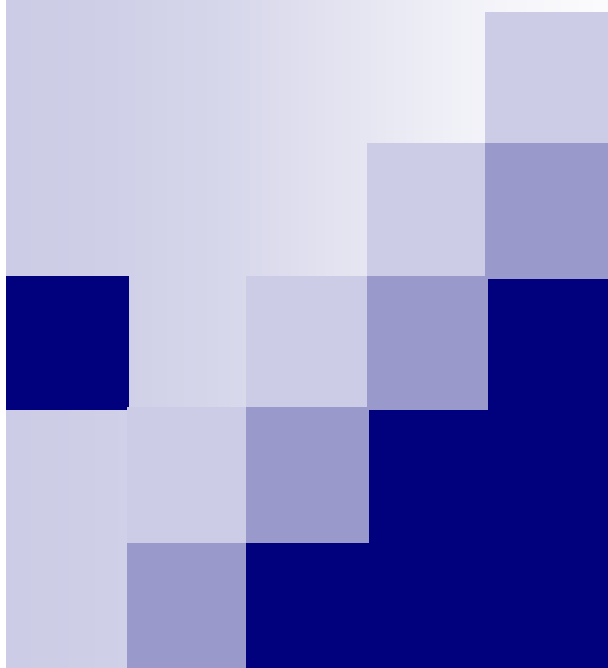




Serologische Infektionsdiagnostik – hellseherische Fähigkeiten gefragt!

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



Wofür werden serologische Tests verwendet?

- Zur schnellen Diagnostik bei
 - Infektionen mit Viren und anderen schwer anzüchtbaren Erregern
- Zur Bestimmung des Immunstatus und zur Klärung der Immunität gegen bestimmte Erreger

- Nachweis verschiedener Antikörperklassen möglich

- Diagnose einer Infektion mit einem Einzelserum

- Hochmoderne, automatisierte Testverfahren

- Preiswert, schnell



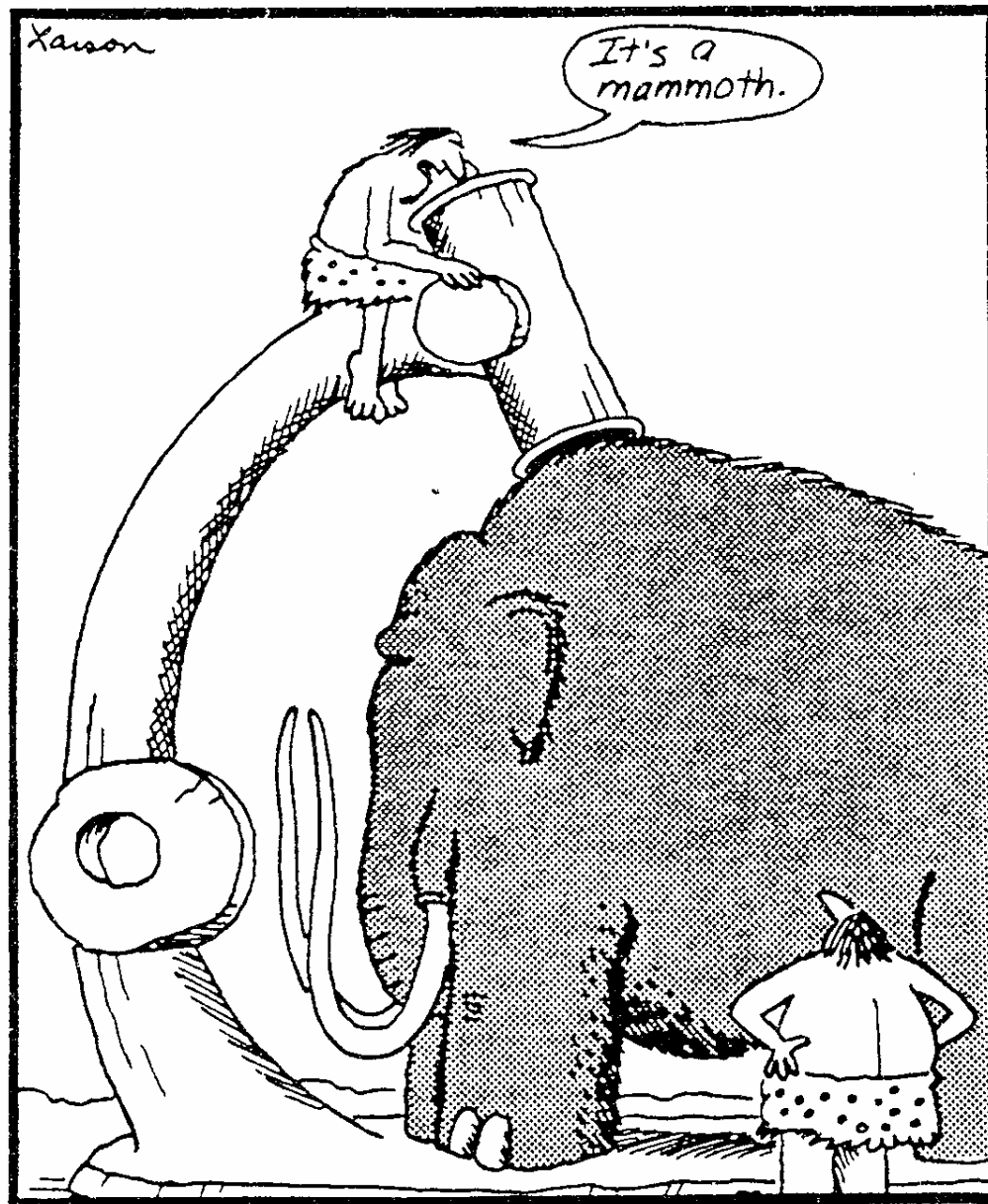
- Spezifität?

