

# **Lexikon Infektions- Serologie**

Quelle: Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Axel M. Gressner und Torsten Arndt (Hrsg.). Springer-Verlag Heidelberg, 2. Auflage, 2013

# Inhaltsverzeichnis

Adenoviren .....	5
Aviditätsbestimmung.....	6
Bakterien .....	7
Bartonella .....	9
Bordetella pertussis und parapertussis .....	10
Borrelia burgdorferi.....	12
Brucella sp.....	15
Campylobacter coli und jejuni .....	17
Candida .....	18
Chikungunya-Viren .....	19
Chlamydia pneumoniae .....	20
Chlamydia psittaci .....	21
Chlamydia trachomatis .....	22
Coxsackie-Viren .....	23
Cytomegalie-Viren .....	24
Dengue-Viren .....	26
Diphtherie .....	27
Echinococcus granulosus .....	29
ECHO-Viren .....	31
Enzymimmuntest.....	32
Epstein-Barr-Viren (EBV).....	34
FSME-Viren.....	36
Gelbfieber-Viren .....	37
Haemophilus influenzae .....	38
Hanta-Viren .....	39
Helicobacter pylori .....	40
Herpes-simplex-Viren 1 und 2 .....	42
HIV-1 und HIV-2 .....	44
Humane Herpes-6-Viren.....	47
Immunblot.....	48
Immunfluoreszenz, indirekte.....	49
Immunodot .....	51
Immunstatus.....	52
Immuntoleranz.....	53
Impfantikörper.....	54
Infektion.....	55
Infektionsstatus.....	56
Influenza-Viren A, B und C .....	57
Japanische-Enzephalitis-Viren.....	59
Klebsiella pneumoniae.....	60
Krim-Kongo-Fieber-Viren .....	62
Legionellen .....	63
Leishmania donovani.....	66
Line-Assay.....	68
Listeria monocytogenes.....	69
Masern-Viren.....	71
Mumps-Viren .....	73
Mycoplasma hominis .....	75
Mycoplasma pneumoniae .....	76
Parainfluenza-Viren .....	77
Parvo-Viren .....	78
Plasmodien.....	80
Respiratory-Syncytial-Viren .....	81
Rift-Valley-Fieber-Viren .....	83
Röteln-Viren .....	84

Sandfliegen-Fieber-Viren .....	86
SARS-Corona-Viren .....	87
Tetanus .....	89
Toxoplasma gondii .....	91
Treponema pallidum .....	93
Ureaplasma urealyticum .....	95
Varizella-Zoster-Viren .....	96
Viren .....	98
West-Nil-Fieber-Viren .....	100
Yersinia enterocolitca .....	102

# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Linienblot (VisE) / Westernblot: Antikörper gegen <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	13
Abb. 2 Antikörper gegen <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	14
Abb. 3 Linienblot (gG 2) / Westernblot: Antikörper gegen Herpes-simplex-Viren. ....	42
Abb. 4 Antikörper gegen Herpes-simplex-Viren. ....	42
Abb. 5 Antikörper gegen HIV. ....	45
Abb. 6 Antikörper gegen <i>Legionella pneumophila</i> .....	64
Abb. 7 Antikörper gegen RSV.....	81
Abb. 8 Antikörper gegen Röteln-Viren. ....	85
Abb. 9 Antikörper gegen SARS-Corona-Viren. ....	87
Abb. 10 Antikörper gegen <i>Toxoplasma gondii</i> .....	92

## Adenoviren

### Englischer Begriff

Adenovirus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Adenoviridae*, **Gattung:** *Mastadenovirus*, **Art:** *Humanes Adenovirus Spezies A bis G* (53 Serotypen). Es handelt sich um ein weltweit verbreitetes, umweltresistentes, unbehülltes, humanpathogenes Doppelstrang-DNA-Virus von 70-90 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Pharyngokonjunktivales Fieber, epidemische Keratokonjunktivitis, Gastroenteritis, Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

**Übertragung:** Direkter Kontakt, Tröpfchen- oder Schmierinfektion, Organtransplantation (Hornhaut, Leber)

**Klinik:** Im Vordergrund stehen Erkrankungen der Atemwege (Grippe, Bronchitis, Pneumonie: Serotypen 1-39). Bei geschwächtem Immunsystem Anfälligkeit für Komplikationen, wie etwa ARDS, vital bedrohliche Pneumonie, Hepatitis, Harnwegsinfektion. Manche Serotypen verursachen Gastroenteritis, vor allem bei Kindern: Serotypen 40, 41, epidemische Konjunktivitis: Serotypen 8, 19, 37, hämorrhagische Zystitis: Serotypen 11, 21, Rhinitis oder Pharyngitis. Als Spät komplikationen werden diskutiert: Persistierende Bronchiolitis, dilatative Kardiomyopathie, Typ-I-Diabetes. Einige Virustypen können jahrelang in den regionalen Lymphknoten und Tonsillen persistieren.

Prävention durch Desinfektionsmaßnahmen (Chlorierung von Schwimmbadwasser, Hände- und Instrumentendesinfektion, vor allem in Augenarztpraxen). Es gibt keinen Impfstoff und keine spezifischen Therapeutika, nur die Symptome werden behandelt.

### Analytik

**Direktnachweis** des Virus in Körperflüssigkeiten oder Stuhl durch Zellkulturanzucht, Elektronenmikroskopie, direkte Immunfluoreszenz und PCR. Des Weiteren werden Antigenschnelltests zum immunologischen Nachweis von Adenoviren im Stuhl eingesetzt.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper vorwiegend der Klasse IgA im Serum durch indirekte Immunfluoreszenz, Enzymimmuntests, Komplementbindungsreaktion und Neutralisationstest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis:** Untersucht werden Körperflüssigkeiten, Stuhl, Abstriche von Nasenschleimhaut und Rachenraum, Auge, Rektum. Die Patientenproben sollten bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von 6 Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Aufgrund der unspezifischen klinischen Symptomatik kommt der Labordiagnostik besondere Bedeutung zu. Elektronenmikroskopie und direkte Immunfluoreszenz sind wenig sensitiv. Dagegen sind PCR-Methoden sehr empfindlich und auch zur Serotypisierung geeignet. Die quantitative PCR ermöglicht die Bestimmung der Viruslast. Antigen-Schnelltests besitzen meist nur geringe Sensitivität oder Spezifität. Der Neutralisationstest kann zur Serotypisierung genutzt werden. Indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmuntechniken ermöglichen eine schnelle und exakte Diagnostik. Aufgrund der hohen allgemeinen Seroprävalenz kann eine serologische Diagnose nur aufgrund eines deutlichen Titeranstieges im IgG innerhalb 1-3 Wochen gestellt werden. Es bestehen Kreuzreaktivitäten zwischen den verschiedenen Adenovirus-Serotypen.

### Literatur

1. Langley JM (2005) Adenoviruses. *Pediatr Rev* 26(7):244-249
2. Handermann M (2009) Adenoviren. In: Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöller L (Hrsg.), *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen*, Springer-Verlag, 3. Auflage, S. 6-11
3. Hoffman JA (2009) Adenovirus infections in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant* 14(6):625-33

## Aviditätsbestimmung

### Englischer Begriff

Avidity determination

### Definition

In einem Immunkomplex werden Antigen und Antikörper durch nicht-kovalente, reversible Bindungen zusammengehalten. Die Bindungsstärke eines Antikörpers an seine Antigen-Determinante bezeichnet man als „Antikörper-Affinität“, sie ist unter anderem abhängig von pH und Ionenstärke. Die Summe der Bindungsstärken einer Gruppe polyklonaler Antikörper (z. B. in einem Serum) an ein Antigen wird mit dem Begriff „Antikörper-Avidität“ ausgedrückt.

Das Immunsystem reagiert auf eine Infektion zunächst mit der Bildung niedrig-avider Antikörper gegen die Antigene der Erreger. Mit fortschreitender Krankheitsdauer passt der Organismus das spezifische IgG den Antigenen immer genauer an – die Avidität nimmt zu. Ist in einem Serum (bereits) hoch-avides IgG nachweisbar, dann muss daher eine Infektion schon länger zurück liegen – bei Cytomegalie mindestens 16-20 Wochen, bei Toxoplasmose 12-16 Wochen und bei Röteln 4-8 Wochen.

### Analytik

Im medizinisch-diagnostischen Laboratorium setzt man für die Bestimmung der Avidität die üblichen ELISA-Systeme, Blot- und Immunfluoreszenz-Techniken ein. Zwischen den ersten Inkubationsschritt (Patientenserum) und den zweiten (markierter Antikörper) wird ein Verdrängungsschritt geschaltet: Inkubation mit einer Harnstofflösung oder mit anderen chaotropen Reagenzien, die in der Lage sind, niedrig-avide Antikörper von ihrem Antigen abzusprennen, die hoch-aviden Antikörper bleiben fest mit dem Antigen verbunden. Das Resultat wird zu dem eines Parallelansatzes ohne Verdrängungsschritt ins Verhältnis gesetzt und der relative Aviditätsindex RAI berechnet (Ergebnis der Inkubation mit Harnstoff dividiert durch das Ergebnis der Inkubation ohne Harnstoff). Bei einem RAI unter 40 % im ELISA liegen niedrig-avide Antikörper vor – Hinweis auf eine frische Infektion. Im Falle der indirekten Immunfluoreszenz werden Differenzen von zwei oder mehr quadratischen Titerstufen als Hinweis auf das Vorliegen niedrig-avider Antikörper betrachtet.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Aviditätsdiagnostik wird oft zusätzlich zur IgM-Analytik bei unklaren serologischen Konstellationen eingesetzt. Analog zur Situation beim spezifischen IgM sind bei einer gestörten B-Zell-Reifung auch Persistenzen niedriger Avidität bekannt. Daher gilt der Nachweis niedrig-avider Antikörper nicht als Beweis für, sondern nur als Hinweis auf das Vorliegen einer akuten Infektion. Als etabliert gilt die Aviditätsbestimmung im Bereich der Schwangerschaftsdiagnostik für Parameter wie Röteln, Toxoplasmose und Cytomegalie, sie kommt aber zunehmend auch zur Abklärung bei Varizella-Zoster, infektiöser Mononukleose, Masern, Frühsommer-Meningoenzephalitis und anderen Infektionen zum Einsatz.

### Literatur

1. Kaufmann SHE (2004) Antikörper und ihre Antigene. In Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U: Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, 5. Aufl. Springer-Verlag 61-77
2. Levett PN, Sonnenberg K, Sidaway F, Shead S, Niedrig M, Steinhagen K, Horsman GB, Drebot MA (2005) Use of IgG avidity assays for differentiation of primary from previous infections with West Nile virus. J Clin Microbiol 43(12):5873-5875
3. Chan KH, Sonnenberg K, Niedrig M, Lam SY, Pang CM, Chan KM, Ma SK, Seto WH, Peiris JSM (2007) Use of antibody avidity assays for diagnosis of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. Clin Vaccine Immunol 14(11):1433-1436

## Bakterien

### Englischer Begriff

Bacteria

### Definition

Bakterien sind einzellige Mikroorganismen mit einem für Prokaryonten typischen Zellaufbau.

### Beschreibung

Bakterienzellen sind mit einer Größe von ca. 0,5-5 µm mikroskopisch sichtbar und haben die Gestalt von Kokken, Stäbchen oder Schrauben. Sie besitzen keinen membranumhüllten Zellkern. Vielmehr liegt das bakterielle Genom, ein zirkuläres, histonfreies DNS-Molekül, frei im Zytoplasma vor und wird als Bakterienchromosom oder Kernäquivalent (Nukleoid) bezeichnet. Zusätzlich können extrachromosomale, zirkulär-doppelsträngige DNS-Moleküle (Plasmide) für Resistenz- und Virulenzgene kodieren und den Bakterien Selektionsvorteile verschaffen. Die Proteinsynthese findet im Zytoplasma an 70S-Ribosomen statt. Membranbegrenzte Organellen, die typischerweise in eukaryontischen Zellen vorkommen (z. B. Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparat, Lysosomen, Peroxisomen), sind in Bakterienzellen nicht vorhanden. Die Zytoplasmamembran besteht aus einer Phospholipid-Doppelschicht, deren innere Oberfläche durch komplexe Einfaltungen (Mesosomen) stark vergrößert ist. In ihr sind neben Transport- und Sensorproteinen auch die Enzyme der Atmungskette, der Lipid- und Zellwandsynthese sowie der DNS-Replikation verankert. Mit Ausnahme von Mycoplasmen sind alle Bakterien von einer Zellwand umgeben, nach deren Aufbau zwischen gram-positiven und gram-negativen Bakterien unterschieden wird. Die Wand gram-positiver Bakterien besteht aus zahlreichen quervernetzten Lagen Peptidoglykan (Murein) und kovalent gebundenen Teichon- oder Teichuronsäuren. Sie enthält außerdem Lipoteichonsäuren, die eine Rolle bei der Adhärenz an Wirtszelloberflächen spielen, und ist häufig Träger spezifischer Oberflächenproteine mit Virulenzfunktion. Bei gram-negativen Bakterien ist die Zytoplasmamembran vom periplasmatischen Raum umgeben, der neben Enzymen und Transportproteinen eine nur zwei bis drei Lagen dünne Peptidoglykanschicht enthält. Dem Periplasma ist eine zweite Membran aufgelagert, deren innere Lamelle aus Phospholipiden besteht, während die äußere Lamelle Lipopolysaccharide (LPS) beinhaltet. LPS setzen sich aus drei Komponenten zusammen: das O-Antigen bestimmt die Oberflächeneigenschaften eines Bakteriums und bewirkt im Wirtsorganismus die Bildung spezifischer Antikörper; das Kernpolysaccharid enthält ebenfalls wichtige Antigendeterminanten; das Lipid A ist toxisch wirksam (Endotoxin). In die äußere Membran gram-negativer Bakterien sind zahlreiche Proteine (outer membrane proteins, Omp) eingelagert, die der Stabilisierung dienen oder Funktionen als Poren, Rezeptoren bzw. Transporter erfüllen. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Zellwandstruktur differieren gram-negative und gram-positive Bakterien nicht nur in ihrem Gram-Färbeverhalten, sondern auch hinsichtlich ihrer Pathogenität und Antibiotika-Empfindlichkeit. Bei einigen Bakterienarten (z. B. Pneumokokken, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*) ist die Zellhülle von einer Kapsel umgeben, die immunogen wirksam ist und einen Schutz vor Phagozytose bietet. Zur aktiven Fortbewegung tragen viele Bakterien eine oder mehrere Geißeln. Zusätzlich können aus der Zellhülle röhrenförmige Pili (Fimbrien) herausragen, die als Adhäsine eine Verankerung der Bakterien an Wirtszellmembranen ermöglichen, oder als „F-Pili“ beim DNA-Austausch zwischen Bakterien (Konjugation) den Zellkontakt herstellen. Häufig enthält das Zytoplasma Granula zur Speicherung von Kohlenhydraten, Lipiden (Polyhydroxybuttersäure) oder Polyphosphaten. Bestimmte Gattungen (z. B. *Bacillus* und *Clostridium*) sind in der Lage, Endosporen zu bilden, die extreme Bedingungen (Hitze, Trockenheit, Desinfektionsmittel) jahrzehntelang überdauern können.

Die Vermehrung von Bakterien erfolgt durch einfache Querteilung. Das Wachstum einer Bakterienpopulation gliedert sich in die anfängliche Latenzphase (lag-Phase), gefolgt von der exponentiellen Phase (log-Phase), der stationären Phase und der Phase des Absterbens. Die zur Verdopplung der Bakterienzahl benötigte Zeit wird als Generationszeit bezeichnet. Sie ist sowohl von der Spezies als auch von den Kulturbedingungen abhängig (*Escherichia coli*: 20 Minuten, *Mycobacterium tuberculosis*: 18 Stunden). Alle medizinisch relevanten Bakterien sind chemo-organo-heterotroph, d. h. sie benötigen zum Wachstum energiereiche organische Verbindungen. Entsprechend ihrem Verhalten gegenüber Luftsauerstoff werden obligat aerobe, fakultativ anaerobe und obligat anaerobe Bakterien unterschieden. Die Energiegewinnung erfolgt durch aerobe/anaerobe Atmung oder durch Gärung.

Bakterien können Bestandteil der physiologischen Körperflora des Menschen sein, aber auch als opportunistische, fakultativ pathogene oder obligat pathogene Erreger eine Vielzahl von Infektionskrankheiten hervorrufen. Diese können mit Antibiotika behandelt werden, deren Wirkung häufig auf einer Hemmung der bakteriellen Zellwand-, Protein- oder Nukleinsäuresynthese beruht.

Für medizinisch-diagnostische Fragestellungen erfolgt die Differenzierung von Bakterien u. a. anhand folgender Kriterien:

- Eigenschaften der Bakterienkolonien, z. B. Farbe, Form, Profil, Konsistenz, Geruch
- Zellmorphologie: Kokken, Stäbchen, Schrauben
- Zelllagerung: isoliert, Paare, Tetraden, Pakete, Haufen, Ketten
- Zellgröße
- Begeißelung: monotrich, peritrich, lophotrich, amphitrich
- Endosporenbildung: zentral/terminal, mit/ohne Zellaufreibung
- Kapseltypen/-antigene
- Vorkommen von Granula, z. B. Volutingranula
- Toxinbildung
- Zellwandaufbau/Färbeverhalten: gram-positiv, gram-negativ, Säurefestigkeit
- Antibiotika-Empfindlichkeit
- antigene Eigenschaften, Serotypen
- genetische Marker
- Stoffwechseleigenschaften: aerob/anaerob, Atmung/Gärung
- Enzymnachweis, z. B. Katalase, Oxidase
- Infektion: intrazellulär/extrazellulär, lokal/generalisiert
- Organotropismus: Haut-/Schleimhaut-, Atemwegs-, Harnwegs-, Genital-, Gastrointestinal-, ZNS-Infektion u. a.

### Analytik

Patientenproben oder aus ihnen isolierte und in Reinkultur gezüchtete Erreger können lichtmikroskopisch untersucht werden. Dazu werden Ausstrichpräparate hergestellt und zur Keimidentifizierung angefärbt, z. B. durch Einfachfärbung mit Löfflers Reagenz (Methylenblau), Differentialfärbung nach Gram oder Ziehl-Neelsen, Sporenfärbung nach Rakette/Wirtz, Geißelfärbung nach Hinterberger/Leifson/Pepler oder Acridinorange-Fluoreszenzfärbung. Zur Beurteilung ungefärbter Bakterien wird die Phasenkontrastmikroskopie angewandt. Bakterienspezifische DNS kann mittels PCR, Restriktionsanalysen, Sondenhybridisierung und Sequenzierung identifiziert werden. Zum Nachweis bakterieller Proteine eignen sich direkte Immunfluoreszenz, Antigen-ELISA, Objektträger-Agglutination (Gruber-Reaktion), Präzipitation, Limulus-Test, Kapselquellungsreaktion und Enzymbestimmungen. Die Anzucht von Bakterien ist in Flüssigkulturen und auf festen Nährböden möglich, unter Berücksichtigung der speziesabhängigen Ansprüche hinsichtlich optimaler Wachstumsbedingungen und Komplexität der Nährmedien. Bestimmte Erreger sind aufgrund sehr anspruchsvoller Stoffwechselbedürfnisse außerhalb lebender Zellen schwer oder nicht anzüchtbar (z. B. Chlamydien und Treponemen). Für den indirekten Nachweis bakterieller Infektionen werden im Patientenmaterial erregerspezifische Antikörper bestimmt, z. B. mittels indirekter Immunfluoreszenz, ELISA, Immunblot (Westernblot, Linienblot), Agglutinationstest (Widal-Reaktion), Präzipitation, Komplementbindungsreaktion oder Radioimmunoassay.

### Diagnostische Wertigkeit

Durch den direkten Nachweis und die kulturelle Anzucht von Erregern können bakterielle Infektionen bereits in frühen Krankheitsstadien diagnostiziert und Therapieverläufe kontrolliert werden. Da Kulturverfahren und Mikroskopie oft nur eine geringe Sensitivität zeigen, werden sie vielfach durch sensitivere und hochspezifische Verfahren zum Antigen- und DNS-Nachweis ergänzt oder ersetzt. Als Hinweis auf eine akute Primärinfektion gelten der Nachweis erregerspezifischer Antikörper der Klasse IgM, ein signifikanter Anstieg im IgG, niedrige IgG-Avidität und Serokonversion. Bei chronischen Krankheitsverläufen ist die Serologie die Methode der Wahl. Auch Rezidive und Reinfektionen lassen sich oft serologisch erkennen, da sie infolge eines Booster-Effektes zu einem Anstieg im IgG führen. Die Bestimmung von Antikörpern der Klasse IgA kann insbesondere für den Nachweis von Infektionen mit schleimhautassoziierten Erregern (z. B. *Chlamydia*, *Helicobacter*) nützlich sein.

Indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmuntests stellen aufgrund ihrer hohen Sensitivität, einfachen Handhabung und Automatisierbarkeit wichtige Standardverfahren in der Infektionsserologie dar und ermöglichen quantitative Antikörperbestimmungen. Westernblots haben wegen ihrer hohen Spezifität einen besonderen Stellenwert als Bestätigungstests. Bei einer bakteriellen Infektion des ZNS kann der Erreger häufig direkt im Liquor nachgewiesen werden oder es lässt sich eine intrathekale Synthese erregerspezifischer Antikörper feststellen.

### Literatur

1. Köhler W, Eggers HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G (Hrsg.) (2001), Medizinische Mikrobiologie, Urban & Fischer Verlag, 8. Aufl., 73-246
2. Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U (Hrsg.) (2005), Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Springer-Verlag, 5. Aufl., 169-446



## Bartonella

### Englischer Begriff

Bartonella

### Beschreibung der Erreger

*Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*. *Bartonella* spp. sind gramnegative, aerobe, fakultativ intrazelluläre Bakterien. Bis 1993 war *Bartonella bacilliformis* die einzige bekannte Spezies der Gattung *Bartonella*, dann wurden aufgrund ihrer molekulargenetischen Verwandtschaft die Gattungen *Rochalimaea* und *Grahamella* eingegliedert. Die Spezies *Bartonella henselae* ist erst seit 1990 bekannt, besitzt jedoch große medizinische Bedeutung, zumal bei immungeschwächten Patienten.

### Erkrankungen

Als maßgeblicher Erreger der weltweit verbreiteten Katzenkratzkrankheit (KKK) kommt *Bartonella henselae* eine besondere Bedeutung zu (diese Krankheit hatte man früher dem Erreger *Afipia felis* zugeschrieben, der in der Tiermedizin eine Rolle spielt). Die Antikörper-Prävalenz gesunder Blutspender gegen Bartonellen beträgt je nach geographischer Lage zwischen 9 % und 28 % (Erkrankte 81 %). Weitere Erreger, die im Zusammenhang mit der KKK diskutiert werden bzw. serologische Kreuzreaktionen mit *Bartonella henselae* zeigen können, sind *Bartonella clarridgeiae*, *Bartonella quintana* und *Bartonella bacilliformis*.

Die Infektion der Katze wird meistens kaum bemerkt. Beim Menschen kommt es häufig zu klinischen Erscheinungen, die Krankheit spielt besonders in der Pädiatrie eine Rolle. Bei einem günstigen Verlauf sind keine Antibiotika erforderlich. Immunsupprimierte Patienten können vaskuloproliferative Krankheitsbilder entwickeln (Bazilläre Angiomatose, Peliosis Hepatis, z. B. in Zusammenhang mit einer HIV-Infektion), sie bedürfen einer antibiotischen Therapie.

*Bartonella quintana* ist der Erreger des Fünftage- oder Schützengrabenfiebers (engl. „trench fever“), einer epidemischen Erkrankung, die während des ersten Weltkriegs beobachtet wurde. Sie wird durch den Biss der Kleiderlaus (*Pediculus humanus corporis*) übertragen. Immungeschwächte Personen entwickeln häufig eine Bazilläre Angiomatose. Schlechte hygienische Verhältnisse erhöhen die Übertragungswahrscheinlichkeit: Bei einer Gruppe von Obdachlosen wurde für *B. quintana* eine Seroprävalenz von 54 % ermittelt (gesunde Blutspender 2 %). Patienten mit abgeschwächter Immunkompetenz zeigen ohne Therapie einen prolongierten Verlauf mit wiederkehrenden, allerdings selbst limitierenden Rückfällen. *B. quintana* ist hoch empfindlich gegen Antibiotika.

### Analytik

Bartonellen werden lichtmikroskopisch durch die Silberfärbung nach Warthin-Starry im Gewebe dargestellt, für den Erregernachweis setzt man molekularbiologische Methoden ein (z. B. PCR). Für die aerobe Anzucht von *B. henselae* werden zellfreie Spezialkulturmedien verwendet.

Der Antikörperrnachweis im Serum erfolgt in allen Verlaufsstufen vorwiegend durch indirekte Immunfluoreszenz mit infizierten Kulturzellen als Antigen-Substraten, Enzymimmuntests oder Westernblots. Die Immunfluoreszenz liefert bisher die zuverlässigsten Ergebnisse.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Molekularbiologischer Nachweis und Anzucht des Erregers aus Gewebeproben und Blut. Die Proben werden phosphatgepuffert in steriler Kochsalzlösung kühl gelagert. Sie sollten gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Katzenkratzkrankheit muss vor allem bei der Differentialdiagnose der Lymphadenitis des Erwachsenen berücksichtigt werden. Für HIV-Patienten ist bei jedem Fieber unklarer Genese auch eine Bartonella-Infektion in Erwägung zu ziehen.

*B.-henselae*-Infektionen werden viel zu selten erkannt oder oft erst spät im klinischen Verlauf diagnostiziert. IgM- und/oder IgG-Antikörper sind meist schon zum Zeitpunkt der Lymphknotenschwellung nachweisbar. Niedrige Titer kommen allerdings auch bei klinisch unauffälligen Personen vor. Ein Titeranstieg innerhalb weniger Wochen beweist die Infektion.

### Literatur

1. Kempf AJ (2007) Bartonella-Infektionen des Menschen: Neue Erkrankungen durch einen alten Erreger. Mikrobiologie 17: 171-180
2. Florin TA, Zaoutis TE, Zaoutis LB (2008) Beyond cat scratch disease: widening spectrum of Bartonella henselae infection. Pediatrics 121 Number 5: 1413-1425

## Bordetella pertussis und parapertussis

### Englischer Begriff

Bordetella pertussis and parapertussis

### Begriff

Der Begriff Pertussis (tussis lat.: Husten), 1679 von T. Sydenham eingeführt, beschreibt die erstmals im 16. Jahrhundert erwähnte Keuchhustenerkrankung. O. Gengou und J. Bordet, dem zu Ehren der Erreger *Bordetella* genannt wurde, gelang 1906 die Kultivierung der krankheitsauslösenden Bakterien. W. L. Bradford und B. Slavin isolierten 1937 den engverwandten Keim *Bordetella parapertussis*.

### Beschreibung des Erregers

Die Gattung *Bordetella* gehört zur Familie *Alcaligenaceae*. Bordetellen sind anspruchsvolle unbewegliche, aerobe, kokkoide, gramnegative Stäbchenbakterien (0,5-2 µm lang, Durchmesser 0,2-0,5 µm), die von einer Fimbrien-armierten Kapsel umgeben sind.

Reservoir für *Bordetella pertussis* und *parapertussis* sind die zilienträgenden Epithelzellen des menschlichen Respirationstrakts. *B. parapertussis* wurde aber auch bei Schafen nachgewiesen. Die Verbreitung erfolgt über Tröpfcheninfektion. Bordetellen kommen weltweit vor. Eine Reihe von Toxinen verschlechtert lokal die Abwehrkräfte und verursacht Gewebeschäden.

Virulenzfaktoren sind:

#### Adhäsiene:

- Filamentöses Hämagglutinin (FHA), ein Oberflächenprotein mit Bindungsmöglichkeit an Glykoproteine
- Pertactin, äußeres Membranprotein
- Fimbrien als Haftorganellen
- Untereinheit B des Pertussis-Toxins (PT),

#### Exotoxine:

- Untereinheit A des Pertussis-Toxins (PT) – bewirkt enzymatisch (ADP-Ribosyltransferase) eine Signalreduktion und inhibiert dadurch die Immunzellen des Wirts (*Bordetella parapertussis* enthält das PT-Gen ebenfalls, es kommt aber auf Grund von Mutationen in der Promotorregion nicht zur Expression)
- Adenylat-Zyklase-Toxin (ACT) – hemmt die Effektorfunktion der Zellen
- Tracheales Zytotoxin (TCT) – nekrotisiert die zilienträgenden Epithelzellen, dadurch wahrscheinlich für die krampfartigen Hustenanfälle verantwortlich
- Dermatonekrotisches Toxin (DNT) – hitzelabiles Toxin mit vermutlich nekrotisierender Wirkung

#### Endotoxine:

- Lipooligosaccharide (LOS) – sie entsprechen den Lipopolysacchariden (LPS) anderer gramnegativer Bakterien

### Erkrankungen

Die typische Pertussiserkrankung wird in 3 Stadien unterteilt:

- Nach 14-tägiger Inkubationszeit unspezifisches Stadium catarrhale mit leichter Grippe-ähnlicher Symptomatik,
- charakteristisches Stadium convulsivum mit anfallsweise auftretenden, krampfartigen Hustenstößen (Stakkatohusten) gefolgt von inspiratorischem Ziehen (Keuchen),
- Stadium decrementi mit langsam verlaufender, sich manchmal über Monate hinziehender Rekonvaleszenz.

Zu den Komplikationen zählen bakterielle Sekundärinfektionen mit Pneumonien oder Otitis media durch *Hämophilus spp.* oder Pneumokokken. *Bordetella parapertussis* verursacht mildere Verlaufsformen des Keuchhustens.

### Therapie und Prophylaxe

Für die Therapie wird eine frühzeitige Gabe von Erythromycin oder anderen Makroliden empfohlen. Im Stadium convulsivum haben Antibiotika nur noch geringen Einfluss auf den Krankheitsverlauf.

Die Pertussis-Impfung, heutzutage als Kombinationsimpfung (u. a. gegen Diphtherie und Tetanus) durchgeführt, wird für Säuglinge und Kleinkinder empfohlen. Der Grundimmunisierung (4 Impfungen) sollten regelmäßige Auffrischimpfungen alle 10 Jahre folgen. Azelluläre Impfstoffe basieren auf definierten Bordetella-Antigenen (FHA, PT, Pertactin, ggf. auch Fimbrienbestandteile) und stehen seit 1995 zur Verfügung.

### Analytik

**Direktnachweise und Kultur:** Für die Labordiagnostik sind die Pertussis-Erregernachweise aus tiefen Nasopharyngeal-Abstrichen am bedeutendsten. Ein Schwerpunkt liegt in der Bakterienanzucht auf Selektivkulturmedien, die im Wesentlichen auf dem von Bordet und Gengou beschriebenen Kartoffelextrakt-Glycerin-Blut-Agar basieren. Die Zugabe von Selektivsupplement unterdrückt die Begleitflora. Die Anzüchtung von *Bordetella pertussis* dauert mindestens 3 Tage, *Bordetella parapertussis* wächst schon in 2 Tagen. Der kulturelle Nachweis ist zu 100 % spezifisch, hat aber eine eingeschränkte Sensitivität und ist zeitaufwändig. Daher werden DNA-Nachweise mittels PCR zunehmend bevorzugt. Schon wenige Erreger ermöglichen einen positiven Direktnachweis. Zudem werden auch bereits abgestorbene Keime noch erfasst.

Der mikroskopische Erregernachweis mittels direkter Immunfluoreszenz kann über FITC oder Rhodamin-markierte

monoklonale Antikörper gegen Oberflächenstrukturen, z. B. LOS, geführt werden und erfasst ebenfalls sowohl vermehrungsfähige als auch abgestorbene Bakterien.

**Serologie:** Antikörper-Bestimmungen durch indirekte Immunfluoreszenz oder Enzymimmuntechniken haben auf Grund der verzögerten Antikörperbildung keinen Einfluss auf die Wahl der Therapie, sie sind allenfalls für die Aufklärung epidemiologischer Fragestellungen von Bedeutung. Im Immunblot können spezifische Antikörper gegen einzelne *Bordetella*-Virulenzfaktoren, z. B. FHA, ACT, sowie das nur von *Bordetella pertussis* gebildete PT separat bestimmt werden.

#### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Nasopharyngeal-Abstriche; Primärkulturen sollten möglichst sofort angelegt werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Literatur

1. Scholz H, Belohradsky BH, Bialek R, Heininger U, Kreth HW, Roos R (2009) Pertussis. In: DGPI-Handbuch, Thieme, 5. Aufl.: 411-416
2. Hofmann F (2009) Pertussis. In: Handbuch der Infektionskrankheiten, Hofmann, VIII-1.37, 32. Erg.Lfg. 8/09

## Borrelia burgdorferi

### Englischer Begriff

Borrelia burgdorferi

### Beschreibung der Erreger

*Borrelia burgdorferi sensu lato* ist ein Sammelbegriff für die drei humanpathogenen Genospezies *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* und *Borrelia garinii*. Die Bakterien wurden nach dem Schweizer Bakteriologen Willy Burgdorfer benannt.

**Taxonomie:** *Borrelia burgdorferi sensu lato* gehören zur Familie *Spirochaetaceae*, Gattung *Borrelia*.

**Morphologie:** Borrelien sind korkenzieherartig gewundene, 20 – 30 µm lange und 0,2 – 0,3 µm dünne, sehr bewegliche Bakterien. Flagellen im periplasmatischen Raum befähigen sie zu einer Rotationsbewegung, die ihnen das Eindringen in das Gewebe ihrer Umgebung ermöglicht.

### Erkrankungen

*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* und *Borrelia garinii* sind die Erreger der zeckenübertragenen Lyme-Borreliose (in den USA kommt praktisch nur *Borrelia burgdorferi sensu stricto* vor). Vektoren sind überwiegend Schildzecken (Ixodidae) jeder Entwicklungsstufe (Larven, Nymphen, Adulte), die man am Waldrand findet oder in hohem Gras, und die von vorbeiziehenden Menschen oder Tieren abgestreift werden. Nach dem Zeckenstich übertragen die Insekten im Laufe der Blutmahlzeit die Borrelien. Natürliches Erregerreservoir sind kleine Säugetiere und Vögel, aber für die explosionsartige Ausbreitung in den letzten Jahren ist hierzulande maßgeblich das Rotwild verantwortlich: Ein prächtiger Sechzehnder mit seinem im Vergleich zur Feldmaus viel größeren Aktionsradius kann von hunderten Zecken befallen sein, der ideale Multiplikator für eine schwungvolle Expansion der Borrelien.

Neuansteckungen treten saisonal gehäuft im 3. und 4. Quartal eines Jahres auf, sie sind in einigen Bundesländern meldepflichtig: Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen und Sachsen-Anhalt. Die höchste Inzidenz wird bei Kindern und älteren Erwachsenen registriert (6-16 pro 100.000 Einwohner/Jahr).

Die Borreliose kann sich mit dermatologischer, neurologischer, ophthalmologischer, rheumatologischer und interistischer Symptomatik manifestieren:

**Stadium I:** Die typische pathognomonische, aber nicht obligatorische Primärmanifestation ist das Erythema migrans, eine Hautrötung, die Tage bis Wochen nach dem Zeckenstich um die Einstichstelle herum auftritt und sich ringförmig zentrifugal ausbreitet. Das Erythem kann begleitet werden von einer grippeähnlichen Allgemeinsymptomatik. In wenigen Fällen kommt es zu einer Lymphadenosis cutis benigna.

**Stadium II:** Mehrere Wochen bis einige Monate nach dem Zeckenbiss können verschiedenartige Symptome auftreten. Im Vordergrund stehen neurologische Manifestationen (Neuroborreliose): Meningitis, Enzephalitis, asymmetrische Polyneuritis, Hirnnervenparesen, lymphocytäre Meningoradikulitis Bannwarth (Garin-Bujadoux-Bannwarth-Syndrom). Großflächige juckende Dermatosen sowie Arthritiden, insbesondere der Kniegelenke, und Knochen-, Gelenk- und Muskelschmerzen werden ebenfalls häufig beobachtet. Auch kardiologische Manifestationen, wie Myokarditis oder Perikarditis, sind beschrieben.

**Stadium III:** Typische Spätmanifestationen sind chronisch-rezidivierende erosive Arthritiden, Acrodermatitis chronica atrophicans sowie progressive Enzephalomyelitis, die ähnlich einer Multiplen Sklerose verlaufen kann.

### Prävention

Vermeidung von Zeckenbefall

### Therapie

Antibiotika, u. a. Tetracycline.

### Analytik

**Kultur:** Borrelien können in speziellen Medien angezüchtet werden, jedoch ist die Kultur aufgrund der langen Generationszeit (7 bis 20 h) langwierig und nur selten erfolgreich.

**Direktnachweis:** In der Dunkelfeldmikroskopie sind Borrelien nur ausnahmsweise identifizierbar. Die PCR aus Vollblut oder Serum zeigt eine nur geringe Sensitivität, aus Biopsiematerial (Haut) und Synovialflüssigkeit liefert sie dagegen höhere Detektionsraten (70 %). Standardisierte Verfahren zur Probenvorbereitung und Durchführung der Borrelien-PCR sind noch nicht gefunden.

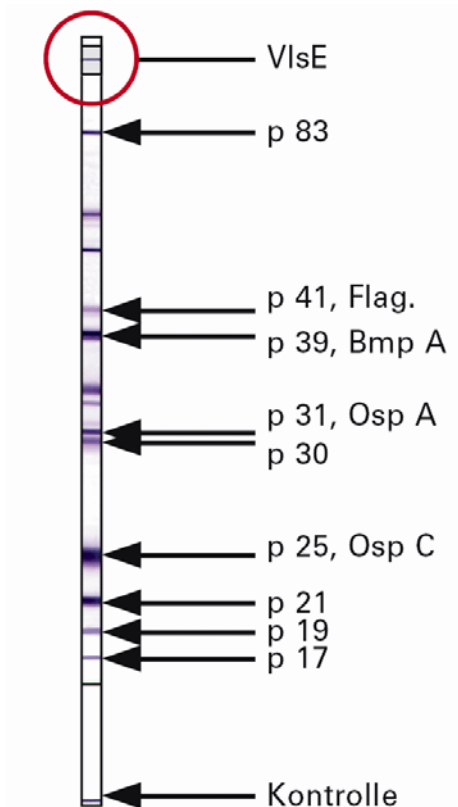
**Serologie:** In den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) für die Diagnostik der Lyme-Borreliose (MiQ 12/2000) wird eine Stufendiagnostik empfohlen: Im ersten Schritt wird ein Suchtest (indirekte Immunfluoreszenz oder ELISA) mit hoher Sensitivität und vertretbarer Spezifität eingesetzt. Positive und

grenzwertige Ergebnisse werden in einem zweiten Schritt mit einer spezifischeren Technik verifiziert, etwa mit einem Immunblot, der in seinem Antigen-Spektrum streng Borrelien-korrelierte Antigene neben solchen ohne Borrelien-Exklusivität aufweist.

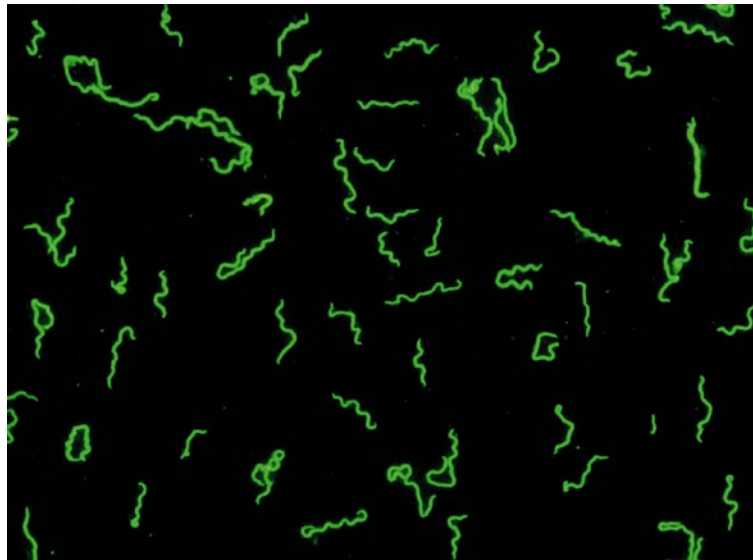
In Ausnahmefällen erweist sich die „Zweistufenstrategie“ aber als Irrweg, da manche spezifische Immunantwort im Stadium des Erythema migrans durch einen differenzierten Immunblot mit separaten definierten Antigenbanden besser erfasst werden kann als etwa mit einem ELISA, bei dem die reaktive Festphase mit einem Antigengemisch beschichtet ist. Aber gerade in der Frühphase einer Borreliose sollte man jeden einzelnen Patienten identifizieren können, da hier die beste Chance besteht, die Borreliose mit Antibiotika „im Keim zu ersticken“.

Nach Beginn der Infektion treten als erstes Antikörper der Klasse IgM gegen das Oberflächenantigen OspC auf. Beim Nachweis der Antikörper der Klasse IgG hat sich das Borrelien-Hauptantigen VlsE als hochsensitives und spezifisches Antigen erwiesen, ein System austauschbarer und variierbarer Kassetten zur Tarnung der Bakterienoberfläche, das nur in vivo exprimiert wird, wo das Immunsystem des Wirtsorganismus im Gegensatz zu einer Bakterienkultur einen hohen Selektionsdruck erzeugt.

Zur Diagnose der Neuroborreliose eignet sich der Nachweis einer intrathekalen Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper durch die Bestimmung des spezifischen Liquor/Serum-Quotienten.



