

¹Pottgießer T, ¹Schumacher YO, ²Wolfarth B, ³Bauer G

Epstein-Barr Virus Infektionen Diagnostik und Serologie

¹Abteilung Rehabilitation, Prävention und Sportmedizin,
Medizinische Universitätsklinik Freiburg

²Abteilung Präventive und Rehabilitative Sportmedizin der
Technischen Universität München

³Institut für Medizinische Mikrobiologie, Abteilung Virologie,
Klinikum der Universität Freiburg

ZUSAMMENFASSUNG

Epstein-Barr Virus (EBV)-Infektionen werden im Sport immer wieder mit Leistungsschwäche in Verbindung gebracht. Aufgrund der variabel auftretenden, häufig unspezifischen Symptomatik der Erkrankung, der Vielgestaltigkeit der serologischen Antwort und zum Teil unzulänglicher Testmethoden erfolgt nicht selten eine falsche Diagnose. Eine serologische Diagnosestellung sollte eindeutig zwischen Seronegativität, akuter und länger zurückliegender Infektion unterscheiden. Durch die Verwendung eines IgG-Lineassays mit rekombinanten Antigenen kann dies mit einem einzigen Test erreicht und somit der Verunsicherung von Athleten und Betreuern vorgebeugt werden, auch wenn eine seltene, aberrante serologische Konstellation vorliegt.

EINLEITUNG

Bei abnehmender Leistungsfähigkeit im Sport und Verlust von Trainings- und Wettkampfform wird häufig an eine akute EBV-Infektion gedacht, besonders wenn Leistungsminderung und grippeähnliche Symptome gleichzeitig vorliegen. Gängige serologische Testmethoden liefern nicht in jedem Fall ein eindeutiges Ergebnis, weil sie nur den klassischen, nicht aber den aberranten serologischen Konstellationen Rechnung tragen, sodass falsche Diagnosen möglich sind. Diese führen nicht selten zu einer Verunsicherung von Athleten, Trainern und betreuenden Ärzten. Sowohl die Prävalenz der klassischen als auch der aberranten serologischen EBV-Konstellationen ist bei Athleten im Vergleich zu Normalpersonen nicht signifikant verschieden (1). Neben einer sorgfältigen Erhebung des klinischen Status ist eine aussagekräftige EBV Serologie notwendig, um die richtige Diagnose stellen zu können. Insbesondere gilt es, eine akute EBV Infektion sicher zu bestätigen oder auszuschließen.

PATHOMECHANISMUS UND SYMPTOMATIK

Die Erstinfektion mit EBV entsteht durch Virusaufnahme über Epithelien des Oropharynx und kann klinisch inapparent oder mit Symptomen der infektiösen Mononukleose (Pfeiffer'sches Drüsenfieber) erfolgen. In der westlichen Bevölkerung besteht in einem Alter von 30 Jahren eine Durchseuchung mit dem Virus von etwa 90%. Das klinische Bild einer akuten EBV-Infektion ist sehr variabel. Klassische Symptome sind fieberhafte Angina tonsillaris, Pharyngitis, Lymphadenopathie und Splenomegalie. Bei

Kindern kann eine respiratorische Symptomatik im Vordergrund stehen. Seltene neurologische Symptome stellen eine besondere diagnostische Herausforderung dar. Als Folge der polyklonalen B-Zellstimulation können Autoantikörper auftreten, die die Grundlage für hämolytische Anämie, Neutropenie und Thrombozytopenie bilden. Während der EBV-Primärinfektion kommt es zu einer vorübergehenden Suppression der zellulären Immunantwort. Im Blutbild zeigen sich häufig eine Leukozytose mit mononukleären Zellen (Monozytose) und eine Erhöhung der Transaminasen. Gerade wegen dieser Variabilität kommt der Differentialdiagnostik und adäquaten Serologie eine große Bedeutung zu.

SEROLOGISCHE METHODEN

Grundsätzlich soll durch die serologische Untersuchung eine eindeutige Zuordnung des Falles zu einer der Kategorien „negativ“, „akute Infektion“, oder „länger zurückliegende (abgelaufene) Infektion“ erfolgen. Klassische EBV Serologie basiert auf der Detektion der IgG- und IgM-Antworten mithilfe der indirekten Immunfluoreszenz (IFT) gegen VCA (viral capsid antigen), EA (early antigens) und Antikörper gegen EBNA-1 und EBNA-2 (Epstein-Barr virus nuclear antigens) (2,3). Dabei ist VCA-IgG der klassische Marker für Seropositivität und bleibt lebenslang nachweisbar. VCA-IgM ist bei akuter EBV-Infektion in etwa 80% der Fälle gleichzeitig mit VCA-IgG nachweisbar, selten eilt es VCA-IgG voraus oder tritt verspätet auf (3,4). VCA-IgM ist bei 20% der akuten Infektionen nicht nachweisbar. Andererseits kann dieser Marker in einigen Fällen persistieren oder infolge von Wiederaufnahme des Virus in den lytischen Zyklus auftreten. Damit erlaubt weder der Nachweis noch das Fehlen von VCA-IgM eine eindeutige Diagnose.