- Kontrollierten Studien?

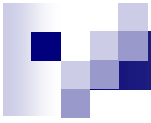
- Studien zur Evidenz serologischer Testverfahren?

- Kein einziger Cochrane Review





Early microscope



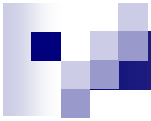
Die einfache Übung?
Serologische Diagnostik bei
Infektionen, die man nur
einmal im Leben bekommt

1. Masern: Ganz einfach, oder?



Fallbericht 1

- 22-jährige Studentin entwickelt 1 Tag nach Rückkehr von Auslandssemester in Frankreich hohes Fieber, Halsschmerzen, am nächsten Tag kleinfleckiges Exanthem
 - *V.a. EBV DD Masern*
- Anamnese:
 - In Frankreich jungen Mann kennengelernt
 - In der Gegend in Frankreich Masern-Ausbruch gemeldet



- Serologie: EBNA-1-IgG deutlich positiv, EBV-VCA-IgM negativ: Frische EBV ausgeschlossen
- Masern-IgG und -IgM negativ
- Impfung nicht Erinnerunglich
- Verlaufsserum 4 Tage später: IgG und IgM deutlich nachweisbar
- Retrospektiv: PCR aus Rachenabstrich deutlich positiv
- **DIAGNOSE: MASERN**



Fallbericht 2

- 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



Fallbericht 3

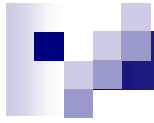
- 60-jährige Pat., Stammzelltransplantation vor 10 Jahren, als Kind Masern gehabt
- Respiratorischer Infekt, Fieber, Entwicklung einer atypischen Pneumonie
- Am 3. Tag kleinfleckiges Exanthem am Stamm
- Kontakt zu Kind, das Masern hatte, vor ca. 3 Wo.
- Serologie: Masern-IgG positiv, -IgM negativ

- 
- Multiplex respiratorische Erreger aus Rachenabstrich und BAL: negativ
 - Wg. Kontakt und typischem Röntgenbild: Masernvirus-PCR aus BAL
 - Deutlich positiv!!
 - PCR aus Urin und Serum und Rachenabstrich positiv
 - Vier Tage später IgM deutlich nachweisbar und IgG von 700 auf 3000 mIU/ml angestiegen

Fallstricke Masern



- Späte Antikörperbildung!
 - Bei beginnender Symptomatik häufig noch keine Ak nachweisbar, negative Teste schließen Infektion nicht aus!
- Bei Reinfektion kann IgM-Bildung ausbleiben oder verzögert stattfinden
- Im Zweifelsfall PCR aus Rachenabst. + Urin
 - RKI – Referenzzentrum für MMR



2. Mumps

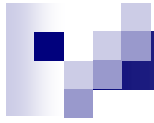
- Mumpsausbrüche weltweit: Infektion trotz Impfung möglich
- Durchimpfung in Deutschland: ca. 85% zweimalige Impfung, >90% einmalige Impfung