**Abb. 1 Kombination Linienblot (VlsE) mit Westernblot zum Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* (positive Reaktion).**



**Abb. 2** Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi*.

#### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Haut oder Synovia-Biopsien. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C in steriler Lösung aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Diagnostische Wertigkeit

Laut Richtlinien der DGHM ist die Lyme-Borreliose eine klinische Diagnose, nur klinische Kriterien sind entscheidend für die Therapiebedürftigkeit, vor allem ist eine „reaktive“ Serologie allein kein Grund, Antibiotika einzusetzen, insbesondere wenn im IgG kein Titeranstieg festzustellen ist. Die Seroprävalenz in der Bevölkerung ist regional unterschiedlich und wird darüber hinaus von verschiedenen Faktoren beeinflusst, zum Beispiel von der Borrelien-Durchseuchung der Zecken verschiedener Landstriche. Waldarbeiter zeigen je nach Region Seroprävalenzen um 20 %, städtische Büroangestellte unter 5 %.

Differentialdiagnostisch relevant sind postinfektiöse reaktive Arthritiden (Auslöser: Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Chlamydien, Campylobacter, Mykoplasmen), Autoimmunerkrankungen (Rheumatoide Arthritis, Lupus erythematoses) und entzündliche Erkrankungen des zentralen Nervensystems.

#### Literatur

1. Wilske B, Zöller L, Brade V, Eiffert H, Göbel UB, Stanek G, Pfister HW (2000) MiQ12 Lyme-Borreliose. In: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch infektiologischen Diagnostik. Urban & Fischer Verlag, München Jena
2. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie (2008), 4. überarbeitete Auflage, S. 654 ff, ISBN 978-3-13-132414-6, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart



## Brucella sp.

### Englischer Begriff

Brucella

### Beschreibung des Erregers

Brucellen sind gramnegative, unbewegliche, zierliche, obligat aerob wachsende, kokkoide Stäbchenbakterien, die keine Sporen bilden. Ihre äußere Hüllmembran enthält ein Lipopolysaccharid, das in seiner toxischen Wirkung dem Endotoxin der Enterobakterien ähnelt. Durch antileukozytär wirkende Schutzfaktoren wehren sich Brucellen gegen intrazelluläre Bakterizide, was ihnen das Überleben und die Vermehrung in Leukocyten und Makrophagen ermöglicht. Die Gattung *Brucella* ist taxonomisch derzeit der Alpha-2-Subgruppe der Proteobakterien in der Familie *Brucellaceae* zugeordnet. Es werden 6 Spezies unterschieden. Humanpathogen sind *B. abortus* (Hauptwirt Rind), *B. suis* (Schwein), *B. melitensis* (Schaf, Ziege) und *B. canis* (Hund), nicht aber *B. ovis* (Schaf) und *B. neotomae* (Wüstenratte).

### Erkrankungen

Die Brucellose ist eine Anthropozoonose, die in Mitteleuropa dank veterinärmedizinischer Kontrollmaßnahmen nur noch selten auftritt (Deutschland: 24-37 Meldungen/Jahr). Die Übertragung des Erregers auf den Menschen erfolgt vor allem bei Veterinären, Landwirten, Metzgern oder Laborpersonal durch den direkten Kontakt mit infizierten Tieren und deren Ausscheidungen bzw. über Aerosole. Außerdem kann eine Infektion durch den Verzehr kontaminierter Milch- und Fleischerzeugnisse stattfinden. Ansteckungen von Mensch zu Mensch sind selten. Die Manifestationen der Brucellose (*B. abortus*: Morbus Bang) sind vielfältig. Bis zu 90 % aller Infektionen verlaufen subklinisch. Akute Verlaufsformen beginnen nach einer Inkubationszeit von einer bis mehreren Wochen schleichend mit Fieber, Übelkeit, Müdigkeit, Kopf- und Gliederschmerzen, Nachtschweiß sowie Gewichtsverlust. Es folgt, bedingt durch Phasen der passageren Ausschwemmung von *Brucella* aus den typischen Granulomen, ein charakteristisches undulierendes Fieber, das 7 bis 21 Tage andauert und von mehrtägigen fieberfreien Intervallen unterbrochen sein kann. In unterschiedlicher Ausprägung kommen Lymphknoten-, Milz- und Leberschwellung vor. Bei chronischer Brucellose treten neben unspezifischen Allgemeinsymptomen (Depression und Schlaflosigkeit) verschiedene Organmanifestationen auf: Hepatosplenomegalie, Orchitis, Pyelonephritis, Endokarditis, Osteomyelitis, Arthritis sowie Meningoenzephalitis.

Therapie: Mehrwöchige antibiotische Kombinationstherapie mit z. B. Doxycyclin und Gentamycin, die das intrazelluläre Wachstum von *Brucella* berücksichtigt. In-vitro-Testergebnisse lassen an der klinischen Wirksamkeit zweifeln. Gelegentlich ist chirurgische Intervention indiziert. Prävention: Überwachung der Ställe, Ausrottung infizierter Tierbestände, Kadaver-Vernichtung, Importaufsicht, Pasteurisierung der produzierten Milch. Beruflich exponierte Personen sollten sich durch angemessene Sicherheits- und Hygienemaßnahmen schützen. Ein Impfstoff für den Menschen wurde bislang nicht entwickelt. Laut Infektionsschutzgesetz ist der direkte oder indirekte Nachweis von Brucellen, soweit er auf eine akute Infektion hinweist, namentlich meldepflichtig.

### Analytik

Der direkte Erregernachweis erfolgt mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

Für den kulturellen Nachweis werden Brucellen in komplexen flüssigen Nährmedien (z. B. Brain-Heart-Infusion-, Tryptose-, Albimi-Bouillon oder Blutkulturflaschen) bis zu 4 Wochen angereichert und in regelmäßigen Abständen auf festen Nährböden (Tryptose-Blut-, Tryptose-Soja-, Albimi-Agar) ausgestrichen und bis zu 8 Tage inkubiert. Die Bebrütung erfolgt unter aeroben Bedingungen bei 35 °C. Zur Identifizierung der langsam wachsenden Kolonien werden Morphologie, wie weiche oder raue Kolonieform, negatives Gramverhalten, biochemische Merkmale (Oxidase positiv, Katalase positiv, Urease positiv, Glukose- und Laktosefermentation negativ) sowie positive Agglutination mit *Brucella*-Antiserum beurteilt.

Spezifische Antikörper gegen Brucellen können durch Langsam-Agglutination (Widal-Reaktion), Komplementbindungsreaktion (KBR) oder ELISA bestimmt werden.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Blut, Liquor, Urin, Punktat (Knochenmark, Gelenkpunktat) und Biopsien (Leber, Milz, Lymphknoten). Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Da die klinische Diagnose der Brucellose durch die mannigfaltige Symptomatik erschwert wird, ist neben anamnestischen Angaben der labordiagnostische Nachweis ausschlaggebend. Die PCR gilt als spezifisches und sensitives Verfahren, mit dem die verschiedenen *Brucella*-Spezies in kurzer Zeit identifiziert werden können. Der kulturelle Erregernachweis ist aufgrund des langsamen In-vitro-Wachstums der Brucellen zeitintensiv und bleibt im chronischen Krankheitsstadium oft erfolglos.

In der Serologie werden Agglutinationstests zunehmend durch spezifische Enzymimmuntests ersetzt. Eine Unterscheidung zwischen akuter, subakuter und chronischer Brucellose ist mit Hilfe der Antikörpertiter von Brucella-spezifischem IgA, IgG und IgM möglich. Zu beachten sind Kreuzreaktionen mit den O-Antigenen von z. B. *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* sowie Salmonellen.

### Literatur

1. Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U (Hrsg.) (2005), Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Springer-Verlag, 5. Aufl., 319-323
2. Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöller L (Hrsg.) (2009) Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen. Springer-Verlag, 3. Auflage, 115-118



## Campylobacter coli und jejuni

### Englischer Begriff

Campylobacter coli and jejuni

### Beschreibung des Erregers

Spiral- oder S-förmige gramnegative Stäbchen, 0,2-0,5 µm dick, 0,5-5 µm lang, je 1 Geißel an beiden Polen. Mikroaerophil.

**Familie:** *Campylobacteriaceae*

**Gattung:** *Campylobacter*

**Spezies:** *C. coli*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. fetus*, *C. gracilis*, *C. helveticus*, *C. hominis*, *C. hyointestinalis*, *C. jejuni*, *C. lanienae*, *C. lari*, *C. mucosalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. sputorum*, *C. upsaliensis*

### Erkrankungen

**Krankheitsbilder:** *Campylobacter coli* ist neben Salmonellen und *Yersinia sp.* (in der kalten Jahreszeit) der häufigste Enterocolitis-Erreger. Prodromalstadium mit Kopfschmerzen, Myalgien, Arthralgien, danach Fieber, abdominale Krämpfe, wässrig-schleimig-blutige Diarrhoe, Erbrechen. Abklingen nach 3-7 Tagen. Mögliche Folgeerkrankungen: Guillain-Barré-Syndrom, reaktive Arthritis.

*C. coli* steht in enger Beziehung zu *C. jejuni* (von letzterem zu unterscheiden durch den Hippurat-Test) und gilt ebenfalls als bedeutender Nahrungsmittel-übertragener Erreger für eine Enterocolitis.

**Übertragung:** Nicht durchgegarnte Nahrungsmittel (Geflügel, Milch), kontaminiertes Trinkwasser, selten fäkal-oral, Infektionsdosis:  $10^3$  -  $10^4$  Bakterien.

**Inkubationszeit:** 2-10 Tage.

**Therapie:** Bei unkompliziertem Verlauf nur symptomatische Behandlung (Elektrolytsubstitution), sonst als Antibiotika Makrolide oder Fluorchinolone. Resistenzen werden beobachtet.

### Analytik

**Direktnachweis/Kultur:** (Mikroskopie). Kulturelle Anzucht auf Blutplatten oder Selektivmedien (48 Stunden, 37 °C, Wachstumsoptimum 42 °C, mikroaerobes, CO<sub>2</sub>-angereichertes Milieu). Biochemische Differenzierung durch Nachweis von Oxidase und Katalase, H<sub>2</sub>S-Bildung, DNase, Hippurat-Hydrolyse, Indoxylacetat-Hydrolyse, Nitratreduktion, Fehlen von Glukosespaltung. Ggf. gaschromatographische Bestimmung der Fettsäuren und PCR.

Molekularbiologische Typisierung mittels Pulsfeld-Gelelektrophorese.

**Serologie:** Die Bestimmung Erreger-spezifischer Antikörper insbesondere der Klasse IgA durch ELISA oder Westernblot ist nur bei Folgeerkrankungen indiziert: Guillain-Barré-Syndrom, reaktive Arthritis.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Stuhl, Nahrungsmittelreste oder Proben verdächtiger Tierbestände. Untersucht werden auch Blutbestandteile, Liquor oder Biopsiematerial. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Dem Erregernachweis mittels Kultur kommt eine wesentliche Bedeutung bei der Diagnose akuter *Campylobacter*-Infektionen zu. Durch biochemische Differenzierung und Serotypisierung erfolgt die weitere Erreger-Charakterisierung. Bei direktem Nachweis Darm-pathogener *Campylobacter*-Spezies besteht Meldepflicht.

Die Antikörperdiagnostik ist für die Diagnose der Darminfektion von untergeordneter Bedeutung, persistierende Erreger-spezifische IgA-Antikörper werden bei Folgeerkrankungen beobachtet.

### Literatur

1. Kist M (1996) *Campylobacter*- und *Archebacter*-Infektionen, In: F. Hofmann (Hrsg.), *Infektiologie*. Ecomed Verlag, Landsberg
2. Nachamkin I, Blaser MJ (Hrsg.) (2000) *Campylobacter*, ASM Press, Washington

## Candida

### Englischer Begriff

Candida

### Beschreibung des Erregers

Polymorpher Hefepilz, der je nach Kultur- und Umgebungsbedingungen Hyphen, Myzele, Pseudomyzele, Blastokonidien und z. T. Chlamydosporen ausbildet. Ubiquitäres Vorkommen in der Natur (Feuchtigkeits-liebend), unter anderem auch im Verdauungstrakt von Warmblütern. Die Vermehrung erfolgt intra- und extrazellulär.

**Familie:** *Endomycetaceae*

**Gattung:** *Candida*

**Spezies:** *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*

### Erkrankungen

**Krankheitsbilder:** *C. albicans* (ca. 90 % aller humanen *Candida*-Infektionen) und die übrigen *Candida*-Spezies verursachen opportunistische Infektionen der Haut (intertriginöse, perianale, perineale, genitale, interdigitale Dermatitis) und der Nägel sowie der Schleimhaut (Soor, Oesophagitis, Vulvitis, Kolpitis, Balanitis, Harnwegsinfektionen).

Neben superfizieller Besiedlung können bei geschwächter Immunkompetenz systemische Candidosen auftreten (Endophthalmitis, basale Meningitis, Osteomyelitis, interstitielle Nephritis, Pericarditis, Peritonitis usw.). Risikogruppen sind Neugeborene und Kleinkinder (Windelbereich), Personen mit großflächigen Hautverletzungen, Organtransplantierte, Intensivtherapierte, Diabetiker.

**Übertragung:** Endogene Infektion z. B. bei Störungen der Barrierefunktion von Haut und Schleimhaut (kommensales Reservoir). Exogene Infektionen z. B. durch kontaminierte Beatmungssysteme oder Venenkatheter.

**Therapie:** Begünstigende Umstände beseitigen, bei Candidosen der Haut lokale Behandlung mit Nystatin, Clotrimazol und anderen Azolen, systemisch Fluconazol, Itraconazol, bei systemisch disseminierten Candidosen parenterale Gabe von Amphotericin B / Flucytosin oder Caspofungin, Fluconazol oder Itraconazol. Bei Resistenzen Einsatz neuer Glukansynthesehemmer.

### Analytik

**Direktnachweis/Kultur:** Gewebeuntersuchung und Pilzzucht. Biochemische, mikroskopische und Antigen-Merkmale ermöglichen die Differenzierung.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper durch Hämagglutinationstest, indirekte Immunfluoreszenz und ELISA.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Entnahme von Material aus dem jeweiligen infizierten Bereich, nichtsterile Proben müssen antibakteriell behandelt werden (Antibiotika-Zugabe zum Kulturmedium). Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Dem Erregernachweis mittels Mikroskopie und Kultur kommt eine wesentliche Bedeutung bei der Diagnose superfizieller, systemisch disseminierter und invasiver *Candida*-Infektionen zu. Durch biochemische Differenzierung und morphologische Analyse ist eine weitere Erreger-Charakterisierung möglich.

Der Einsatz serologischer Verfahren zum Antigen- und zum Antikörper-Nachweis ist diagnostisch sinnvoll zum Screening von Risikopatienten und Monitoring lebensbedrohlicher Candidosen bei immunkompromittierten Patienten.

### Literatur

1. Odds FC (1988) *Candida and Candidosis*, 2<sup>nd</sup> Ed., Balliere Tindall, London
2. Müllensiefen M et al. (1991) Labordiagnostik invasiver Candidosen. *Lab.Med.*15,410-413

## Chikungunya-Viren

### Englischer Begriff

Chikungunya virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Togaviridae*, **Gattung:** *Alphavirus*, **Art:** *Chikungunya-Virus*.

Plusstrang-RNA-Genom, behüllt, 50-70 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Chikungunya-Fieber

**Verbreitung:** Afrika, indischer Subkontinent, Südostasien, Südeuropa

**Vektor:** Stechmücken (*Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* und *Culex sp.*)

**Wirt:** Primaten, Nagetiere, Mensch

**Übertragung:** Durch Insekten, auch transplazentar und durch Bluttransfusion oder Organtransplantation möglich

**Klinik:** Plötzlich auftretendes hohes Fieber und grippales Syndrom, bei 80 % Polyarthrit, die monate- bis jahrelang persistieren kann, Exanthem, Petechien; sehr selten Hämorrhagien, Meningoenzephalitis, Hepatitis

**Therapie und Prophylaxe:** Es gibt keine spezifische Therapie, Behandlung nur symptomatisch. Bislang steht kein Impfstoff zur Verfügung, die Prävention besteht in der Vermeidung von Mückenstichen und in der Bekämpfung der Vektoren.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert Sicherheitslaboratorien der Klasse 3.

**Direktnachweis:** RT-PCR, direkte Immunfluoreszenz oder Virusanzucht in Kulturzellen.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper (IgG, IgM) im Serum durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Neutralisationstest oder Hämagglutinationshemmtest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis:** Untersucht werden Blut und Blutbestandteile. Die Patientenproben sollten bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von 6 Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Screening von Blutkonserven auf virale RNA oder auf spezifische Antikörper. Der Direktnachweis ist nur während der ersten drei bis fünf Krankheitstage möglich, da die Erreger aus dem Blutkreislauf eliminiert werden, teilweise durch sich etablierende Virus-neutralisierende Antikörper.

**Serologie:** Spezifische Antikörper (IgG, IgM) findet man etwa vom achten Krankheitstag an im Serum. Antikörper der Klasse IgM oder niedrig-avide Antikörper der Klasse IgG weisen auf eine akute Infektion hin, ebenso ein Titeranstieg des IgG innerhalb zweier Wochen.

**Differentialdiagnosen:** Unter anderem: Dengue-Fieber, O'nyong-nyong-Fieber in Afrika, Ross-River-Fieber in Australien.

### Literatur

1. Staples JE, Breiman RF, Powers AM (2009) Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clin Infect Dis* 49(6):942-948
2. Solignat M, Gay B, Higgs S, Briant L, Devaux C (2009) Replication cycle of chikungunya: a re-emerging arbovirus. *Virology* 393(2):183-197
3. Her Z, Kam YW, Lin RT, Ng LF (2009) Chikungunya: A bending reality. *Microbes Infect* 11(14-15):1165-76

## Chlamydia pneumoniae

### Englischer Begriff

Chlamydia pneumoniae

### Beschreibung des Erregers

Der Erreger *Chlamydia pneumoniae* gehört neben *Chlamydia trachomatis* und *Chlamydia psittaci* zu den humanpathogenen Chlamydienarten. Sie sind gramnegativ und zählen zu den kleinsten obligat intrazellulär lebenden Bakterien. Ihr Stoffwechsel nutzt vor allem das ATP der Wirtszelle. Ihr einzigartiger Entwicklungszyklus spielt in Diagnostik, Therapie und Pathogenese eine wichtige Rolle. Für *C. pneumoniae* gilt seit einigen Jahren der Gattungsname *Chlamydophila*, der sich allerdings noch nicht überall durchgesetzt hat.

### Erkrankungen

*C. pneumoniae* ruft Infektionen des oberen Respirationstrakts und Pneumonien hervor. Es wird über eine Rolle in der Pathogenese der koronaren Herzerkrankung diskutiert. Der Erreger wurde 1986 entdeckt. Er kommt weltweit vor, ist ausschließlich humanpathogen und wird durch Aerosole übertragen. Die Serokonversion wird meistens im Alter zwischen 5 und 15 Jahren beobachtet. Über 50 % aller Erwachsenen haben eine Infektion durchgemacht und sind seropositiv gegenüber dem Erreger. Bis heute gibt es keine Impfung gegen Chlamydien. Nachgewiesene Infektionen werden wirksam mit bestimmten Antibiotika, verabreicht über 7-14 Tage, behandelt.

### Analytik

**Direktnachweis/Kultur:** Direktnachweise durch Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren (z. B. PCR) sind für *C. pneumoniae* bisher nicht standardisiert. Die Kultur erfordert hohe technische Expertise.

**Serologie:** Nachweis von Antikörpern gegen *C. pneumoniae* durch Enzymimmuntechniken oder indirekte Immunfluoreszenz (Mikroimmunfluoreszenztest: Elementarkörperchen als Substrat, „Goldstandard“, eventuell in Kombination mit *C.-pneumoniae*-infizierten Kulturzellen).

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Das Abstrichmaterial (zellhaltiges Sekret aus den tieferen Atemwegen) wird in spezielle Transportmedien eingepflegt. Es sollte gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Da sich *C.-pneumoniae*-Infektionen weder klinisch noch röntgenologisch eindeutig nachweisen lassen, fällt der Labordiagnostik eine besondere Rolle zu. Besonders wenn die Ansteckung länger zurückliegt, misslingt der Erregernachweis häufig, dann kommt der Diagnostik spezifischer Chlamydien-Antikörper eine besondere Bedeutung zu.

Kreuzreaktionen mit den übrigen Chlamydien-Spezies sind dabei auszuschließen, vor allem durch die parallele Untersuchung der Antikörper gegen *C. psittaci* und *C. trachomatis*, gegebenenfalls mit BIOCHIP-Mosaiken.

### Literatur

1. Schütt S, Essig A (2004) Diagnostik von Chlamydien-Infektionen. J Lab Med 28 (2):144-153
2. Burkhardt O, Staube E, Welte T (2003) Klinisches Bild, Diagnostik und Therapie. Pneumologie 57: 449-458

## Chlamydia psittaci

### Englischer Begriff

Chlamydia psittaci

### Beschreibung des Erregers

*Chlamydia psittaci* gehört neben *Chlamydia trachomatis* und *Chlamydia pneumoniae* zu den human-pathogenen Chlamydienarten. Sie zählen zu den kleinsten intrazellulär lebenden, gramnegativen Bakterien und nutzen für den eigenen Stoffwechsel vor allem das ATP der Wirtszelle. Für *C. psittaci* gilt seit einigen Jahren der Gattungsname *Chlamydophila*, der sich allerdings noch nicht überall durchgesetzt hat.

### Erkrankungen

*C. psittaci* ist der Erreger der Psittakose (Papageien-Krankheit, auch Ornithose) – eine Zooanthroponose, die in der Regel von infizierten Zier- oder Zuchtvögeln, insbesondere Papageien, über Erreger-haltiges Sekret und Exkremate aerogen auf den Menschen übertragen wird, selten auch durch Bisse. In wenigen Fällen erfolgt die Ansteckung von Mensch zu Mensch. Infektionsgefährdet sind neben den Haltern von Zier- und Zuchtvögeln daher vor allem Tierhändler und Beschäftigte in der Geflügel-verarbeitenden Industrie. Als klinisches Bild resultiert eine subakute oder chronische Pneumonie, beobachtet werden milde Verläufe ebenso wie akute, fulminante Infektionen. In Deutschland ist die Erkrankung selten, im Jahre 2002 wurden nur 40 Fälle gemeldet. Bis heute gibt es keine Impfung gegen Chlamydien. Nachgewiesene Infektionen werden mit Antibiotika über 7-14 Tage behandelt.

### Analytik

**Direktnachweis/Kultur:** Für den Direktnachweis stehen PCR, die Anzucht in Zellkulturen oder die direkte Immunfluoreszenz unter Verwendung Fluorescein-markierter monoklonaler Antikörper gegen äußere Membranproteine von *Chlamydia psittaci* zur Verfügung. Der direkte Erregernachweis in der Zellkultur kann aufgrund der Kontagiosität des Erregers und der damit verbundenen Risiken nur in Einrichtungen durchgeführt werden, die über ein Sicherheitslabor der Klassifizierung L3 verfügen.

**Serologie:** Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* durch Enzymimmuntechniken oder indirekte Immunfluoreszenz (Mikroimmunfluoreszenztest: Elementarkörperchen als Substrat, „Goldstandard“, eventuell in Kombination mit *C.-psittaci*-infizierten Kulturzellen).

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Für die Anzucht und den Gen-Nachweis werden Sputum, Trachealsekret und bronchoalveoläre Lavage-Flüssigkeit verwendet (Infektionsgefahr!). Das Material sollte gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Bei der Diagnostik von *C. psittaci*-Infektionen spielen das klinische Bild und die Anamnese (Vogelkontakte) eine große Rolle. Die labordiagnostischen Möglichkeiten zum Nachweis einer *C. psittaci*-Infektion sind limitiert. PCR-Verfahren haben sich zum Nachweis akuter Infektionen als nützlich erwiesen, wurden bisher jedoch nicht anhand größerer Fallzahlen evaluiert. Infektionen mit *C. psittaci* werden daher im Allgemeinen serologisch diagnostiziert. Kreuzreaktionen mit den übrigen Chlamydien-Spezies sind dabei auszuschließen, vor allem durch die parallele Untersuchung der Antikörper gegen *C. psittaci* und *C. trachomatis*, gegebenenfalls mit BIOCHIP-Mosaiken.

### Literatur

1. Schütt S, Essig A (2004) Diagnostik von Chlamydien-Infektionen. J Lab Med 28 (2):144-153
2. RKI: Infektionen durch Chlamydien (Teil 2): Erkrankungen durch *Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pneumoniae*. Epid Bull 2001; 14: 95-100



## Chlamydia trachomatis

### Englischer Begriff

Chlamydia trachomatis

### Beschreibung des Erregers

*Chlamydia trachomatis* gehört neben *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia psittaci* zu den human-pathogenen Chlamydienarten. Sie zählen zu den kleinsten intrazellulär lebenden, gramnegativen Bakterien und nutzen für den eigenen Stoffwechsel vor allem das ATP der Wirtszelle.

### Erkrankungen

Der Erreger verursacht folgende Erkrankungen: 1. Das Trachom, eine chronische, folliculäre Keratokonjunktivitis (Serotypen A-B1, B2-C). 2. Infektionen des Urogenitaltrakts bei Mann und Frau (Urethritis, Zervizitis, Salpingitis), teilweise mit reaktiver Arthritis (Serotypen D-K). 3. Das Lymphogranuloma venereum, eine vor allem in warmen Ländern vorkommende Geschlechtskrankheit (Serotypen L1-L3).

Die Serotypen A-C werden durch infektiöses Augensekret übertragen, die Serotypen D-K sowie L1-L3 durch sexuellen Kontakt oder perinatal. Der Mensch ist das einzige Erregerreservoir.

Bis heute gibt es keine Impfung gegen Chlamydien. Chlamydien-Infektionen sind mit Antibiotika über 7-14 Tage gut behandelbar. Bei einer reaktiven Arthritis ist eine längere, differenzierte Behandlung erforderlich, und zwar lokal und systemisch.

### Analytik

**Direktnachweis/Kultur:** Direktnachweise durch Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren (z. B. PCR) oder mittels direkter Immunfluoreszenz. Die Kultur erfordert große technische Expertise.

**Serologie:** Nachweis von Antikörpern gegen *C. trachomatis* durch Enzymimmuntechniken (die reaktiven Oberflächen werden vorwiegend mit Membranproteinen beschichtet) oder indirekte Immunfluoreszenz (Mikroimmunfluoreszenztest: Elementarkörperchen als Substrat, „Goldstandard“, eventuell in Kombination mit *C.-trachomatis*-infizierten Kulturzellen).

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Bei Genitalinfektionen werden Erststrahlurin oder Zervix-, Vaginal- und Urethral-Abstriche gewonnen (Dacron- oder Rayon-Abstrichtupfer verwenden!). Ideal zum Nachweis einer spezifischen Zervizitis sind laparoskopisch erhaltene Tubenabstriche oder Punktate des Douglas-Raumes. Für die Zellkultur wird das Patientenmaterial in Spezialtransportmedien eingepflegt, es ist gekühlt zu transportieren und innerhalb von vier Stunden anzusetzen.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Bei akuten urogenitalen Infektionen wird angestrebt, die Erreger durch direkte Nachweisverfahren zu identifizieren. Aufgrund einer Spezifität von nahezu 100 % galt der kulturelle Nachweis von *C. trachomatis* bis vor einiger Zeit als der „Goldstandard“ in der Diagnostik urogenitaler Chlamydien-Infektionen, wurde aber wegen des zu großen Aufwandes und der zu geringen Sensitivität durch die PCR verdrängt.

Bei *C.-trachomatis*-assoziierten Folgeerkrankungen wie Tubarsterilität und reaktiver Arthritis ist der direkte Erregernachweis häufig nicht mehr möglich. Zur Sicherung der Diagnose kann der Nachweis spezifischer Antikörper in diesen Fällen hilfreich sein. Kreuzreaktionen mit den übrigen Chlamydien-Spezies sind auszuschließen, vor allem durch die parallele Untersuchung der Antikörper gegen *C. psittaci* und *C. pneumoniae*, gegebenenfalls mit BIO-CHIP-Mosaiken.

Ein *C.-trachomatis*-Screening beider Elternteile vor einer geplanten Schwangerschaft wird empfohlen. Der Direktnachweis von *C. trachomatis* an der Portio uteri zu Beginn einer Schwangerschaft gehört heute zum Standardprogramm der Vorsorgeuntersuchungen, da diese Infektion mit dem Risiko von Früh- und Totgeburten assoziiert ist.

### Literatur

1. Schütt S, Essig A (2004) Diagnostik von Chlamydien-Infektionen. J Lab Med 28 (2):144-153
2. RKI: Infektionen durch Chlamydien (Teil 1): Erkrankungen durch Chlamydia trachomatis. Epid Bull 2009; 37: 369-373

## Coxsackie-Viren

### Englischer Begriff

Human coxsackie virus A/B

### Beschreibung des Erregers

Unbehüllte Einzelstrang-RNA-Viren, ikosaedrale Form, Durchmesser ca. 30 nm, hitzelabil, Inaktivierung mit 0,1 N HCl oder 0,3 % Formaldehyd. Hohe Umweltresistenz.

Coxsackie-Viren repräsentieren eine Vielzahl verschiedener, keine Kreuzimmunität aufweisender Serotypen des Genus humane Enteroviren. Sie gehören zur Familie der *Picornaviridae*.

### Erkrankungen

Die Infektionen verlaufen überwiegend (90-95 %) asymptomatisch. Manifestation als Sommergrippe, Pneumonie, Diarrhoe, Enzephalitis, aseptische Meningitis, Hepatitis, Myokarditis, Perikarditis, Pleurodynie (M. Bornholm), Gingivo-Stomatitis, Exanthem (Hand-Fuß-Mund-Krankheit), Konjunktivitis, fetale Schädigung.

**Übertragung:** Fäkal-oral, aerogen (Tröpfchen, Mund-zu-Mund-Kontakt, kontaminiertes Trinkwasser, kontaminierte Meeresfrüchte) und diaplazentar. Männer sind doppelt so häufig betroffen wie Frauen, Kleinkinder häufiger als Erwachsene. Erhebliche Weiterverbreitung durch Ausscheidungen asymptomatisch Infizierter.

**Inkubationszeit:** Im Mittel 7-14 Tage, weltweites Vorkommen.

**Therapie und Prophylaxe:** Symptomatisch. Antivirale Medikamente und Impfstoffe sind noch nicht verfügbar.

### Analytik

**Kultur:** Einige Coxsackie-A-Viren sind nur in neugeborenen Mäusen kultivierbar, andere in primären Affennierenzellen bzw. in RD- oder SKCO-1-Zellen. Die Kultivierung von Coxsackie-B-Viren ist in HEp-2- bzw. HeLa-Zellen sowie in primären Affennierenzellen problemlos möglich.

**Direktnachweis:** In erster Linie mittels PCR und Neutralisationstest, im Forschungsbereich auch mittels cDNA-Sonden. Antigen-ELISA-Tests sind zu unsensitiv und erfordern eine vorausgehende Virusanreicherung. Erreger-Typisierung über definierte Antikörper.

**Serologie:** Indirekte Immunfluoreszenz, Neutralisationstest, ELISA und Komplementbindungsreaktion. Letztere sollte wegen massiver Kreuzreaktivität mit anderen Enteroviren und eingeschränkter Sensitivität nicht mehr zur Serodiagnostik von Enteroviren eingesetzt werden. Bei Verwendung von Antigenlysaten sind auch bei ELISA-Tests immunologische Kreuzreaktionen zu beobachten, weshalb hier die Bestimmung gruppenspezifischer Antikörper im Mittelpunkt steht. Kreuzreaktionen werden z.T. auch im Neutralisationstest beobachtet (A3 mit A8, A11 mit A15, A13 mit A18). Zum serologischen Beweis einer frischen Infektion ist ein Anstieg der Konzentration Erreger-spezifischer IgG-Antikörper um den Faktor 10 innerhalb von 7 bis 14 Tagen oder der Nachweis spezifischer IgM-Antikörper erforderlich.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Stuhl, Rachen-, Rektal- und Konjunktivalabstriche, Blut, Liquor und Bläschensekret oder Biopsien. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Wesentliche Bedeutung hat der Erregernachweis mittels PCR oder Kultur. In der Serologie wird dem Nachweis neutralisierender Antikörper ebenfalls Bedeutung beigemessen. Der Nutzen der Serologie ist aufgrund hoher Durchseuchungsraten und massiver Kreuzreaktivitäten zwischen den verschiedenen Serotypen eingeschränkt. Der signifikante Anstieg spezifischer Antikörper-Titer innerhalb zweier Wochen beweist eine frische Infektion.

### Literatur

1. Zeichhardt H, Grunert HP (2003) Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and enteroviruses. In: Cohen I, Powderly WG, Opal SM (eds.): Infectious Diseases, 2nd edn. Elsevier Health Sciences London 213,1993-2006
2. Pallansch M, Rooy R (2007) Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. In: Knipe DM et al. (eds) Fields Virology, 5<sup>th</sup> edn. Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1, 2839-2893

## Cytomegalie-Viren

### Englischer Begriff

Cytomegalovirus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Herpesviridae*, Humanes Herpes Virus 5

### Erkrankungen

Cytomegalie (Manifestation einer CMV-Infektion) wird horizontal über infektiöse Körperflüssigkeiten (Muttermilch, Speichel, Urin, Genitalsekret), Blut- und Blutprodukte sowie transplantierte Organe übertragen oder vertikal, von der Schwangeren auf das Kind. Die Inkubationszeit beträgt je nach Übertragungsweg drei bis zwölf Wochen. Die Infektion verläuft in der Regel asymptomatisch, gelegentlich ähnlich wie eine infektiöse Mononukleose mit Fieber, Pharyngitis und Lymphadenopathie. Bei immunsupprimierten Patienten (Transplantatempfänger, AIDS) manifestiert sich eine Cytomegalie dagegen häufig als Retinitis, interstitielle Pneumonie und Enteropathie. Reaktivierungen einer latenten Infektion verlaufen bei immunkompetenten Personen asymptomatisch, bei Personen mit geschwächter Immunität dagegen oft unter dem Krankheitsbild der akuten Infektion. In Abhängigkeit von Lebensstandard und Lebensalter liegt die Seroprävalenz im Erwachsenenalter bei 30-40 %.

Cytomegalie-Viren sind die häufigste Ursache konnataler Infektionen mit einer Rate von etwa 1 % aller Neugeborenen. Bei Primärinfektionen in der Schwangerschaft beträgt die Transmissionsrate 30-40 %, bei Reaktivierungen lediglich 2 %. Schädigungen des Fetus sind vor allem bei Infektionen in den ersten 20 Wochen der Schwangerschaft zu beobachten: Von den Infizierten kommen 5 % mit Hautblutungen, Hepatosplenomegalie, Ikterus, Mikrozephalus, Chorioretinitis und anderen Schädigungen zur Welt (Letalität 10 %). Die übrigen 95 % der CMV-infizierten Neugeborenen erscheinen klinisch zunächst unauffällig, bei jedem Zehnten von ihnen muss allerdings mit Hörschäden und einer mentalen Retardierung gerechnet werden. Eine Infektion über die Muttermilch ist möglich, bleibt aber für reife Neugeborene in der Regel folgenlos – Frühgeborene können allerdings an einer akuten CMV-Primärinfektion erkranken.

Es ist wichtig, die seronegativen Schwangeren frühzeitig zu identifizieren, um ihnen Expositionsprophylaxe und Hygienemaßnahmen naheulegen. Die Ermittlung des CMV-Antikörperstatus ist derzeit noch nicht in der infektionsserologischen Vorsorgediagnostik für Schwangere vorgesehen, was von einigen Experten kritisiert wird. Transfusionen für Transplantatempfänger oder andere immunkompromittierte Patienten sollten ausschließlich mit dem Blut CMV-seronegativer Spender durchgeführt werden, wenn solche nicht zur Verfügung stehen, ist es anzuraten, die z. B. vor der Transfusion abzufiltrieren.

Ein geeigneter Impfstoff ist derzeit noch nicht verfügbar. Sowohl im Falle der konnatalen Cytomegalie als auch bei CMV-Erkrankungen immunsupprimierter Patienten werden Virostatika eingesetzt. Innerhalb der Schwangerschaft sind diese Medikamente nicht zugelassen. Hier liegen Studien zur Gabe CMV-spezifischen Hyperimmunglobulins nach Kontakt zu Virus-Ausscheidern vor. In einigen Bundesländern wird CMV-seronegativen schwangeren Kinderärztinnen ein Arbeitsverbot erteilt.

### Analytik

**Erregernachweis:** Gelegentlich noch Virusanzucht in humanen Fibroblasten. In Gebrauch ist der spezifische immuncytologische Nachweis des CMV-Antigens pp65 in Leukocyten (gute Korrelation mit der Krankheitsaktivität). Die PCR-Diagnostik erlaubt den Nachweis des viralen Genoms. Sie wird zur Bestimmung der CMV-Viruslast eingesetzt (Therapiemonitoring).

**Serologie:** Spezifische Antikörper der Klassen IgG und IgM werden durch indirekte Immunfluoreszenz oder mittels verschiedener Enzymimmuntests nachgewiesen. Aviditätstests ergänzen die Serologie bei unklaren Befunden. Der Nachweis intrathekal synthetisierter Antikörper im Liquor dient zusammen mit dem Direktnachweis per PCR der Identifikation einer ZNS-Beteiligung.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Urin, Speichel, bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit, Blut, Serum, Liquor, Fruchtwasser und Muttermilch. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Klinisch ist eine CMV-Infektion nicht eindeutig zu diagnostizieren. Symptomatische akute Infektionen werden durch eine Kombination von Direktnachweis und Serologie erfasst. Bei IgM-reaktiven Proben, die gleichzeitig niedrig-avides IgG aufweisen, ist von einer akuten Infektion auszugehen, ist die Avidität hoch, liegt wahrscheinlich eine



Reaktivierung vor. Ein zehnfacher Anstieg des spezifischen IgG innerhalb ein bis zwei Wochen beweist eine akute Infektion. Findet man Antikörper der Klasse IgG mit hoher Avidität, so besteht bei immunkompetenten Personen Schutz vor einer Sekundärinfektion.

In der Transfusions- und Transplantationsmedizin ist der CMV-Status des Spenders und des Empfängers zu beachten, um primäre Infektionen und Re-Infektionen zu vermeiden. Auch bei seropositiven Empfängern kann eine Re-Infektion ausgelöst werden, insbesondere wenn die Immunitätslage geschwächt ist.

Bei Verdacht auf eine akute Infektion in der Schwangerschaft kann im fetalen Blut spezifisches IgM oder in der Amnionflüssigkeit durch PCR virales Genom bestimmt werden. Parallel dazu wird die Schwangerschaft engmaschig mittels Ultraschalldiagnostik überwacht.

Im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge ist die frühe Untersuchung des mütterlichen Serostatus sinnvoll. Im Falle einer negativen Serologie muss eine umfangreiche Beratung betreffs Expositionsprophylaxe erfolgen. Darüber hinaus stehen initiale Ausgangsbefunde zur Verfügung, die später bei Verdacht auf eine Infektion im Verlaufe der Schwangerschaft zusammen mit einer Folgeprobe eine sichere Diagnostik ermöglichen, weil man einen Anstieg des Antikörperspiegels nachweisen oder ausschließen kann.

#### Literatur

1. Enders G (2006) Mütterliche Infektionen mit dem Risiko der kongenitalen Übertragung. Labormedizinische Aspekte bei Cytomegalie und Toxoplasmose. Gynäkologie und Geburtshilfe: 24-28
2. Scholz H; Belohradsky B H, Bialek R, Heininger U, Kreth H W, Roos R (2009) Zytomegalovirus-Infektionen. In: DGPI-Handbuch, Thieme, 5. Aufl.: 565-568

## Dengue-Viren

### Englischer Begriff

Dengue virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Flaviviridae*, **Gattung:** *Flavivirus*, **Art:** *Dengue-Virus* (Serotyp 1-4). Plusstrang-RNA-Genom, behüllt, 50 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Dengue-Fieber (in 1 % der Fälle: Dengue-Hämorrhagisches-Fieber, Dengue-Schocksyndrom).

**Verbreitung:** Weltweit in über 100 tropischen und subtropischen Ländern. Dengue-Fieber ist die häufigste Vektorübertragene Virusinfektion des Menschen.

**Vektor:** Stechmücken (*Aedes aegypti* und *albopictus*).

**Wirte:** Primaten, Mensch (ca. 95 % der Infizierten sind Kinder).

**Übertragung** auch transplazentar und durch Bluttransfusion oder Organtransplantation möglich.

**Klinik:** Erstinfektionen verlaufen häufig asymptomatisch. Die Krankheit ist gekennzeichnet durch plötzlich auftretendes hohes Fieber und Grippe-ähnliche Symptomatik, Muskel- und Gelenkschmerzen, Exantheme, Petechien, Splenomegalie, Bradykardie, Hypotension, Thrombozytopenie, Lymphopenie.

Bei Kindern unter 15 Jahren und allgemein nach Zweitinfektion mit einem anderen Serotyp: Hämorrhagien und Schocksymptomatik, Letalität 6-30 %.

**Therapie und Prophylaxe:** Nur symptomatische Behandlung; Impfstoff noch in Entwicklung. Schutz vor Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert Laboratorien der Sicherheitsklasse 3.

**Direktnachweis** des Virus im Blut mittels RT-PCR, Antigen-Capture-ELISA (NS1-Protein) oder Virus-Anzucht in Zellkultur.

**Serologie:** Spezifische Antikörper der Klassen IgG und IgM werden durch Hämagglutinationshemmtest, Neutralisationstest, indirekte Immunfluoreszenz und verschiedene Enzymimmuntests nachgewiesen. Aviditätstests ergänzen die Serologie bei unklaren Befunden.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Blut oder Blutbestandteile (PCR). Die Proben sollten bei +4 °C transportiert und innerhalb von 6 Stunden (PCR) und 24 Stunden (Kultur, direkte Immunfluoreszenz) analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma sind für den Nachweis der Antikörper bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

**Direktnachweis:** Möglich während der ersten 2–7 Krankheitstage; Serotypisierung per RT-PCR.

**Serologie:** Dengue-Virus-spezifisches IgM erscheint bereits am zweiten bis vierten Krankheitstag. Es erreicht sein Maximum nach zwei Wochen und bleibt zwei bis drei Monate nachweisbar. Spezifisches IgG findet man bei einer Primärinfektion erst ab dem neunten Krankheitstag. Ein IgG-Nachweis zu Beginn der Erkrankung kann somit als Beweis für eine Re-Infektion herangezogen werden.