Fallstricke

Mumps



- Bei Infektion nach Impfung häufig fehlende IgM-Bildung (nur ca. 25% positiv!) und IgG-Boosterreaktion (hoch avides, schnell ansteigendes IgG)
- Fazit: sicherer Ausschluss serologisch nicht möglich
 - PCR aus Rachenabstrich und Urin (ggf. RKI)



3. Hepatitis A: das ist jetzt aber einfach, oder?

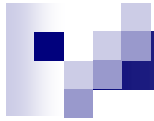


Fallbericht „akute Hepatitis A“

- 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



- 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



- 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

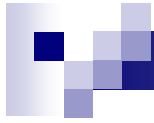
- a) persistierend

- b) unspezifisch

- vor allem bei Autoimmunerkrankungen

- Semiquantitative Auswertung! Akute Infektion hat hoch positive Werte!





4. Ringelröteln - kein Problem,
oder etwa doch?



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Clinical Virology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jcv



False-negative serology in patients with acute parvovirus B19 infection

Simon Bredl^{a,b}, Annelie Plentz^b, Jürgen J. Wenzel^b, Heiko Pfister^c, Johannes Möst^d, Susanne Modrow^{b,*}

^a Redbiotec AG Wagistrasse 23 8952 Schlieren Switzerland

^b Institute for Medical Microbiology and Hygiene, National Reference Centre for Parvovirus Infection, University of Regensburg, Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg, Germany

^c Mikrogen GmbH, Floriansbogen 2-4, 82062 Neuried, Germany

^d Microbiological Laboratory, Franz Fischer Str. 7b, 6020 Innsbruck, Austria

Fallstricke

Parvovirus B19

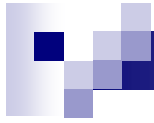


- Immunkomplexbildung (Ursache der Symptome!)
führt zu falsch negativen serologischen Testen
 - IgM und/oder IgG können falsch negativ sein
- Sicherer Ausschluss einer Infektion serologisch nicht möglich!
 - PCR aus Serum zuverlässig positiv

Fazit 1

- Fehlendes IgM und/oder IgG schließt Infektion nie aus
- Klinische Angaben sind dringend notwendig, um erforderliche Zusatzuntersuchungen durchzuführen bzw. Verlaufsseren anzufordern





- Schwierigere Übung: Nachweis von Primärinfektionen bei persistierenden Erregern



Unterscheidung Primärinfektion/latente Infektion

- EBV + CMV: Zusatzuntersuchungen wie Avidität, Westernblot etc. kommerziell verfügbar
- Diagnose der Primärinfektion auch in nicht spezialisierten Laboratorien problemlos möglich
- Wirklich problemlos?



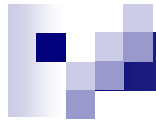
Testvergleich EBV

- 14 kommerzielle Testverfahren verglichen
- Übereinstimmende Diagnose: 29%
- Erkennung frischer Infektionen mit einem Serum: 53 – 95% (Mittelwert 77%)
 - Darunter ein neues Schnelltestverfahren mit angeblich 100%iger Detektionsrate: 65%



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?)

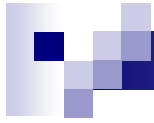


Jetzt aber wirklich einfach:
Hepatitis und HIV!



Neulich im Labor

- Hornhautspender-Serum
- HBsAg im Abbott Architect: 1,4 schwach reaktiv
- Gegentest: LIAISON XL: 0,034 negativ
- Anti-HBc: deutlich positiv
- PCR: 23 000 Copies/ml !
- HBsAg Siemens Centaur: 253 Index !!
- Inhibition?



Was sonst noch so gemacht wird...

- Serologien für respiratorische Infektionen
- Serologie bei Myokarditis
- Postinfektiöse Arthritis

Respiratorische Erreger



- Inkubationszeit meist viel zu kurz für Antikörperantwort
- Häufige Reinfektionen, verschiedene Serotypen
- Antikörperanstiege nach 14 Tagen nicht in allen Fällen messbar, selten Verlaufsserum
- IgA/IgM – auch bei Blutspendern nachweisbar (Firmendaten)
- Chlam. pneumoniae: Eine Studie mit Kontrollgruppe ohne Symptome: 37% IgA/IgM
60% HSP60 IgG

Respiratorische Erreger - Studien

Post-deployment health assessment symptom reporting by respiratory pathogen and seroconversion status