Bei einer Zweitinfektion mit einem heterologen Dengue-Virus-Serotypen (1-4) kann der IgG-Titer bis zu 10fach höher ausfallen als nach der Erstinfektion, während oftmals kein IgM nachweisbar ist. IgG-Antikörper bleiben als immunologisches Gedächtnis über Monate und Jahre erhalten. Niedrige Dengue-Virus-spezifische IgM-Titer können monatelang persistieren und eine aktive Dengue-Infektion vortäuschen. Dagegen kann ein mindestens vierfacher Anstieg des spezifischen IgG-Titers als eindeutiger Nachweis einer frischen Infektion gewertet werden. Für die Prognose hinsichtlich der Entwicklung eines hämorrhagischen Fiebers oder eines Schocksyndroms ist die Konzentration der spezifischen Serum-Antikörper ausschlaggebend. Zu beachten sind Kreuzreaktionen, zum einen zwischen den vier Serotypen untereinander (die aber keinen gegenseitigen Immunschutz bewirken), zum anderen mit anderen Flavivirus-Antikörpern (FSME, Gelbfieber, West-Nil-Fieber, Japanische Enzephalitis etc.).

**Differentialdiagnosen:** Gelbfieber und andere Arbovirusinfektionen, Typhus, Malaria, Masern, Röteln.

Zum Screening von Bluttransfusionen auf virale RNA oder auf spezifische Antikörper können PCR-Tests oder serologische Methoden verwendet werden.

### Literatur

1. Senanayake S (2006) Dengue fever and dengue haemorrhagic fever – a diagnostic challenge. Aust Fam Physician 35(8):609-12
2. Halstead SB (2007) Dengue. Lancet 370(9599):1644-52
3. Teo D, Ng LC, Lam S (2009) Is dengue a threat to the blood supply? Transfus Med 19(2):66-77

# Diphtherie

## Englischer Begriff

Diphtheria

## Beschreibung des Erregers

*Corynebacterium diphtheriae* ist ein grampositives, fakultativ anaerobes, keulenförmiges Stäbchenbakterium aus der Ordnung der Actinomycetales. Es ist unbeweglich und bildet weder Kapsel noch Sporen. Gegenüber Umwelteinflüssen ist *C. diphtheriae* relativ resistent, kann aber durch Erhitzen und Desinfektionsmittel rasch abgetötet werden.

Die Virulenz von *C. diphtheriae* wird durch das sehr potente, aus zwei Polypeptidketten A und B bestehende Diphtherie-Toxin (LD<sub>50</sub> 0,3 µg/kg) verursacht. Da die genetische Information zur Synthese dieses Exotoxins von dem Prophagen β kodiert wird, sind nur solche *C.-diphtheriae*-Stämme toxisch, die mit diesem infiziert sind. Das Diphtherie-Toxin bewirkt die Inaktivierung des eukaryontischen Elongationsfaktors EF2. Dies hat die Hemmung der Proteinbiosynthese und den Tod der infizierten Zellen zur Folge.

## Erkrankungen

Diphtherie ist eine weltweit vorkommende Infektionskrankheit, die in vielen Entwicklungsländern und Russland noch immer endemisch ist und daher nicht außer Acht geraten darf, in Mitteleuropa aber nur noch vereinzelt auftritt. Ein Erkrankungsrisiko besteht für Personen mit fehlendem oder ungenügendem Impfschutz (in Deutschland ca. 50 % der Erwachsenen). Der Erreger befällt ausschließlich den Menschen und wird bei pharyngealem Befall durch Tröpfcheninfektion und bei Haut-Diphtherie überwiegend durch Schmierinfektion übertragen.

Meist beginnt die Erkrankung nach einer Inkubationszeit von 2-5 Tagen mit allgemeinem Krankheitsgefühl, Fieber, Hals-, Leib- und Gliederschmerzen, es folgen Pharyngitis, Laryngitis und Tonsillitis mit Pseudomembranen aus Fibrin, Leukocyten, Zellresten und Keimen. Charakteristisch sind ein süßlicher Mundgeruch, bellender Husten mit Stridor, Heiserkeit, Atemnot, Gaumensegel-Parese und Lymphknotenschwellungen. Weitere lokale Manifestationsarten sind die Nasen-, Wund-, Haut- und Bindehautdiphtherie. Bei allen Formen kann es im weiteren Verlauf zu einer systemischen Intoxikation und damit zu lebensgefährlichen Organschädigungen kommen. Mögliche Spätfolgen sind Myokarditis, Leber- und Nierenfunktionsstörungen sowie Lähmungen im Bereich der motorischen Hirnnerven. Im Fall einer klinischen Verdachtsdiagnose wird Personen mit fehlendem oder ungewissem Impfschutz sofort Diphtherie-Antitoxin verabreicht. Unterstützend wirkt eine antibiotische Therapie mit Penicillin oder einem Makrolid. Verläufe mit Komplikationen können weitere Interventionen erfordern, z. B. Intubation oder Entfernung der die Atemwege verlegenden Pseudomembranen. Die Prophylaxe besteht in einer aktiven Immunisierung mit einem Toxoid-Impfstoff. Gemäß Infektionsschutzgesetz sind der Krankheitsverdacht, die Erkrankung und der Tod an Diphtherie sowie der direkte oder indirekte Nachweis Toxin bildender Diphtherie-Bakterien meldepflichtig.

## Analytik

Mikroskopische Präparate von *C. diphtheriae* zeigen grampositive, keulenförmige Stäbchen mit charakteristischer V- oder Y-förmiger Lagerung. Die endständigen Polkörperchen werden in der Neisser-Färbung als schwarzblaue Granula sichtbar.

Die Anzucht von *C. diphtheriae* erfolgt auf eiweißhaltigen Nährböden (Blutagar, Löffler-Serum-Agar) und Tellurit-haltigen Selektivmedien (Tindsdale-Agar, Clauberg-III-Agar) unter aeroben Bedingungen mit 5-10 %iger CO<sub>2</sub>-Begasung bei 37 °C. Verdächtig sind gräuliche Kolonien mit evtl. schwachem Hämolysehof auf Blutagar sowie schwarze Kolonien mit blauem Hof auf Telluritböden. Zeigen diese das typische Bild im mikroskopischen Präparat, werden Subkulturen angelegt (Blutagar, Löffler-Medium). Die endgültige Identifizierung beruht auf biochemischen Merkmalen (Katalase positiv, Urease negativ, Glucose-Fermentation positiv, Saccharose-Fermentation negativ, Nitratreduktion positiv). Die Fähigkeit isolierter Stämme zur Toxinbildung wird mit dem Elek-Ouchterlony-Immundiffusionstest oder durch den Nachweis des Toxin-Gens mittels PCR geprüft.

Zur Bestimmung spezifischer Antikörper gegen das Diphtherie-Toxin setzt man die indirekte Immunfluoreszenz, Enzymimmuntests, Neutralisationstests oder Hämagglutinationstests ein.

## Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Abstriche (von unterhalb der Pseudomembranen) von Rachen, Tonsillen, Nasenschleimhaut. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

*C. diphtheriae* kann mikroskopisch nicht eindeutig von anderen, apathogenen Corynebakterien unterschieden werden. Vielmehr müssen verdächtige Kolonien in Reinkultur isoliert, identifiziert und auf Toxinproduktion geprüft werden. Für den Beweis einer akuten Diphtherie ist allein der positive Toxinnachweis ausschlaggebend. Die quantitative Bestimmung von Antikörpern gegen das Diphtherie-Toxin hat seine Priorität bei epidemiologischen Fragestellungen sowie bei der Überprüfung der Immunitätslage bzw. des Impfstatus.

In der Differentialdiagnostik sind unter anderem abzugrenzen: Infektiöse Mononukleose, Angina Plaut-Vincenti, Streptokokken-Angina, Virus-induzierte Pharyngitis und Mumps.

### Literatur

1. Köhler W, Eggers HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G (Hrsg.) (2001), Medizinische Mikrobiologie, Urban & Fischer Verlag, 8. Aufl., 383-387
2. Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöller L (Hrsg.) (2009), Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen, Springer-Verlag, 3. Aufl., 189-192

## Echinococcus granulosus

### Englischer Begriff

Echinococcus granulosus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** Taeniidae, **Gattung:** Echinococcus (E.), **Art:** E. granulosus, E. multilocularis, E. vogeli, E. oligarthrus u. w.

*Echinococcus granulosus* („Hundebandwurm“) gehört zur Familie der Taeniidae und ist neben *Echinococcus multilocularis* („Fuchsbandwurm“) der bedeutendste Vertreter der Gattung *Echinococcus*.

*E. granulosus* ist ein 3-7 mm langer, meist dreigliedriger Bandwurm. Er besteht aus einem hakenbesetzten Kopf (Skolex), einer Sprossungszone und 2-6 Gliedern (Proglottiden), in denen die umweltresistenten Eier heranreifen. Die Vermehrung der Echinokokken ist an einen obligaten Wirtswechsel gebunden.

### Erkrankungen

Larven von *E. granulosus* sind Erreger der zystischen Echinokokkose. *E. granulosus* ist ein weltweit verbreiteter Parasit. In Europa kommt er hauptsächlich im Mittelmeerraum und in Ländern Ost- und Südosteuropas vor. In Mitteleuropa ist er selten. Von den 67 Neuerkrankten im Jahr 2008 (Deutschland) hatten sich die meisten im Ausland angesteckt. Hauptwirte für *E. granulosus* sind Hunde oder Hundartige, seltener Katzen. Zwischenwirte sind pflanzenfressende Wiederkäuer, vor allem Schafe, Ziegen und Rinder. Neben den natürlichen Zwischenwirten kann sich auch der Mensch (Fehlwirt) infizieren. Nach oraler Aufnahme der Bandwurmeier schlüpfen im Darm die Larven (Onkosphären). Sie durchdringen die Darmwand und erreichen entlang des Blutkreislaufs die Leber (ca. 70 %); seltener die Lunge (20 %), das Gehirn oder andere Organe. Aus den Onkosphären entwickeln sich bis zu 10 cm große flüssigkeitsgefüllte Zysten, die von einer festen Bindegewebskapsel umgeben sind. In der Keimschicht bilden sich Brutkapseln, in denen die neuen Echinokokken-Kopfanlagen (Protoskolizes) heranwachsen. Die Inkubationszeit beträgt beim Menschen Monate bis Jahre. Die klinischen Symptome sind zuerst wenig charakteristisch. Je nach Ort und Umfang der Manifestation kann es zu Oberbauch- und Atembeschwerden, zu Ikterus, allergischen Reaktionen oder neurologischen Ausfallerscheinungen kommen. Zystenruptur (allergischer Schock, sekundäre Echinokokkose) oder starke Raumforderung können bei der im Prinzip gutartigen Infektion doch zu lebensgefährlichen Komplikationen führen.

In Mitteleuropa ist das Risiko einer Infektion gering. Gefährdet sind vor allem Menschen in Endemiegebieten, die in enger Gemeinschaft mit Hunden, Schafen, Ziegen und weiteren potentiellen Zwischenwirten leben. Wichtigste Präventionsmaßnahmen sind die Einhaltung allgemeiner Hygieneregeln und die regelmäßige Entwurmung freilaufender Hunde und Katzen. Innereien und Schlachtabfälle, vor allem privater Herkunft, sollten nur ausreichend durchgegart verfüttert werden.

Echinokokkose-Patienten werden am effektivsten in spezialisierten Einrichtungen behandelt. Etabliert sind die chirurgische Sanierung der Infektionsherde und die Chemotherapie mit Mebendazol und Albendazol.

### Analytik

Direkter Antigennachweis durch Mikroskopie und PCR. Immunologische Bestimmung mit gattungs- und artspezifischen Antisera. Standardtests zur serologischen Antikörperbestimmung sind indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, indirekte Hämagglutination, Immunelektrophorese und Immunblot. Bei positiver Serologie und Verdacht auf eine zerebrale Infektion werden die spezifischen Antikörper und die Gesamt-Antikörper parallel in Liquor und Serum bestimmt und der spezifische Liquor-Serum-Quotient errechnet. Ein Wert deutlich über 1 spricht für eine intrathekale Antikörper-Synthese.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Aus Biopsie- und OP-Material (Hydatiden-Flüssigkeit).

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose einer Echinokokkose wird primär durch bildgebende Verfahren (Röntgen, Ultraschall, Computer- oder Magnetresonanztomographie) gestellt. Feinnadelbiopsien sollten wegen des Risikos der Streuung nur durchgeführt werden, wenn sich durch Serologie und bildgebende Verfahren keine diagnostische Klärung herbeiführen lässt. Sie bieten allerdings neben dem Direktnachweis von Protoskolizes im Nativpräparat die Möglichkeit der Stammtypisierung durch molekularbiologische Methoden (PCR).

Labordiagnostisches Standardverfahren ist der serologische Nachweis gattungs- oder artspezifischer Antikörper.

Positive Ergebnisse müssen immer mit bildgebenden Verfahren bestätigt werden, negative Ergebnisse schließen eine Infektion nicht aus: Bei der zystischen Echinokokkose (abgeschlossenes Antigen, beispielsweise in der Leber) geht man davon aus, dass etwa 20 % der Betroffenen keine Antikörper bilden. Bei Verdacht auf eine Infektion wird empfohlen, die Antikörper-Bestimmung nach 4 Wochen, 6, 12 und 24 Monaten zu wiederholen. Die Erkrankung ist meldepflichtig nach § 7 Abs. 3 IfSG.

#### Literatur

1. Robert-Koch-Institut Berlin: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2008 (2009):67-70
2. Robert-Koch-Institut Berlin: Ratgeber Infektionskrankheiten-Merkblätter für Ärzte, Echinokokkose (2005) Nr. 45
3. Kimmig P, Oehme R, Zestodenlarven In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) (2009) Mikrobiologische Diagnostik. Thieme, Stuttgart, New York 2. Aufl.:1081-1086



## ECHO-Viren

### Englischer Begriff

Human echovirus (enteric cytopathic human orphan virus)

### Beschreibung des Erregers

Unbehüllte Einzelstrang-RNA-Viren mit kubischer Symmetrie, Durchmesser 24-30 nm, 4 nicht-glykosylierte Virus-Kapsid-Proteine VP1-VP4, apathogen (außer Echo 9) für neugeborene Mäuse (Unterschied zu Coxsackie-Viren). Weltweites Vorkommen.

**Familie:** *Picornaviridae*

**Genus:** *Enterovirus*

**Spezies:** *Humane Echo-Viren* 1-7, 9,11-21,24-27,29-33, 69, 73-78

### Erkrankungen

90-95 % der Infektionen verlaufen asymptomatisch. Im Vergleich zu Poliomyelitis-Virus-Infektionen verminderter Neurotropismus (jedoch ist eine Beteiligung des ZNS wie bei Infektionen mit allen Enteroviren nicht ausgeschlossen), dafür breiteres Krankheitsspektrum: Infektionen des oberen Respirationstraktes, gastrointestinale Erkrankungen, Exantheme, Enantheme, Myoperikarditis, disseminierte Infektionen bei Neugeborenen, Meningitis, Enzephalitis. Bei immunsupprimierten Patienten chronische Meningoenzephalitis.

**Übertragung:** Fäkal-oral, aerogen (Tröpfchen, Mund-zu-Mund-Kontakt, kontaminiertes Trinkwasser), nosokomiale Übertragung.

**Inkubationszeit:** Im Mittel 7-14 Tage.

**Therapie:** Symptomatisch, spezifische antivirale Medikamente sind noch nicht verfügbar.

### Analytik

**Kultur/Direktnachweis:** Die Virusvermehrung erfolgt in Monolayer-Zellkulturen, z. B. von MRC 5-, HeLa- oder Vero-Zellen, die Virusidentifizierung mittels Neutralisationstest unter Verwendung von Antiseren bekannter Spezifität. Die alleinige Anwendung der PCR zur Typisierung ist wegen der hohen Sequenzhomologie der Enteroviren nicht zu empfehlen.

**Serologie:** Anwendung finden indirekte Immunfluoreszenz, Neutralisationstest, ELISA und Komplementbindungsreaktion. Letztere sollte wegen massiver Kreuzreaktivität mit anderen Enteroviren und eingeschränkter Sensitivität nicht mehr zur Serodiagnostik dieser Virusgruppe eingesetzt werden. Bei Verwendung von Antigenlysaten zeigen auch ELISA-Tests immunologische Kreuzreaktionen, weshalb hier die Bestimmung gruppenspezifischer Antikörper im Mittelpunkt steht. Kreuzreaktionen werden z. T. auch im Neutralisationstest beobachtet (Typ 1 mit 8, Typ 12 mit 29, Typ 6 mit 30). Der beste serologische Beweis einer frischen Infektion ist ein deutlicher Anstieg des IgG-Titers innerhalb 1-3 Wochen oder der Nachweis Erreger-spezifischer IgM-Antikörper.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Rachenabstrich, Stuhl und je nach Organmanifestation Rektal- und Konjunktival-Abstriche, Blut, Liquor und Bläschensekret oder Biopsien. Das Transportmedium sollte neutral sein und antibakteriell wirken. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Dem Erregernachweis mittels Kultur und sich anschließender serologischer Typisierung oder mittels PCR kommt eine wesentliche Bedeutung zu. In der Serologie kommt es vor allem auf die Bestimmung neutralisierender Antikörper an.

### Literatur

1. Zeichhardt H, Grunert HP (2003) Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and enteroviruses. In: Cohen I, Powderly WG, Opal SM (eds.): Infectious Diseases, 2nd edn. Elsevier Health Sciences London 213,1993-2006
2. Pallansch M, Rooy R (2007) Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. In: Knipe DM et al. (eds) Fields Virology, 5<sup>th</sup> edn. Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1, 2839-2893

## Enzymimmunttest

### Synonym(e)

Enzymimmunoassay, EIA

### Englischer Begriff

Enzyme immunoassay

### Definition

Immuntest für den Nachweis von Antigenen oder Antikörpern, bei dem Enzyme zur Markierung immunologischer Reaktionspartner eingesetzt werden. Die Enzyme katalysieren eine von der Konzentration des Messparameters der Probe abhängige Reaktion, die visuell erfasst oder durch Photometrie, Fluorometrie, Luminometrie oder andere Detektionsmethoden quantifiziert wird. Zur Markierung bevorzugte Enzyme sind Meerrettichperoxidase, alkalische Phosphatase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase.

### Physikalisch-chemisches Prinzip

Enzymimmunoassays teilen sich in zwei große Kategorien auf: Die heterogenen Assays, bei denen eine physikalische Phasentrennung obligat ist und der gebundene oder ungebundene markierte Reaktionspartner gemessen wird, sowie die homogenen Assays, bei denen keine Phasentrennung erforderlich ist und der freie Anteil des markierten Reaktionspartners in Gegenwart des gebundenen Reaktionspartners gemessen wird oder umgekehrt.

Eine andere Klassifizierung unterscheidet kompetitive Assays, bei denen zwei Reaktionspartner (einer von ihnen die zu bestimmende Substanz) simultan oder nacheinander um einen dritten konkurrieren, und nichtkompetitive Assays (Sandwich-Assays), bei denen die zu bestimmende Substanz von zwei Reaktionspartnern umfassen wird. Die Bindung an beide Reaktionspartner kann simultan (Einschritt-Assay) oder in zwei Schritten erfolgen.

Ferner werden Assays zum Antigen- von Assays zum Antikörpernachweis unterschieden.

Heterogene Enzymimmunoassays sind meistens als Festphasentests aufgebaut (ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay). Eine Komponente der Immunreaktion, Antigen oder Antikörper, ist an einen Träger fixiert: Röhrchenwand, Kugel, Magnetpartikel, Mikrotiterplatte oder Membran. Der heterogene EIA beinhaltet mindestens zwei Arbeitsschritte: Der Antigen-Antikörper-Reaktion folgt die Enzym-Substrat-Reaktion. Bei heterogenen Flüssigphasen-Assays werden gebildete Immunkomplexe von den ungebundenen Komponenten durch Adsorption, Fällung, Immunpräzipitation oder Affinitätsbindung abgetrennt. Heterogene Enzymimmuntests eignen sich zur Bestimmung von Substanzen mit sowohl niedrigem (Haptene) als auch höherem Molekulargewicht (Antigene, Antikörper). Das Messsignal ist bei diesen Assays direkt proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Antigens oder Antikörpers.

Bei den heterogenen, kompetitiven Enzymimmunoassays konkurriert das Antigen der Probe mit einer definierten Menge markierten Antigens um die Bindungsstellen eines im Unterschuss vorliegenden spezifischen Antikörpers, der an eine feste Phase gekoppelt ist. Während der Inkubation stellt sich ein Gleichgewicht zwischen markiertem und nichtmarkiertem Antigen ein. Je mehr natürliches Antigen die Probe aufweist, umso weniger markiertes Antigen wird gebunden. Bei einer weiteren kompetitiven Methode konkurrieren Festphase-gebundenes Antigen und Antigen der Probe um einen markierten Antikörper. Je weniger Antigen die zu untersuchende Probe enthält, umso mehr markierte Antikörper binden sich an das Festphase-fixierte Antigen (immunenzytometrischer Test). Auch in diesem Fall ist das Messsignal umgekehrt proportional zur Antigen-Konzentration in der Probe.

Heterogene, nichtkompetitive Enzymimmunoassays werden auch als „Sandwich Enzymimmunoassays“ bezeichnet. Die wichtigste Form ist der ELISA, eine Sonderform der Capture Assays: Hier wird das zu messende Antigen (Antigen Capture Assay) oder der zu bestimmende Antikörper (Antibody Capture Assay) der Probe zwischen zwei Antikörpern bzw. zwei Antigenen gebunden. Zur Antigenbestimmung wird das Antigen der Probe in einem ersten Inkubationsschritt mit einem an der festen Phase fixierten (Capture-)Antikörper zur Reaktion gebracht. Anschließend werden die ungebundenen Anteile der Probe mit einem Waschschrift entfernt. Je höher die Antigen-Konzentration der Probe ist, umso mehr Antigen kann gebunden werden. Im nächsten Schritt reagieren die enzymmarkierten Antikörper mit den Immunkomplexen an der festen Phase, und nach Beendigung der Reaktionszeit wird überschüssiger Marker mit einem Waschschrift entfernt.

Beim Einschritt-Assay werden die maßgeblichen Reaktanden simultan inkubiert – entweder die Antigen-Probe zusammen mit den enzymmarkierten Antikörpern und den Festphase-fixierten Antikörpern, oder der zu bestimmende Antikörper mit den markierten Antikörpern und dem an die feste Phase fixierten Antigen. Anschließend werden ungebundene Anteile der Probe gewaschen, und man lässt die Enzym-katalysierte Farbreaktion ablaufen.



Es existiert eine Vielfalt von Varianten nichtkompetitiver Enzymimmunoassays: Beim  $\mu$ -Capture Assay wird Spezies-spezifisches IgG, das gegen den Fc-Teil des IgM gerichtet ist, an die feste Phase gekoppelt. Hier verankert sich das IgM der Probe. Davon binden die antigenspezifischen IgM-Moleküle zugesetztes korrespondierendes Antigen. Zur Messung der gebundenen Antigenmenge wird ein gegen das Antigen gerichteter, enzymmarkierter IgG-Antikörper hinzugegeben, danach wird gewaschen, und man lässt die Farbreaktion ablaufen (das Antigen kann auch direkt markiert werden, ein Inkubationsschritt wird gespart). Vorteile des  $\mu$ -Capture Assay: Geringere Antigenabschwächung im Vergleich zur direkten Antigen-Bindung an die Festphase, keine Störung durch Rheumafaktoren. Nachteil: Für jeden Parameter ist ein spezielles Markierungsreagenz erforderlich, man kann nicht mehrere Analyte im selben Tropfen untersuchen.

Die homogenen Enzymimmunoassays erfordern keine Phasentrennung, alle Komponenten der Immun- und Substratreaktion sind in Lösung. Bei EMIT konkurriert das enzymmarkierte Reagenzantigen mit dem unmarkierten Antigen der Probe um begrenzt zur Verfügung stehende Antikörper-Bindungsstellen. Dabei ist das enzymmarkierte Antigen in freier Form entweder enzymatisch aktiv und wird nach Antikörperbindung inaktiviert oder umgekehrt. Als Messsignal dient die Änderung der enzymatischen Aktivität. Das Messsignal verhält sich hier proportional oder umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe. Beim Inhibitor-labelled EIA ist das Antigen an den Inhibitor eines Enzyms gekoppelt. Antikörper gegen das Antigen blockieren den Inhibitor, so dass dieser den Substratumsatz des Enzyms nicht hemmen kann. Zugabe des Antigens (Probe) entfernt den korrespondierenden Antikörper vom Inhibitor, der nun den Substratumsatz des Enzyms hemmt. Das Messsignal verhält sich hier umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe. Bestimmt werden können mit diesen EIA-Techniken vorwiegend Antigene mit niedrigem Molekulargewicht (Haptene). Bei den immunchromatographischen EIA ist der spezifische Antikörper für das zu bestimmende Antigen an eine feste Phase, z. B. Zelluloseacetatfolie, gebunden. Werden die antigenhaltige Probe und das enzymmarkierte Antigen auf die Folie getropft, konkurrieren beide um die begrenzte Anzahl immobilisierter Antikörper und binden sich an diese. Der ungebundene Anteil enzymmarkierten Antigens wandert aus der Reaktionszone, und seine katalytische Aktivität wird durch Substratzugabe bestimmt. Sie ist direkt proportional zur Antigen-Konzentration der Probe. Diese Technik gestattet vor allem die Bestimmung von Antigenen mit großem Molekulargewicht.

#### **Einsatzgebiet**

Bestimmung von Antigenen und Antikörpern

#### **Untersuchungsmaterial**

entfällt

#### **Instrumentalisierung**

Aufgrund der Vielfalt der Enzymimmunoassay-Systeme existieren die unterschiedlichsten Geräte zur manuellen und automatisierten Durchführung.

#### **Sensitivität**

Die analytische Sensitivität von Enzymimmunoassays mit Farbdetektion liegt bei  $10^{-16}$  mol/l, mit Fluoreszenzdetektion bei  $10^{-18}$  mol/l und mit Chemilumineszenzdetektion bei  $10^{-20}$  mol/l.

#### **Fehlermöglichkeit**

Ein Störfaktor, der zu einer starken Verfälschung der Messwerte führen kann, ist bei Sandwich-Enzymimmunoassays, die nach dem immunometrischen Prinzip der Einschnitt-Inkubation funktionieren, der High-dose-Hook-Effekt (Prozonen-Phänomen). Falsch positive Resultate werden darüber hinaus durch Rheumafaktoren der Klasse IgM in Sandwich-Enzymimmunoassays zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper verursacht, wenn die zu untersuchende Probe auch spezifische IgG-Antikörper enthält, falsch zu niedrige IgM-Werte können durch konkurrierendes spezifisches IgG entstehen.

#### **Praktikabilität/Automatisierung/Kosten**

Enzymimmunoassays können manuell und automatisiert durchgeführt werden.

#### **Literatur**

1. Deshpande SS (1996) Enzyme immunoassays: From concept to product development. Chapman & Hall, New York:231-273
2. Wild D (2001) The Immunoassay Handbook. Nature Publishing Group, New York:3-39

## Epstein-Barr-Viren (EBV)

### Englischer Begriff

Epstein-Barr virus

### Beschreibung des Erregers

Das Epstein-Barr-Virus (Humanes-Herpes-Virus-4; HHV-4) gehört den humanen Herpes-Viren an. Es hat eine Größe von 150 – 180 nm und besitzt ein lineares dsDNA-Genom (ca. 172 kb). Die DNA ist um eine Core-Struktur gewunden und von einem Kapsid aus einer Proteinmatrix umhüllt. Dieses ist wiederum von einer Lipidhülle mit Glykoproteinen umschlossen.

### Erkrankungen

Epstein-Barr-Virus (EBV) ist der Erreger der infektiösen Mononukleose. Die Infektion verläuft im Kindesalter häufig inapparent, bei Erstinfektion junger Erwachsener kommt es nach einer Inkubationszeit von 30-50 Tagen zur infektiösen Mononukleose („Kusskrankheit“, Pfeiffer'sches Drüsenfieber), die in der Regel mit einer Pharyngitis und einer Lymphadenopathie beginnt, dazu kann sich ein Exanthem und häufig auch eine Hepatosplenomegalie entwickeln. Charakteristisch ist ein verändertes Blutbild (mononukleäre „Pfeiffer-Zellen“). Selten persistieren die Symptome über längere Zeit (chronische Form). EBV kann verschiedene Tumorerkrankungen hervorrufen: Endemisches Burkitt-Lymphom in Afrika, ein Teil der Morbus-Hodgkin-Erkrankungen und das Nasopharynx-Karzinom. Bei angeborenen oder erworbenen Immundefekten kann eine EBV-Infektion zu schweren Komplikationen führen, wie dem X-gekoppelten-lymphoproliferativen Syndrom oder der Posttransplantations-Lymphoproliferation, beide mit hohen Mortalitätsraten.

Das Virus befällt ausschließlich den Menschen. Es wird vorwiegend durch Speichel übertragen und infiziert zunächst B-Lymphocyten, die sich zu Lymphoblasten differenzieren. Alternative Übertragungswege sind Bluttransfusion und Transplantation. EBV persistiert lebenslang (Latenz in sogenannten „Memory-Lymphocyten“). Bei immunkompetenten Personen kommt es immer wieder zu klinisch kaum wahrgenommenen Reaktivierungen mit Ausscheidung des Virus. Die Prävalenz von EBV in Deutschland steigt von 40 % bei 2-jährigen Kindern auf nahezu 100 % im Erwachsenenalter.

### Analytik

**Direktnachweis:** Die Bestimmung von EBV-DNA mittels PCR ist die Methode der Wahl, um die Reaktivierung einer EBV-Infektion bei immunsupprimierten Patienten festzustellen. Die Serologie ist hier ungeeignet, da die Antikörpertiter keine Korrelation zur Viruslast aufweisen.

**Serologie:** Nachweis von Antikörpern der Klassen IgA, IgG und IgM gegen die verschiedenen EBV-Antigene Virus-Capsid-Antigen (VCA), Early-Antigen (EA) und Epstein-Barr Nuclear Antigen (EBNA). Charakteristisch für eine Primärinfektion sind Antikörper der Klasse IgG und IgM gegen EA und VCA. Im Infektionsverlauf verschwindet VCA-IgM, VCA-IgG persistiert und EBNA-1-IgG tritt auf.

Die EBNA-Antigene 1-6 werden im Laufe der Infektion früher als EA und VCA synthetisiert. Sie werden dem Immunsystem aber erst nach der Zerstörung der B-Zellen präsentiert, so dass im zeitlichen Verlauf Antikörper gegen VCA und EA vor den Antikörpern gegen EBNA erscheinen. Die für eine EBV-Infektion typischen heterophilen Antikörper treten ebenfalls vor den Antikörpern gegen EBNA auf.

Antikörper gegen EA kommen bei 70-80 % der Patienten mit infektiöser Mononukleose vor, und zwar nur vorübergehend, während der akuten Phase. Hohe Antikörper-Titer gegen EA deuten auf chronische oder reaktivierte Infektionen hin. Sie werden aber auch im Zusammenhang mit dem Burkitt-Lymphom und dem Nasopharynx-Karzinom gefunden.

Mehrdeutige Antikörperkonstellationen, wie ausbleibendes VCA-IgM bei Primärinfektionen oder fehlendes EBNA-1-IgG bei abgelaufenen Infektionen, lassen sich durch die Untersuchung der Avidität des IgG gegen VCA differenzieren (niedrige Avidität: frische Infektion). Bemerkung: Der Nachweis heterophiler Antikörper (Paul-Bunnell-Reaktion) findet kaum noch Anwendung.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis:** Mittels PCR. Untersucht wird EDTA-Blut. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen.

**Serologie:** Serum, Plasma oder Liquor für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Differentialdiagnostisch sind Infektionskrankheiten abzugrenzen, die ähnliche klinische Bilder hervorrufen, wie HIV,

CMV, Röteln, Ringelröteln, HCV, Streptokokken-Infektion, Toxoplasmose und Malaria.

Die Unterscheidung zwischen einer Primärinfektion mit EBV und einer Reaktivierung ist serologisch nicht immer möglich. Liegen Antikörper gegen EA isoliert vor, kann man von einer Primärinfektion ausgehen. Gleichzeitig nachweisbare Antikörper gegen EBNA weisen auf eine Reaktivierung hin.

Eine frische EBV-Infektion ist durch einen deutlichen Titeranstieg der IgG-Antikörper gegen VCA gekennzeichnet, Antikörper der Klasse IgM können gleichzeitig auftreten, gegebenenfalls auch die typischen heterophilen Antikörper. Darüber hinaus sind bei Primärinfektionen auch Antikörper der Klasse IgA gegen die frühen EBV-Proteine nachweisbar, selten auch bei Reaktivierung. Hohe Antikörper-Titer der Klasse IgA gegen VCA sowie der Klasse IgG gegen EA können als Hinweis auf ein Burkitt-Lymphom oder ein Nasopharynx-Karzinom gewertet werden.

Antikörper der Immunglobulinklasse IgG gegen VCA können außer im Serum auch **im Liquor cerebrospinalis** bestimmt und dann der Liquor/Serum-Quotient der Erreger-spezifischen Antikörper errechnet werden. Ab einem definierten Grenzwert kann man davon ausgehen, dass EBV-Antikörper direkt im ZNS gebildet werden und eine zerebrale EBV-Infektion vorliegt.

Die Unterscheidung frischer von länger bestehenden Infektionen gehört zu den größten Herausforderungen der Serologie. Bisher stützte man sich vor allem auf die Untersuchung spezifischer Antikörper der Immunglobulin-Klasse IgM, die in der Regel nur initial in Erscheinung treten, deren Nachweis aber oft unsicher und problematisch ist. Störfaktoren sind eine Persistenz der IgM-Antwort, zu schwache oder verzögerte IgM-Bildung sowie unspezifische IgM-Reaktion durch polyklonale B-Zell-Stimulation. Bei 20 % aller akuten EBV-Infektionen können keine Antikörper der Klasse IgM gegen VCA nachgewiesen werden, bei 15 % wird das IgM verzögert gebildet, andererseits persistiert es bei 4 %. Für die sichere Identifizierung von Primärinfektionen hat sich in den letzten Jahren die Untersuchung der Avidität der gebildeten Antikörper etabliert: Das Immunsystem reagiert auf eine Infektion zunächst mit der Bildung niedrig-avider Antikörper. Mit fortschreitender Krankheitsdauer wird den Antigenen immer genauer angepasstes IgG sezerniert – die Avidität nimmt zu. Solange im Serum noch kein hoch-avides IgG nachweisbar ist, kann man davon ausgehen, dass sich die Infektion in einem frühen Stadium befindet.

#### Literatur

1. Andersson A, Vetter V, Kreutzer L, Bauer G (1994) Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: Useful markers for significant Epstein-Barr-Virus serology. *J Med Virol* 43: 112-115
2. Huzly D, Hess RD (2007) Möglichkeiten und Grenzen der serologischen Epstein-Barr-Virus-Diagnostik. *Dtsch Med Wochenschr* 132:151-154

## FSME-Viren

### Synonym(e)

Frühsommer-Meningoenzephalitis-Viren

### Englischer Begriff

TBE virus (tick-borne encephalitis, tick-borne meningoencephalitis)

### Beschreibung des Erregers

Das FSME-Virus gehört zum Genus *Flavivirus* (Familie *Flaviviridae*). Das sphärische, etwa 50 nm große Virion besteht aus einer 10,5 kD großen Positivstrang-RNA in einem Kapsid, das wiederum von einer Virushülle aus Lipiden der Wirtszelle und dem Protein E umgeben ist. Es sind drei Subtypen bekannt, neben dem in Deutschland vorkommenden zentraleuropäischen Subtyp gibt es einen fernöstlichen und einen sibirischen Subtyp.

### Erkrankungen

Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) ist eine meldepflichtige Erkrankung, die saisonal gehäuft vom Frühsommer bis zum Herbst auftritt. Endemiegebiete liegen in Bayern, Baden-Württemberg, Südhessen, Thüringen und Rheinland-Pfalz.

Vektoren sind Schildzecken (*Ixodidae*) jeder Entwicklungsstufe (Larven, Nymphen, Adulte). Sie leben am Waldrand und im hohen Gras und übertragen die Viren bei der Blutmahlzeit. Natürliches Erregerreservoir sind vorwiegend kleine Säugetiere und Vögel.

Jährlich werden in Deutschland ca. 300 Neuerkrankungen registriert. Ein Großteil der mit FSME-Viren infizierten Personen bemerkt keine objektivierbaren Krankheitszeichen – die Serokonversion gibt dann den einzigen Hinweis. Nur etwa 10 % bis 30 % der Infizierten zeigen 7 bis 14 Tage nach der Ansteckung grippeähnliche Beschwerden mit Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen, Erbrechen und Schwindel. Bei etwa 10 % der symptomatischen Patienten folgt nach etwa einer fieberfreien Woche eine Meningoenzephalitis mit Kopfschmerzen, Erbrechen, meningealen Reizerscheinungen und vereinzelt Stupor oder Koma.

Prävention ist möglich durch aktive Immunisierung und Expositionsprophylaxe: Beim sommerlichen Aufenthalt in Wald und Feld sollte man heutzutage hübsch auf dem Weg bleiben. Die Therapie erfolgt symptomatisch.

### Analytik

**Direktnachweis:** In der frühen Krankheitsphase mittels Kultur-Verfahren oder PCR aus Blut oder Liquor möglich.

**Antikörper-Diagnostik:** Nachweis FSME-spezifischer Antikörper der Klasse IgG und IgM in Serum oder Liquor. Beweisend für eine frische Infektion ist ein signifikanter Titer-Anstieg, gemessen durch indirekte Immunfluoreszenz, Enzymimmuntests oder Blot-Techniken.

Bei Verdacht auf eine Beteiligung des zentralen Nervensystems werden die spezifischen Antikörper und die Gesamt-Antikörper parallel in Liquor und Serum bestimmt und der spezifische Liquor-Serum-Quotient errechnet. Ein Wert deutlich über 1 spricht für eine intrathekale Antikörper-Synthese.

Kreuzreaktionen zu anderen humanpathogenen Flaviviren (Dengue, West-Nil und Gelbfieber) müssen ausgeschlossen werden. Differentialdiagnostisch relevant sind Poliomyelitis, Borreliose und virale Meningoenzephalitiden.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Blut oder Liquor. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Literatur

Niedrig M, Mantke OD, Konsiliarlaboratorium für Frühsommerenzephalitis (FSME), Robert-Koch-Institut, Berlin, RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten (2008), [www.rki.de](http://www.rki.de)

## Gelbfieber-Viren

### Englischer Begriff

Yellow fever virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Flaviviridae*, **Gattung:** *Flavivirus*, **Art:** *Gelbfieber-Virus*. Plusstrang-RNA-Genom, behüllt, 50 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Gelbfieber

**Verbreitung:** In den Tropen und Subtropen Afrikas (90 % der Fälle), Mittelamerikas und Südamerikas.

**Vektor:** Stechmücken (*Aedes*, *Haemagogus*).

**Wirte:** Primaten, Vögel, Fledermäuse, Schlangen, Mensch (im Dschungel als Nebenwirt, in den Städten als Hauptwirt über direkten Blutkontakt).

**Klinik:** Virämie mit plötzlich auftretendem hohem Fieber und Grippe-ähnlicher Symptomatik, Bradykardie, bei 15 % der Erkrankten zweite, toxische Phase mit Hämorrhagie, Gerinnungsstörungen, Ikterus, Nephritis, ZNS-Störungen. Letalität 10-20 %, am höchsten bei 20- bis 30-Jährigen.

**Therapie und Prophylaxe:** Nur symptomatische Behandlung möglich. Es gibt einen Lebendimpfstoff, der zum Beispiel in Deutschland wegen eines erhöhten Risikos von Nebenwirkungen nur von Gelbfieber-Impfstellen verabreicht werden darf. Schutz vor Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert ein Laboratorium der Sicherheitsklasse 3.

**Direktnachweis** des Virus mittels RT-PCR oder Virus-Anzucht in Zellkultur.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper (IgG, IgM) im Serum durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Neutralisationstest und Hämagglutinationshemmtest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Blut oder Blutbestandteile (PCR). Die Proben sollten bei +4 °C bis +8 °C transportiert und innerhalb von 6 (PCR) und 24 Stunden (Kultur, direkte Immunfluoreszenz) analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma sind für den Nachweis der Antikörper bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

**Direktnachweis:** Während der ersten Krankheitstage möglich.

**Serologie:** Spezifische IgM-Antikörper können kurz nach dem Auftreten der ersten Symptome nachgewiesen werden, IgG-Antikörper um zwei Tage versetzt. Zu beachten sind Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren (FSME, Dengue-Fieber, West-Nil-Fieber, Japanische Enzephalitis etc.), sie werden für die IgM-Klasse bei Immunfluoreszenztests (4-10 %) seltener festgestellt als bei Enzymimmuntests (30-44 %). Des Weiteren müssen impfinduzierte Antikörper beachtet werden.

**Differentialdiagnosen:** Andere Virus-bedingte hämorrhagische Fieberkrankheiten (Dengue-, Krim-Kongo-, Rift-Valley-, Ebola-, Marburg-Fieber), Leptospirose.

### Literatur

1. Tomori O (2004) Yellow fever: the recurring plague. *Crit Rev Clin Lab Sci* 41(4):391-427
2. Barrett AD, Higgs S (2007) Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. *Annu Rev Entomol* 52:209-229
3. Niedrig M, Kürsteiner O, Herzog C, Sonnenberg K (2008) Evaluation of an indirect immunofluorescence assay for detection of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against yellow fever virus. *Clin Vaccine Immunol* 15(2):177-181
4. World Health Organization (2009) Yellow fever. Fact sheet N°100



## Haemophilus influenzae

### Englischer Begriff

Haemophilus influenzae

### Beschreibung des Erregers

Bei den Bakterien der Gattung *Haemophilus* handelt es sich um gramnegative Bakterien der Familie der *Pasteurellaceae*. Zur gleichen Familie gehören auch die Gattungen *Pasteurella* und *Actinobacillus*, von denen es insgesamt 16 Arten gibt.

Von der Spezies *Haemophilus influenzae* sind sowohl bekapselte (Serotypen a bis f) als auch kapsellose Stämme bekannt.

### Erkrankungen

*H. influenzae* lebt als Kommensale ausschließlich in den Schleimhäuten des Menschen, vor allem in denen des oberen Atmungssystems (Nase, Rachen, Luftröhre), und verursacht dort gelegentlich entzündliche Erkrankungen (Epiglottitis, Bronchitis, Pneumonie). Über 95 % der Infektionen mit *H. influenzae* lassen sich auf den Serotyp b zurückführen. Übertragen wird das Bakterium durch Kontakt- und Tröpfcheninfektion, begünstigt durch enge Lebensverhältnisse. Es existiert ein hohes Ansteckungsrisiko bei Kindern bis zum zweiten Lebensjahr, Patienten mit Virusinfektionen der Atemwege und einer defekten Selbstreinigung der Bronchien.

Bei Neugeborenen führen Infektionen mit *H. influenzae* zu Konjunktivitis und Otitis media, und vor allem bei Kleinkindern ist dieses Bakterium auch Erreger von Hirnhautentzündungen (Meningitis) und weiteren entzündlichen Erkrankungen. Bei Erwachsenen treten Infektionen durch *H. influenzae* seltener auf und manifestieren sich vor allem als Bronchitis.

Als Prophylaxe dient eine Schutzimpfung gegen *H. influenzae* Typ b. Für Kinder ab 3 Monaten und bis zum 6. Lebensjahr wird eine aktive Impfung mit einer speziell entwickelten Kapselvakzine empfohlen. Ein passiver Schutz wird durch spezifisches Hyperimmunglobulin gewährleistet. Die Therapie stützt sich im Wesentlichen auf Antibiotika.

### Analytik

**Kultur:** Die Erregerdiagnose erfolgt durch Anzucht aus Körperflüssigkeiten und anschließende Differenzierung anhand des Wachstumsfaktorbedarfs. *Haemophilus influenzae* benötigt für die Anzucht besondere Wirkstoffe (X-Faktor: Hämin, V-Faktor: Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid). Anzuchtung unter erhöhter CO<sub>2</sub>-Konzentration auf Kochblut-Agar, zusätzlich ausgestrichener *Staphylokokkus aureus* sorgt dabei für ideale Wachstumsbedingungen. Nach ein- bis zweitägiger Inkubation bei 37 °C lassen sich glatte, leicht durchsichtige Kolonien feststellen.

Die Abgrenzung von *Haemophilus influenzae* gegenüber anderen Spezies erfolgt durch Prüfung von Stoffwechseleigenschaften (z. B. Porphyrinproduktion) oder Direktnachweis.

**Direktnachweis:** Identifizierung des Kapsel-Serovars mit Hilfe immunologischer Methoden wie Latexagglutination, Immunpräzipitation oder direkter Immunfluoreszenz (IFT).

### Serologie:

Für serologische Untersuchungen werden indirekte Immunfluoreszenz- und ELISA-Testsysteme eingesetzt.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Kultur und Direktnachweis:** Liquor, Blut, Sputum, Sekrete und Abstriche von Konjunktiva oder Rachen. Die Proben sollten gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

*H. influenzae* b präsentiert im Wesentlichen drei Kategorien antigener Determinanten: Kapselpolysaccharide, äußere Membranproteine und Lipooligosaccharide. Antikörper gegen Kapselpolysaccharide werden nur im Verlauf einer akuten Infektion gebildet, hingegen können Antikörper gegen äußere Membranproteine relativ hochtitrig auch bei gesunden Normalpersonen auftreten. Das sicherste Zeichen für eine akute Infektion ist daher nicht ein bestehender hoher Ausgangstiter, sondern ein deutlicher Titeranstieg innerhalb von zwei Wochen. Die Bestimmung der spezifischen Antikörper wird auch zur Kontrolle des Impferfolges durchgeführt.

### Literatur

1. Hahn H (2000) *Haemophilus influenzae*. In: Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Springer Verlag, 314-317, 701-706
2. Gorbunov SG, Demina AA, Spirikhina LV, Gracheva AM, Samsonova IM (2002). Diagnostic value of different laboratory methods in the diagnosis of pneumonia caused by *haemophilus influenzae* type B. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 51-54

## Hanta-Viren

### Englischer Begriff

Hanta virus

### Beschreibung des Erregers

Die verschiedenen Hanta-Virus-Typen gehören zum Genus Hanta-Virus (Familie *Bunyaviridae* mit über 200 Arten). Das Viruspartikel ist 80-110 nm groß und enthält eine einzelsträngige RNA, assoziiert mit einem Nukleokapsid, welches von einer Hülle aus zwei Glykoproteinen (G1, G2) umgeben ist. In den USA und in Südamerika kommen die Virus-Typen Sin-Nombre und Andes vor, in Asien Hantaan und Seoul und in Europa Puumala, Tula und Dobrava.

### Erkrankungen

Hanta-Viren sind die Erreger des pulmonaren Hantavirus-Syndroms (als interstitielle Pneumonie vorwiegend in Amerika) und des hämorrhagischen Fiebers mit renalem Syndrom (akute Niereninsuffizienz). Im Balkan kommt eine moderate Verlaufsform vor, die Nephropathia epidemica. Die Viren werden über Ausscheidungen infizierter Nagetiere (vorwiegend Mäuse) aerogen durch Staub oder Aerosole auf den Menschen übertragen. Nach einer Inkubationszeit von 2-5 Wochen beginnt die Krankheit mit hohem Fieber und Grippe-ähnlichen Allgemeinsymptomen (Kopfschmerz, Myalgie). Es folgen starke Schmerzen im Lenden- und im Abdominalbereich. Die dritte Phase ist gekennzeichnet durch eine Einschränkung der Nierenfunktion bis zum akuten Nierenversagen. Die Behandlung erfolgt symptomatisch, zur Prävention vermeidet man den Kontakt mit Nagetieren.

### Analytik

**Direktnachweis:** In der akuten Phase der Erkrankung ist der direkte Erregernachweis mittels PCR aus Blut oder Biopsiematerial möglich, jedoch nicht bei jedem Patienten erfolgreich.

**Kultur:** Die Virus-Anzucht gelingt in der Regel nicht.

**Serologie:** Bestimmung Hanta-spezifischer Antikörper der Klassen IgG und IgM durch indirekte Immunfluoreszenz, Enzymimmuntests oder Blot-Techniken. Der Virus-Neutralisationstest bleibt aufgrund der Sicherheitseinstufung der Hanta-Viren Speziallaboratorien vorbehalten. Positive Ergebnisse sind meldepflichtig.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Blut und Biopsien. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Abklärung von Fieberkrankheiten, die mit Nierenfunktionsstörungen und hämorrhagischer Symptomatik einhergehen.

### Literatur

1. Krüger DH (2008) Epidemiologisches Bulletin 19, 147-156, Robert-Koch-Institut Berlin, [www.rki.de](http://www.rki.de)
2. Jacob J, Koch J, Krüger DH, Schmidt-Chanasit J, Ulrich RG (2008) Informationen zur Vermeidung von Hanta-Virus-Infektionen, Robert-Koch-Institut Berlin, [www.rki.de](http://www.rki.de)

## Helicobacter pylori

### Synonym(e)

Campylobacter pylori

### Beschreibung des Erregers

Zuerst von Marshall und Warren (1983) aus Magenbiopsiematerial isoliert. Zunächst als *Campylobacter pylori* bezeichnet, später in *Helicobacter pylori* umbenannt. Gattung *Helicobacter*, Familie *Helicobacteriaceae*, Division der Proteobakterien.

*H. pylori* ist ein 3-4 x 0,5-1,0 µm großes, gram-negatives, gebogenes, spiralförmiges Stäbchenbakterium, welches sich auf Grund seiner 3-7 unipolaren Flagellen (2,5 µm lang, Ø 30 nm) durch eine hohe Beweglichkeit auszeichnet. Eine Reihe von Virulenzfaktoren sind an der Pathogenese beteiligt. Charakteristisch ist die besonders hohe Ureaseaktivität, die das Überleben in der Magenschleimhaut durch Neutralisation der Magensäure über die Spaltung von Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid sichert. Intensiv erforscht sind die Pathogenitätsfaktoren VacA (vakuolisierendes Zytotoxin A) und CagA-Protein (Zytotoxin-assoziiertes Gen A), deren Präsenz signifikant stärker mit Folgekrankheiten (z. B. Magenkarzinomen) assoziiert ist. Reservoir für *H. pylori* ist ausschließlich der menschliche Magen.

### Erkrankungen

*H. pylori* ist nachweislich an der Pathogenese von chronisch-atrophischer Gastritis, Ulcus ventriculi et duodeni und Adenokarzinom sowie MALT-Lymphom beteiligt. Es wurde deshalb 1994 durch die WHO (World Health Organisation) zum „Karzinogen erster Klasse“ ernannt.

Mehr als die Hälfte der adulten Weltbevölkerung trägt *H. pylori* in ihrem Gastrointestinaltrakt. In den Industrienationen beträgt die Infektionsrate 20-50 %, während sie in einigen Entwicklungsländern bei über 95 % liegt. *H.-pylori*-Infektionen werden mit einer Tripeltherapie aus zwei Antibiotika und einem Protonenpumpeninhibitor behandelt.

### Analytik

#### Invasive Testmethoden aus gastroendoskopischem Biopsiematerial:

- *Helicobacter*-Ureaseschnelltest: Biopsiematerial wird über eine pH-Wert-Änderung durch Farbumschlag eines Indikators auf Ureaseaktivität untersucht. Besonders geeignet für eine schnelle Primärdiagnostik.
- Histologie: Mikroskopische Darstellung von *H. pylori* in der Magenschleimhaut mittels HE-Färbung (Hämatoxylin-Eosin). Nachweis pathologischer Veränderungen (Aktivität und Chronizität). Einsatzgebiete: Primärdiagnostik und Therapiekontrolle.
- Kultur: Anzucht der Bakterien auf Spezialnährmedien über 5-7 Tage, aus frisch gewonnenen Magenschleimhaut-Biopsien.
- PCR-Verfahren: Erregernachweis durch Analyse der DNA, gleichzeitig können Antibiotika-Resistenz-assoziierte Punktmutationen aufgedeckt werden. Damit ist eine Resistenzbestimmung auch dann möglich, wenn die konventionelle Kultivierung nicht gelingt.

#### Nicht-invasive Methoden:

- Stuhlantigentest: Erreger werden mittels monoklonaler Antikörper im Stuhl bestimmt. Geeignet für Primärdiagnostik und Therapiekontrolle. Besonders für Kleinkinder die Methode der Wahl.
- <sup>13</sup>C-Harnstoff-Atemtest: Oral zugeführter, markierter Harnstoff wird durch bakterielle Urease gespalten. Die <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-haltige Expirationsluft wird aufgefangen und gemessen. Geeignet für Primärdiagnostik und Therapiekontrolle.

**Serologie:** Indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmuntests besitzen für die Diagnostik einen geringeren Stellenwert als die Direktnachweise, sind jedoch hilfreich, wenn keine Indikation für eine Gastroskopie vorliegt sowie bei reduzierter Koloniedichte in der Magenschleimhaut. Spezifische Antikörper gegen die Virulenzfaktoren CagA und VacA können mittels Immunblot bestimmt werden.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht wird gastrokopisches Biopsiematerial. Es sollte bis zur Weiterverarbeitung in Spezial-Transportmedien bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Material nicht einfrieren!

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

In Deutschland befasst sich ein nationales Referenzzentrum mit *Helicobacter-pylori*-Infektionen.



## Literatur

1. Kist M, Glocker E, Suerbaum S (2005) Pathogenese, Diagnostik und Therapie der Helicobacter-pylori-Infektion. Bundesgesundheitsblatt 48: 669-678
2. Suerbaum S, Vogt K (2004) Helicobacter. In: Hahn H, Falke D, Kaufmann, SH, Ullmann U: Medizinische Mikrobiologie, Springer 5. Aufl. 291-295

## Herpes-simplex-Viren 1 und 2

### Synonym(e)

HHV-1, humanes Herpes-Virus 1; HHV-2, Humanes Herpes-Virus 2

### Englischer Begriff

Herpes simplex virus type 1 and type 2

### Beschreibung des Erregers

Der Begriff Herpes stammt vom Altgriechischen (herpein für „kriechen“), was die Ausbreitung der Herpesläsionen der Haut beschreibt. Synonym: HHV-1 (Humanes-Herpes-Virus 1).

Die Spezies Herpes-simplex-Virus-1 und Herpes-simplex-Virus-2 (HSV-1, HSV-2) gehören zur Familie *Herpesviridae* (behüllte Viren mit einer doppelsträngigen, linearen DNA als Genom), Unterfamilie  *$\alpha$ -Herpesviridae*, Gattung *Herpes-simplex-Virus*. Die Vertreter der *Herpesviridae* zählen bezüglich ihres Genoms und ihrer Morphologie zu den größten und komplexesten Viren. Die *Herpes-simplex*-Virionen ( $\varnothing$  140 bis 180 nm) enthalten ein ikosaedrisches Kapsid ( $\varnothing$  100 bis 110 nm). Dieses ist von etwa 20 Tegumentproteinen umkleidet und von einer äußeren Virushülle umgeben. Reservoir für Herpes-simplex-Viren ist ausschließlich der Mensch.

### Erkrankungen

Herpes simplex ist durch Bläschen auf Haut und Schleimhaut gekennzeichnet. Herpes labialis wird häufiger durch HSV-1 und Herpes genitalis überwiegend durch HSV-2 verursacht. Nach einer Erstinfektion, die häufig symptomlos oder als Stomatitis aphthosa abläuft, verbleibt das Virus in einem Ruhezustand (Latenzort: sensorische Nervenganglien) stets lebenslang im Organismus (persistierende Infektion).

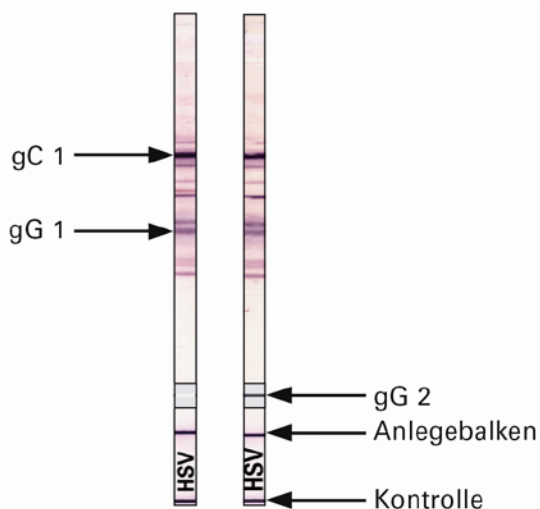
Die Erkrankung ist weltweit verbreitet und verläuft in der Regel ohne schwere Krankheitssymptomatik. Selten, aber schwerwiegend, sind die Herpes-simplex-Enzephalitis und der Herpes neonatorum bei Neugeborenen (Ansteckung im Geburtskanal). Die Durchseuchung der Bevölkerung mit HSV-1 beträgt 70-90 %, mit HSV-2: 8-30 %.

Für die HSV-Therapie stehen mehrere, hauptsächlich lokal anzuwendende Virostatika zur Verfügung, z. B. Acyclovir und seine Derivate.

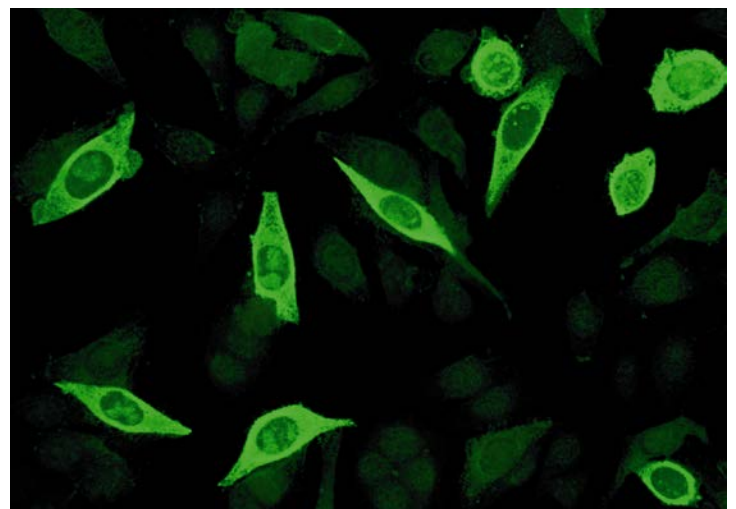
### Analytik

**Erregernachweis:** Die klassische Virus-Isolierung auf Zellkulturen mit anschließender Typisierung über spezifische monoklonale Antikörper ist sehr zeitaufwändig (Kultivierung über mehrere Tage). Schnellere Direktnachweise sind die Bestimmung infizierter Zellen durch direkte Immunfluoreszenz sowie die Detektion von Virus-Partikeln mit dem Transmissions-Elektronenmikroskop, bei der jedoch die Differenzierung von Unterfamilien nicht möglich ist. Der Nukleinsäurenachweis mittels PCR ist der Goldstandard für die Diagnose einer Herpes-simplex-Enzephalitis.

**Serologie:** Nachweis Virus-spezifischer Antikörper über Komplementbindungsreaktion (KBR), indirekte Immunfluoreszenz sowie Enzymimmuntests. Für die Beurteilung des Risikos eines Herpes neonatorum in der Schwangerschaft sowie für epidemiologische Studien ist die Typ-spezifische Serologie mit ELISA-Tests oder Immunblots von Bedeutung, auf der Basis der Glykoproteine C-1 und G-1 für HSV-1 sowie Glykoprotein G-2 für HSV-2.



**Abb. 3 Kombination Linienblot (gG 2) mit Westernblot: Antikörper gegen Herpes-simplex-Viren. Positive Reaktion für HSV-1 (links), positive Reaktion für HSV-2 (rechts).**



**Abb. 4 Antikörper gegen Herpes-simplex-Viren.**

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Bläschenabstriche, verdächtige Sekrete (z. B. Vaginalsekret), Biopsiematerial oder Liquor. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Abklärung von Fieberkrankheiten, die mit Nierenfunktionsstörungen und hämorrhagischer Symptomatik einhergehen.

### Literatur

1. Ashley RL, Militoni J, Lee F, Nahmias A, and Corey L (1988) Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunodot enzyme assay for detecting antibodies to herpes simplex virus types 1 and 2 in human sera. *J Clin Microbiol* 26:662-667
2. Center for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 55:16-20

## HIV-1 und HIV-2

### Synonym(e)

Menschenpathogenes Immunschwäche-Virus, humanpathogenes Immundefizienz-Virus, AIDS-Virus

### Englischer Begriff

Human immunodeficiency virus (HIV) type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2)

### Beschreibung des Erregers

HIV gehört zur Familie der Retroviren und zur Gattung der Lentiviren. Die bisher bekannten beiden Arten werden als HIV-1 und HIV-2 bezeichnet, ihre Aminosäuresequenzen sind zu etwa 50 % homolog. Beide Infektionen ähneln sich hinsichtlich des klinischen Bildes, die Krankheit verläuft aber bei HIV-2 langsamer. HIV-1 und HIV-2 entstanden aus unterschiedlichen Typen der Simian immunodeficiency viruses (SIV) bestimmter Affenpopulationen.

Das Viruspartikel hat einen Durchmesser von 100 bis 120 nm und ist von einer Lipoproteinhülle umgeben. In diese eingebettet sind env-Glykoproteinkomplexe, die aus einem externen Anteil (gp120) und einem Transmembranprotein (gp41) bestehen. Gp120 ist für die Bindung des Virus an die CD4-Rezeptoren der Zielzellen von entscheidender Bedeutung. Da die Hülle des HIV aus der Membran der Wirtszelle entsteht, enthält sie zum Beispiel Moleküle der HLA-Klassen I und II sowie Adhäsionsproteine. Im Inneren des Virions befindet sich das Kapsid (core) mit dem viralen Genom, bestehend aus zwei Kopien Einzelstrang-RNA in Plusstrangorientierung sowie den Enzymen Reverse Transcriptase (RT) und Integrase.

### Erkrankungen

Eine Ansteckung mit HIV kann asymptomatisch verlaufen oder nach unterschiedlich langer, meist mehrjähriger Inkubationszeit zum derzeit noch unheilbaren manifesten AIDS führen (engl. „Acquired Immunodeficiency Syndrome“, dt. „Erworbenes Immundefektsyndrom“), das sich als akute primäre Infektion oder als generalisierte Lymphadenopathie manifestieren kann. Die Infektion mit HIV verläuft progredient, besitzt ohne Therapie keine Rückbildungstendenz und endet in der Regel letal. Kennzeichnend für das Stadium der Immundefizienz ist das Auftreten opportunistischer Infektionen (Candidiasis, Mykobakteriose, Toxoplasmose etc.), maligner Tumoren und neurologischer Erkrankungen.

HIV ist wirtsspezifisch für den Menschen. In Schimpansen führt eine Infektion mit HIV zu einer chronischen Virämie, jedoch nicht zur Ausbildung des AIDS. Eine Übertragung von HIV ist möglich durch homo- und heterosexuelle Kontakte, vertikale Transmission von der HIV-infizierten Mutter auf das Neugeborene, parenteral durch Blut oder Blutprodukte, Transplantationen, Nadelstichverletzungen im medizinischen Bereich sowie bei Drogenabhängigen durch verseuchtes Injektionsbesteck. Entsprechend der Viruskonzentration in verschiedenen Körperflüssigkeiten variiert die von ihnen ausgehende Infektiosität: Blut und Sperma HIV-infizierter Personen enthalten hohe, andere Körpersekrete wie Speichel, Tränenflüssigkeit, Urin oder Stuhl nur geringe Virusmengen. Die Viruskonzentration im peripheren Blut ist unmittelbar nach der Infektion, bevor sich ausreichend Antikörper gebildet haben, besonders hoch, nimmt dann ab und steigt in späten Stadien der Erkrankung wieder an. Homo- und heterosexuelle Personen mit häufig wechselnder Sexualpartnerschaft, Prostituierte und Drogenabhängige sind besonders gefährdet und bilden ihrerseits das höchste Infektionspotential.

An der Verbreitung des AIDS war gegen 1980 ein maßlos promiskuitiver homosexueller Flugbegleiter beteiligt, der das Virus innerhalb eines Jahres an über einhundert vorwiegend männliche Personen weitergegeben hatte. Die Seuche hat sich in 30 Jahren zu einer Pandemie entwickelt, an der bisher etwa 25 Millionen Menschen gestorben sind. Zurzeit sind 33 Millionen Menschen mit dem Virus infiziert (2009). Die Prävalenz zeigt in den Regionen der Welt große Unterschiede. Sie liegt für HIV-1 im Süden Afrikas bei über 40 %, die Neuerkrankungs- und Sterberaten sind dort hoch. Stark ansteigende Infektionsraten sind gegenwärtig in Osteuropa, Südostasien und in Lateinamerika zu verzeichnen. HIV-2-Infektionen beschränken sich im Wesentlichen auf Westafrika und Indien. In den USA und in Westeuropa ist die HIV-Inzidenz weitaus geringer, Neuerkrankungen und Sterbefälle halten sich die Waage.

**Prophylaxe:** Eine Impfung gegen HIV ist (noch) nicht etabliert. Deshalb konzentriert sich die Prävention auf die Information der Bevölkerung, sowie auf die sorgfältige Kontrolle von Blutkonserven, Plasmaprodukten und Transplantaten. Die derzeit verwendeten Therapeutika basieren auf einer Hemmung virusspezifischer Enzyme: Reverse Transcriptase (RT) und virale Protease.

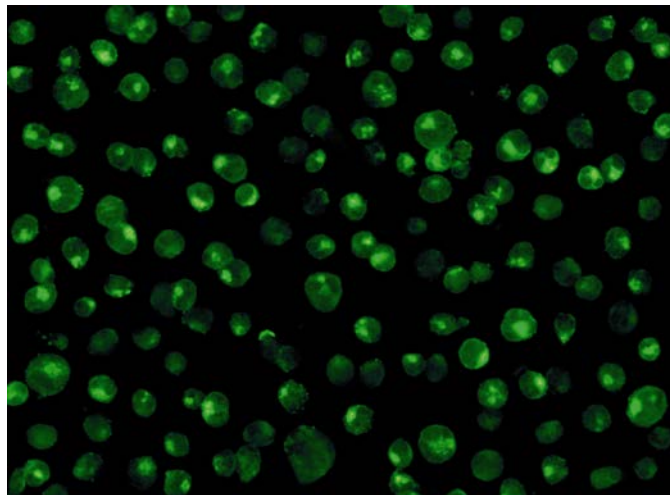
### Analytik

**Kultur:** Die Virus-Anzucht in stimulierten Lymphocyten-Kulturen wird nur in Ausnahmefällen durchgeführt, etwa bei Neugeborenen HIV-positiver Mütter, da bei diesen aufgrund des Vorliegens maternalen Antikörper eine Infektion serologisch nicht diagnostiziert werden kann.

**Direktnachweis:** Die Reverse-Transcriptase-PCR ist eine der treffsichersten Untersuchungsmethoden. Fällt sie negativ aus, liegt entweder keine HIV-Infektion vor oder die Virus-Last ist äußerst gering. Da gerade in der Anfangsphase einer HIV-Infektion die Viruskonzentration hoch ist, kann man einen negativen PCR-Test, der mindestens 15 Tage nach einem Risikokontakt durchgeführt wurde, in der Regel als sicheres Zeichen dafür werten, dass es zu keiner Ansteckung gekommen ist. Die PCR wird bei Infizierten zu Verlaufs- und Therapiekontrolle eingesetzt und findet auch im Blutspendewesen für die Untersuchung von Blut- und Plasmaspenden Anwendung. Bei der Aufnahme in eine Rettungsstelle wird für Patienten ebenfalls regelmäßig eine PCR durchgeführt, wenn Verdacht auf eine akute HIV-Infektion besteht.

**Serologie:** Als Suchtests werden Immuntests der 3. oder 4. Generation verwendet. Alle ELISA, Lumineszenz-Immunoassays oder Mikropartikel-Enzym-Immunoassays der 3. Generation und ihre Vorgänger erfassen nur Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Immuntests der 4. Generation (seit 1999) erkennen auch das Kapsid-Antigen p24 des HIV-1. Westernblots können Antikörperreaktivitäten gegen unterschiedliche HIV-Proteine anzeigen und dienen als geforderte Bestätigungstests.

Um auch in Ländern mit schlechter Labor-Infrastruktur HIV-Infektionen rasch nachweisen zu können, wurden Heim- oder Schnelltests (engl. home tests, point-of-care tests, bedside tests oder rapid/simple test devices) entwickelt, die auf verschiedenen immundiagnostischen Prinzipien basieren, wie Partikelagglutination, Immudot (Dipstick), Immunfiltration oder Immunchromatographie. Sie sind auch in Situationen nützlich, bei denen es auf ein sofortiges Ergebnis ankommt, z. B. bei der Entscheidung über eine Postexpositionsprophylaxe nach Nadelstichverletzungen (Untersuchung der Infektionsquelle).



**Abb. 5 Antikörper gegen HIV.**

#### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Kultur:** Vollblut, Buffy Coat, Plasma, Liquor oder Gewebe.

**Direktnachweis:** Vollblut, Serum, Plasma, Gewebe. Gewebe- und Blutproben für die PCR müssen innerhalb von 6 Stunden bei 5-20 °C an das Labor gesendet werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Diagnostische Wertigkeit

Für die HIV-Serologie wurden Suchtests (Screeningtests) und Bestätigungstests entwickelt, mit dem Ziel, Antikörper, Antigene oder RNA des HIV zu identifizieren. Ziel eines Suchtests ist es, möglichst sensitiv alle infizierten Personen zu erkennen. Reaktive Proben werden im (aufwändigeren) Bestätigungstest nachuntersucht, der eine höhere Spezifität besitzt als ein Suchtest.

Bei einem positiven Ergebnis im Suchtest muss dieser wiederholt und zusätzlich ein Antikörper-Bestätigungstest mittels Westernblot durchgeführt werden. Nach Empfehlung der Weltgesundheits-Organisation (WHO) wird die Diagnose „HIV-positiv“ aufgrund von Antikörpern gegen mindestens zwei verschiedene Virusproteine (z. B. gp160, p120, gp41, p55, p40, p24, p17, p66, p51, p32) gestellt. Das Ergebnis muss nun noch durch eine unabhängig vom ersten Test abgenommene Blutprobe verifiziert werden, um Verwechslungen auszuschließen.

Bei „Immuntests der 3. Generation“ konnte eine HIV-Infektion im Regelfall erst nach 12 Wochen sicher diagnostiziert werden („diagnostische Lücke“), da der Organismus im Rahmen der Immunantwort für die Bildung spezifi-

scher Antikörper mehrere Wochen benötigt. Mit Immuntests der 4. Generation kann durch die gleichzeitige Erfassung des HIV-1-p24-Antigens, welches sich schon vor Bildung der Anti-HIV-Antikörper im Blut befindet, die diagnostische Lücke im Regelfall verkürzt werden. Beachtet werden muss jedoch, dass das HIV-1-p24-Antigen nur für ca. 4 Wochen im Körper nachweisbar ist. Dies ist im Normalfall nicht weiter nachteilig, da sich die Nachweisbarkeit des HIV-1-p24-Antigens und der HIV-Antikörper zeitlich überschneiden. In Einzelfällen kann aber bei Infizierten das p24-Antigen bereits wieder unter die Nachweisgrenze zurückgehen, während die HIV-Antikörper noch nicht messbar sind. Es hat sich somit eine „zweite diagnostische Lücke“ aufgetan. Für die Diagnostik von HIV-2-Infektionen ist bei einem Immuntest der 4. Generation statt des p24-Antigens das p26-Antigen zu untersuchen.

Zur Überprüfung einer HIV-Infektion bei Neugeborenen seropositiver Mütter kann ein positiver IgG-Antikörper-Test nicht verwertet werden, da das IgG von der Mutter stammen könnte, das diaplazentar in den Blutkreislauf des Kindes gelangte. Man könnte dann möglicherweise spezifische Antikörper der Klassen IgA und IgM bestimmen, da sie die Plazenta-Schranke nicht passieren können, die gängige Untersuchungsmethode bei Neugeborenen und Säuglingen ist aber der Virusnachweis über die Reverse-Transcriptase-PCR.

Die Spezifität der Reverse-Transcriptase-PCR liegt bei nahezu 100 %, und mit einer unteren Nachweisgrenze von 40 Kopien/ml übertrifft das Verfahren alle anderen HIV-Tests an Sensitivität (95 %). Das Verfahren weist daher die kleinstmögliche diagnostische Lücke auf: Bereits 15 Tage nach einem Risikokontakt kann die Aussage über eine mögliche HIV-Infektion gemacht werden.

#### Literatur

1. Wilks D, Farrington M, Rubenstein D (Hrsg.) (2003) The infectious disease manual. Blackwell, 2. Aufl., 143-147
2. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (Hrsg.) (2006) Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. Elsevier, 4. Aufl., 1567-1570



## Humane Herpes-6-Viren

### Englischer Begriff

Human herpes virus type 6

### Begriff

Das Humane-Herpes-Virus-6 (HHV-6), erstmals 1986 beschrieben, wurde bei dem Versuch entdeckt, das HIV aus den Lymphocyten eines AIDS-Patienten zu isolieren. Daher wurde es zunächst als Humanes B-lymphotropes Virus (HBLV) bezeichnet. Später konnte jedoch gezeigt werden, dass sich das Virus vorwiegend in T-Zellen vermehrt.

### Beschreibung des Erregers

HHV-6 gehört zur Familie *Herpesviridae* (behüllte Viren mit einer doppelsträngigen, linearen DNA als Genom), Unterfamilie  $\beta$ -*Herpesvirinae*, Gattung *Roseolo-Viren*. Die HHV-6-Virionen ( $\varnothing$  200 nm) bestehen aus einem ikosaedrischen Kapsid, das von Tegumentproteinen umkleidet und einer äußeren Virushülle umgeben ist. Reservoir für HHV-6 ist ausschließlich der infizierte Mensch. HHV-6 existiert als Spezies HHV-6A oder HHV-6B, sie sind auf Nukleotidebene zu 90 % homolog, können jedoch nicht miteinander rekombinieren.

Der Übertragungsmodus von HHV-6A ist bisher noch ungeklärt. HHV-6B wird in der Regel als Kontakt- oder Tröpfcheninfektion über den Speichel weitergegeben. Bei Erwachsenen ist die Durchseuchungsrate in der Bevölkerung > 95 %, beide Spezies zusammengenommen.

### Erkrankungen

HHV-6A-Infektionen verlaufen eher asymptomatisch. HHV-6B ist das ätiologische Agens des Exanthema subitum (Roseola infantum oder Dreitagefieber), das zu den klassischen Kinderkrankheiten zählt – betroffen sind fast ausschließlich Kinder unter zwei Jahren. Die Erkrankung ist durch plötzlich hohes Fieber gekennzeichnet, als Komplikation können Krampfanfälle auftreten, zum einen Fieberkrämpfe mit meist guter Prognose, zum anderen Enzephalitis-bedingte Krämpfe auf Grund einer Beteiligung des ZNS. Seltener sind gastrointestinale und respiratorische Symptome, Schwellung der zervikalen Lymphknoten und rote Flecken an Gaumen und Zäpfchen (Nagayama-Flecken). Bei Entfieberung, nach 3-4 Tagen, tritt ein Hautausschlag mit feinen Flecken oder Papeln an Rumpf und Nacken auf.

Behandlung symptomatisch, bei schweren neurologischen Komplikationen Therapie mit Ganciclovir, Foscarnet oder Cidofovir.

### Analytik

Bei Dreitagefieber ist in der Regel keine Labordiagnostik erforderlich.

**Direktnachweis:** Die Virus-Kultur wird nur in Speziallaboren durchgeführt und ist diagnostisch unbedeutend. Bei Verdacht auf Enzephalitis besitzt eine Virus-Subtyp-spezifische PCR von Liquor-Proben die höchste Aussagekraft.

**Serologie:** Antikörperbestimmung durch indirekte Immunfluoreszenz oder Enzymimmuntests. Man kann allerdings noch nicht zwischen HHV-6A und HHV-6B unterscheiden. Zu beachten sind Kreuzreaktivitäten mit HHV-7- und Cytomegalie-Viren.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht wird allenfalls Liquor. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt und innerhalb von 24 Stunden untersucht werden. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Literatur

1. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, Halligan G, Biberfeld P, Wong-Staal F, Kramarsky B, et al. (1986) Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234: 596-601
2. Gärtner BC, Müller-Lantzsch N (2007) Dreitagefieber/Humanes Herpesvirus 6 und 7. In: *Handbuch der Infektionskrankheiten*, Hofmann, VIII-6.10, 18

## Immunblot

### Synonym(e)

Immunoblot, Westernblot

### Englischer Begriff

Immunoblot, Western blot

### Definition

Als „Immunblot“ wird eine Technik bezeichnet, bei der Proteine oder andere Antigene auf Nitrozellulose-, Nylon- oder andere Membranen aufgetragen oder übertragen werden, und Streifen der Membranen dann nacheinander mit Patientenproben, enzymmarkierten Antikörpern und einem präzipitierendem Substrat inkubiert werden. Positive Reaktionen stellen sich auf den Membranstreifen als Farbbanden dar, die visuell oder automatisch mit Scanner- oder Kamerasystemen ausgewertet werden.

Eine Sonderform des Immunblot ist der Westernblot, hier werden die Antigene zunächst elektrophoretisch aufgetrennt, bevor man sie durch einen Elektrotransfer auf die Membran überträgt.

### Physikalisch-chemisches Prinzip

Das Immunoblotting (Variante Westernblot) besteht aus drei Arbeitsschritten. Beim ersten Schritt, der elektrophoretischen Trennung eines Proteingemisches in Einzelproteinfraktionen, werden als Trenntechniken vorwiegend die hochauflösende ein- oder zweidimensionale Flachgel-Elektrophorese oder die isoelektrische Fokussierung eingesetzt. Trägermaterialien sind Polyacrylamid oder Agarose. Der sekundäre Träger immobilisiert die Proteine, so dass keine Diffusion mehr stattfinden kann, er besteht z. B. aus Nitrozellulose oder Nylon. Der Proteintransfer vom primären auf den sekundären Träger erfolgt durch einfache oder unterstützte Diffusion (Vakuum, Überdruck, Unterdruck), oder elektrophoretisch (Elektroblotting). Nach dem Transfer der Proteine werden durch Blockierungssubstanzen unspezifische Bindungsstellen des sekundären Trägers abgesättigt. Der dritte Arbeitsschritt beinhaltet die spezifische Immunreaktion unter Verwendung spezifischer Antikörper, die bei Einsatz eines enzymmarkierten Zweitantikörpers in einer Farbreaktion sichtbar gemacht wird. Beurteilt wird das entstandene Bandenmuster. Alternativ zu Enzymen kommen auch andere Marker ( $\beta$ -Strahler, Lumineszenzmarker) zur Anwendung.

### Einsatzgebiet

Nachweis von Antigenen und Antikörpern

### Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

### Instrumentalisierung

Es gibt Inkubationsautomaten, Scanner, Kamerasysteme und eine entsprechende Software für die automatische Auswertung.

### Sensitivität

Je nach Detektionssystem gelingen mit der Methode sehr empfindliche und spezifische Nachweise.

### Literatur

Peters JH, Baumgarten H (1988) Monoklonale Antikörper – Herstellung und Charakterisierung. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg 2. Auflage:444-450

## Immunfluoreszenz, indirekte

### Synonym(e)

Indirekter Immunfluoreszenztest, IIF, IIFT

### Englischer Begriff

(indirect) immunofluorescence test / assay (IIFA, IFA)

### Definition

Die indirekte Immunfluoreszenz ist ein Nachweisverfahren für Antikörper, das auf einer spezifischen Reaktion der Antikörper mit einem geeigneten Antigen-Substrat und einer darauffolgenden Markierungsreaktion mit einem Fluoreszenzfarbstoff-gekoppelten Zweitantikörper beruht.

### Physikalisch-chemisches Prinzip

Als Substrate für die indirekte Immunfluoreszenz verwendet man Kulturzellen, Gewebeschnitte, Zellausstriche oder mit aufgereinigten, biochemisch charakterisierten Substanzen beschichtete Oberflächen. Die Substrate befinden sich auf Objektträgern und werden mit verdünntem Patientenserum inkubiert. Bei positiven Proben binden sich die nachzuweisenden Autoantikörper spezifisch an das Substrat-Antigen. Bei einem sich anschließenden Waschschrift werden überschüssige, nicht gebundene Antikörper entfernt. Die gebundenen Autoantikörper werden daraufhin mit einem gegen humane Antikörper gerichteten Zweitantikörper markiert, an den ein Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt ist, z. B. das oft verwendete FITC (Fluorescein-Isothiocyanat; FITC-Anti-Human-Immunglobulin). Nach einem weiteren Waschschrift, der überschüssige Zweitantikörper beseitigt, wird das Fluoreszenzmuster des Substrats unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht und dabei auch die Intensität der Reaktion beurteilt.

### Einsatzgebiet

Der IIFT wird insbesondere zur Bestimmung von Autoantikörpern und Antikörpern gegen Infektionserreger eingesetzt.

Zur Quantifizierung der Antikörper bei positiven Reaktionen wird eine Titration der Serumproben vorgenommen, zum Beispiel in Schritten von 1:10 oder 1:3,2 (Quadratwurzel aus 10). Die einzelnen Verdünnungsstufen lassen sich ohne Zahlenakrobatik leicht angeben (1:3,2, 1:10, 1:32, 1:100, 1:320, 1:1.000 usw.). Wer engere Abstände vorzieht, kann mit einem Verdünnungsfaktor von 2,2 arbeiten (dritte Wurzel aus 10; 1:10, 1:22, 1:46, 1:100, 1:220, 1:460, 1:1.000 usw.). Bisher hat man mit quadratischen Verdünnungsstufen die Genauigkeit übertrieben, mit Titrationsschritten um den Faktor 4 dagegen ein zu grobes Raster vorgegeben.

Für jeden Testparameter gibt es eine geeignete Ausgangsverdünnung. Zur Vereinfachung des Testablaufs und der Befundung unterscheidet man zwei Autoantikörper- (AAk-) Kategorien: Antikörper der Gruppe I (meiste organ-spezifische AAK, ANCA, AAK gegen dsDNS) sind bereits bei einem Titer von 1:10 diagnostisch relevant, Antikörper der Gruppe II (ANA, AMA, ASMA, AAK gegen Skelettmuskel) dagegen erst bei 1:100. Dem für jede Probe ermittelten Titer werden die Symbole (+) bis ++++ zugeordnet, wobei der für beide Gruppen unterschiedlichen klinischen Bedeutung der Antikörper-Titer Rechnung getragen wird:

Gruppe I 1: 10 = +, 1: 100 = ++, 1: 1.000 = +++

Gruppe II 1:100 = +, 1:1.000 = ++, 1:10.000 = ++++

### Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

### Spezifität

Unter den vielen Nachweistechiken für Autoantikörper bietet die indirekte Immunfluoreszenz die höchste Spezifität – vorausgesetzt, die Probe wird in einer geeigneten Verdünnung untersucht. Da diese nicht von vornherein bekannt ist, werden Experten für die Bestimmung vieler Autoantikörper zwei unterschiedliche Verdünnungen parallel inkubieren. Mehrere Gesichtspunkte spielen dabei eine Rolle:

**Blockierungs-Effekt:** Bei zwei von 100 hochtitrigen Seren ergibt sich in der üblichen Ausgangsverdünnung ein untypisches Bild. Manche hochpositiven Seren reagieren sogar falsch-negativ, wenn sie nicht ausreichend verdünnt wurden. Die spezifischen Antikörper scheinen sich gegenseitig zu blockieren.