Pathogen	n	n (%) with PDHA	Subjects with a PDHA who reported the symptom (%)								
			Cough	Runny nose	Fever	Weakness	Headache	Chest pain	Trouble breathing	Diarrhea	Vomiting
<i>Bordetella pertussis</i>											
SC	37	36 (97)	13.9	38.9	8.3	8.3	27.8	5.6	13.9	30.6	5.6
NC	963	791 (82)	12.9	30.3	12.8	10.5	27.0	8.1	9.2	30.2	9.5
<i>Chlamydia pneumoniae</i>											
SC	33	26 (79)	15.4	34.6	19.2	15.4	26.9	15.4	19.2	26.9	7.7
NC	967	801 (83)	12.9	30.6	12.4	10.2	27.1	7.7	9.1	30.3	9.4
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>											
SC	29	27 (93)	11.1	33.3	11.1	0.0	22.2	7.4	11.1	29.6	14.8
NC	971	799 (82)	13.0	30.7	12.6	10.8	27.3	8.0	9.4	30.3	9.1
<i>Adenovirus</i>											
SC	6	6 (100)	20.0	20.0	20.0	20.0	0.0	0.0	0.0	40.0	0.0
NC	994	822 (83)	12.9	30.8	12.5	10.3	27.2	8.0	9.5	30.2	9.4
<i>Parainfluenza virus</i>											
SC	43	35 (83)	17.1	40.0	17.1	17.1	37.1	5.7	5.7	31.4	5.7
NC	936	775 (83)	12.6	29.9	12.3	9.7	26.1	7.7	9.3	29.7	9.4
<i>Respiratory syncytial virus</i>											
SC	10	7 (70)	14.3	14.3	0.0	0.0	14.3	42.9*	14.3	42.9	0.0
NC	990	819 (83)	12.9	30.9	12.7	10.5	27.2	7.7	9.4	30.2	9.4

*p-value <0.05; p-value calculated using Fisher's exact test

PDHA, post-deployment health assessment form; SC, seroconverter; NC, non-seroconverter

- Wenn Diagnostik, dann PCR!



Postinfektiöse Erkrankungen

- Akute Myokarditis („kardiotrope Viren“)
 - Postinfektiöses Geschehen, das nach nahezu allen Virusinfektionen auftreten kann
 - Antikörpernachweis (z.B. Cocksackieviren) korreliert nicht mit tatsächlicher Infektion bzw. Ursache
 - Bei Säuglingen: häufigste Ursache Cocksackieviren, müssen durch PCR im Stuhl nachgewiesen werden
- Arthritis
 - Keine kontrollierten Studien, die Nutzen der Serologien belegen
 - Kreuzreaktivitäten zwischen den verschiedenen bakteriellen Erregern
 - Unspezifische Reaktionen bei Parvovirus B19 Infektion

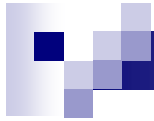


CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, Jan. 2011, p. 167–172
1556-6811/11/\$12.00 doi:10.1128/CVI.00367-10
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 18, No. 1

Acute Parvovirus B19 Infection Causes Nonspecificity Frequently in *Borrelia* and Less Often in *Salmonella* and *Campylobacter* Serology, Posing a Problem in Diagnosis of Infectious Arthropathy[†]

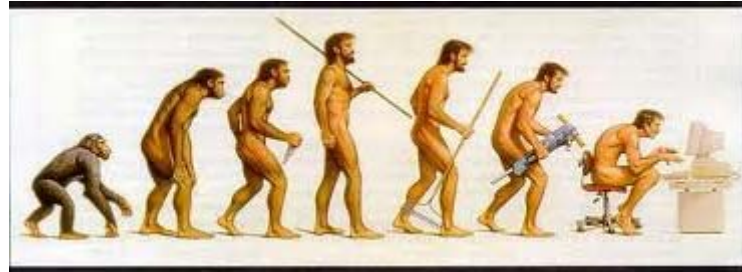
Tamara Tuuminen,^{1,4} Klaus Hedman,^{2,3} Maria Söderlund-Venermo,^{3*} and Ilkka Seppälä²



Bestimmung des Immunstatus

- ELISA-Ergebnisse korrelieren schlecht mit NT-Ergebnissen
- Tests verwenden unterschiedliche Antigene und Technologien, starke Schwankungen
 - Bsp. Mumps: 5 IgG-Tests verglichen – Übereinstimmung 44%, selbst Seren, die in allen Tests positiv sind, teils im NT negativ

Fazit 2



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

Danke für Ihre Aufmerksamkeit...



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

Hilfestellung zur Anwendung serologischer Teste: www.virologie-freiburg.de