**Überdeckung eines Autoantikörpers:** Bei zu geringer Verdünnung können unspezifische Antikörper oder zusätzlich vorliegende optisch dominierende Autoantikörper einen relevanten Autoantikörper überdecken.

**Unterschiedliches Abklingverhalten bei Titration:** Der Titer eines Autoantikörpers sollte ausreichend zuverlässig bestimmt werden: Je höher der Titer, desto höher ist im allgemeinen seine Krankheits-Spezifität. Autoantikörper verhalten sich aber bei der Titration je nach Avidität sehr unterschiedlich: Manche Proben mit einer schwachen Reaktion in der Ausgangsverdünnung ergeben oft unerwartet hohe Titer, andere Proben mit initial starker Fluoreszenz können niedrige Titer aufweisen. Daher ist es unmöglich, ein positives Ergebnis aus einer einzigen Verdün-

nung zu quantifizieren: Photometrische Systeme sowohl auf enzymimmun-cytochemischer, als auch auf Fluoreszenzbasis, die das zu leisten versprechen, sind nicht akzeptabel. Ein Parallelansatz mit zwei Verdünnungen im Abstand um den Faktor 10 ermöglicht es dagegen ohne weiteres, einen Titer mit ausreichender Genauigkeit in Schritten von Wurzel aus 10 zu schätzen. Der Befund ist sofort fertig, bei realer Titration erst am Folgetag.

#### **Fehlermöglichkeit**

Die Herstellung standardisierter Reagenzien für den IIFT in zertifizierbarer Qualität ist kein leichtes Unterfangen. Darüber hinaus setzen die Durchführung der Inkubation und die Befundung der Fluoreszenzmuster ein hohes Maß an Erfahrung voraus. Sind die entsprechenden Voraussetzungen nicht gegeben, bietet die IIFT ein weites Feld an Störquellen. Man hat sich exakt an die Arbeitsanleitungen zu halten. Qualitätsmängel der verwendeten Diagnostika und gravierende Fehler bei der Analysetechnik werden größtenteils durch mitgeführte positive und negative Kontrollproben aufgedeckt.

#### **Bewertung/Methodenhierarchie (allg.)**

Die indirekte Immunfluoreszenz gilt als Standardtechnik für den Nachweis von Autoantikörpern. Ihre hohe Kompetenz basiert auf folgenden Leistungsmerkmalen:

**Einfachste Präparation der Testsubstrate:** Gefrierschnitte, Kulturzellen und Zellausstriche lassen sich ohne großen technischen Aufwand herstellen. Die Antigene müssen nicht mit komplizierten biochemischen Verfahren extrahiert oder an Oberflächen gekoppelt werden.

**Ein Substrat – Screening 100 verschiedener Autoantikörper:** Mit HEp-2-Zellen oder verschiedenen Gefrierschnitten kann man in einem einzigen Analysenansatz eine Vielzahl von Autoantikörpern gleichzeitig untersuchen. Bei einem negativen Befund wird die Präsenz aller dieser Antikörper ausgeschlossen.

**Eine Methode (eine SOP) – 1000 verschiedene Testparameter:** Die Prozedur der Inkubationen ist bei der Immunfluoreszenz für viele Autoantikörper identisch und lässt sich sehr leicht standardisieren. Die Kombination verschiedener Substrate auf einem Testfeld eignet sich hervorragend zur Diagnostik von Autoantikörper-Profilen.

**Hohe Spezifität durch visuelle Diskriminierung:** Die Antikörper sind morphologisch punktgenau wie das korrespondierende Antigen lokalisiert, für jeden Antikörper ergibt sich ein charakteristisches Fluoreszenzmuster, das oft auch bei unspezifischen Begleitreaktionen identifiziert werden kann. Dagegen können viele Antikörper mit histochemischen Enzymimmunfärbungen nicht differenziert werden, da sich hier das Farbprodukt diffus und ungenau um das Antigen herum verteilt.

**Methode der Wahl, wo definiertes Testantigen nicht verfügbar:** Im Gegensatz zu ELISA oder RIA ist bei der Immunfluoreszenz das gesamte Antigenspektrum der Ausgangssubstrate vorhanden. Daher kann man auch Autoantikörper gegen noch unbekannte Antigene untersuchen oder gegen Antigene, die man bisher nicht isolieren kann. Die meisten der heute bekannten Autoantikörper wurden durch indirekte Immunfluoreszenz entdeckt!

Die indirekte Immunfluoreszenz ist und bleibt eine hochmoderne serologische Technik, auf die ein gewissenhafter Diagnostiker nicht verzichten wird. Sie wird sinnvoll ergänzt durch Methoden wie ELISA, Westernblot oder Linienblot.

## Immunodot

### Synonym(e)

Immudot

### Englischer Begriff

Immunodot, dot-immunobinding test, dot blot

### Definition

Der Immunodot ist ein einfach durchzuführender Test, der zum Nachweis von Antigenen oder Antikörpern verwendet wird. Dabei werden die Antigene oder Antikörper punkt- oder linienförmig auf einer Membran immobilisiert und dort mit dem entsprechenden Bindungspartner des Reagens (dem korrespondierenden Antikörper oder Antigen) zur Reaktion gebracht.

### Physikalisch-chemisches Prinzip

Antigen oder Antikörper einer Probe werden auf eine Nitrozellulose- oder Nylonmembran aufgetragen. Frei gebliebene Bindungsstellen werden mit Fremdproteinen, z. B. Rinderserumalbumin oder Casein, abgesättigt. Die Membran wird dann nacheinander mit folgenden Nachweisreagenzien inkubiert: Spezifischer Antikörper oder spezifisches Antigen, enzymmarkierter Antikörper und Substratlösung (die einen präzipitierenden Farbniederschlag auf der Membran erzeugt). Positive Reaktionen stellen sich als Farbpunkte in einer hellen Umgebung dar.

### Einsatzgebiet

Es lassen sich Antigene und Antikörper nachweisen.

### Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Zellüberstand, Zellhomogenat, Zell-Lysat

### Instrumentalisierung

Es gibt Geräte zur simultanen Testung von 96 Proben im Mikrotiterplatten-Format. Mit geringem apparativem Aufwand sind semiquantitative Aussagen möglich.

### Sensitivität

Je nach Detektionssystem gelingen mit der Methode sehr empfindliche Nachweise.

### Praktikabilität/Automatisierung/Kosten

Der Immunodot-Assay kann automatisiert durchgeführt werden.

### Literatur

Peters JH, Baumgarten H (1998) Monoklonale Antikörper – Herstellung und Charakterisierung. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 2.Auflage:396-403

## Immunstatus

### Englischer Begriff

Immune status, immunity status

### Definition

Der Immunstatus gibt Auskunft über den Zustand des Immunsystems eines Organismus und seine Fähigkeit, eine adäquate Immunantwort aufzubauen und Infektionen mit Krankheitserregern abzuwehren.

### Beschreibung

Indikationen zur Erhebung eines Immunstatus: Verdacht auf Immundefekte, erhöhte Infektanfälligkeit, sich wiederholende Pilz- und andere Infektionen, AIDS-Diagnostik und -Kontrolle, Chemotherapie bei Tumoren, immunsuppressive Therapie bei Autoimmunerkrankungen. Eine Überwachung des Immunstatus gehört auch zur Betreuung organtransplantierte Patienten unter immunsuppressiver Therapie.

Der Immunstatus liefert Erkenntnisse über die Konzentration der verschiedenen Antikörper-Klassen im Blut sowie über Zahl und Verteilung der Immunzellen und kann Hinweise auf Ursachen einer verminderten Infektionsresistenz geben. Ein eingeschränkter Immunstatus liegt physiologisch auch während der Schwangerschaft vor.

Man unterscheidet nach den Komponenten des Immunsystems den zellulären und den Antikörper-vermittelten humoralen Immunstatus.

Zur Bestimmung des zellulären Immunstatus werden Blutbild, Differentialblutbild und durchfluss-zytometrisch die Lymphocyten-Subgruppen untersucht, letztere anhand spezifischer Oberflächenmoleküle: B-Zellen (CD19), T-Zellen (CD3), T4-Zellen (CD4), T8-Zellen (CD8), NK-Zellen (CD56), aktivierte T-Zellen (DR+). Die Ergebnisse werden mit Normwerten verglichen, die in Abhängigkeit vom Lebensalter variieren. Ein normaler Helferzellwert (CD4-positiv) liegt zwischen 500 und 1.200 Zellen pro Mikroliter. Liegt er unter 500 Zellen pro Mikroliter, kann dies ein Zeichen für eine Immunschwäche sein. Neben der absoluten Zahl sind auch der Anteil Helferzellen an den gesamten Lymphocyten (sogenannte relative Helferzellzahl in %) und das Verhältnis von Helferzellen zu zytotoxischen T-Zellen (sogenannte CD4/CD8-Ratio) von Bedeutung.

Die Ergebnisse des zellulären Immunstatus sind Bestandteil der Diagnostik bei Infektionen oder Lymphomen. Die Konzentration der Immunzell-Fractionen allein gibt jedoch keine Auskunft über ihre Funktionsfähigkeit, da auch normale Zellzahlen einen funktionellen Immundefekt nicht ausschließen. Der zelluläre Aktivierungsgrad (Anzahl HLA-DR-positive oder CD25-positive T-Zellen) stellt den einzigen Hinweis auf die Reaktionsfähigkeit der T-Zellen dar. Die T-Zell-Aktivierung wird auch zur Aktivitätsbeurteilung von Sarkoidose, Transplantatreaktionen und einigen malignen Lymphomen herangezogen.

Für den humoralen Immunstatus werden die Immunglobulinklassen IgA, IgD, IgE, IgG und IgM sowie die IgG-Subklassen 1 bis 4 in mg/dl bestimmt. Weitere Parameter können Komponenten des Komplementsystems, C-reaktives Protein, Immunmodulatoren, immunrelevante Vitamine, Mineralstoffe sowie der Zytokin-Status sein.

Ein eingeschränkter Immunstatus kann im Falle einer Infektion die Indikation für eine Immunglobulin-Substitution darstellen, insbesondere bei primären (d. h. angeborenen) Immundefekten. Dazu gehören das Antikörpermangel-syndrom, das schwere kombinierte Immundefekt-Syndrom sowie Zustände mit Funktionsstörungen der Granulozyten. Voraussetzung für eine wirksame Therapie ist die Erkennung der Immundefekte zu einem Zeitpunkt, an dem der Organismus noch nicht durch Infektionen irreversibel geschädigt wurde.

### Literatur

<http://immunologie.charite.de/patientenversorgung/labordiagnostik/>



## **Immuntoleranz**

### **Englischer Begriff**

Immune tolerance

### **Definition**

Das Ausbleiben einer Immunreaktion gegenüber bestimmten Antigenen

### **Volltext**

Zum Schutz vor einer Autoimmunreaktion ist eine Immuntoleranz gegenüber körpereigenen Antigenen äußerst wichtig. Dazu werden autoreaktive T- oder B-Lymphocyten im Laufe ihrer Entwicklung eliminiert. Bei heranreifenden T-Lymphocyten geschieht dies während der Prägungsphase im Thymus, autoreaktive B-Lymphocyten werden vermutlich im Knochenmark ausgesondert.

### **Literatur**

Pugliese A (2004) Central and peripheral autoantigen presentation in immune tolerance. Immunology 111(2):138-46

## Impfantikörper

### Englischer Begriff

Vaccination induced antibodies

### Beschreibung

Impfantikörper werden nach Gabe eines Erreger-spezifischen Tot- oder Lebendimpfstoffs gebildet und dienen dem Schutz vor einer Infektion mit dem Erreger-Wildtyp. Diese Schutzfunktion üben sie aus, indem sie den Erreger nach Bindung neutralisieren, opsonisieren oder das Komplementsystem aktivieren. Die Erreger können viralen oder bakteriellen Ursprungs sein. Im Idealfall bleiben impfinduzierte Antikörper lebenslang im Organismus nachweisbar. Sie entstehen im Rahmen der Reaktion des adaptiven Immunsystems auf die Impfantigene. Nach deren Prozessierung durch Antigen-präsentierende Zellen (dendritische Zellen, Makrophagen, B-Lymphocyten, auch Granulocyten) werden neben den Antigen-spezifischen T-Lymphocyten (zelluläre Immunität) auch Antigen-spezifische B-Lymphocyten aktiviert (humorale Immunität). Diese B-Lymphocyten exprimieren die spezifischen Antikörper an ihrer Oberfläche, aus ihnen formen sich langlebige B-Gedächtniszellen und Plasmazellen, deren wesentliche Funktion die Produktion dieser Antikörper ist.

National und international angewendete Impfstrategien haben zum Ziel, einige Erreger weitestgehend zurückzudrängen oder auszurotten. In Deutschland herrscht keine Impfpflicht. Federführend bei der Ausgabe von Impfempfehlungen und Impfplänen ist die Ständige Impfkommission (STIKO) am Robert-Koch-Institut. Allgemein verbindliche Impfpläne geben die Landesgesundheitsbehörden aus, die sich an die Vorgaben der STIKO halten.

### Beispiele

Die Impfempfehlung für Hepatitis B (Stand: 2009) sieht eine stufenweise Impfung im Alter von 2, 4 und 11 bis 14 Monaten vor. Eine Grundimmunisierung kann auch im höheren Alter erfolgen bzw. vollendet werden (empfohlen: 9 bis 17 Jahre). Ein Impfantikörper-Titer  $>10$  IE/l gilt als schützend. Eine Auffrischungsimpfung wird alle 10 Jahre empfohlen.

Es ist üblich, gegen Masern, Mumps und Röteln (MMR) mittels eines Kombinationsimpfstoffes zu impfen, und zwar sollte man die erste Impfung am besten im Alter von 9 Monaten vornehmen, nicht vorher, damit keine maternalen Antikörper die Impfantigene neutralisieren, und nicht später, wenn bereits ein Kindergarten besucht wird. Mit 15–24 Monaten wird eine zweite Impfung durchgeführt, um ein mögliches Versagen der ersten Impfung (5 %) wettzumachen. Für Röteln wird ein Impfantikörper-Titer von über 1:32 im Hämagglutinations-Hemmtest als schützend angesehen. Eine Röteln-Impfung während der Schwangerschaft ist kontraindiziert.

### Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

### Analytik

Indirekte Immunfluoreszenz, Enzymimmuntest, Neutralisationstest, Komplement-Bindungsreaktion, Hämagglutinationshemmtest, Hämolyse-im-Gel-Test.

### Literatur

1. Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert-Koch-Institut/Stand: Juli 2009
2. Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“)/Stand: August 2009

## Infektion

### Englischer Begriff

Infection

### Definition

„Infektion“ bezeichnet das Eindringen krank machender Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten) in einen Wirtsorganismus, sowie deren Vermehrung.

### Beschreibung

Die dabei auftretenden Symptome, wie Fieber, Durchfall, Exanthem usw. sind Kennzeichen der Infektionskrankheit. Treten keine sicht- oder messbaren Symptome auf, spricht man von einer inapparenten Infektion. Die Infektion löst eine Reaktion des wirtseigenen Immunsystems aus, dabei setzt der Organismus unspezifische Faktoren (Komplement, Phagozyten, Killerzellen), sowie zelluläre (Lymphocyten) und humorale Effektoren (Antikörper) zur Bekämpfung, Zerstörung oder Eindämmung der Erreger ein. Überwundene Infektionen führen häufig zu einer monate- bis jahrzehntelang andauernden Immunität gegen weitere Infektionen mit dem gleichen Erreger. Eine erstmalige Infektion bei einer Schwangeren kann von ihr auf die Leibesfrucht übertragen werden (z. B. Röteln-, Cytomegalie-, Herpes-simplex-Viren oder *Toxoplasma gondii*), was häufig massive Schäden oder den Tod des Fötus zur Folge hat.

Je nach Eintrittsort des Erregers werden enterale, urogenitale, diaplazentare, perkutane oder Inhalations-Infektionen unterschieden. Eine Infektion kann foudroyant, akut, subakut, chronisch, rezidivierend oder latent verlaufen oder persistieren. Der Schweregrad der Erkrankung wird mit den Begriffen latent, subklinisch, klinisch manifest, fulminant, remittierend oder letal beschrieben.

Eine wesentliche Möglichkeit zum Schutz vor Infektionen bieten Schutzimpfungen mit abgetöteten oder geschwächten (attenuierten) Erregern oder Virulenzfaktoren, z. B. Impfungen gegen Masern-, Mumps-, Röteln-, VZ-Virus, *Bordetella pertussis*, Diphtherie, Tetanus, *Haemophilus influenzae*, Hepatitis B-Virus, Humanes Papilloma-Virus, Polio-Virus, Pneumokokken, Meningokokken oder Influenza-Virus.

### Literatur

1. Robert-Koch-Institut Berlin (2009) Epidemiol. Bull., 30, 280
2. Forschungsprogramm Infektion und Immunität, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH, [www.helmholtz-hzi.de](http://www.helmholtz-hzi.de)

## Infektionsstatus

### Englischer Begriff

Infectious state

### Definition

Der Infektionsstatus ist die Beschreibung des aktuellen infektiologischen Gesundheitszustandes einer Person. Er wird durch eine medizinische Visitation der betroffenen Person ermittelt, unter Berücksichtigung anamnestischer Angaben und labordiagnostischer Befunde. Dazu gehören mikrobiologische, molekularbiologische oder serologische Verfahren.

Überprüfungen des Infektionsstatus werden z. B. für arbeitsmedizinische Belange oder im Zusammenhang mit Aus- und Einreisen über Landesgrenzen durchgeführt. Besonders beachtet werden Tuberkulose, Poliomyelitis, infektiöse Hepatitis, Salmonellosen, Paratyphus, Ruhr, Diphtherie, Pertussis und aktuelle Influenza-Erkrankungen.

Entsprechende amtliche Bescheinigungen werden als Gesundheitszeugnisse ausgestellt, die auch Nachweise fachgerecht durchgeführter Schutzimpfungen (Impfstatus) enthalten.

## Influenza-Viren A, B und C

### Englischer Begriff

Influenza viruses A, B, and C

### Beschreibung des Erregers

Influenzaviren gehören zur Familie *Orthomyxoviridae*, die aus den Genera „Influenza-Virus A, B“ (Spezies „Influenza-A-Virus“ und „Influenza-B-Virus“), „Influenza-Virus C“ und „Thogoto-ähnliche Viren“ besteht. Influenza-A-Viren kommen beim Menschen (Serotypen H1N1, H2N2 und H3N2), bei anderen Säugern und in großer Vielfalt bei Vögeln vor. Die Übertragung zwischen verschiedenen Spezies ist möglich und ist bedeutend für das Entstehen neuer Virusvarianten. Influenza-B und -C-Viren treten nur beim Menschen auf.

Influenza-Viren zeichnen sich durch eine große genetische Variabilität aus, die auf einer hohen Mutationsfrequenz und einem leichten Genaustausch beruht. Die daraus hervorgehende Antigenvariabilität ist eine Ursache für die charakteristische Epidemiologie der Influenza.

### Erkrankungen

Influenza-Viren sind die Erreger der Grippe (Influenza). Die Krankheit tritt epidemisch auf, wobei sich die einzelnen Epidemien deutlich in ihrem Schweregrad voneinander unterscheiden. Die Influenza-Viren und die durch sie ausgelösten Erkrankungen sind weltweit verbreitet, allerdings kommen im Gegensatz zu den anderen Virustypen (insbesondere A) die Influenza-C-Viren nur sehr selten als Erreger der Virusgrippe vor, sie rufen eher Bronchopneumonien hervor. Jährlich sind nach Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) 10–20 % der Weltbevölkerung betroffen.

Influenza-Viren dringen über die Schleimhaut der Atemwege, des Munds und der Augen in den Körper ein. Sie erreichen diese Eintrittsstelle durch Tröpfchen-, Kontakt- oder Schmierinfektion, durch Kotpartikel erkrankter Wirte und Vektoren oder durch Viren auf Hautschuppen, Haaren, Gefieder und Staub. Symptome treten nach einer Inkubationszeit von 1-5 Tagen auf, jedoch können die Viren bereits zwei Tage vor dem Auftreten der ersten Symptome auf andere Menschen übertragen werden. Da die Krankheitszeichen – Fieber, Schüttelfrost, Kopf- und Gliederschmerzen, Husten, Übelkeit – relativ unspezifisch sind, kann Influenza mit vielen anderen akuten Atemwegserkrankungen verwechselt werden. Charakteristisch ist allenfalls die schnelle Ausprägung des Vollbilds der Erkrankung. In der Regel dauern die Symptome ein bis zwei Wochen an. Es können aber auch Symptome wie Tracheitis, Bronchitis, Pneumonie und Komplikationen wie Myokarditis, Meningitis, Enzephalitis sowie bakterielle Superinfektionen auftreten. In ihrer schwersten Verlaufsform führt eine Influenza bei Vorerkrankten, Immungeschwächten oder Jugendlichen zu einer primären Lungenentzündung und zum Tod. Die saisonale Influenza gehört zu den Infektionskrankheiten mit der höchsten Sterblichkeit. Im Winter 2002/2003 wurden in Deutschland 5 Millionen Erkrankungen mit 16.000 bis 20.000 Todesfällen registriert. In den meisten Fällen starben diese Menschen aber nicht unmittelbar am Influenza-Virus, sondern an einer bakteriellen Superinfektion. Weltweite Ausbrüche gab es 1889 (Subtyp A/H2N2), 1918 (Spanische Grippe, Subtyp A/H1N1), 1957 (Asiatische Grippe, Subtyp A/H2N2), 1968 (Hongkong-Grippe, Subtyp A/H3N2) und 1977 (Russische Grippe, Subtyp A/H1N1).

Grundsätzlich ist eine Impfung gegen die Influenza beim Menschen möglich, und sie gilt als die wirksamste vorbeugende Maßnahme. Allerdings sind Influenza A-Viren enorm wandlungsfähig, weshalb in der Regel eine jährliche Immunisierung mit einem aktuellen Impfstamm nötig ist. Zur Behandlung einer Infektion mit Influenzaviren stehen spezifische, antivirale Medikamente zur Verfügung. Diese können bei rechtzeitiger Einnahme die Erkrankung abkürzen und lebensgefährliche Komplikationen bei gefährdeten Patientengruppen eindämmen. Virostatika sollten wegen der möglichen Resistenzentwicklung nur in Ausnahmefällen verabreicht werden. Neben der spezifischen Therapie einer Influenza werden die Beschwerden der Patienten meist nur symptomatisch behandelt.

### Analytik

**Kultur:** Influenza-Viren werden in den ersten Tagen nach Krankheitsbeginn aus Nasen-, Rachen- und Bronchialsekret isoliert. Zur Anzucht dienen Hühnereier oder Hundenierenzellen (MDCK-Zellen). Die Identifizierung des Isolates erfolgt mittels Hämadsorptionshemmtest (HADH), direkter Immunfluoreszenz (DIFT) oder ELISA.

**Direktnachweis:** Darstellung der Antigene in infizierten Zellen aus Nasen- und Rachensekret durch direkte Immunfluoreszenz. Der Schnelltest liefert ein Resultat innerhalb von 30 Minuten. Influenzaviren können auch mittels Reverse-Transcriptase-PCR identifiziert werden.

**Serologie:** Serum-Antikörper werden mit ELISA, indirekter Immunfluoreszenz, Komplementbindungsreaktion, Hämagglutinationshemmtest, Neutralisationstest oder Komplementfixierung bestimmt.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Nasenrachen-Absaugsekret, Rachenspülwasser, Rachenabstriche und andere menschliche Proben (PCR). Die Proben sollten gekühlt transportiert und innerhalb von 6 Stunden (PCR) und 24 Stunden (Kultur, direkte Immunfluoreszenz) analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma sind für den Nachweis der Antikörper bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Diagnostische Wertigkeit

Durch die Anzüchtung und Typisierung isolierter Viren lässt sich überprüfen, welche Influenzaviren (Influenza A oder B, Serotypen) zu der Erkrankung geführt haben. Da die meisten Menschen während ihres Lebens mehrmals mit Influenzaviren infiziert werden, ist der Nachweis spezifischer Antikörper kein Beweis für das Vorliegen einer frischen Infektion. Eine retrospektive serologische Diagnose ist durch einen signifikanten (vierfachen) Titeranstieg innerhalb ein bis drei Wochen möglich. Das Haupteinsatzgebiet für Antikörpermessungen sind Impftiter-Kontrollen im Rahmen klinischer Prüfungen.

#### Literatur

1. Murphy BR, Webster RG (1996) Orthomyxoviruses. In: Fields Virology, Lippincott-Raven, 3. Aufl., 1397-1445
2. Wilks D, Farrington M, Rubenstein D (Hrsg.) (2003) The infectious disease manual. Blackwell, 2. Aufl., 344-245



## Japanische-Enzephalitis-Viren

### Englischer Begriff

Japanese encephalitis virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Flaviviridae*, **Gattung:** *Flavivirus*, **Art:** *Japanische-Enzephalitis-Virus* (JEV). Plusstrang-RNA-Genom, behüllt, 50 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Japanische Enzephalitis

**Verbreitung:** Südostasien, China, Japan, Korea, Indischer Subkontinent, Ostsibirien, Australien (Nordosten).

**Vektoren:** Arthropoden: Verschiedene *Culex*-Arten, *Aedes togoi*, *japonicus* und *vexans nipponii*, *Anopheles annularis* und *vagus*.

**Wirte:** Vögel, Nutztiere (v. a. Schwein), Reptilien, Fledermäuse, Mensch.

**Übertragung** auch transplazentar möglich; Infektionen durch Bluttransfusion oder Organtransplantation sind denkbar, wurden bisher aber noch nicht nachgewiesen.

**Klinik:** Plötzlich auftretendes hohes Fieber und Grippe-ähnliche Symptomatik, Meningoenzephalitis; neurologische und psychische Dauerschäden bei 30-50 % der Betroffenen – meist Kleinkindern und alten Menschen; Letalität bei Hirnhautentzündung 10-30 %.

**Therapie und Prophylaxe:** Nur symptomatische Behandlung möglich. Es ist ein inaktivierter Impfstoff verfügbar. Schutz vor Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert ein Laboratorium der Sicherheitsklasse 3.

**Direktnachweis:** Virusnachweis aus dem Blut oder Liquor mittels RT-PCR oder Virusanzucht in Zellkultur.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper (IgG, IgM) in Serum oder Liquor durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Neutralisationstest und Hämagglutinationshemmtest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Blut, Blutbestandteile, Liquor oder Biopsiematerial. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig (Liquor eine Woche), bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

**Direktnachweis:** Während der akuten Krankheitsphase möglich; in der Regel wegen früh auftretender neutralisierender Antikörper nur kurze Virämie (max. 1 Woche), Isolierung schwierig.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Serum-Antikörper (IgG, IgM) bereits kurz nach Beginn der Erkrankung. Innerhalb einer Woche können bei mehr als 65 % der Patienten JEV-IgM-Antikörper festgestellt werden. Auch ein signifikanter Titeranstieg des spezifischen IgG beweist eine akute Infektion. Zu beachten sind Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren (FSME, Dengue-Fieber, West-Nil-Fieber, Gelbfieber etc.). Des Weiteren sind impf-induzierte Antikörper zu bedenken.

**Differentialdiagnosen:** Andere viral oder bakteriell bedingte Meningitiden und Enzephalitiden.

### Literatur

1. Diagona M, Preux PM, Dumas M (2007) Japanese encephalitis revisited. *J Neurol Sci* 262(1-2):165-170
2. Ghosh D, Basu A (2009) Japanese encephalitis-a pathological and clinical perspective. *PLoS Negl Trop Dis* 3(9):e437
3. Schönrich G (2009) Japanisches Enzephalitisvirus. In: Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöller L (Hrsg.), *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen*, Springer-Verlag, 3. Auflage

## Klebsiella pneumoniae

### Englischer Begriff

Klebsiella pneumoniae

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** Enterobacteriaceae, **Gattung:** Klebsiella (K), **Spezies:** K. oxytoca, K. planticola, K. terrigena, K. ornitholytica, K. granulomatis, K. pneumoniae (Subspezies: pneumoniae, ozaenae, rhinoscleromatis).

Klebsiellen sind gramnegative, unbewegliche, kurze, plumpe und sporenlose Stäbchenbakterien. Sie bilden eine charakteristische Polysaccharid-haltige Kapsel und wachsen aerob bzw. fakultativ anaerob.

### Erkrankungen

Klebsiellen sind ubiquitär verbreitete, opportunistische Mikroorganismen. Sie kommen im Nasen-Rachenraum sowie im Darm von Mensch und Tier vor, ohne Symptome hervorzurufen. Bei Menschen mit geschwächter Immunität, etwa bei prädisponierenden Grunderkrankungen, vor allem aber bei hospitalisierten Patienten, kann *K. pneumoniae* schwerwiegende Erkrankungen verursachen, unter anderem Pneumonie („Friedländer-Pneumonie“), Harnwegsinfekte, Gastroenterocolitis, Wundinfektionen und Septikämien. *K. pneumoniae* gehört inzwischen zu den sechs häufigsten Erregern nosokomialer Infektionen auf deutschen Intensiv- und Frühgeborenenstationen. Ihre Übertragung erfolgt hauptsächlich durch Kontakt mit Ausscheidungen (Stuhl, Urin, Wundsekret) hospitalisierter Patienten, überwiegend durch nicht ausreichend desinfizierte Hände des Personals oder kontaminierte Gegenstände.

Zu besonderen therapeutischen und klinikhygienischen Problemen kommt es bei Ausbrüchen mit multiresistenten Stämmen. *K. pneumoniae* ist ein  $\beta$ -Lactamase-Produzent und deshalb resistent gegen viele Breitband-Antibiotika, die strukturell auf einem  $\beta$ -Lactamring basieren (z. B. Penicilline, Cephalosporine). Es gibt aber auch Stämme mit erweitertem Resistenzspektrum (ESBL: Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamasen). Ihr Anteil liegt, einer Studie aus dem Jahr 2001 zufolge, bei 8,2 %. Antibiotika zur Therapie von *Klebsiella*-Infektionen sollten daher immer auf der Grundlage eines Antibiogramms ausgewählt werden.

### Analytik

*Klebsiella pneumoniae* kann mittels PCR oder Kultur direkt im Blut nachgewiesen werden. Sie wachsen gut auf Laktose-haltigen, selektiven und nicht-selektiven Nährmedien (Ausnahme: *K. granulomatis*). Klebsiellen können anhand ihrer Stoffwechsel-Leistungen biochemisch differenziert werden. Die Polysaccharid-haltige Kapsel lässt sich im Tuschepräparat nachweisen und mit der Kapsel-Quellungsreaktion in etwa 77 Kapselantigene differenzieren.

Die zunehmende Ausbreitung multiresistenter ESBL-Stämme erfordert vor allem für klinisch relevante Isolate die Durchführung von Empfindlichkeitsprüfungen. Geeignete Methoden sind der modifizierte Agardiffusionstest, der MHK-Differenztest und der Mikrobouillontest. Der differenzierte Nachweis des ESBL-Typs ist nur mit molekularbiologischen Methoden (PCR) möglich.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Probenmaterial wie Urin, Wundabstrich, Eiter, Atemwegssekret, Punktat, Sputum, Blut, Liquor, Stuhl, Darmbiopsien oder Tupferproben ist in sterilen Röhrchen in einem geeigneten Transportmedium zu lagern und zu verschicken, gegebenenfalls unter Zugabe von etwas steriler Kochsalzlösung zum Schutz vor Austrocknung. Es sollte gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden bearbeitet werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Eine Infektion mit *Klebsiella pneumoniae* ist vor allem von anderen nosokomialen Infektionen abzugrenzen. Die meist typische Kolonie- und Kapselform gibt in extraintestinalen Proben erste Hinweise auf den Erreger. Direkt-nachweise (in Blut oder Liquor) sind vor allem in der Diagnostik einer Sepsis relevant. Die Untersuchung von Darm- und Stuhlproben ist weniger aufschlussreich, da Klebsiellen dort auch ohne Krankheitsrelevanz gefunden werden. Durch serologische und biochemische Differenzierung lässt sich die Diagnose absichern. Neben den etablierten Verfahren zur Resistenzprüfung kommt der Bestimmung von ESBL-Resistenztypen durch PCR immer größere Bedeutung zu. Der serologische Antikörpernachweis spielt in der Klebsiellen-Diagnostik nur eine untergeordnete Rolle (z. B. bei Mucoviscidose-Patienten).

### Literatur

1. Kresken M. et al. (2001) PEG-Resistenzstudie. Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.
2. Burak S. et al. (2006) Nosokomiale Ausbrüche multiresistenter Klebsiella-pneumoniae-Stämme auf Intensivstationen. Chemotherapie Journal, Heft 4 112-118

3. Tschäpe H, Reissbrodt R, Prager R, In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) (2009) Mikrobiologische Diagnostik. Thieme, Stuttgart, New York, 2. Aufl. 441-442
4. Rodloff A In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) (2009) Mikrobiologische Diagnostik. Thieme, Stuttgart, New York, 2. Aufl. 280-286

## Krim-Kongo-Fieber-Viren

### Synonym(e)

Hämorrhagisches-Krim-Kongo-Fieber-Virus

### Englischer Begriff

Crimean Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV)

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Bunyaviridae*, **Gattung:** *Nairovirus*, **Art:** *Hämorrhagisches-Krim-Kongo-Fieber-Virus*. Einzelsträngiges Negativ-RNA-Genom, drei-segmentig, behüllt, 80-120 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Hämorrhagisches Krim-Kongo-Fieber.

**Verbreitung:** Ost- und Südosteuropa, Zentralasien, indischer Subkontinent, Afrika, mittlerer Osten.

**Vektor:** Zecken, vor allem Hyalomma-Arten.

**Ansteckung:** Auch durch Kontakt mit infektiöser Körperflüssigkeit und Gewebe oder durch Bluttransfusion und Organtransplantation möglich.

**Wirte:** Nutz- und Wildtiere (Wiederkäuer, Hasen), Mensch. Risikogruppen: In der Landwirtschaft oder in Schlachthöfen tätige Personen, Camper, medizinisches Personal.

**Klinik:** Plötzlich auftretendes hohes Fieber und Grippe-ähnliche Symptomatik, Bradykardie, Abdominalgie, Petechien, Hämorrhagien, Hepatitis mit Leberversagen, Enzephalitis. Letalität zwischen 2 % und 50 %.

**Therapie und Prophylaxe:** Nur symptomatische Behandlung möglich, in Einzelfällen wirkt Ribavirin. Bisher gibt es keinen Impfstoff. Prävention: Schutz vor Zeckenbiss, Bekämpfung der Vektoren, Vermeidung des Kontaktes mit infizierten Individuen, strikte Isolation der Patienten.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert ein Laboratorium der Sicherheitsklasse 4.

Direktnachweis: Virusnachweis aus dem Blut mittels RT-PCR oder Virus-Anzucht in Zellkultur.

Serologie: Bestimmung spezifischer Antikörper (IgG, IgM) im Serum: Indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Hämagglutinationshemmtest.

In einem neuentwickelten Test (IIFT) werden rekombinante Proteine eingesetzt, die den beiden Antigenen CCHFV-GPC und CCHFV-N der Virusmembran entsprechen.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

Untersucht werden Blut oder Blutbestandteile, Liquor oder Biopsiematerial. Die Proben sollten bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt und transportiert werden. **Direktnachweise** sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, **Kulturen** innerhalb von 6 Stunden anzulegen.

**Serologie:** Serum oder Plasma sind für den Nachweis der Antikörper bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Zur vollständigen Diagnostik gehört der Nachweis sowohl von Virusbestandteilen als auch spezifischer Antikörper – in bestimmten Krankheitsphasen lässt sich nur mit einem der beiden diagnostischen Prinzipien das Vorliegen einer spezifischen Infektion beweisen. Die Vermehrung in der Zellkultur und die sich anschließende positive spezifische Immunreaktion ebenso wie eine reaktive PCR beweisen die Anwesenheit der Viren. Im negativen Fall kann die Infektion aber nicht ausgeschlossen werden, insbesondere da der Organismus bereits innerhalb weniger Tage spezifische Antikörper bildet, die das Virus neutralisieren.

**Direktnachweis:** Während der ersten 5 Krankheitstage möglich. Die Virus-Anzucht benötigt 4-7 Tage, ist wenig sensitiv und nur in Laboratorien der höchsten Sicherheitsstufe erlaubt.

**Serologie:** Spezifische Antikörper erscheinen im Serum ab dem sechsten Krankheitstag. Die Serum-Diagnostik hat auch epidemiologische Bedeutung. Spezifische IgM-Antikörper können vier Monate lang und spezifische IgG-Antikörper noch fünf Jahre nach Infektion nachweisbar sein. Der Einsatz rekombinanter Proteine als Zielantigene steigert die diagnostische Kompetenz für die Erkennung CCHFV-spezifischer Antikörper.

**Differentialdiagnostik:** Andere Virus-bedingte hämorrhagische Fiebererkrankungen (Rift-Valley-, Dengue-, Marburg-, Ebola-, Lassa-Fieber), sonstige Infektionen, die mit Hämorrhagie einhergehen können (Rickettsiosen, Leptospirosen, Läuserückfallfieber, Malaria, Meningokokken-Infektionen)

### Literatur

1. Flick R, Whitehouse CA (2005) Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Curr Mol Med* 5(8):753-760
2. Vorou R, Pierroutsakos IN, Maltezou HC (2007) Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis* 20(5):495-500
3. Mardani M, Keshtkar-Jahromi M (2007) Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Arch Iran Med* 10(2):204-214

## Legionellen

### Englischer Begriff

Legionella

### Klassifikation

**Familie:** Legionellaceae, **Gattung:** Legionella (L.), **Spezies:** *L. micdadei*, *L. pneumophila* (*L. pneumophila pneumophila*, *L. pneumophila fraseri*, *L. pneumophila pascullei*), *L. longbeachae*, *L. jordanis*, *L. gormanii*, *L. dumoffii*, *L. bozemani* u. a.

### Beschreibung des Erregers

Legionellen gehören zur Familie der Legionellaceae mit nur einer Gattung Legionella, welche derzeit 51 Spezies und 73 Serogruppen (SG) umfasst. Potentiell sind alle Legionellen humanpathogen, die Mehrzahl der Erkrankungen geht aber auf *L. pneumophila pneumophila* (90 %) zurück, von der heute 21 SG registriert sind. Unter ihnen wird die SG 1 am häufigsten in Umwelt- und Patientenproben nachgewiesen. Neben *L. pneumophila* gibt es eine Vielzahl weiterer Legionellen-Spezies (*L. non-pneumophila*), von denen *L. micdadei*, *L. longbeachae*, *L. jordanis*, *L. gormanii*, *L. dumoffii* und *L. bozemani* die bekanntesten sind.

Legionellen sind gramnegative (in der Giemsa-Färbung stellen sie sich deutlicher dar), in Süßwasser vorkommende, aerob wachsende, kapnophile Stäbchenbakterien, die weder Kapseln noch Sporen bilden. Die meisten sind durch eine oder mehrere polare oder subpolare Flagellen (temperaturabhängig) beweglich. Typisch für die Gattung Legionella ist ihr Unvermögen, Kohlenhydrate zu verwerten, sie sind Katalase-, einige Oxidase-positiv und benötigen zum Wachstum Cystein. Legionellen werden bereits durch physiologische NaCl-Konzentrationen im Wachstum gehemmt. Wassertemperaturen von 25-45 °C sind Voraussetzung für ihre Vermehrung, die überwiegend intrazellulär in Amöben und anderen phagozytierenden Protozoen bzw. – nach Infektion – vornehmlich in Makrophagen stattfindet. Temperaturen ab 50 °C verzögern ihre Entwicklung, Temperaturen über 60 °C inaktivieren Legionellen, was für Hygienemaßnahmen von Bedeutung ist.

### Erkrankungen

In ihrem natürlichen Habitat stellen Legionellen kaum eine gesundheitliche Bedrohung für den Menschen dar. Erst die Verbreitung technischer Errungenschaften wie Klima- und Warmwasseranlagen, in denen sich die Bakterien gut vermehren können, führten zu ihrer heutigen humanpathogenen Bedeutung. Legionellen werden überwiegend durch Inhalieren von Aerosolen bakterienhaltigen Wassers übertragen (Dusche), eine Infektion durch Aspiration ist ebenfalls möglich. Als Infektionsquellen sind vor allem ältere und weitverzweigte Warm- und Kaltwassersysteme, Kühltürme, Befeuchter von Klimaanlageanlagen, Sprudelbäder sowie Beatmungs- und Inhalationsapparate beschrieben. Bei der Legionellose dominieren zwei Erkrankungsformen: (1) das selbstlimitierende Pontiacfieber, welches einem Influenza-Infekt ähnelt und hauptsächlich durch Fieber, Husten und Muskelschmerzen charakterisiert ist, und (2) die meist schwerer verlaufende Legionärskrankheit, bei der eine multifokale nekrotisierende Pneumonie im Vordergrund steht, mit zusätzlichen Symptomen wie Verwirrtheit, Benommenheit, Durchfall oder Erbrechen. Nach dem Ursprung der Infektion wird zwischen nosokomialen und ambulant erworbenen Legionellosen unterschieden. Sonderformen ambulanter Legionellosen sind Reise-assoziierte Infektionen.

Zu den Personen mit erhöhtem Risiko gehören vor allem ältere Menschen, chronisch Kranke, Menschen mit kardiopulmonalen Grunderkrankungen, Defekten im zellulären Abwehrsystem, Immunsupprimierte nach Transplantation, zytostatischer Behandlung oder Kortikoid-Dauereinnahme. Alkoholmissbrauch und Rauchen gelten ebenfalls als Risikofaktoren. Männer erkranken häufiger als Frauen. Nur etwa 1 % der exponierten Personen erkranken an einer Legionellose. Für die Manifestation der Infektion sind die Infektionsdosis, die Virulenz des Legionellen-Stammes und die Stärke des individuellen Abwehrsystems entscheidend. Im Jahr 2008 wurden in Deutschland 522 Fälle Legionellen-bedingter Pneumonien vom Robert Koch-Institut registriert. Besonders die Verkeimung Warmwasser führender, Aerosol-bildender Systeme stellt ein erhebliches Gesundheitsrisiko dar, das durch gezielte Maßnahmen (Temperaturen >60 °C, Desinfektion, bauliche Sanierung) verringert werden kann. In Einrichtungen wie Krankenhäusern ist die mikrobiologische Überwachung von Wasser- und Klimaanlageanlagen sinnvoll, in besonders sensiblen Bereichen (Intensivstationen) sind Filter einzubauen.

Es gibt keinen Anhalt für ein Trägerstadium, bei dem von inapparent infizierten Personen eine Ansteckung ausgeht, oder generell für eine Übertragung von Mensch zu Mensch. Die klassische Antibiotikatherapie basiert auf der Gabe von Erythromycin, in schweren Fällen kombiniert mit Rifampicin (dieses nicht als Monotherapie). Mittel der Wahl sind Macrolide (z. B. Azithromycin) und Chinolone (z. B. Ciprofloxacin, Moxifloxacin) der neuesten Generation.



## Analytik

Für den direkten Erregernachweis aus respiratorischem Probenmaterial kommen verschiedene Methoden zum Einsatz: Der direkte Immunfluoreszenztest basiert auf monoklonalen Fluoreszenzfarbstoff-markierten Antikörpern. Mit der PCR wird Erreger-DNA in Urin und Serum nachgewiesen. Mit einem ELISA-Antigentest und einem immunchromatografischen Schnelltest wird hauptsächlich *L. pneumophila* der SG 1 im Urin identifiziert.

Für den kulturellen Nachweis (Goldstandard) müssen Legionellen auf Spezialnährböden (BCYE, auch supplementiert, BMPA) angezchtet werden. Die Anzucht gelingt allerdings häufig nicht, und ein positives Ergebnis liegt frühestens nach 3-5 Tagen vor. Spezifische Serum-Antikörper werden durch indirekte Immunfluoreszenz nachgewiesen, ELISA und Mikroagglutination sind weitere Verfahren. In der Regel werden Antikörper gegen *L. pneumophila* der SG 1-14 und weitere 6 *L. non-pneumophila*-Spezies parallel in einem Testansatz untersucht, wobei „Biochip-Mosaiken“ mit je einer Spezies je Baustein sofort ein differenziertes Ergebnis bringen. Ein Immunfluoreszenz-Screening mit Antigen-Gemischen ist wenig sinnvoll, da die Resultate schwer zu bewerten sind und sich im positiven Fall doch noch eine Differenzierung anschließen muss.

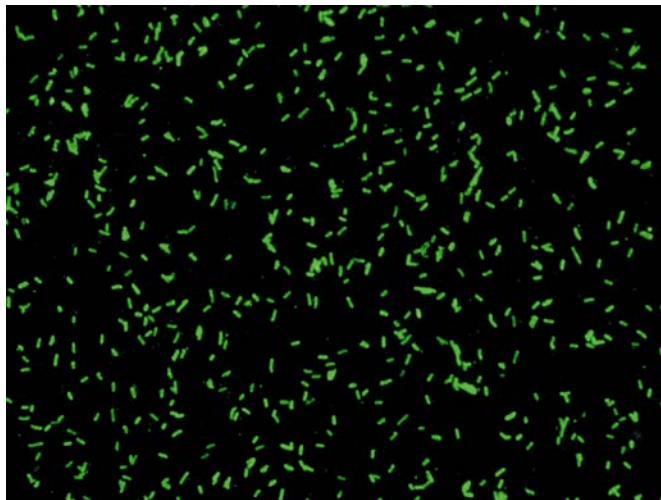


Abb. 6 Antikörper gegen *Legionella pneumophila*.

## Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Bronchiallavage-Flüssigkeit, Lungengewebe, Trachealsekret, Pleuraexsudat, Sputum, Urin (besonders bei Patienten, die nicht ausreichend repräsentatives Sputum produzieren), Serum. Der Aufnahmebuffer darf kein Natriumchlorid enthalten. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

## Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose einer Legionellose (Legionärskrankheit) basiert auf dem klinischen und röntgenologischen Bild einer Pneumonie und dem labor diagnostischen Erregernachweis. Weil Legionellen nicht zur normalen menschlichen Bakterienflora gehören, ist ein positiver Befund beweisend für eine Infektion.

Der direkte Immunfluoreszenztest ist auf Grund unbefriedigender Sensitivität und möglicher Spezifitätsprobleme bei der mikroskopischen Auswertung als alleiniger Test nicht ausreichend. Der Nachweis von Legionellen-DNA mittels PCR ist eine schnelle und sensitive Methode, mit der auch schwierig zu kultivierende Legionellen-Spezies diagnostiziert werden können. Der DNA-Nachweis gelingt auch in Urin und Serum.

Dominierend ist mit einem Anteil von mehr als 60 % der Urin-Antigentest mittels ELISA, der leider nur auf die Serogruppe 1 beschränkt ist. Diagnostischer Goldstandard ist nach wie vor die Legionellen-Kultur. Trotz mangelnder Sensitivität sollte sie zumindest bei Risikopatienten angestrebt werden. PCR und Kultur bilden eine ideale Basis für Stammtypisierungen und epidemiologische Studien.

Standardtest zum Antikörpernachweis ist der IIFT. Titer  $\geq 1:100$  gelten als diagnostisch relevant. Ein Anstieg der Konzentration spezifischer Antikörper um den Faktor 10 nach 2-3 Wochen ist serologisch beweisend für eine Legionellen-Infektion. Da die Antikörperbildung teilweise verzögert abläuft, sollte ggf. nach 6-8 Wochen eine weitere Probe untersucht werden. Ein einmalig gemessener hoher Titer ist kein Beweis für eine Legionellen-Infektion, das



findet man gelegentlich auch in der gesunden Bevölkerung. Kreuzreaktivitäten zwischen den einzelnen Spezies können vorkommen. Ein negativer Antikörpernachweis schließt eine Legionellen-Infektion nicht aus. Die Serologie hat auch epidemiologische Bedeutung. In Deutschland besteht Meldepflicht nach § 7 Abs.1 Nr. 26 Infektionsschutzgesetz.

#### Literatur

1. Fiore AE, Butler JC, Emori TG, Gaynes RP (1999) A survey of methods used to detect nosocomial legionellosis among participants in the National Nosocomial Infection Surveillance System. *Infect Control Epidemiol* 20:412-416
2. Robert-Koch-Institut Berlin (2007) *Epidemiologisches Bulletin* 50:469-475; Falldefinitionen:86-87
3. Robert-Koch-Institut Berlin (2008) *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2007*:120-124
4. Lück C (2009) *Legionella ssp.* In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) *Mikrobiologische Diagnostik*. Thieme, Stuttgart, New York, 2. Aufl.:511-518

## Leishmania donovani

### Englischer Begriff

Leishmania donovani

### Beschreibung des Erregers

**Ordnung:** Kinetoplastida, **Familie:** Trypanosomatidae, **Gattung:** Leishmania (L.), **Arten:** *L. donovani*, *L. infantum*, *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica*, *L. chagasi*, *L. peruviana*, *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. mexicana*, *L. amazonensis* und weitere.

*Leishmania donovani* gehört zur Familie der *Trypanosomatidae*, welche sich in neun Gattungen untergliedert, von denen *Trypanosoma* und *Leishmania* humanpathogen sind. Neben *L. infantum* und *L. chagasi* gehört *L. donovani* zu den Erregern der viszeralen Leishmaniose.

Leishmanien sind parasitäre Protozoen. Während ihres zweiphasigen Lebenszyklus verändern sie ihre Zellmorphologie drastisch: Im Darm des Insektenvektors (Schmetterlingsmücken) liegen sie als Promastigote vor. Nach Übertragung auf den Säugerwirt differenzieren sie sich in den Makrophagen zu Amastigoten. Promastigote besitzen einen spindelförmigen Zellkörper mit einer Länge von 10 bis 20 µm, an dessen vorderem Ende ein bis zu 20 µm langes Flagellum verankert ist. Bei Amastigoten handelt es sich hingegen um kugelförmige Zellen mit einem Durchmesser von nur 2 bis 4 µm und einem stark verkürzten Flagellum, das in der Flagellartasche verborgen bleibt.

### Erkrankungen

Die Leishmaniose manifestiert sich je nach *Leishmania*-Art in drei unterschiedlichen Hauptformen. Die kutane oder Hautleishmaniose (cutaneous leishmaniasis, CL), kommt sowohl in der „alten“ (Afrika, Asien und Europa), als auch in der „neuen“ Welt (Amerika) vor, sie ist mit 75 % die häufigste Krankheitsform. Die Läsionen bleiben auf den Eintrittsort lokalisiert und heilen häufig spontan aus. Die mukokutane oder Schleimhaut-Leishmaniose (mucocutaneous leishmaniasis, MCL) findet sich ausschließlich in der „neuen“ Welt. Über Lymph- und Blutgefäße gelangt der Parasit zu Mund, Nase und Rachen. Durch Zerstörung der Schleimhäute und umgebender Gewebe kommt es zu einer starken Entstellung des Erkrankten. Unbehandelt kann MCL, meist ausgelöst durch Superinfektionen, zum Tod führen. Die schwerste Manifestation stellt die viszerale Leishmaniose (VL) dar, die auch als Kala-Azar oder Dumdum-Fieber bezeichnet wird. Der Parasit befällt das gesamte retikulo-endotheliale System mit Milz, Leber und Knochenmark, und es kommt zu Spleno- und Hepatomegalie, Anämie und Gewichtsverlust – ohne Behandlung sterben die Patienten innerhalb von zwei Jahren. 90 % aller weltweit registrierter VL-Fälle treten in Indien, Nepal, Bangladesch, dem Sudan und Brasilien auf.

Bislang gibt es keine Impfung und keine Chemoprophylaxe gegen Leishmaniose. Zu den Präventionsmaßnahmen zählen das Tragen langer Kleidung sowie die Nutzung von Repellentien und imprägnierten Insektennetzen. Als Medikamente kommen pentavalente Antimonverbindungen, Amphotericin B, Miltefosin und Paromomycin zum Einsatz. Die Therapiemöglichkeiten werden häufig durch starke Nebenwirkungen und Resistenzentwicklungen beschränkt.

Die Leishmaniose ist eine Anthroponose, bei der häufig Hunde und kleine Nagetiere die Reservoirwirte darstellen. Leishmanien kommen hauptsächlich in ländlichen Gegenden tropischer und subtropischer Gebiete der Erde vor. Das Verbreitungsgebiet erstreckt sich auf alle Kontinente mit Ausnahme von Australien. Unter den 88 betroffenen Ländern sind 72 Entwicklungsländer. Aber auch in 16 europäischen Ländern findet man den Parasiten (*L. infantum* und *L. tropica*), darunter in Frankreich, Spanien, Italien und Griechenland. Pro Jahr sind 2 Mio. *Leishmania*-Neuinfektionen zu verzeichnen, 12 Mio. Menschen sind derzeit erkrankt und 350 Mio. Menschen sind ständig dem Risiko einer Infektion ausgesetzt. In Mitteleuropa ist das Infektionsrisiko gering, da Schmetterlingsmücken der Gattung *Phlebotomus*, die von Leishmanien in der „alten“ Welt als Vektor genutzt werden, hier nicht vorkommen. Risikogruppen sind jedoch Reisende, Migranten oder Flüchtlinge aus Endemiegebieten.

### Analytik

**Direkter Antigennachweis** durch Kultur, Mikroskopie und molekularbiologische Methoden (PCR).

**Serologie:** Antikörpernachweis durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA und Immunoblot/Westernblot. Für Felduntersuchungen gibt es unter anderem Schnelltests, die auf Partikelagglutination beruhen.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Knochenmarkpunktat, Biopsiematerial (Lymphknoten, Leber, Milz) und Zitrat- oder EDTA Blut (Buffy-Coat). Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, Liquor eine Woche, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose einer viszeralen Leishmaniose wird vorrangig durch den direkten Erreger- bzw. Antigennachweis gestellt. Der mikroskopische Direktnachweis der meist amastigoten Leishmanien-Formen in Giemsa gefärbten Ausstrich- oder Tupfpräparaten ist schwierig. Eine Differenzierung der Leishmanienarten ist generell morphologisch nicht möglich. Die kulturelle Anzucht der Leishmanien gelingt auf speziellen Nährböden (z. B. NNN-Medium) in der Regel recht gut, kann aber je nach Art, Ausgangsgehalt und Teilungsrate bis zu 3 Wochen dauern.

In der Leishmanien-Diagnostik spielen inzwischen molekularbiologische Nachweismethoden die entscheidende Rolle: Die PCR ist sensitiv, spezifisch und schnell, und sie erlaubt eine Differenzierung der Leishmanien.

Die Bestimmung spezifischer Antikörper im Serum ist eine etablierte Nachweismethode und dient als Screeningtest bei Verdacht auf eine Leishmaniose. Vor allem bei immunkompetenten Patienten findet man nach einer viszeralen Leishmanien-Infektion in der Regel hohe Antikörper-Konzentrationen, deren diagnostischer Vorhersagewert über 90 % liegt. Ein negativer Befund schließt eine Infektion allerdings nicht aus.

Der indirekte Immunfluoreszenztest ist für die Leishmaniose-Serologie besonders sensitiv und spezifisch und eignet sich als Screeningmethode, besonders bei Einsatz amastigoter Leishmanien als Substrat, er erlaubt aber keine serologische Differenzierung der Leishmanien-Arten. Kreuzreaktionen wurden bei Chagas, Schlafkrankheit, Malaria, Lepra und Tuberkulose beschrieben.

### Literatur

1. Reiter-Owona I, Leishmania In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) Mikrobiologische Diagnostik. Thieme, Stuttgart, New York (2009), 2. Aufl.: 1065-1070
2. Darai G, Handermann M, Sonntag H-G (2009) Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen. 3. Aufl. Springer Verlag
3. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG), AWMF-Register-Nr. 042/004, Stand 2010

## Line-Assay

### Synonym(e)

Streifen-Test

### Definition

Der Line-Assay ist ein einfach durchzuführender Test zum Nachweis von Antigenen oder Antikörpern. Die Antigene oder Antikörper werden linienförmig auf einer Membran immobilisiert und dort mit dem entsprechenden Reaktionspartner der Probe zur Reaktion gebracht. Durch eine parallele Anordnung der Linien sind Multiparametertests möglich.

### Physikalisch-chemisches Prinzip

Verschiedene Antigene oder Antikörper werden in Form parallel verlaufender Linien auf eine Nitrozellulose- oder Nylonmembran gedruckt. Jede Linie repräsentiert ein individuelles Antigen oder einen individuellen Antikörper. Da eventuell freie Bindungsstellen im weiteren Verlauf noch andere Proteine, und damit auch unspezifisch die Nachweisreagenzien, binden können, müssen sie mit Fremdproteinen, z. B. Rinderserumalbumin oder Casein, abgesättigt (blockiert) werden. Die Membran wird dann nacheinander mit einer Patientenprobe, mit enzymmarkierten Antikörpern und mit einem chromogenen Substrat inkubiert, das bei positiven Reaktionen einen präzipitierenden Farbstoff bildet. Diese stellen sich als Linien dar.

### Einsatzgebiet

Es lassen sich Antigene und Antikörper mit dem Line-Assay nachweisen. Der Line-Assay eignet sich besonders für Mehrparameterbestimmungen.

### Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

### Instrumentalisierung

Line-Assays können mit Hilfe von Inkubationsautomaten, Scannern, Kamerasystemen und entsprechender Software automatisiert durchgeführt und ausgewertet werden.

### Sensitivität

Je nach Detektionssystem gelingen mit dieser Methode sehr empfindliche Nachweise.

### Praktikabilität/Automatisierung/Kosten

Die automatisierte Durchführung des Line-Assay zur Mehrparameteranalyse macht diesen Test sehr preisgünstig.

## Listeria monocytogenes

### Englischer Begriff

Listeria monocytogenes

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Listeriaceae*, **Gattung:** *Listeria* (L.), **Spezies:** *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. innocua*, *L. murrayi* (*L. grayi*)

Die Gattung *Listeria* umfasst diverse Arten, von denen nur *Listeria monocytogenes* humanpathogene Bedeutung hat, sehr selten *Listeria ivanovii* oder *seeligeri*. *Listeria monocytogenes* lässt sich in 13 Serovare subdifferenzieren. Hauptsächlich die Serovare 1/2a, 1/2b, 4b sind mit Erkrankungen des Menschen assoziiert.

Listerien sind kurze, regelmäßig geformte, teils kokkoide, bewegliche (bis 28 °C), aerobe oder fakultativ anaerobe, grampositive Stäbchenbakterien. Sie sind unbekapselt, bilden keine Sporen und sind in der Lage, sich fakultativ intrazellulär zu vermehren. Ihre Befähigung, auch bei 4 °C zu wachsen, wird zur selektiven Anreicherung ausgenutzt.

### Erkrankungen

Listerien sind anspruchslose Bakterien, die überall in der Umwelt vorkommen. Das Wirtsspektrum ist breit gefächert. *L. monocytogenes* ist ein saprophytärer Keim, er kann aber auch pathogen werden, sowohl für Tiere (Haus- und Wildtiere, Nager, Vögel, Reptilien, Fische, Krustentiere, Arthropoden etc.), als auch für Menschen. Die Übertragung erfolgt in erster Linie über kontaminierte Lebensmittel, wie Kohl, Salat, Produkte aus Rohmilch, Fleisch und Fisch. Obwohl Listerien weit verbreitet sind, kommt es selten zur manifesten Listeriose, die besonders für Schwangere und deren ungeborene Kinder (koninatale Listeriose), Neugeborene, immunsupprimierte und alte Menschen dramatische Folgen haben kann. Beruflich Exponierte wie Metzger oder Tierärzte unterliegen ebenfalls einem erhöhten Infektionsrisiko. Neben uncharakteristischen Allgemeininfektionen, Enteritis und lokalen Wundinfekten kann es zu schweren Verläufen mit Meningitis, Enzephalitis und Sepsis kommen. Infektionen in der Schwangerschaft können zu Fehl-, Früh-, Mangel- und Totgeburten führen. 2008 wurden vom Robert-Koch-Institut 306 Listeriose-Fälle registriert. Darunter waren 26 Schwangerschafts-Listeriosen, bei denen 7 Kinder starben. Von den über 60-Jährigen verstarben 13 % der Erkrankten.

Der Kontakt mit Listerien lässt sich nicht generell vermeiden, sie vermehren sich in Biofilmen auf der Oberfläche diverser Lebensmittel, auch bei Kühlschranktemperatur. Aber das Risiko einer Infektion kann durch Einhaltung hygienischer Standards bei der Lebensmittelherstellung minimiert werden. Für Risikopatienten gilt, vor dem Verzehr rohes Gemüse besonders gründlich zu waschen und auf den Genuss tierischer Rohprodukte wie Rohmilch, Rohmilchkäse, Salami, Mett, Meeresfrüchte zu verzichten.

Listerien sind empfindlich gegen diverse Antibiotika wie Amoxicillin, Aminoglycoside, Erythromycin, Co-Trimoxazol, unwirksam sind Cephalosporine und Fluorchinolone. Aufgrund der unklaren Symptomatik beginnt die Therapie aber oft zu spät. Zudem können sich die Bakterien teilweise dem Angriff der Antibiotika entziehen, indem sie sich im Wirt intrazellulär vermehren. Die Infektabwehr findet vornehmlich T-Zell-vermittelt und durch Makrophagen statt.

### Analytik

Der Direktnachweis von Listerien in Patientenproben durch molekularbiologische Techniken (z. B. PCR) ist noch nicht allgemein etabliert. Im Phasenkontrastmikroskop erkennt man die Listerien an ihrer taumelnden Beweglichkeit. Es können Ausstriche angefertigt und durch Gramfärbung dargestellt werden. Die anspruchslosen Bakterien lassen sich unkompliziert auf Blut- und selektiven Nährböden züchten. Eine Kälteanreicherung bei Proben mit Begleitflora ist sinnvoll. Die isolierten Stämme werden biochemisch charakterisiert und typisiert: *L. monocytogenes* lässt sich von anderen Listerien-Spezies durch das Zuckerverwertungsmuster (Rhamnose +, Xylose -) und den positiven CAMP-Test differenzieren.

Nur *L. monocytogenes* zeigt eine Beta-Hämolyse auf Blutagar und ist positiv im CAMP-Test gegen einen Beta-Hämolysin-produzierenden *Staphylokokkus aureus* (stark) und gegen *Rhodokokkus equi* (schwach). Die  $\beta$ -Hämolyse gilt als wichtiges Pathogenitätsmerkmal, Lysteriolysin als Virulenzfaktor. Eine Einteilung in Serovare wird mit oligoklonalen spezifischen Antikörpern gegen O- und H-Antigene durchgeführt. Die Feintypisierung von Isolaten ist mit molekularbiologischen Verfahren schnell und sicher möglich.

Die Serum-Antikörper können mittels Widal-Reaktion, Komplementbindungsreaktion, indirekter Immunfluoreszenz und anderen Methoden bestimmt werden, was aber diagnostisch wenig hilft.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Ausstrich und Kultur:** Blut, Liquor, Amnionflüssigkeit, Mekonium, Biopsiematerial und Eiter, Vaginalsekret. Stuhlproben sind weniger geeignet, da Listerien auch bei Gesunden (ca. 10 %) vorkommen können. Listerien stellen auf Grund ihrer Umweltstabilität keine besonderen Bedingungen an Probennahme, Transport und Lagerung. Probenmaterial kann bei +4 °C transportiert und bis 24 Stunden gelagert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Der PCR-Direktnachweis hat sich hauptsächlich zur Identifizierung von Listerien in Lebensmitteln und Umweltproben etabliert. Als möglicher Erreger von Meningitis, Enzephalitis, Sepsis oder intrauterinen Infektionen in der Schwangerschaft sollte *Listeria monocytogenes* kulturell identifiziert und ein Antibiogramm für die antibiotische Therapie erstellt werden. Die Serologie spielt für die Diagnose allenfalls eine untergeordnete Rolle. Meldepflichtig nach § 7 IfSG.

### Literatur

Hof, H. *Listeria* spp. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) (2009) Mikrobiologische Diagnostik. Thieme Stuttgart, New York 2. Aufl. 364-368



## Masern-Viren

### Englischer Begriff

Measles virus

### Beschreibung des Erregers

Morbilli-Virus aus der Familie der *Paramyxoviridae*. Die Virus-Partikel sind von pleomorpher Gestalt und haben eine Größe von 110-250 nm. Sie enthalten ein unsegmentiertes, einzelsträngiges RNS-Genom negativer Polarität. Zusammen mit Nukleokapsidprotein, Phosphoprotein und Polymerase bildet die RNS einen helikalen Ribonukleoproteinkomplex, der von einer Lipidhülle umgeben ist. Diese wird an der Innenseite von einem Matrixprotein ausgekleidet, während außen Spikes aus Hämagglutinin und Fusionsprotein erscheinen. Im Gegensatz zu anderen Paramyxo-Viren enthält das Masern-Virus keine Neuraminidase. Es existiert nur ein einziger Serotyp, der eine hohe Antigenstabilität besitzt. Das Virus ist sehr empfindlich gegenüber Hitze, Licht, UV-Strahlung, Detergenzien und Desinfektionsmitteln.

### Erkrankungen

Die Masern sind eine weltweit verbreitete, hochfieberhafte und schwere Infektionskrankheit, die überwiegend im Kindesalter auftritt. Morbidität und Mortalität sind vor allem in Entwicklungsländern sehr hoch. Nach Angaben der WHO starben im Jahr 2008 weltweit 164.000 Personen an Masern. In Europa ist die Zahl der Masernfälle seit Einführung der Schutzimpfung stark zurückgegangen, von 850.000 (1980) auf nur noch 9.000 (2008), davon 10 % gemeldete Fälle in Deutschland. Jedoch treten immer wieder lokale Epidemien auf. Das einzige natürliche Reservoir des Masern-Virus ist der Mensch. Die Übertragung des hochkontagiösen Erregers erfolgt durch Tröpfcheninfektion sowie durch Kontakt mit Nasopharyngealsekret. Akute Masern beginnen nach einer Inkubationszeit von ca. 10 Tagen mit einem katarrhalischen Prodromalstadium (Fieber, Rhinitis, Pharyngitis, Husten, Konjunktivitis). Pathognomonisch sind die Koplik-Flecken der Wangenschleimhaut. Am 14.-15. Inkubationstag tritt unter erneutem Fieberanstieg das charakteristische makulopapulöse Masernexanthem auf. Es erscheint zunächst hinter den Ohren und im Gesicht, breitet sich rasch auf den gesamten Körper aus und klingt nach 5-7 Tagen wieder ab. Häufig liegt eine generalisierte Lymphadenopathie vor. Zudem führen Masern zu einer transienten Schwächung des Immunsystems und damit zu einer Prädisposition für bakterielle Sekundärinfektionen mit Otitis media, Bronchitis, Pneumonie, Myokarditis und Diarrhoe. Nur bei 0,1 % der Erkrankungen kommt es zu einer Meningoenzephalitis, aber diese verläuft in einem Fünftel der Fälle tödlich, bei weiteren 30 % bleiben dauerhafte Schädigungen des Gehirns zurück.

Zu den folgenschwersten Komplikationen zählen die akute postinfektiöse Enzephalitis (Inzidenz: 1:1.000 Masernfälle) und die stets tödlich verlaufende subakute sklerosierende Panenzephalitis (SSPE; Latenz: 7-10 Jahre; Inzidenz: 7-11 pro 100.000 Masernfälle). Eine Maserninfektion während der Schwangerschaft kann zu Abort, Früh- oder Totgeburt führen.

Die Therapie erfolgt symptomatisch. Zur Prävention wird eine aktive Immunisierung mit attenuiertem Lebendimpfstoff empfohlen, in der Regel als Kombinationsimpfung: Masern, Mumps, Röteln und Varizellen (MMRV-Vakzine). Krankheitsverdacht, Erkrankung und Tod an Masern sowie der direkte oder indirekte Nachweis des Erregers sind meldepflichtig.

### Analytik

**Direktnachweis und Kultur:** Direktnachweis des Masern-Virus mittels RT-PCR, direkter Immunfluoreszenz oder Antigen-ELISA. Zur Virus-Anzucht werden Kulturen aus Affennierenzellen eingesetzt, im positiven Fall beobachtet man einen cytopathischen Effekt (mit Syncytienbildung).

**Serologie:** Antikörperbestimmung durch ELISA, indirekte Immunfluoreszenz unter Verwendung Masern-Virus-infizierter Kulturzellen, Hämagglutinationshemmtest, Komplementbindungsreaktion oder Neutralisationstest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Das Virus wird in der Regel nicht direkt nachgewiesen. Zur Differentialdiagnose werden Nasen-, Rachen-, Bronchialsekret und Konjunktivalflüssigkeit untersucht. Bis zur Weiterverarbeitung muss das Material bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose der Masern kann häufig aufgrund der typischen klinischen Symptomatik gestellt werden, manchmal in Verbindung mit der aktuellen epidemischen Situation. Aufgrund der zunehmenden Seltenheit des Krankheitsbildes gewinnt die Labordiagnostik aber an Bedeutung. Mittels RT-PCR kann bereits im frühen Krankheitsstadium (Exanthembeginn) ein schneller Virus-Nachweis erfolgen. Bei positivem RNA-Nachweis lässt sich auch der Geno-

typ des Erregers feststellen, wodurch Infektionsquellen und Transmissionswege erkundet und zwischen Wild- und Impfstämmen differenziert werden kann. Die Virus-Anzucht ist dagegen aufwändig und nicht sehr zuverlässig. Weder beim RNA-Nachweis noch bei der Virus-Isolierung rechtfertigt ein negatives Ergebnis den Ausschluss einer Masern-Erkrankung.

Sicherster Marker akuter Masern sind Virus-spezifische IgM-Antikörper. Sie können bei 50 % der Patienten bereits drei Tage nach Exanthembeginn nachgewiesen werden, bei mehr als 90 % innerhalb von 10 Tagen. Eine Sero-konversion oder ein signifikanter Titeranstieg des spezifischen IgG sind weitere sichere Zeichen einer frischen In-fektion. In Zweifelsfällen untersucht man die Avidität des spezifischen IgG, ist sie hoch, kann man eine akute Ma-tern-Infektion ausschließen. Bei Verdacht auf eine Masern-Enzephalitis werden spezifische IgG-Antikörper im Liquor bestimmt: SSPE-Patienten zeigen extrem hohe IgG-Titer in Serum und Liquor. Die Möglichkeit von Kreuz-reaktionen mit anderen Paramyxo-Viren ist zu berücksichtigen. Als Differentialdiagnosen sind u. a. Scharlach, Röteln, Kawasaki-Syndrom und Arzneimittel-Exantheme auszuschließen.

#### Literatur

1. Köhler W, Eggers HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G (Hrsg.) (2001), Medizinische Mikrobiologie, Urban & Fischer Verlag, 8. Aufl. 641-644
2. Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöller L (Hrsg.) (2009), Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen, Springer-Verlag, 3. Aufl. 512-515

## Mumps-Viren

### Englischer Begriff

Mumps virus

### Beschreibung des Erregers

Das Mumps-Virus gehört zur Familie der *Paramyxoviridae*. Die Virus-Partikel haben eine Größe von 150-200 nm und enthalten ein einzelsträngiges RNS-Genom negativer Polarität, das von einem helikalen Kapsid umschlossen wird. Die Virus-Hülle ist an der Innenseite von einem Matrixprotein ausgekleidet und trägt Spikes aus Hämagglutinin-Neuraminidase-Protein und Fusionsprotein. Auf genomischer Ebene können mehrere Mumps-Stämme differenziert werden, die sich in ihren biologischen Eigenschaften unterscheiden, z. B. hinsichtlich der Neurovirulenz.

### Erkrankungen

Mumps (Parotitis epidemica) ist eine weltweit endemische, hochkontagiöse Infektionskrankheit. Ihre Häufigkeit hat in Deutschland seit Einführung der Schutzimpfung stark abgenommen, so dass Erkrankungswellen nur noch selten vorkommen. Betroffen sind überwiegend Kinder und Jugendliche. Das Mumps-Virus wird ausschließlich von Mensch zu Mensch durch Tröpfcheninfektion oder direkten Kontakt übertragen und primär über die Schleimhaut von Mundhöhle und Nasopharynx aufgenommen. Mehr als ein Drittel aller Mumps-Infektionen verläuft inapparent. Die Krankheit beginnt nach einer Inkubationszeit von 16 bis 18 Tagen mit unspezifischen Prodromi (Fieber, Kopfschmerzen, Übelkeit, Muskelschmerzen, respiratorische Symptome). Hauptsymptom der Erkrankung ist eine schmerzhafte, ein- oder beidseitige entzündliche Schwellung der Ohrspeicheldrüsen, die 3 bis 7 Tage lang andauert. Eine Mitbeteiligung der submandibulären und sublingualen Speicheldrüsen ist möglich. Unabhängig vom Auftreten einer manifesten Parotitis können sich insbesondere bei Erwachsenen Komplikationen ergeben, z. B. seröse Meningitis, Pankreatitis, Orchitis, Oophoritis, Mastitis, seltener Meningoenzephalitis, Innenohrschwerhörigkeit und Taubheit. Erkrankungen in der Schwangerschaft (besonders im 1. Trimester) sind eine mögliche Ursache für Spontanaborte, nicht aber für fetale Missbildungen. Mumpsinfektionen werden ausschließlich symptomatisch therapiert (Analgetika, Antipyretika, Bettruhe). Zur Prävention wird eine aktive Schutzimpfung mit attenuiertem Lebendimpfstoff empfohlen, wobei in der Regel eine kombinierte Immunisierung gegen Masern, Mumps, Röteln und Varizellen (MMRV-Vakzine) erfolgt. Eine Meldepflicht für Mumps ist in Deutschland nur für die neuen Bundesländer und Berlin festgelegt. Bei Mumpserkrankungen in Gemeinschaftseinrichtungen besteht jedoch laut Infektionsschutzgesetz eine allgemeine Meldepflicht.

### Analytik

**Direktnachweis und Kultur:** Für den Direktnachweis des Mumps-Virus können die RT-PCR und der direkte Immunfluoreszenztest eingesetzt werden. Die Virus-Anzucht erfolgt in embryonierten Hühnereiern oder in Kulturen von Affenierenzellen (cytopathischer Effekt mit Syncytienbildung).

**Serologie:** Antikörperbestimmung durch ELISA, indirekte Immunfluoreszenz unter Verwendung Mumps-Virus-infizierter Kulturzellen, Hämagglutinationshemmtest, Komplementbindungsreaktion, Hämolysetest oder Neutralisationstest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Rachenabstrich, Speichel, Blut, Liquor, Urin, Biopsien. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnosestellung erfolgt bei typischer Symptomatik aufgrund des klinischen Bildes (Parotitis) und wird nur bei atypischen Verläufen laboranalytisch abgesichert. Der direkte Erregernachweis und die Virus-Isolierung sind in der akuten Infektionsphase möglich, aber nur in besonderen Fällen (z. B. ZNS-Manifestation) erforderlich.

Virus-spezifische IgM-Antikörper lassen sich in der Regel zeitnah zum Krankheitsbeginn nachweisen. Eine Seroconversion oder ein signifikanter Titeranstieg im IgG bestätigen eine frische Infektion. Bei Verdacht auf eine Beteiligung des ZNS werden die Antikörper parallel in Liquor und Serum bestimmt und der spezifische Liquor-Serum-Quotient errechnet.

Die Kontrolle des Impftiters ist frühestens vier Monate nach einer Mumps-Impfung sinnvoll, da die Vakzin-induzierte humorale Immunität erst dann voll etabliert ist. Hierfür sind Reagenzien einzusetzen, die Antigene sowohl des Wildtyps als auch des Impf-Virus enthalten. Die Möglichkeit von Kreuzreaktivitäten mit anderen Paramyxoviren ist zu beachten. Differentialdiagnostisch sind Parotisschwellungen bei anderen viralen Infektionen (z. B. Influenza A, Parainfluenza, Coxsackie, HIV, EBV), Sekretstau bei Speichelsteinen oder Tumoren der Glandulae parotidae zu berücksichtigen.

## Literatur

Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöller L (Hrsg.) (2009), Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen, Springer-Verlag, 3. Aufl. 551-552

## Mycoplasma hominis

### Englischer Begriff

Mycoplasma hominis

### Beschreibung des Erregers

Mycoplasmen gehören zu den kleinsten selbstreproduzierenden Bakterien. Sie besitzen keine starre Zellwand (Murein-Defizit) und sind daher gegen Zellwand-aktive Antibiotika resistent. Es wurden mehr als zwölf Arten der Gattung *Mycoplasma* beim Menschen gefunden, zu denen auch *M. hominis* gehört.

### Erkrankungen

*M. hominis* wird vermehrt bei Urethritis, Cervicitis und Vaginitis gefunden. Gelegentlich verursacht es milde Bakteriämien (z. B. nach Geburten, gynäkologischen Operationen und Aborten), Wundinfekte, Salpingitis, Amnionitis und Infektionen des Neugeborenen. Die Übertragung erfolgt primär über die Geschlechtsorgane.

### Analytik

**Direktnachweis und Kultur:** Direktnachweis durch Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren (z. B. PCR). Die Erreger lassen sich auf Pferdeserum-haltigen Spezialkulturen innerhalb von vier Tagen unter anaeroben Bedingungen anzüchten, unter CO<sub>2</sub>- und N<sub>2</sub>-haltigen Gasmischungen.

**Serologie:** Nachweis von Antikörpern gegen *M. hominis* durch indirekte Immunfluoreszenz (Substrat: *Mycoplasma*-infizierte Kulturzellen) oder Enzymimmuntests.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Als Untersuchungsmaterial kommen Abstriche oder Sekrete des Urogenitaltraktes in Frage. Man verwendet ein Saccharose-Phosphatpuffer-Transportmedium (SP2-Medium). Es sollte gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden. Ein schneller Transport ist notwendig, da bereits nach 24 Stunden mit einer Abnahme der Keimzahlen um den Faktor 10 zu rechnen ist.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnostik beruht auf dem Nachweis hoher Keimzahlen des Erregers im Urogenitaltrakt. Antikörpertests bei Infektionen durch *M. hominis* haben wegen der weiten Verbreitung des Erregers als Bestandteil der kommensalen Flora eine nur eingeschränkte diagnostische Bedeutung.

### Literatur

1. Waites KB (2008) Ureaplasma Infection. eMedicine: <http://www.emedicine.com/med/topic2340.htm>
2. Mardh PA (2004) Mycoplasma and Ureaplasma. In: Cohen J, Powderly WG (Hrsg.), Infectious Diseases, Mosby, 2. Aufl., 2309-2315

## Mycoplasma pneumoniae

### Englischer Begriff

Mycoplasma pneumoniae

### Beschreibung des Erregers

Mycoplasmen gehören zu den kleinsten selbst-reproduzierenden Bakterien. Sie besitzen keine starre Zellwand (Murein-Defizit) und sind daher gegen Zellwand-aktive Antibiotika resistent. Es wurden mehr als zwölf Arten der Gattung *Mycoplasma* beim Menschen gefunden, zu denen auch *M. pneumoniae* gehört.

### Erkrankungen

*M. pneumoniae* ist eine weltweit verbreitete Spezies und Erreger von 15 % aller ambulant erworbenen akuten Atemwegsinfektionen (Tracheitis, Bronchitis, Primär-atypische Pneumonie). Der Mensch bildet das einzige Reservoir, der Erreger wird aerogen durch Tröpfchen übertragen. Es kann zu epidemischer Ausbreitung kommen. Betroffen sind besonders Kinder und Jugendliche (40 % jünger als 5 Jahre). In Schulen und Militärlagern kann die Prävalenz bis zu 70 % betragen. Ein Teil der Infektionen verläuft inapparent und heilt ohne Antibiotika spontan aus.

*M. pneumoniae* kann „ambulant erworbene Pneumonien“ (Community Acquired Pneumonia, CAP) und ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) verursachen. Der Erreger ist gegenüber Makroliden und Tetrazyklinen empfindlich.

### Analytik

**Direktnachweis und Kultur:** Direktnachweis durch Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren (z. B. PCR). Die Kultur erfordert viel technische Expertise und gelingt, wenn überhaupt, nur auf Spezialmedien, deren entscheidender Bestandteil Pferdeserum als Cholesterinquelle ist. Ein negatives Kulturergebnis hat daher keinen Einfluss auf die Therapie-Entscheidung.

**Serologie:** Nachweis von Antikörpern gegen *M. pneumoniae* durch indirekte Immunfluoreszenz (infizierte Kulturzellen als Substrat) oder Enzymimmuntests.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Nasopharyngealsekret, Sputum oder Bronchiallavage-Flüssigkeit. Das Material sollte gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Da eine Infektion mit *M. pneumoniae* keine typischen Krankheitserscheinungen verursacht, kommt der Labordiagnostik ein besonderer Stellenwert zu. Der Erregernachweis mit RT-PCR gilt als schnell und zuverlässig. Die Erregeranzucht ist schwierig, zeitaufwändig (6-15 Tage) und fehlerbehaftet. Die Prävalenz spezifischer Antikörper korreliert nicht unbedingt mit dem Erregernachweis, dennoch ist die Serologie wichtig für die Therapie-Entscheidung.

### Literatur

1. Jacobs E (1997) Mycoplasma infections of the human respiratory tract. Wien Klin Wochenschr 109/14-15:574-577
2. Waites KB, Balish MF, Atkinson TP (2008) New insights into the pathogenesis and detection of Mycoplasma pneumoniae infections. Future Microbiol. 3(6): 635-648



## Parainfluenza-Viren

### Englischer Begriff

Parainfluenza virus

### Beschreibung des Erregers

Die Parainfluenzaviren gehören zur Familie *Paramyxoviridae* und hier zur Subfamilie *Paramyxovirinae*. Man unterscheidet 4 Serotypen, die in 2 verschiedene Genera fallen. Die menschlichen Parainfluenzaviren 1 und 3 gehören zum Genus *Paramyxovirus*, die Serotypen 2, 4a und 4b zum Genus *Rubulavirus*.

### Erkrankungen

Infektionen mit Parainfluenzaviren treten vor allem im Kleinkindesalter auf. Die Durchseuchungsrate bei Kindern bis 10 Jahren liegt bei 90 %. Die Viren sind weltweit verbreitet, und alle Serotypen, außer Serotyp 4, kommen häufig vor. Die Infektionen treten endemisch und epidemisch auf.

Als natürlicher Wirt ist nur der Mensch bekannt. Die Übertragung erfolgt durch direkten Personenkontakt oder durch Tröpfcheninfektion. Die Inkubationszeit beträgt 2 bis 6 Tage. Die Viren lösen grippeähnliche Symptome (Parainfluenza) aus. Oft ist der tiefere Respirationstrakt betroffen, so dass es zu fieberhafter Laryngotracheobronchitis, Bronchitis, Bronchiolitis oder Bronchopneumonie kommt. Bei schweren Verlaufsformen kann sich im Kindesalter ein Pseudokrupp ausbilden, möglicherweise mit einer allergischen Komponente. Weitere Komplikationen sind Otitis media und bakterielle Superinfektionen mit Pneumokokken, Staphylokokken oder *Haemophilus influenzae*. Bei immunkompromittierten Patienten mit Systemerkrankungen kann eine Parainfluenzainfektion tödlich verlaufen. Normale Erwachsene entwickeln nach Infektion nur einen leichten Katarrh des oberen Respirationstraktes. Bei schweren Verlaufsformen ist eine symptomatische Therapie zur Stützung der Lungen- und Kreislauffunktion indiziert.

### Analytik

**Direktnachweis:** Ein Antigennachweis in infizierten Zellen des Respirationstraktes ist durch direkte Immunfluoreszenz oder ELISA möglich. Parainfluenzaviren können auch mittels PCR (Reverse-Transcriptase-PCR, RT-PCR) nachgewiesen werden.

**Kultur:** Die Virusanzucht erfolgt auf geeigneten Zellkulturen (Affennierenzellen, Verozellen), und die Identifikation durch Prüfung verschiedener Eigenschaften wie Hämadsorption, Hämagglutination, Hämagglutinationshemmung, Hämolyse, direkte Immunfluoreszenz oder ELISA.

**Serologie:** Serumantikörper gegen Parainfluenzaviren werden mit ELISA, indirekter Immunfluoreszenz, Komplementbindungsreaktion, Hämagglutinationshemmtest, Neutralisationstest oder Komplementfixierung untersucht.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Nasenrachen-Absaugsekret, Rachenspülwasser, Rachenabstriche und andere menschliche Proben (PCR). Die Proben sollten gekühlt transportiert und innerhalb von 6 (PCR) und 24 Stunden (Kultur, direkte Immunfluoreszenz) analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma sind für den Nachweis der Antikörper bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Viruskultur und der Antigennachweis sind von primärer Bedeutung, da die serologische Diagnostik wegen der großen Verbreitung der Parainfluenzaviren und aufgrund von Kreuzreaktionen zwischen den unterschiedlichen Paramyxoviren beeinträchtigt ist. Der spezifische IgM-Nachweis gestattet eine frühzeitige Diagnose, und durch einen signifikanten Anstieg des spezifischen IgG um den Faktor 10 innerhalb ein bis drei Wochen ist eine retrospektive serologische Diagnose möglich.

### Literatur

1. Collins P, Chanock RM, McIntosh K (1996) Parainfluenza viruses. In: Fields Virology, Lippincott-Raven, 3. Aufl., 1205-1241
2. Wilks D, Farrington M, Rubenstein D (Hrsg.) (2003) The infectious disease manual. Blackwell, 2. Aufl., 346

## Parvo-Viren

### Englischer Begriff

Parvo virus B19

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Parvoviridae*, **Genus:** *Erythrovirus*

### Erkrankungen

Parvo-Virus-B19-Infektionen (Ringelröteln, Erythema infectiosum, fifth disease) verursachen vor allem im Frühjahr lokale Epidemien und treten bevorzugt in Kindergärten und Schulen auf. Die Viren werden durch Tröpfchen, Hautkontakt, Blut oder Blutprodukte, kontaminierte Gegenstände sowie diaplazentar übertragen. Etwa 30 % der Infektionen im Kindesalter verlaufen symptomfrei, ansonsten kommt es nach einem unspezifischen Prodromalstadium mit Fieber, Kopfschmerzen, Übelkeit und Durchfall zu einem charakteristischen Exanthem („Ringelröteln“). Bei allen Parvo-Virus-B19-Infektionen nehmen die Retikulozyten und die Hämoglobinwerte ab, bedingt durch die Zerstörung von Erythrozyten-Vorläuferzellen. Gelegentlich treten Komplikationen auf, wie schwere Gelenkentzündungen, persistierende Thrombo- und Neutropenien, Enzephalitis, Vaskulitis und Myokarditis. Allgemein ist der Verlauf der Erkrankungen bei Erwachsenen deutlich schwerer als bei Kindern.

Die Seroprävalenz im gebärfähigen Alter liegt bei 60-70 %. Infektionen während der Schwangerschaft können auf den Fötus übertragen werden, was insbesondere in den ersten 20 Wochen der Schwangerschaft schwerwiegende Folgen hat: Das Virus kann sich ab der 10. Woche in den Pronormoblasten der fetalen Leber vermehren und diese zerstören, was zu Anämie und Hydrops fetalis führt. Die Symptome entstehen beim Fetus zeitverzögert, um zwei bis sechs Wochen versetzt, gelegentlich um bis zu 18 Wochen nach der Infektion der Mutter. Schwere Anämien des Fetus (Hb < 8g/dl) können durch Bluttransfusionen behandelt werden.

### Analytik

**Erregernachweis:** Der direkte Virusnachweis mittels PCR ist etwa 2 bis 3 Tage nach Viruskontakt möglich. Neutralisierende Antikörper eliminieren den Erreger, so dass die PCR bei infizierten Kindern in der Regel 3 bis 4 Wochen nach der Infektion negativ wird. Bei Erwachsenen kann die Virämie dagegen über Wochen und Monate persistieren. Gelegentlich ist nach Elimination des Erregers in verschiedenen Geweben virale DNA nachweisbar, was die Abklärung unklarer Krankheitsbilder erschwert.

**Serologie:** Etwa ab dem 10. Tag nach Infektion können spezifische Antikörper der Klasse IgM im Serum nachgewiesen werden, meist einhergehend mit dem Exanthem. Einige Tage später steigen auch die Titer der Klasse IgG gegen die viralen Proteine VP1 und VP2 an, die lebenslang persistieren. Die für die serologischen Methoden eingesetzten Zielantigene basieren fast alle auf rekombinanten viralen Struktur- und Nicht-Struktur-Proteinen, da es schwierig ist, Parvo-Virus B19 effizient in vitro zu kultivieren. Neben Enzymimmuntests werden auch verschiedene Blot-Systeme eingesetzt, die den parallelen Nachweis von Antikörpern gegen verschiedene Virusproteine ermöglichen.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** In der PCR werden Blut, Speichel, Fruchtwasser und Chorionzotten-Biopsien untersucht. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung innerhalb von 24 Stunden bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die klassische kindliche Parvo-Virus-Infektion bedarf in der Regel keiner Diagnostik, da sie symptomlos oder höchstens blande verläuft. Das Exanthem legt die klinische Diagnose nahe, kann aber leicht mit Röteln verwechselt werden. Beim Auftreten von Komplikationen erfolgt die diagnostische Absicherung mittels Serologie und PCR. Eine Untersuchung von Blutkonserven ist sinnvoll, um Transfusions-bedingte Infektionen zu verhindern.

Im Rahmen der Schwangerschaftsdiagnostik ist die Immunitätsbestimmung zu Beginn der Schwangerschaft anzuraten. Seronegative Patientinnen stellen eine Risikogruppe dar. Nach Kontakt zu erkrankten Personen oder bei klinischen Hinweisen auf eine akute Infektion sollte die Diagnostik immer aus einer Kombination von Serologie (IgG und IgM) und PCR bestehen, da IgM-Titer gelegentlich schnell absinken können. Wird in der Schwangerschaft eine akute Infektion diagnostiziert, ist eine engmaschige Überwachung des Fetus mittels Dopplersonographie sinnvoll, um einen Hydrops fetalis rechtzeitig zu erkennen und gegebenenfalls mit intrauterinen Transfusionen zu behandeln.

### Literatur

1. Doerr H W, Gerlich W H (2002) Parvo-Ven. In: Medizinische Virologie, Thieme, 1. Aufl.: 343-351

2. Modrow S, Gärtner B (2006) Parvo-Vus-B19-Infektion in der Schwangerschaft. Deutsches Ärzteblatt: 2869-2876
3. Scholz H; Belohradsky B H, Bialek R, Heininger U, Kreth H W, Roos R (2009) Parvo-Vus-B19-Infektionen. In: DGPI Handbuch, Thieme, 5. Aufl.: 401-403

## Plasmodien

### Englischer Begriff

Plasmodia

### Beschreibung des Erregers

Einzellige Blutparasiten.

**Domäne:** *Eucaryota*, **Abteilung:** *Alveolata*, **Stamm:** *Apicomplexa*, **Klasse:** *Haematozoa*, **Ordnung:** *Haemosporidia*, **Familie:** *Plasmodiidae*, **Gattung:** *Plasmodium*, **Arten:** *Plasmodium falciparum*, *vivax*, *ovale*, *malariae* u.a.

### Erkrankungen

Malaria tropica (*Plasmodium falciparum*), tertiana (*Plasmodium ovale* und *vivax*), quartana (*Plasmodium malariae*).

**Verbreitung:** Vorwiegend in tropischen und subtropischen Regionen.

**Vektoren:** Stechmücken (*Anopheles*-Arten). Übertragung auch transplazentar und durch Bluttransfusion oder Organtransplantation möglich.

**Wirt:** Mensch.

**Klinik:** Fieberanfälle mit Schüttelfrost und Schweißausbrüchen – bei Malaria tropica in kurzen unregelmäßigen Abständen, bei Malaria tertiana und ovale: 48-Stunden-Rhythmus, bei Malaria quartana: 72-Stunden-Rhythmus. Dazu Bewusstseinsstrübung bis zum Koma, Anämie, Splenomegalie, Diarrhoe, Lungenödem, Nierenversagen. Durch Erreger-Persistenz im Blut sind Rückfälle noch mehrere Jahre nach einer Remission möglich. Eine Malaria-Infektion während der Schwangerschaft führt zu Anämie, Frühgeburt oder verminderter Reife des Fötus. Dabei kann es vorkommen, dass die Frau während der Schwangerschaft selbst kaum Symptome verspürt.

**Therapie und Prophylaxe:** Zur Behandlung der Malaria stehen heute zahlreiche Medikamente zur Verfügung. Wegen der sich ständig verändernden Resistenzlage sollte man (in Deutschland) bezüglich Prophylaxe und Therapie den jeweils aktuellen Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit ([www.dtg.org](http://www.dtg.org)) folgen. Bisher hat sich keine Schutzimpfung durchgesetzt. Die Prävention besteht in Vorbeugung von Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren und Chemoprophylaxe. Vor einer Reise in ein Endemie-Gebiet sollte man sich fachkundig beraten lassen.

### Analytik

**Direktnachweis:** Die Parasiten können mikroskopisch direkt im Blut festgestellt werden – im Giemsa-gefärbten „Dicken Tropfen“ (veraltet) oder, viel sensitiver und sicherer, in einem Hämatokritröhrchen, das man nach direkter Acridinfluoreszenzfärbung mit Vollblut befüllt und zentrifugiert. Die fluoreszierenden Parasiten reichern sich an der Grenzschicht zwischen Erythrozyten und Plasma (Buffy Coat) an und können hier leicht identifiziert werden. Daneben ist eine Detektion durch PCR-Methoden möglich und es stehen Malaria-Schnelltests zum immunochromatographischen Nachweis Plasmodien-spezifischer Antigene (histidine-rich protein 2 [HRP-2], Laktatdehydrogenase, Aldolase) zur Verfügung.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper im Serum durch indirekte Immunfluoreszenz mit Plasmodien als Substrat und Enzymimmuntests, für deren immunologisch reaktive Oberfläche die diagnostisch wichtigsten Plasmodium-Antigene HRP-2 und MSP-2 (merozoite surface protein 2) als standardisierte zellfreie rekombinante Proteine zum Einsatz kommen, bei *P. vivax* MSP und CSP (Circum sporozoite protein).

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis:** Vollblut. Die Patientenproben sollten nach der Entnahme bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt und möglichst innerhalb von sechs Stunden dem Labor zugeführt werden.

**Serologie:** Serum. Patientenproben für Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

**Direktnachweis:** Für den Direktnachweis der Erreger sollte das Blut während einer parasitämischen (Fieber-) Phase abgenommen werden.

Der PCR-Nachweis ist für spezielle diagnostische Fragestellungen (forensische Untersuchungen, epidemiologische Studien, genetische Grundlagen von Resistenzen) und bei Infektionen mit geringer Parasitämie sinnvoll. Antigen-Schnelltests sind in der Regel etwas weniger sensitiv, sie erfassen auch nicht alle HRP-2-Varianten.

**Serologie:** Die Bestimmung von Antikörpern gegen Plasmodien ist Bestandteil der serologischen Differentialdiagnostik tropischer Fieberkrankheiten. Viele europäische Blutspende-Organisationen testen ihre Konserven regelmäßig auf Anti-Malaria-Antikörper. Dabei ist die Latenzzeit zwischen Infektionszeitpunkt und Reaktivität im Antikörper-Test einzukalkulieren.

**Differentialdiagnosen:** Bakterielle, virale und andere parasitäre Fieberkrankheiten.

### Literatur

1. Tangpukdee N, Duangdee C, Wilairatana P, Krudsood S (2009) Malaria diagnosis: A brief review. Korean J Parasitol 47(2):93-102
2. World Health Organization (2009) Malaria. Fact sheet N°94

## Respiratory-Syncytial-Viren

### Englischer Begriff

Respiratory syncytial virus

### Beschreibung des Erregers

Das Respiratory-Syncytial-Virus (RSV) ist ein polymorphes RNA-Virus, das zur Familie der *Paramyxoviridae* gehört. Es wurde 1956 von Robert M. Chanock identifiziert und charakterisiert. In der Zellkultur ruft RSV eine charakteristische Synzytien-Bildung mit eosinophilen zytoplasmatischen Einschlüssen hervor.

### Erkrankungen

RSV ist der bedeutendste Erreger rekurrerender Infektionen der Atemwege bei Säuglingen und Kleinkindern, die sich als Krupp, Bronchitis, Bronchiolitis oder interstitielle Pneumonie darstellen. Die Hälfte der Bevölkerung hat die erste RSV-Infektion bereits während des ersten Lebensjahres überstanden; spätestens am dritten Geburtstag war jeder einmal betroffen. In jedem Winter brechen Infektionen mit dem hoch kontagiösen Erreger aus, der durch Tröpfchen auf die Schleimhäute übertragen wird. Der Mensch ist das einzige RSV-Reservoir. Die Immunität hält nur kurz an, daher sind Re-Infektionen die Regel. RSV ist der relevanteste Verursacher nosokomialer Infektionen in der stationären Kinderheilkunde.

Die Therapie verläuft symptomatisch; in schweren Fällen wird Ribavirin als Aerosol eingesetzt. Kinder mit geschwächter Immunität können zur Prophylaxe passiv mit Hyperimmunseren oder monoklonalen Antikörpern immunisiert werden.

### Analytik

Der Virus-Nachweis ist möglich mittels PCR oder Enzym- und Fluoreszenzfärbungen, alternativ oder ergänzend mittels Virus-Kultur.

Für den Nachweis spezifischer Antikörper werden Komplement-Bindungs-Reaktion, ELISA oder indirekte Immunfluoreszenz eingesetzt.

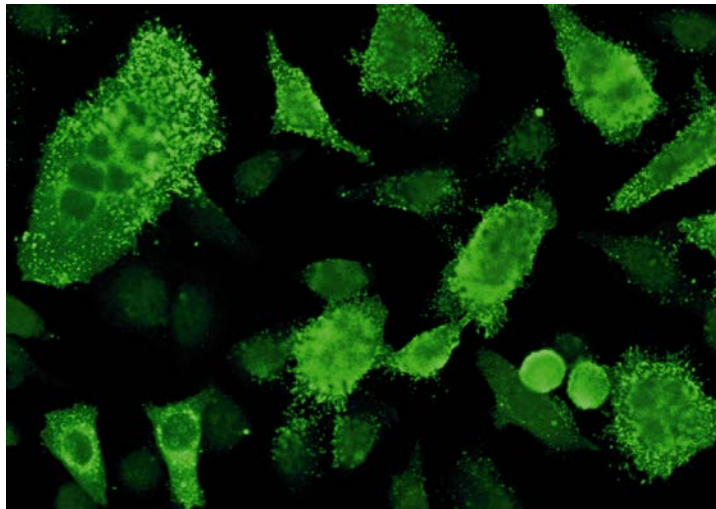


Abb. 7 Antikörper gegen RSV.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Für den Virus-Nachweis kommt als Untersuchungsmaterial Nasopharyngealsekret in Frage. Für die Virus-Kultur eignet sich frisches, nicht mit anderen Erregern (z. B. Pilzen) kontaminiertes Material. Es sollte gekühlt transportiert und innerhalb von vier Stunden analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Da eine Infektion mit RSV keine typischen Krankheitserscheinungen verursacht, kommt der Labordiagnostik ein besonderer Stellenwert zu. Die RT-PCR und auch die anderen Direktnachweise gelten als schnelle und zuverlässige Nachweisverfahren für die klinische Praxis. Die Virus-Kultur erfordert Fachpersonal und ist zeitaufwändig, da die zytopathischen Effekte erst nach mindestens vier Tagen zu erkennen sind.

Der Antikörpernachweis ist eher für epidemiologische Auswertungen als für die Akutdiagnostik geeignet. Die Komplementbindungsreaktion wird kritisiert wegen ihrer Inkompetenz, Antikörperklassen zu differenzieren. Die Ver-

dachts-Diagnose kann durch einen Anstieg der Konzentration des spezifischen IgG um den Faktor 10 innerhalb 2-3 Wochen bewiesen werden.

#### Literatur

1. Robert-Koch-Institut (2004) Erkrankungen durch Respiratory Syncytial Viren (RSV). Epid Bull 3:95-100
2. Allwinn R, Weber B (2006) Das Respiratory Syncytial Virus (RSV): Epidemiologie, Klinik und Labordiagnose. J Lab Med 30:13-17



## Rift-Valley-Fieber-Viren

### Englischer Begriff

Rift valley fever virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Bunyaviridae*, **Gattung:** *Phlebovirus*, **Art:** *Rift-Valley-Fieber-Virus*. Minusstrang-RNA-Genom, behüllt, 80-120 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Rift-Valley-Fieber.

**Verbreitung:** Afrika, Arabische Halbinsel.

**Vektoren:** Stechmücken (*Aedes*- und *Culex*-Arten, Sandfliegen).

**Wirte:** Wiederkäuer (Rinder, Schafe), Nagetiere, Mensch (Risikogruppen: In der Landwirtschaft oder in Schlachthöfen tätige Personen – Gefahr durch Aerosole).

**Übertragung** auch direkt durch Kontakt mit Körperflüssigkeiten oder Gewebe infizierter Tiere möglich.

**Klinik:** Plötzlich auftretendes hohes Fieber und Grippe-ähnliche Symptomatik. In 1 % der Fälle: Hämorrhagien und Hepatitis, selten Meningoenzephalitis, mit jeweils hoher Letalität; als Spätkomplikation Uveo-Retinopathie.

**Therapie und Prophylaxe:** Bisher nur symptomatische Behandlung möglich; es gibt in der Humanmedizin (noch) keine Schutzimpfung. Prävention von Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren, Vermeidung des Kontaktes mit infizierten Tieren. Schutzimpfung der Nutztiere.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert ein Laboratorium der Sicherheitsklasse 3.

**Direktnachweis** des Virus in Blut oder Gewebe mittels RT-PCR oder Virus-Anzucht in Zellkultur.

**Serologie:** Nachweis spezifischer Antikörper (IgG, IgM) durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Hämagglutinationshemmtest, Komplement-Bindungsreaktion (veraltet) und Westernblot.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis:** Untersucht werden Blut und Gewebeprobe. Sie sollten bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von 6 Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Zur vollständigen Diagnostik gehört der Nachweis sowohl von Virusbestandteilen, als auch spezifischer Antikörper – in bestimmten Krankheitsphasen lässt sich nur mit einem der beiden diagnostischen Prinzipien das Vorliegen einer spezifischen Infektion beweisen. Die Vermehrung in Zellkultur und die sich anschließende positive spezifische Immunreaktion ebenso wie eine positive PCR beweisen die Anwesenheit der Viren. Im negativen Fall kann die Infektion aber nicht ausgeschlossen werden, insbesondere da der Organismus bereits innerhalb weniger Tage spezifische Antikörper bildet, die das Virus neutralisieren.

Der Direktnachweis ist während der ersten 2-7 Krankheitstage möglich. Spezifische Antikörper treten am 4. Krankheitstag auf. Spezifisches IgM, welches bereits ab dem 2. bis 4. Tag gebildet wird, lässt sich durch indirekte Immunfluoreszenz zuverlässig nachweisen. Sein Maximum erreicht das IgM etwa 2 Wochen nach Einsetzen der Krankheitssymptome, es bleibt zwei bis sechs Monate lang präsent. Spezifisches IgG erscheint bei Primärinfektion nicht vor dem 9. Krankheitstag. Ein IgG-Nachweis zu Beginn der Erkrankung dient somit als Beweis für eine Re-Infektion. In Zweifelsfällen ist ein zehnfacher Anstieg des spezifischen IgG innerhalb zweier Wochen ein eindeutiges Zeichen einer frischen Infektion.

**Differentialdiagnosen:** Andere Virus-bedingte hämorrhagische Fieber (Hämorrhagisches Krim-Kongo-, Dengue-, Ebola-, Marburg-, Lassa-Fieber), sonstige Infektionen, die mit hämorrhagischen Manifestationen einhergehen können (Rickettsiosen, Leptospirosen, Läuserückfallfieber, Malaria, Meningokokken-Infektionen).

### Literatur

1. Flick R, Bouloy M (2005) Rift Valley fever virus. *Curr Mol Med* 5(8):827-834
2. World Health Organization (2008) Rift Valley fever fact sheet. *Wkly Epidemiol Rec* 83(2):17-22
3. Bird BH, Ksiazek TG, Nichol ST, Maclachlan NJ (2009) Rift Valley fever virus. *J Am Vet Med Assoc* 234(7):883-893

## Röteln-Viren

### Englischer Begriff

Rubella virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Togaviridae*, **Genus:** *Rubivirus*

### Erkrankungen

Röteln werden durch Tröpfchen übertragen. Etwa 50 % der Ansteckungen im Kindesalter verlaufen asymptomatisch. Im Falle einer Erkrankung kommt es zur Schwellung der nuchalen und retroaurikulären Lymphknoten sowie zu dem Röteln-typischen kleinfleckigen bis makulopapulösen Exanthem, das sich, im Gesicht beginnend, über Körper und Extremitäten ausbreitet und nach 1-3 Tagen wieder verschwindet. Mit einer Häufigkeit von 1:6.000 kommt es zu Komplikationen wie Enzephalitis und Arthritis. Röteln während der Schwangerschaft führen je nach Infektionszeitpunkt zu schweren Embryopathien. Bei 90 % der Infektionen in den ersten 12 Schwangerschaftswochen (SSW) kommt es zu Herzmissbildungen, Katarakt, Innenohrschwerhörigkeit und Spontanabort. Bei Infektionen in SSW 11-17 findet man in etwa 20 % der Fälle Einzelmanifestationen. Nach der 20. SSW ist das Risiko einer Embryopathie nur noch gering. Die Seroprävalenz beträgt bei Frauen im gebärfähigen Alter 97 %, die Inzidenz der Röteln-Embryopathie liegt nur noch bei 0,1/100.000.

Präventiv ist eine aktive Immunisierung mit attenuierten Lebendimpfstoffen möglich; sie wird heute in der Regel mit einer simultanen Schutzimpfung gegen Masern, Mumps und Varizellen kombiniert. Die erstmalige Immunisierung erfolgt im Alter von 12-14 Monaten, sie wird nach einem Jahr wiederholt. Auch Knaben sollten gegen Röteln geimpft werden, um die Prävalenz der Röteln einzudämmen.

Bei seronegativen Schwangeren bietet sich als postexpositionelle Prophylaxe bis zu 48 Stunden nach Kontakt mit einem Rötelnpatienten die passive Immunisierung durch Gabe eines spezifischen Hyper-Immunglobulins an.

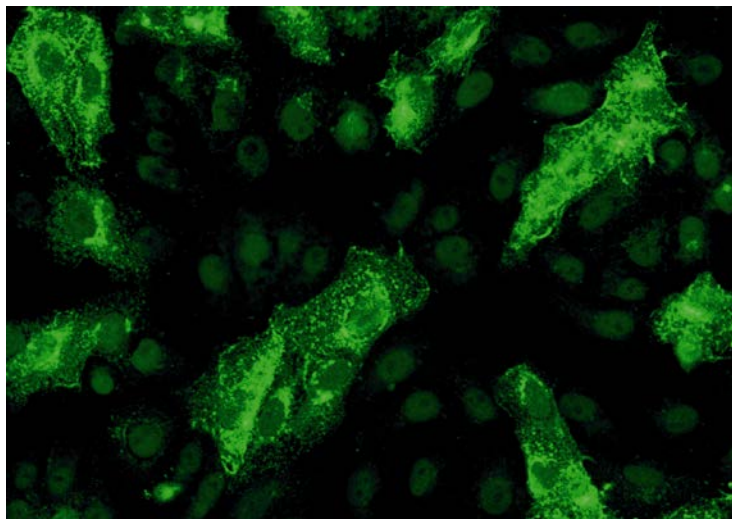
### Analytik

**Erregernachweis:** Anzucht mittels Zellkultur, worauf die Röteln-Antigene immunzytologisch dargestellt werden. Deutlich schneller verfügbar sind Ergebnisse der Real-Time-PCR, die sich heute weitgehend durchgesetzt hat, besonders bei der invasiven Pränataldiagnostik (Ausgangsmaterial: Biopsien oder Fruchtwasser).

**Serodiagnostik:** Bestimmung postnataler Infektionen und Feststellung der Immunitätslage durch Hämagglutinationshemmtest (HAH), Hämolyse-im-Gel-Test (HiG), oder modernere Testsysteme, mit denen die Immunglobulinklassen der Antikörper identifiziert werden können: Indirekte Immunfluoreszenz oder Enzymimmuntests. Prinzip des HAH: Im Serum enthaltene Antikörper gegen Röteln-Hämagglutinin verhindern eine Agglutination von Nachweis-(Hühner-)Erythrozyten bei Zugabe des Antigens. Immunität ist anzunehmen ab einem HAH-Titer von 1:32. Der HiG wird heute nur noch selten verwendet. Hier induzieren die Antikörper eines reaktiven Patientenserums die Komplement-abhängige Lyse Antigen-beschichteter Erythrozyten. Die Ergebnisse des ELISA werden in internationalen Einheiten angegeben, ab 15 IE/ml im IgG ist eine Immunität anzunehmen. Blot-Techniken ermöglichen eine separate Bestimmung von Antikörpern gegen die Röteln-Glykoproteine E1 und E2: Antikörper gegen das E2-Protein werden erst spät im Verlauf einer Erkrankung gebildet, ihre Anwesenheit schließt eine akute Erkrankung aus.

Spezifische Antikörper der Klasse IgM oder niedrig-avide Antikörper der Klasse IgG weisen auf eine akute Infektion hin, ebenso ein Titeranstieg des IgG innerhalb zweier Wochen.

Vor der Bestimmung der spezifischen IgM-Antikörper muss das möglicherweise vorhandene spezifische IgG eliminiert werden, um durch Rheumafaktoren bedingten falsch positiven Reaktionen zu entgehen oder durch konkurrierendes IgG falsch negative IgM-Reaktionen zu vermeiden. Die Abtrennung erfolgt durch Ultrazentrifugation oder durch Absorption mittels eines IgG-präzipitierenden „RF-Absorbens“.



**Abb. 8 Antikörper gegen Röteln-Viren.**

#### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Fruchtwasser, Chorionzotten-Biopsien, Abortmaterial, fetales EDTA-Blut, Liquor, Rachenabstriche, Urin. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose einer akuten Rötelninfektion wird abgesichert durch den Nachweis spezifischer Röteln-Antikörper der Klasse IgM und einen signifikanten Anstieg des IgG innerhalb zweier Wochen. Zusätzliche Bedeutung besitzt die Bestimmung der Avidität des spezifischen IgG. Bei Verdacht auf eine Beteiligung des zentralen Nervensystems werden die spezifischen Antikörper und die Gesamt-Antikörper parallel in Liquor und Serum bestimmt und der spezifische Liquor-Serum-Quotient errechnet. Ein Wert deutlich über 1 spricht für eine intrathekale Antikörper-Synthese.

Indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmuntests erlauben eine Differenzierung der Immunglobulinklassen. Sie sind daher den bisher noch allgemein empfohlenen HAH- und HiG-Tests vorzuziehen.

EBV- und Parvo-Virus-Infektionen können mit einer Röteln-ähnlichen Symptomatik verlaufen. Auch andere virale Exantheme (HHV6, Masern, Parvo-Virus B19), sowie Arzneimittel-Exantheme und sonstige allergische Hauterscheinungen müssen gelegentlich serologisch abgegrenzt werden.

Im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge dient die Analytik der Vorbeugung von Röteln-Embryopathien. Sowohl prä- als auch postnatal erlaubt die Kombination aus PCR und Bestimmung des spezifischen IgM sowie der Avidität des spezifischen IgG eine Bestätigung oder den Ausschluss einer kongenitalen Infektion.

#### Literatur

1. Doerr H W, Gerlich W H (2002) Toga-Viren: Röteln-Virus. In: Medizinische Virologie, Thieme, 1. Aufl.: 243-250
2. Enders G (2005) Mütterliche Infektionen mit dem Risiko der prä- und perinatalen Übertragung – Teil 1. Labormedizinische Aspekte wichtiger Infektionen im Überblick. Gynäkologie und Geburtshilfe: 38-46

## Sandfliegen-Fieber-Viren

### Englischer Begriff

Sandfly fever virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Bunyaviridae*, **Gattung:** *Phlebo-Virus*, **Art:** *Sandfliegen-Fieber-Virus*, wichtige Serotypen: Sicilian (SFSV), Naples (SFNV), Toscana (TOSV), Cyprus (CYPV). Häufig findet man Doppelt- und Dreifach-Infektionen. Minusstrang-RNA-Virus, behüllt, 80-120 nm Durchmesser.

### Erkrankungen

Sandfliegen-Fieber (Pappataci-Fieber).

**Verbreitung:** Mittelmeerraum bis Südchina.

**Vektor:** Stechmücken (Sandfliegen, besser: Sandmücken, vor allem *Phlebotomus papatasi*).

**Wirte:** Nutztiere (vor allem Wiederkäuer), Nagetiere, Fledermäuse, Mensch.

**Klinik:** Die meisten Infektionen verlaufen subklinisch. Die Krankheit beginnt mit plötzlich auftretendem hohem Fieber und Grippe-ähnlicher Symptomatik, bei TOSV meist und bei SFSV häufig zusätzlich aseptische Meningitis oder Meningoenzephalitis mit lymphozytärer Pleozytose und spezifischer intrathekaler Antikörperproduktion, sowie neurologischen Störungen und wochen- bis monatelang persistierender Cephalgie. Selten Hämorrhagie.

**Therapie und Prophylaxe:** Bisher kann nur symptomatisch behandelt werden. Es gibt noch keinen Impfstoff. Prävention: Schutz vor Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert ein Laboratorium der Sicherheitsklasse 3.

**Direktnachweis:** RT-PCR oder Virus-Anzucht in der Zellkultur.

**Serologie:** Bestimmung spezifischer Antikörper (IgG, IgM) durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA oder Neutralisationstest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Blutbestandteile, Liquor oder Biopsiematerial. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, Liquor nur eine Woche, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Vermehrung in Zellkultur und die sich anschließende positive spezifische Immunreaktion ebenso wie eine positive PCR beweisen die Anwesenheit der Viren. Im negativen Fall kann die Infektion aber nicht ausgeschlossen werden, insbesondere da der Organismus bereits innerhalb weniger Tage spezifische Antikörper bildet, die das Virus neutralisieren.

**Serologie:** Spezifische Antikörper (IgG, IgM) treten im Serum ab dem fünften Krankheitstag auf. Das IgM erscheint zuerst und bleibt oft ein Jahr lang feststellbar. Das IgG erreicht seine höchste Konzentration in der Phase der Rekonvaleszenz und persistiert über mehrere Jahre. Ein zehnfacher Anstieg der spezifischen Antikörper innerhalb zweier Wochen ist als eindeutiger Beweis einer Infektion zu werten.

Aufgrund großer genetischer Unterschiede schützt die Immunität gegen einen bestimmten Serotyp nicht vor einer Infektion durch einen anderen. Es ist sinnvoll, für die indirekte Immunfluoreszenz Biochip-Mosaiken mit den verschiedenen Serotypen einzusetzen und durch einen Vergleich der Reaktionsstärken den aktuellen Serotyp zu identifizieren.

**Differentialdiagnosen:** West-Nil-Fieber, Rift-Valley-Fieber, Dengue-Fieber, Influenza.

### Literatur

1. Dionisio D, Esperti F, Vivarelli A, Valassina M (2003) Epidemiological, clinical and laboratory aspects of sandfly fever. *Curr Opin Infect Dis* 16(5):383-388
2. Brett-Major DM, Claborn DM (2009) Sand fly fever: what have we learned in one hundred years? *Mil Med* 174(4):426-431



## SARS-Corona-Viren

### Englischer Begriff

SARS associated coronavirus (SARS-CoV)

### Beschreibung des Erregers

Der Erreger wurde im Jahre 2003 neu identifiziert und gehört zur Familie *Coronaviridae*. Anhand der Gensequenzen wird vermutet, dass ein bekanntes Corona-Virus entweder mutiert ist oder dass eine Virusart, die bisher nur Tiere befallen hat, auf den Menschen „übergesprungen“ ist.

### Erkrankungen

Das Schwere Akute Respiratorische Syndrom (Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS) ist eine durch das SARS-assoziierte Corona-Virus (SARS-CoV) ausgelöste Infektionskrankheit. Die Hauptsymptome der Erkrankung waren Fieber, Pharyngitis, Bronchitis, Atemnot und Pneumonie. Die Letalitätssrate betrug 10 %, bei über 65-jährigen Menschen bis zu 50 %. Die Erregerübertragung erfolgte überwiegend direkt durch Tröpfcheninfektion aus kurzer Distanz oder durch Kontaktinfektion. Auch infizierte Tiere, z. B. Kakerlaken, haben die Krankheit übertragen. Die Inkubationszeit lag bei 2 bis 7 Tagen.

Der einzige größere Ausbruch der Krankheit war die SARS-Pandemie 2002/2003 mit 8.098 Erkrankungen und 744 Todesfällen. Die größte Anzahl an SARS-Fällen wurde in Asien registriert, wo das Virus endemisch ist. Es traten aber auch Fälle in Nordamerika und Europa auf. Ärzte verabreichten damals zunächst als Virostatikum das Nukleosid-Analogon Ribavirin sowie Cortison. Danach erhielten die Betroffenen meist einen Cocktail aus verschiedenen Antibiotika, um die begleitende bakterielle Entzündung der Atemwege zu bekämpfen.

Zur Prävention wurden die Erkrankten und Kontaktpersonen isoliert, für die Öffentlichkeit Massenveranstaltungen abgesagt, Kinos und Theater geschlossen, Besuche in Hospitälern unterbunden und überall konsequent desinfiziert.

### Analytik

**Direktnachweis:** Nachweis der SARS-Corona-Viren durch RT-PCR (Reverse-Transcriptase-PCR).

**Kultur:** Virusisolation und Vermehrung in Zellkultur (z. B. Verozellkultur).

**Serologie:** Darstellung einer Serokonversion durch indirekte Immunfluoreszenz oder ELISA.

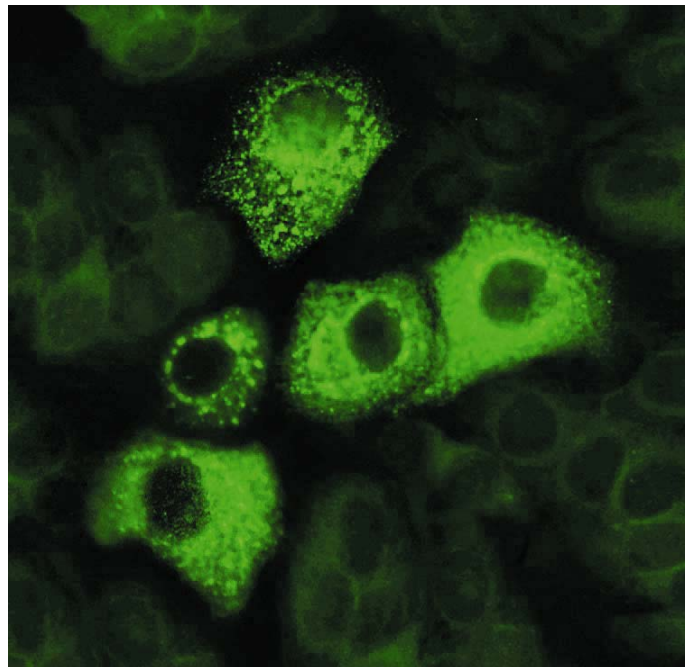


Abb. 9 Antikörper gegen SARS-Corona-Viren.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Nasenrachen-Absaugsekret, Rachenspülwasser, Rachenabstriche und andere menschliche Proben (PCR). Die Proben sollten gekühlt transportiert und innerhalb von 6 (PCR) und 24 Stunden (Kultur, IFT) analysiert werden.

**Serologie:** Serum oder Plasma sind für den Nachweis der Antikörper bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Zur vollständigen Labordiagnostik einer Virusinfektion gehört der Nachweis sowohl von Virusbestandteilen (Direktnachweis), als auch spezifischer Antikörper im Serum. Bei einem großen Teil der SARS-Fälle ließ sich in bestimmten Krankheitsphasen nur mit einem der beiden diagnostischen Prinzipien das Vorliegen einer Infektion beweisen. Die RT-PCR zeigte die Anwesenheit viraler RNA im Blut an, und zwar nahezu vollständig in den ersten Tagen nach Ausbruch der Krankheit, und dann im Allgemeinen bis 40 Tage nach der Infektion. Ein negativer Test schloss SARS aber nicht aus, da bereits wenige Tage nach der Infektion vom Organismus spezifische Antikörper gegen SARS-CoV gebildet wurden, die das Virus neutralisierten. Spezifische Antikörper zeigten sich schon ab dem 3. Tag nach Auftreten der ersten Krankheitszeichen. Ein negativer serologischer Befund 21 Tage nach Auftreten der ersten Krankheitszeichen bedeutete hingegen den Ausschluss einer SARS-Corona-Virus-Infektion.

### Literatur

1. Niedrig M, Sonnenberg K, Yan H, Lehmann C, Pfeiffer T, Stöcker W. (2003) Antibody response in patients infected with the new coronavirus causing severe acute respiratory syndrome (SARS). *J Clin Virol* 27:1-15
2. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, Tong S, Urbani C, Comer JA, Lim W, Rollin PE, Dowell SF, Ling AE, Humphrey CD, Shieh WJ, Guarner J, Paddock CD, Rota P, Fields B, DeRisi J, Yang JY, Cox N, Hughes JM, LeDuc JW, Bellini WJ, Anderson LJ; SARS Working Group (2003) A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 348:1953-1966
3. Berger A, Drosten C, Doerr HW, Stürmer M, Preiser W (2004) Severe acute respiratory syndrome (SARS) – paradigm of an emerging viral infection. *J Clin Virol* 29:13-22



# Tetanus

## Englischer Begriff

Tetanus

## Beschreibung des Erregers

*Clostridium tetani* ist ein weltweit verbreitetes grampositives, obligat anaerobes, bewegliches Stäbchenbakterium aus der Familie der *Bacillaceae*. Es bildet Sporen, die sehr widerstandsfähig gegen Hitze, Austrocknung und Desinfektionsmittel sind. Nach Infektion vermehrt sich *C. tetani* im sauerstoffarmen Wundmilieu sehr schnell und produziert zwei Exotoxine, das hämolytische Tetanolysin und das hochpotente neurotoxische Tetanospasmin (LD<sub>50</sub> 0,0001 µg/kg). Letzteres verhindert die Freisetzung inhibierender Neurotransmitter und blockiert somit die Hemmung spinaler Motoneuronen. Es resultieren Erhöhung des Muskeltonus, Übererregbarkeit der Muskulatur sowie Krämpfe.

## Erkrankungen

Tetanus (Wundstarrkrampf) geht von Wundinfektionen aus. Insbesondere in feuchtwarmen Ländern mit niedrigen Impfraten sowie schlechter medizinischer Versorgung sind Morbidität und Letalität hoch. Weltweit verursacht die Erkrankung über eine Million Todesfälle pro Jahr. In Deutschland treten jährlich 10-15 Fälle auf, überwiegend bei Erwachsenen. Der Erreger (*C. tetani*) kommt ubiquitär im Darm vieler Tiere vor, aber auch in Erdboden und Staub, und gelangt über Wunden jeder Art in die Haut, z. B. über Holzsplitter, Nägel, Dornen oder durch Bissverletzungen, Sekundärinfektion nach Verbrennungen und über den Nabel. Die Inkubationszeit beträgt 3 Tage bis 3 Wochen, in Einzelfällen auch mehrere Monate. Kurze Inkubationszeiten (hohe Toxinmengen) sind typisch für schwere Verläufe und eine hohe Letalität.

Beim generalisierten Tetanus findet man Spasmen der mimischen Gesichtsmuskulatur (Risus sardonicus), der Kiefermuskulatur (Trismus) sowie der Nacken- und Rückenmuskulatur (Opisthotonus). Es treten schmerzhafte tonisch-klonische Krampfanfälle auf, die durch geringfügige Reize ausgelöst und bei vollem Bewusstsein erlebt werden. Die Lähmung des Zwerchfells und der Intercostalmuskulatur kann zum Erstickungstod führen. Ohne Behandlung ist die Letalität sehr hoch, sie kann aber durch adäquate Therapie auf 10-20 % reduziert werden. Die seltenere lokale Form des Tetanus führt nur im Verletzungsbereich zu Muskelstarre, nicht aber zu allgemeinen Krämpfen. Bei Neugeborenen unzureichend immunisierter Mütter führen Nabelinfektionen zu Tetanus neonatorum.

Nach Ausbruch eines Tetanus wird schnellstmöglich Tetanus-Immunglobulin in hoher Dosierung verabreicht, um zirkulierendes Toxin zu neutralisieren. Zusätzlich erfolgen Wundexzision, antibiotische Behandlung und aktive Immunisierung. Häufig ist eine Intensivtherapie (Sedierung, Muskelrelaxation, künstliche Beatmung) erforderlich. Als wichtigste Präventionsmaßnahme gilt die aktive Immunisierung mit Tetanustoxoid. Bei negativem oder unklarem Impfstatus wird nach Verletzungen eine gleichzeitige aktive und passive Immunisierung empfohlen. Es besteht keine Meldepflicht für Tetanus.

## Analytik

*C. tetani* stellt sich mikroskopisch als grampositives, bewegliches Stäbchen mit terminal gelagerten Endosporen (Trommelschlegel) dar. Die Untersuchung mikroskopischer Direktpräparate ist in der Tetanusdiagnostik allerdings nicht zielführend. Der kulturelle Erregernachweis gelingt nur selten und ist für die Diagnostik praktisch ebenfalls ohne Bedeutung. Die Anzucht erfolgt auf supplementierten Nährmedien (Leber-/Thioglykolatbouillon, Blutagar) unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C.

Die Diagnose stützt sich auf den Toxinnachweis mittels eines In-vivo-Neutralisationstests im Tierversuch (Maus). Dazu wird Mäusen Wundmaterial, Patientenserum oder Kulturfiltrat injiziert. Das Toxin führt innerhalb weniger Tage zu typischen Erscheinungen (Starrkrampf der Hinterbeine) und zum Tod der nicht vorbehandelten Maus, während immunisierte Vergleichstiere bei sonst identischer Behandlung keine Symptome zeigen.

In der Serologie werden Antikörper gegen das Tetanus-Toxin mittels ELISA bestimmt, zum Beispiel zur Kontrolle des Impfstatus bei Soldaten.

## Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis, Kultur und Toxinnachweis:** Untersucht werden Wundmaterial und Serum. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose eines Tetanus erfolgt in erster Linie durch das klinische Bild sowie die Verletzungs- und Impfanamnese. Zur Diagnoseabsicherung ist der Toxinnachweis im Tierversuch (noch) die Methode der Wahl. Die quantitative Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen das Tetanus-Toxin mittels ELISA gilt als standardisiertes Testverfahren und dient vorrangig der Kontrolle des Immunstatus. Differentialdiagnostisch sind hyperkalzämische Tetanie, Tollwut, Meningitis, Hirntumoren und Strychninvergiftung zu berücksichtigen.

### Literatur

1. Köhler W, Eggers HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G (Hrsg.) (2001), Medizinische Mikrobiologie, Urban & Fischer Verlag, 8. Aufl.,395-398
2. Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U (Hrsg.) (2005), Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Springer Verlag, 5. Aufl.,339-348

## Toxoplasma gondii

### Englischer Begriff

Toxoplasma gondii

### Beschreibung des Erregers

Protozoon, Klasse Sporozoa, Stamm Apicomplexa.

*Toxoplasma gondii* wurde erstmalig 1908 in Tunesien als Parasit im Gundi entdeckt. Aufgrund der Halbmondform wurde es von den Entdeckern Nicolle und Manceaux als *Toxoplasma* bezeichnet (griechisch Toxon: Bogen).

### Erkrankungen

*T. gondii* kommt weltweit vor und infiziert zahlreiche Haus- und Wildtiere. Der Parasit vermehrt sich dort vegetativ und bildet Zysten. Nur in Feliden, z. B. Hauskatzen, findet zusätzlich ein generativer Zyklus im Darm statt, der zur Ausscheidung von Oozysten mit dem Kot führen kann.

Menschen können sich durch orale Aufnahme von Oozysten oder durch den Genuss zystenhaltigen, unzureichend erhitzten Fleisches infizieren. Laborinfektionen beim Umgang mit infektiösem Material sind möglich, theoretisch auch eine Übertragung durch Bluttransfusion zum Zeitpunkt der Parasitämie.

Postnatale Infektionen immunologisch gesunder Personen verlaufen nur in 10 % der Fälle symptomatisch. Am häufigsten sind lokale Lymphadenopathien. Bei immunsupprimierten Patienten können durch Dissemination des Erregers einzelne oder mehrere Organe schwer geschädigt werden, im Falle einer latenten Toxoplasma-Infektion müssen sie gegebenenfalls lebenslang Antibiotika erhalten, um einer Reaktivierung vorzubeugen.

Bei Erstinfektion in der Schwangerschaft kann eine diaplazentare Übertragung auf den Fetus stattfinden, bei Reaktivierung einer latenten Infektion dagegen nur selten.

Die Übertragungswahrscheinlichkeit hängt vom Zeitpunkt der Erstinfektion ab: Im ersten Trimester liegt sie bei 15 %, im zweiten bei 30 %, im dritten Trimester bei 60 %. Infektionen im ersten Trimester führen zu stärkeren Schädigungen als spätere. Die manifeste konnatale Toxoplasmose präsentiert sich mit geringem Geburtsgewicht, Hepatomegalie, Trinkschwäche, zerebralen Anfällen, Entwicklungsretardierung oder Schielen. In etwa 5 % der Fälle zeigt sich die klassische Trias Hydrozephalus, zerebrale Kalzifikation und Retinochorioiditis. Die Retinochorioiditis kann sich ohne antibiotische Therapie im Laufe der Zeit fortsetzen, mit Visusverschlechterung bis hin zum Erblinden. In günstigeren Fällen erscheinen die infizierten Neugeborenen erst einmal unauffällig, aber nach einem zeitlichen Intervall von mehreren Jahren können noch Symptome auftreten.

### Analytik

**Erregernachweis:** Befallene Lymphknoten werden histologisch untersucht. Die Erreger können heute in Kultur angezüchtet werden, aber es kommt weitgehend die PCR-Technik zum Einsatz, besonders bei Verdacht auf eine Infektion in der Schwangerschaft. Die Sensitivität beträgt bis zu 65 %.

**Serologie:** Im Sabin-Feldmann-Test wird die neutralisierende Eigenschaft des Serums gegenüber kultivierten Toxoplasmen untersucht. Der Immuno-Sorbent-Agglutinations-Assay (ISAGA) erfasst sehr sensitiv und spezifisch Antikörper der Klasse IgM: Mittels  $\mu$ -capture-Technik wird bei diesem Verfahren das IgM isoliert, welches dann im positiven Fall die intakten Toxoplasmen agglutiniert. Beide Techniken erfordern den Umgang mit Toxoplasma-Kulturen. Größere Verbreitung finden heute verschiedene Enzymimmuntechniken, mit denen Antikörper der Klassen IgA, IgG oder IgM gegen Toxoplasmen getrennt untersucht werden können. Zusätzlich kann man niedrig-avides spezifisches IgG bestimmen, um frische Infektionen zu identifizieren.

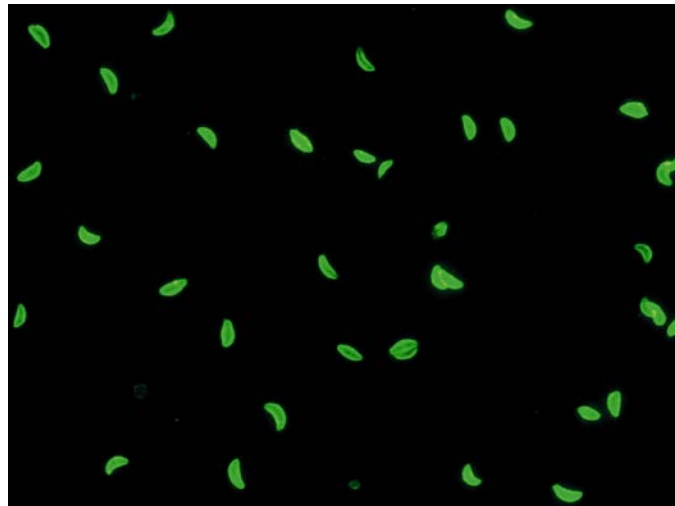


Abb. 10 Antikörper gegen *Toxoplasma gondii*.

#### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Fruchtwasser, Biopsien von Chorionzotten, Hirngewebe oder Herzmuskel, EDTA-Blut, bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit, Augenkammerwasser, Liquor cerebrospinalis. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Diagnostische Wertigkeit

Bei den wenigen symptomatischen *Toxoplasma*-Infektionen Erwachsener mit voller Immunkompetenz dient die Diagnose in erster Linie zur Abgrenzung gegenüber anderen Infektionen. Bei Reaktivierungen, wie sie bei immunsupprimierten Patienten auftreten können, stehen mit Pyrimethamin in Kombination mit Sulfonamiden wirksame Medikamente zur Verfügung, die nach entsprechender Diagnosestellung verabreicht werden können. Bis zur 16. SSW kommt lediglich Spiramycin (umstritten) infrage. Die Wirkung erstreckt sich lediglich auf vegetative Formen, nicht auf Zysten.

Durch die Antikörper-Bestimmung in der frühen Schwangerschaft oder bereits vor Beginn kann man die seronegativen Frauen identifizieren und gegebenenfalls eine Serokonversion sofort erkennen. Die rechtzeitige Diagnose einer Neuinfektion während der Schwangerschaft kann das Schicksal des Kindes maßgeblich bestimmen, da es möglich ist, noch während der Schwangerschaft wirksame Antibiotika zu verabreichen. Seronegative Schwangere werden zur Expositionsprophylaxe angehalten.

#### Literatur

1. Gross U, Roos T, Friese K (2001) Toxoplasmose in der Schwangerschaft. Deutsches Ärzteblatt: 3293-3300
2. Liesenfeld O, Janitschke K (2004) Toxoplasma. In Hahn H., Falke D., Kaufmann, SHE, Ullmann U. Medizinische Mikrobiologie, Springer-Verlag 5. Aufl.: 750-753
3. Enders G (2006) Mütterliche Infektionen mit dem Risiko der kongenitalen Übertragung. Labormedizinische Aspekte bei Cytomegalie und Toxoplasmose. Gynäkologie und Geburtshilfe: 24-28
4. Scholz H, Belohradsky BH, Bialek R, Heining U, Kreth HW, Roos R (2009) Toxoplasmose. In: DGPI Handbuch, Thieme-Verlag, 5. Aufl.: 514-520

## Treponema pallidum

### Englischer Begriff

Treponema pallidum

### Definition

Der Name Treponema (gr. für „gedrehter Faden“) beschreibt die charakteristische Beweglichkeit des dünnen Schraubenbakteriums, das auf Grund der geringen Färbbarkeit von seinen Entdeckern Schaudinn und Hoffmann (1905) mit dem Attribut „pallidum“ (lat. pallidum = blass) versehen wurde.

### Beschreibung des Erregers

Zum Genus *Treponema* gehören gramnegative, spiralig gewundene Bakterien (6-14 Windungen) aus der Familie der *Spirochaetaceae*. Endoflagellen ermöglichen die besondere Motilität (Rotation um die Längsachse) der Spirochäten.

### Erkrankungen

Als gesichert humanpathogen gelten: *T. pallidum subspec. pallidum* (Syphilis) sowie die Erreger der nichtvenereischen Treponematosen: *T. pallidum subspec. endemicum* (endemische Syphilis, Bejel), *T. pallidum subspec. pertenue* (Frambösie) und *T. carateum* (Pinta).

Die Syphilis bzw. Lues (lat. für Seuche) ist eine weltweit verbreitete Allgemein-Infektion und wird überwiegend durch sexuellen Kontakt übertragen. Es folgen Inkubation, Primäraffekt, Generalisation und Organmanifestation. Der Kliniker unterteilt die Erkrankung in unterschiedliche Stadien. Den Frühstadien primäre Syphilis (Lues I) und sekundäre Syphilis (Lues II) kann eine längere, bis zu mehreren Jahren schlummernde latente Syphilis (Lues latens) folgen. Die unbehandelte Infektion geht in die Spätstadien tertiäre Syphilis (Lues III) und Neurosyphilis (quartäres Stadium, Lues IV) über. Eine diaplazentare Übertragung der Erreger in der Schwangerschaft führt zur Lues connata mit der Unterteilung in die Phasen präcox (Neugeborene und Säuglinge) und tarda (Kinder über 3 Jahre).

Therapeutikum der Wahl für alle Krankheitsstadien ist Penicillin. Eine Erregerresistenz ist bisher nicht bekannt, gelegentlich werden Therapieversager beobachtet.

### Analytik

Der **Direktnachweis** von *T. pallidum* kann aus dem Primäraffekt (sog. Harter Schanker: Derb, indolent, Befall regionaler Lymphknoten) mit der wenig sensitiven, aber spezifischen Dunkelfeldmikroskopie versucht werden. Ein alternativer, sensitiverer Erregernachweis ist die direkte Immunfluoreszenz unter Verwendung Fluoreszenzmarkierter, monoklonaler Antikörper. Die Diagnostik mittels PCR ist derzeit nicht allgemein etabliert und bleibt speziellen Fragestellungen vorbehalten. Der kulturelle Nachweis von *T. pallidum* auf künstlichen Nährmedien war bisher nicht erfolgreich.

**Serologie:** Der Schwerpunkt der Labordiagnostik liegt im Antikörpernachweis. Man folgt einer Stufendiagnostik mit den Schritten: Screening (Suchtest), Bestätigung, und – bei positivem Ergebnis – Beurteilung der Aktivität. Als Screeningtests kommen der Treponema-pallidum-spezifische Partikelimmuntest (TPPA) oder der Hämagglutinationstest (TPHA) zum Einsatz. Prinzip: Mit Treponema-Antigenen beladene Latexpartikel oder Erythrozyten agglutinieren bei Zugabe positiver Patientenserum. Sie werden zunehmend von Enzymimmuntests oder Lumineszenzimmuntests abgelöst, die zusätzlich Auskunft über die Immunglobulinklassen der spezifischen Antikörper geben.

Für die Bestätigung reaktiver Ergebnisse im Suchtest stehen Immunblots zur Verfügung, auf denen die spezifischen Antigene von *T. pallidum*, getrennt voneinander, dargestellt werden. Ebenfalls als Betätigungstest gilt die indirekte Immunfluoreszenz (FTA), bei der das Patientenserum vor dem ersten Inkubationsschritt mit lysiertem *T. phagedaenis* versetzt wird, wodurch unspezifische Reaktanden neutralisiert werden („FTA-Abs“). Vor der Bestimmung der spezifischen IgM-Antikörper muss das möglicherweise vorhandene spezifische IgG eliminiert werden, um durch Rheumafaktoren bedingten falsch positiven Reaktionen zu entgehen oder durch konkurrierendes IgG falsch negative IgM-Reaktionen zu vermeiden. Die Abtrennung erfolgt durch Ultrazentrifugation (19S-IgM-FTA-Abs-Test) oder durch Absorption mittels eines IgG-präzipitierenden „RF-Absorbens“. Alternativ kann man die  $\mu$ -Capture-Technik einsetzen, bei der das IgM der Probe vor der Reaktion mit dem spezifischen Testantigen selektiv an eine Oberfläche gebunden wird.

Bei einem positiven Bestätigungstest ist die Krankheitsaktivität zu beurteilen. Labordiagnostisch kann dies über eine quantitative Lipoid-(Cardiolipin-)Antikörper-Flockungsreaktion erfolgen (vormals „Wassermann-Reaktion“, heute u. a. VDRL-Test (Venereal Disease Research Laboratory). Lipoidantikörper sind nicht spezifisch für eine *T. pallidum*-Infektion, dienen aber als Aktivitätsmarker und sind hilfreich für die Verlaufsbeurteilung. Eine Reduktion um den Faktor 10 oder mehr unter Therapie spricht für eine Sanierung der Infektion.

Bei Verdacht auf eine Beteiligung des zentralen Nervensystems werden die spezifischen Antikörper und die Gesamt-Antikörper parallel in Liquor und Serum bestimmt und der spezifische Liquor-Serum-Quotient errechnet. Ein Wert deutlich über 1 spricht für eine intrathekale Antikörper-Synthese und damit für eine Neurosyphilis.

#### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis:** Reizsekret aus Läsionen (Primäraffekt). Das Material sollte möglichst frisch untersucht (Dunkelfeldmikroskopie) oder bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden, es ist innerhalb von 4 Stunden zu analysieren.

**Serologie:** Serum, Plasma oder Liquor für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

#### Literatur

1. Hagedorn, HJ (2001) Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik: Syphilis. Urban & Fischer Verlag München Jena
2. Robert-Koch-Institut (2007) Syphilis (Lues). RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten



## Ureaplasma urealyticum

### Englischer Begriff

Ureaplasma urealyticum

### Beschreibung des Erregers

Die Gattung *Ureaplasma* der Mycoplasmataceae gehört zu den kleinsten selbstreproduzierenden Bakterien. Sie besitzen keine starre Zellwand (Mureindefizit) und sind daher gegen zellwandaktive Antibiotika resistent. Eine human-pathogene Spezies ist *Ureaplasma urealyticum*.

### Erkrankungen

*U. urealyticum* besiedelt den Harn- und Genitaltrakt, z. B. Urethra, Vagina, Zervix, Prostata oder Epididymis. Die Infektionen bleiben häufig asymptomatisch. Bekannt ist die Beteiligung des Erregers an der aufsteigenden Chorioamnionitis, die in manchen Fällen zu Aborten oder Frühgeburten führen kann. Besonders bei untergewichtigen Neugeborenen werden gelegentlich durch *U. urealyticum* ausgelöste respiratorische Infekte sowie Meningitis beobachtet.

Bei 40-80 % der Frauen und 5-20 % der Männer ist der untere Genitaltrakt mit *U. urealyticum* infiziert. Eine Übertragung erfolgt durch Sexualkontakt und bei der Geburt. Antibiotika der Wahl sind Tetracykline und Makrolide.

### Analytik

Die Erreger lassen sich innerhalb von einem bis fünf Tagen anaerob oder unter CO<sub>2</sub> auf Pferdeserum-haltigen Spezialkulturen anzüchten. Die Identifizierung erfolgt aufgrund der Morphologie der Mikrokolonien und des Urease-Nachweises.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Als Untersuchungsmaterialien kommen Abstriche oder Sekrete aus dem Urogenitaltrakt in Frage. Man verwendet ein Saccharose-Phosphatpuffer-Transportmedium (SP2-Medium) bzw. kommerziell erhältliche, bereits abgefüllte Indikator-Transportmedien. Ein schneller Transport ist notwendig, da bereits nach 24 Stunden mit einer Abnahme der Keimzahlen um den Faktor 10 zu rechnen ist.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnostik der Infektionen durch *U. urealyticum* beruht auf dem Nachweis hoher Keimzahlen des Erregers im Urogenitaltrakt. Antikörpertests haben wegen der weiten Verbreitung des Erregers als Bestandteil der kommensalen Flora nur einen geringen diagnostischen Wert.

### Literatur

1. Mardh PA (2004) Mycoplasma and Ureaplasma. In: Cohen J, Powderly WG (Hrsg.), Infectious Diseases, Mosby, 2. Aufl.:2309-2315
2. Waites KB (2008) Ureaplasma Infection. eMedicine: <http://www.emedicine.com /med/topic2340.htm>

## Varizella-Zoster-Viren

### Synonym(e)

VZV

### Beschreibung des Erregers

Familie *Herpesviridae*, Subfamilie *Alphaherpesviridae*, Genus *Varicella-Zoster-Virus*. VZV wird auch als Humanes Herpes-Virus 3 (HHV-3) bezeichnet.

### Erkrankungen

Varizellen (Windpocken) und Herpes zoster (Gürtelrose). Die Viren werden durch Tröpfchen- oder Schmierinfektion von Mensch zu Mensch übertragen. VZV gelten als besonders kontagiös („Wind“pocken), deshalb ist die natürliche Durchseuchung sehr hoch, bei 20-Jährigen 80-90 %. In Deutschland infizieren sich jedes Jahr 700.000 Menschen.

Bei der Erstinfektion mit VZV kommt es zu einer Replikation der Viren in den regionalen Lymphknoten, und nach 4-6 Tagen zu einer ersten Virämie. Eine zweite virämische Phase leitet das Prodromalstadium ein, mit unspezifischen Symptomen wie Kopfschmerzen, Fieber und Abgeschlagenheit. Durch Befall der Haut und Schleimhäute kommt es anschließend zu einem schubweise auftretenden Exanthem (makulös, papulös, vesikulös, verkrustet; typisch ist das Vorliegen aller Stadien nebeneinander, im Gegensatz zu den Pocken mit gleichförmigen Effloreszenzen). Komplikationen sind vielfältig: Cerebellitis (1:4.000), Enzephalitis (1:25.000), Meningitis, Thrombozytopenie, Pneumonie und bakterielle Sekundärinfektionen. Die Komplikationsrate ist besonders hoch bei Kindern unter einem Jahr, sie sinkt im Kleinkindalter ab und steigt mit dem vierten Lebensjahr wieder an. Für abwehrgeschwächte Patienten können Varizellen lebensbedrohlich sein. Die Therapie erfolgt bei leichten Verläufen symptomatisch, bei Bedarf auch mit Virostatika.

Infizieren sich seronegative Frauen (Prävalenz um 5 % in Europa) in den ersten 20 Wochen einer Schwangerschaft, kommt es bei 2 % der Kinder dieser seronegativen Frauen (600 Fälle pro Jahr in Deutschland!) zu einem fetalen (kongenitalen) Varizellen-Syndrom, mit Mikrozephalie, Katarakt, Mikrophthalmie, Chorioretinitis, Hypoplasie der Extremitäten, Hautdefekten, Fehlbildungen des Intestinal- und Urogenitaltraktes, sowie Skelett- und Muskelhypoplasien.

Konnatale (neonatale) Varizellen entwickelt das Neugeborene in den ersten zwei Lebenswochen, wenn die Mutter innerhalb der letzten 3 Schwangerschaftswochen an Varizellen erkrankt war. Die Erkrankung wird durch fehlende mütterliche Antikörper sowie ein unreifes Immunsystem des Neugeborenen begünstigt. Unbehandelt besteht eine Letalität von 20 %. In Deutschland ist jährlich mit etwa 40 bis 90 Fällen konnataler Varizellen zu rechnen.

Postnatale Varizellen treten nach dem 12. Lebenstag auf. Während bei reifgeborenen Kindern meist keine Komplikationen zu erwarten sind, können sie bei Frühgeborenen in den ersten Lebenswochen einen schweren Verlauf nehmen.

Herpes zoster (Gürtelrose) entsteht durch die Reaktivierung persistierender Viren in den Nervenganglien, mit der Folge einer lokalisierten Neuritis in Verbindung mit typischen Effloreszenzen und Schmerzen im entsprechenden Dermatom (75 % Thoraxbereich). Komplikationen sind Post-Zoster-Neuralgien, Zoster-Meningoenzephalitis und bakterielle Superinfektionen. Bei Immunsupprimierten kann der Zoster langwierig verlaufen und rezidivieren.

Seit 2004 wird in Deutschland von der Ständigen Impfkommission die aktive Immunisierung gegen VZV empfohlen. Der attenuierte Lebendimpfstoff wird einzeln oder als Komponente der Masern-Mumps-Röteln-Varizellen-Impfung verabreicht. Auch Erwachsene mit negativem Serostatus können sich immunisieren lassen, insbesondere Frauen mit Kinderwunsch. Für die Impfung werden abgeschwächte Wildtypen eingesetzt, und man muss mit gelegentlichen Durchbruchinfektionen rechnen, die untypische Symptome bieten und milder verlaufen, aber dennoch kontagiös sein können. Sind seronegative Schwangere mit einer Infektionsquelle in Berührung gekommen, sollten sie innerhalb 96 Stunden (besser 48 Stunden) passiv immunisiert werden. Frauen im gebärfähigen Alter ohne VZV-Immunität sollten nicht in einem Kindergarten arbeiten (Abhilfe: Aktive Schutzimpfung vor Beginn einer Schwangerschaft).

### Analytik

**Erregernachweis:** Möglich ist die elektronenmikroskopische Darstellung der Viren. Die Virusanzüchtung ist aufgrund der Labilität des VZV zeitaufwändig (1-4 Wochen) und schwierig. Die PCR zeichnet sich demgegenüber durch bessere Sensitivität (90 %) und Spezifität (99 %) aus.

**Serologie:** Etabliert sind indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmuntechniken. Die Quantifizierung erfolgt in internationalen Einheiten eines WHO-Standardserums.

## Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Bläscheninhalt, Gewebe, Fruchtwasser, bronchoalveoläre Lava-geflüssigkeit (bei Pneumonie) und Liquor (bei Verdacht auf Varizellen-Enzephalitis), für die PCR auch Abstriche aus untypischen Läsionen, insbesondere bei Immunsupprimierten.

Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

## Diagnostische Wertigkeit

Spezifische Antikörper lassen sich bei Varizellen etwa 3-4 Tage nach dem Ausbruch des Exanthems nachweisen. Bei primären Infektionen findet man in der Regel zunächst spezifische Antikörper der Klassen IgM und IgA. Eine Serokonversion oder ein signifikanter Titeranstieg des spezifischen IgG innerhalb von 7-10 Tagen bestätigen die Diagnose. Bei einer Reaktivierung kommt es meist zu einem starken Anstieg spezifischer Antikörper der Klasse IgA. Die Bestimmung der Avidität des spezifischen IgG ist ebenfalls etabliert und hilft, primäre von sekundären Infektionen serologisch zu differenzieren.

In die Differentialdiagnose sind Infektionen mit anderen neurotrophen Viren, Herpes-simplex-Viren, Pocken und blasenbildenden Autoimmundermatosen einzubeziehen. Die Serologie spielt eine wichtige Rolle bei der Immunitätsbestimmung vor und während der Schwangerschaft.

## Literatur

1. Doerr HW, Gerlich WH (2002) Herpes-Viren: Varicella-Zoster-Virus, Thieme, 1. Aufl.: 378-381
2. Marre R, Mertens Th, Trautmann M, Zimmerli W (2008) Varizellen (Windpocken). In: Klinische Infektiologie, Urban und Fischer, 2. Aufl.: 715-718

# Viren

## Englischer Begriff

Viruses

## Definition

Viren sind obligate Zellparasiten, die keinen eigenen Stoffwechsel besitzen und für ihre Vermehrung auf lebende Wirtszellen angewiesen sind. Reife, extrazelluläre Virus-Partikel werden als Virionen bezeichnet.

## Beschreibung

Mit einer Größe von 20-300 nm sind sie filtrierbar und lichtmikroskopisch unsichtbar. Virionen enthalten stets nur einen Typ von Nukleinsäure (DNS oder RNS) als Träger der genetischen Information. Die Nukleinsäure ist umgeben von einer Proteinhülle, dem Kapsid, welches sich aus Virus-kodierten Kapsomeren zusammensetzt und gemeinsam mit dem Virus-Genom das Nukleokapsid bildet. Bei einigen Virus-Arten ist das Nukleokapsid von einer Hülle aus einer Lipid-Doppelmembran und Virus-kodierten Glykoproteinen umgeben. Häufig lagern sich die Glykoproteine zu Oligomeren zusammen und ragen als sog. „Spikes“ aus der Hülle heraus. Zusätzliche Proteine mit struktureller, regulatorischer oder enzymatischer Funktion kommen nur in bestimmten Viren vor. Komplexe Strukturelemente (Kern, Mitochondrien, Ribosomen) bzw. Stoffwechselsysteme zur Proteinsynthese oder Energiegewinnung sind nicht vorhanden.

Zur Vermehrung beanspruchen Viren daher den Stoffwechselapparat lebender Zellen, wobei die erforderlichen Syntheseprogramme durch das Virus-Genom kodiert werden. Die Virus-Replikation umfasst folgende Schritte: Adsorption des Virus an Rezeptoren der Wirtszelloberfläche, Penetration in die Zelle, Freisetzung der viralen Nukleinsäure, Synthese viraler Nukleinsäuren und Proteine, Assemblierung des Nukleokapsids, Freisetzung von Virus-Partikeln durch Exozytose oder Lyse der Wirtszelle.

Viren sind häufig hoch spezialisiert auf bestimmte Organismen, Zellen oder Gewebe. Sie sind Auslöser zahlreicher Infektionskrankheiten (z. B. Influenza, Röteln, Masern, AIDS), zu denen auch bestimmte Krebserkrankungen gehören (z. B. Zervixkarzinom, Burkitt-Lymphom, Kaposi-Sarkom).

Die Klassifikation der Viren basiert u. a. auf folgenden Kriterien:

- Art der Nukleinsäure: RNS, DNS
- Konfiguration der Nukleinsäure: einzelsträngig, doppelsträngig
- Symmetrie des Nukleokapsids: kubisch, helikal, komplex
- Ort der Replikation: Zellkern, Zytoplasma
- Vorhandensein einer Hülle
- Größe des Virions
- antigene Eigenschaften der Kapsid- und Hüllproteine
- Anwesenheit viraler Enzyme, z. B. Neuraminidase, Polymerase, reverse Transcriptase
- Vorkommen spezifischer Nukleinsäuresequenzen
- Wirtsspektrum: Menschen, Tiere, Pflanzen, Algen, Pilze, Protozoa, Bakterien
- Gewebetropismus: Respiratorisch, enterotrop, neurotrop

## Analytik

Virus-Partikel können elektronenmikroskopisch visualisiert und identifiziert werden. Virale Nukleinsäuren sind mittels PCR (DNS), RT-PCR (RNS) oder In-situ-Hybridisierung diagnostizierbar. Zum Nachweis von Virus-Proteinen werden Antigen-ELISA, direkte Immunfluoreszenz, Westernblot, Hämagglutination oder Enzymbestimmungen eingesetzt. Die Anzucht von Viren ist in Zellkulturen, bebrüteten Hühnereiern oder Versuchstieren möglich. Gegebenenfalls kann bei infizierten Kulturzellen eine verstärkte Proliferation oder ein cytopathischer Effekt (CPE: Einschlusskörperchen, Syncytienbildung, Zellabrundung, Lyse) beobachtet werden.

Der indirekte Virus-Nachweis erfolgt über die Bestimmung Virus-spezifischer Antikörper im Wirtsorganismus durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Immunblot (Westernblot, Linienblot), Neutralisationstest, Hämagglutinationshemmtest, Komplementbindungsreaktion, Radioimmunoassay oder Immunpräzipitation. Für den Nachweis Virus-infizierter Zellen können Lymphocyten-Transformationstests durchgeführt werden.

## Diagnostische Wertigkeit

Durch den direkten Nachweis und die Isolierung von Viren können akute Virus-Infektionen oft schon vor der Etablierung einer Immunantwort und dem Ausbruch der Krankheit diagnostiziert werden. Direkte Nachweismethoden werden auch angewandt, um unklare serologische Befunde abzuklären oder den Erfolg einer antiviralen Therapie zu beurteilen. Der Nachweis Virus-spezifischer IgM-Antikörper ist ein wesentlicher Hinweis auf eine akute Primärinfektion, ebenso wie die Serokonversion oder ein signifikanter Titeranstieg des spezifischen IgG. Das Vorliegen

niedrig-avider IgG-Antikörper ist charakteristisch für frische Infektionen. Die Bestimmung von Antikörpern der Klasse IgA ist nur bei Infektionen mit bestimmten Virus-Arten diagnostisch relevant (z. B. mit Enteroviren, Influenza, RSV).

Indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmuntests stellen aufgrund ihrer hohen Sensitivität, einfachen Handhabung und Automatisierbarkeit wichtige Standardverfahren in der Infektionsserologie dar und ermöglichen quantitative Antikörperbestimmungen. Westernblots haben wegen ihrer hohen Spezifität einen besonderen Stellenwert als Bestätigungstests. Bei einer Virus-Infektion des ZNS kann man den Erreger oft direkt im Liquor nachweisen oder man findet intrathekal synthetisierte erregerspezifische Antikörper.

#### Literatur

Strauss JH, Strauss EG (2002) Viruses and Human Disease, Academic Press, 1. Aufl., 1-374

## West-Nil-Fieber-Viren

### Englischer Begriff

West Nile virus

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Flaviviridae*, **Gattung:** *Flavivirus*, **Art:** *West-Nil-Virus* (WNV). Plusstrang-RNA-Genom, behüllt, 50 nm Durchmesser. Wird zu den „emerging viruses“ gezählt.

### Erkrankungen

West-Nil-Fieber

**Verbreitung:** Afrika, Naher und Mittlerer Osten, Zentralasien, Europa, Nord- und Südamerika, Subtyp Kunjin-Virus in Australien und Ozeanien.

**Vektoren:** Stechmücken (*Culex*-, *Aedes*- und *Mansonia*-Arten).

**Wirte:** Vögel, Säugetiere (vor allem Pferde), Mensch (Risikogruppen: Kinder, ältere und immunsupprimierte Personen).

**Übertragung** auch durch Bluttransfusion oder Organtransplantation sowie transplazentar oder durch Muttermilch möglich.

**Klinik:** Die Infektion kann asymptomatisch verlaufen. Im Krankheitsfall plötzlich auftretendes hohes Fieber und Grippe-ähnliche Symptomatik, Exanthem, bei etwa 1 % der Fälle Enzephalitis oder Meningoenzephalitis mit neurologischen Symptomen wie generalisierten Paresen; selten: Myokarditis, Hepatitis, Pankreatitis, Hämorrhagie; bei Enzephalitis häufig Spätfolgen und Letalität 15-40 %, vor allem bei älteren Menschen.

**Therapie und Prophylaxe:** Es gibt noch keine spezifischen Therapeutika, nur eine symptomatische Behandlung ist möglich. Ein Impfstoff für Menschen ist noch in Entwicklung (Pferde können bereits gegen West-Nil-Viren geimpft werden). Prävention: Schutz vor Mückenstichen, Bekämpfung der Vektoren.

### Analytik

Das Arbeiten mit dem Erreger erfordert ein Laboratorium der Sicherheitsklasse 3.

**Direktnachweis** mittels RT-PCR oder immunochromatographischer Antigen-Schnelltests, Virus-Anzucht in Zellkultur.

**Serologie:** Nachweis der spezifischen Antikörper (IgG, IgM) in Serum oder Liquor durch indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Neutralisationstest und Hämagglutinationshemmtest.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Direktnachweis und Kultur:** Untersucht werden Blutbestandteile, Liquor oder Biopsien. Das Material sollte bis zur Weiterverarbeitung bei +4 °C bis +8 °C aufbewahrt werden. Direktnachweise sind innerhalb von 24 Stunden durchzuführen, Kulturen innerhalb von sechs Stunden anzulegen. Bei längerer Transportzeit ist das Material einzufrieren.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig (Liquor eine Woche), bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Zur vollständigen Diagnostik gehört der Nachweis sowohl von Virusbestandteilen, als auch spezifischer Antikörper – in bestimmten Krankheitsphasen lässt sich nur mit einem der beiden diagnostischen Prinzipien das Vorliegen einer spezifischen Infektion beweisen. Die Vermehrung in der Zellkultur und die sich anschließende positive spezifische Immunreaktion ebenso wie eine positive PCR beweisen die Anwesenheit der Viren. Im negativen Fall kann die Infektion aber nicht ausgeschlossen werden, insbesondere, da der Organismus bereits innerhalb weniger Tage nach Infektion spezifische Antikörper bildet, die das Virus neutralisieren.

**Direktnachweis:** Nur während der akuten Krankheitsphase möglich und oft negativ, da kurze Virämie und geringe Virus-Titer.

**Serologie:** Antikörper der IgM-Klasse sind ab dem zweiten Tag nach Beginn der Erkrankung im Serum nachweisbar. Fällt der IgM-Test negativ aus, obwohl die Symptome auf West-Nil-Fieber hindeuten, sollte nach zwei Wochen eine zweite Serumprobe erneut auf spezifische Antikörper getestet werden, wobei eine Kombination von ELISA und IIFT eine nahezu 100 %ige Sicherheit gewährleistet. Anti-WNV-IgM-Antikörper persistieren 2 bis 3 Monate, oft aber auch mehr als ein Jahr.

Antikörper der Klasse IgG folgen dem IgM in einem Abstand von zwei Tagen. Ein Anstieg der jeweiligen Antikörperklasse um den Faktor 10 gilt als beweisend für eine Infektion. Eine zusätzliche Unterscheidung frischer von länger zurückliegenden Infektionen gewährleistet die Darstellung niedrig-avidier Antikörper der Klasse IgG: Findet man in der Probe hoch-avide Antikörper, bedeutet das eine abgelaufene oder reaktivierte Infektion. Die IgG-Avidität kann sowohl durch ELISA, als auch durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmt werden.



Zu beachten sind Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren (FSME, Dengue-Fieber, Japanische Enzephalitis, St.-Louis-Enzephalitis, Gelbfieber etc.). Daher wird bei einem positiven Befund empfohlen, Proben zu titrieren und diese mit den anderen relevanten Flavivirus-Substraten parallel auf Kreuzreaktionen zu untersuchen. Durch einen Vergleich der Titerhöhen kann der Erstbefund durch einen zweiten Nachweis bestätigt bzw. widerlegt und so eine andere Flavivirus-Infektion als Krankheitsursache identifiziert werden.

**Differentialdiagnosen:** Dengue und andere Arboviruskrankungen, Malaria, bei Enzephalitis andere virale und bakterielle Meningoenzephalitis-Erreger.

Zum Screening von Bluttransfusionen auf virale RNA oder auf spezifische Antikörper werden PCR-Tests oder serologische Methoden verwendet.

#### Literatur

1. Levett PN, Sonnenberg K, Sidaway F, Shead S, Niedrig M, Steinhagen K, Horsman GB, Drebot MA (2005) Use of immunoglobulin G avidity assays for differentiation of primary from previous infections with West Nile virus. *J Clin Microbiol* 43(12):5873-5875
2. Dauphin G, Zientara S (2007) West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development. *Vaccine* 25(30):5563-5576
3. Diamond MS (2009) Progress on the development of therapeutics against West Nile virus. *Antiviral Res* 83(3):214-227
4. Zhang W, Wu J, Li Y, Li F, Njoo H (2009) Rapid and accurate in vitro assays for detection of West Nile virus in blood and tissues. *Transfus Med Rev* 23(2):146-154

## Yersinia enterocolitica

### Englischer Begriff

Yersinia enterocolitica

### Beschreibung des Erregers

**Familie:** *Enterobacteriaceae*, **Gattung:** *Yersinia* (Y.)

Die zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehörende Gattung *Yersinia* umfasst derzeit 14 Spezies. Obligat humanpathogen sind *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*. Die Spezies *Y. enterocolitica* bildet eine heterogene Gruppe von pathogenen und apathogenen Stämmen, die in über 60 verschiedene Serovare subdifferenziert werden können.

Mikroskopisch stellen sich die Bakterien als gramnegative, kokkoide bis pleomorphe, meist alkalistabile, psychrophile (kälteliebende) Kurzstäbchen mit mono- bis peritricher Begeißelung dar.

### Erkrankungen

*Y. enterocolitica* ist weltweit in den gemäßigten und subtropischen Klimazonen verbreitet. Das Bakterium kommt bei vielen warmblütigen Wild-, Heim-, und Nutztieren im Darm (selten Rachen), in ihren Ausscheidungen sowie in der Umwelt vor. Schweine stellen das wichtigste Reservoir für die menschliche Infektion dar. Die Infektion erfolgt über nicht ausreichend erhitzte tierische Produkte, hauptsächlich rohes Schweinefleisch und Milch. Auch kontaminierte Blutkonserven sowie der direkte Umgang mit Schweinen oder Haustieren stellen ein Infektionsrisiko dar.

Die durch pathogene *Y.-enterocolitica*-Stämme hervorgerufene enterale Yersiniose des Menschen stellt in Deutschland eine der häufigsten bakteriell bedingten Magen-Darm-Infektionen dar (3.364 Fälle im Jahre 2010). Sekundär können extraintestinale, immunologisch bedingte Reaktionen, wie Erythema nodosum, Uveitis, reaktive Arthritis (Morbus Reiter), Glomerulonephritis, Thyreoiditis oder Myokarditis auftreten.

Zur Prophylaxe einer Infektion sind in erster Linie die Einhaltung hygienischer Standards bei der Lebensmittelherstellung und -zubereitung zu nennen. Die Behandlung einer akuten Infektion beschränkt sich in der Regel auf symptomatische Maßnahmen wie den Ersatz der Flüssigkeits- und Salzverluste, die durch das Erbrechen und den Durchfall entstehen. Als unterstützende Maßnahmen können Medikamente eingesetzt werden, die das Erbrechen hemmen oder die Darmtätigkeit beeinflussen. In schweren Fällen kann bei positivem Erregernachweis eine Antibiotika-Therapie erfolgen (Breitspektrum-Cephalosporin plus Aminoglycosid).

### Analytik

**Direktnachweis:** Der Erregernachweis erfolgt durch die Anzucht aus Stuhl und nichtfäkalen Proben wie Blut oder Biopsien auf selektiven Nährmedien. Bei einer zu geringen Anzahl an Bakterien in der Probe wird zunächst eine Kälteanreicherung (4 °C, 1-3 Wochen) durchgeführt. Aufgrund der Heterogenität innerhalb der Spezies sind die biochemische Bestätigung und Biotypisierung sowie die serologische Pathogenitätsbestimmung der Isolate zur Identifikation virulenter Stämme wichtig. Der direkte Erregernachweis mit molekularbiologischen Methoden (PCR) gewinnt zunehmend an Bedeutung, insbesondere, weil die Pathogenitätsgene auf diesem Wege mit identifiziert werden können. Allerdings ist auch hier wegen der Begleitflora zunächst eine selektive Anzucht von Vorteil.

**Serologie:** Eine Yersinien-Infektion induziert die Bildung spezifischer Serumantikörper der Immunglobulinklassen IgA, IgG und IgM, für deren Nachweis auf Virulenzfaktoren (Yop D, E, H, M, V) basierende Immunoblots, Immunfluoreszenztests und ELISA eingesetzt werden. Weitere Nachweisverfahren sind Komplementbindungs- und Widal-Reaktion. Yersiniosen sind nach § 7 Abs.1 Infektionsschutzgesetz meldepflichtig.

### Untersuchungsmaterial und Probenstabilität

**Kultur und PCR:** Stuhl, Blut, Biopsie, Lymphknotenabstrich.

**Serologie:** Serum oder Plasma für den Nachweis der Antikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühlkonservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

### Diagnostische Wertigkeit

Für die Diagnose einer akuten Infektion mit *Y. enterocolitica* ist der direkte Erregernachweis im Stuhl die Methode der Wahl. Der Antikörpernachweis wird hauptsächlich zur Abklärung von Yersinien-assoziierten Folgeerkrankungen, vor allem der reaktiven Arthritis, eingesetzt.

### Literatur

1. Tschäpe H, Reissbrodt R, Prager R: *Yersinia* ssp. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) (2009): Mikrobiologische Diagnostik. Thieme, Stuttgart, New York, 2. Aufl.:454-457
2. Robert-Koch-Institut Berlin, Epidemiologisches Bulletin, 13. Februar 2012/Nr. 6. Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health. Yersiniose-Risikofaktoren in Deutschland