Antikörper gegen EBNA-1 fehlen regelmäßig in den ersten Wochen nach Krankheitsbeginn und stellen bei Positivität den sichersten Marker für eine abgelaufene Infektion dar. Allerdings wird Anti-EBNA-1 von 5-10% der gesunden Personen (4) nicht gebildet. Sowohl bei 12% eines Athletenkollektivs (N=202) als auch bei 12% der gleichzeitig untersuchten Kontrollpersonen (N=200) wurde bei länger zurückliegenden Infektionen ebenfalls kein Anti-EBNA-1 nachgewiesen (1). Negatives Anti-EBNA-1 (Nichtbildung oder sekundärer Verlust) kann daher bei gleichzeitig positivem VCA-IgG eine akute Infektion vortäuschen. Diese mögliche falsch positive Diagnose einer akuten EBV-Infektion stellt das größte Problem der EBV-Serologie dar. Die hier für die Immunfluoreszenztechnik aufgezeigten Probleme (fehlendes Anti-EBNA-1; Anti-EBNA-1-Verlust; untypische IgM-Antwort) treten auch bei Verwendung von Enzymimmunoassays auf.

LINEASSAY MIT REKOMBINANTEN ANTIGENEN

Bei dem Lineassay Verfahren (Test auf IgG) werden rekombinant hergestellte Antigene verwendet, die in ihrer Auswahl sowohl den typischen als auch den aberranten serologischen Verläufen Rechnung tragen. Die in Tabelle 1 dargestellten Antigene erlauben im Gegensatz zu den klassischen Markern eine klare Differenzierung zwischen einem negativen Befund, akuten, kürzlich zurückliegenden oder länger zurückliegenden Infektionen. Die Bestimmung des EBV-Serostatus mithilfe des IgG-Lineassays wird in Tabelle 2 auch unter Berücksichtigung aberranter Konstellationen veranschaulicht.

Tabelle 1: Bedeutung der EBV Antigene beim Lineassay.

Antigen Name	Klassifizierung	Beurteilung des EBV-Status
EBNA1 (p72)	Epstein-Barr nukleäres Antigen	IgG-Titer fehlt regelmäßig bei frischen Infektionen, Marker für abgelaufene Infektionen
p18 (gekürzte Form)	Virus Capsid Antigen	IgG-Titer fehlt regelmäßig bei frischen Infektionen, Marker für abgelaufene Infektionen, auch bei Fehlen von EBNA-1-IgG meist positiv
p23	Virus Capsid Antigen	Oft schon zu Beginn einer Infektion nachweisbar, bei abgelaufenen Infektionen sehr oft positiv
p138	EA: Early Antigen	IgG-Titer bei frischen Infektionen sehr häufig nachweisbar, Positivität auch bei abgelaufenen Infektionen möglich
p54	EA: Early Antigen	IgG-Titer bei frischen Infektionen sehr häufig nachweisbar, Positivität auch bei abgelaufenen Infektionen möglich

Tabelle 2: Bestimmung des EBV Infektionsstatus durch EBV IgG-Antikörpermuster (Lineassay) und Aviditätsbestimmung.

	Anti-EBNA-1	Anti-p18 (gekürztes p18)	Anti-p18 Avidität	Anti-p23	Anti-p23 Avidität	Anti-p138	Anti-p54	Diagnose
A	-	-		-		-	-	negativ
B	(+)	(+)		(+)		(+/-)	(+/-)	nicht auflösbar*
C	-	-		-		+	+	akut
D	-	-		+	niedrig	+/-	+/-	akut
E	-	-		+	hoch	+/-	+/-	abgelaufen (aberrant) oder kürzlich*
F	-	+	niedrig	+	hoch	+/-	+/-	kürzlich
G	-	+	hoch	+	hoch	+/-	+/-	abgelaufen (aberrant)
H	(+)	+	(hoch)	+	(hoch)	+/-	+/-	abgelaufen (aberrant)
I	+	+	(hoch)	+	(hoch)	+/-	+/-	abgelaufen (klassisch)
J	+	(+/-)	(hoch)	+	(hoch)	+/-	+/-	abgelaufen (aberrant)
K	+	+	(hoch)	-		+/-	+/-	abgelaufen (aberrant)

In Routinetests bei eindeutigen serologischen Antworten ist die Aviditätsbestimmung nicht notwendig (in Klammern dargestellt).

*Folgeserum ist empfohlen, da die Serokonversion eines späten Markers noch erwartet werden darf.

Der wichtigste Unterschied im Vergleich zu den bisherigen Testsystemen besteht darin, dass mit dem IgG gegen das in diesem Test (RecomLine, Mikrogen, Neuried) verwendete, gekürzte Antigen p18 (patentrechtlich geschützt) ein zweiter später Marker vorhanden ist, der im Gegensatz zu EBNA-1-IgG nur sehr selten nicht gebildet und bei Immunsuppression nicht sekundär negativ wird (4). Bei Personen, die trotz lange zurückliegender EBV Infektion kein Anti-EBNA-1 entwickeln, kann aufgrund des positiven p18-IgG ein sicherer Ausschluss einer akuten Infektion erfolgen (Tabelle 2: G, H) Diese Fälle stellten bisher das Hauptkontingent für Fehlbefunde dar. Das in anderen auf dem Markt befindlichen Lineassay-Testverfahren verwendete IgG gegen das ungekürzte p18 kann dagegen nur als allgemeiner Seropositivitätsmarker verwendet werden und erlaubt die oben aufgezeigte Differenzierung nicht. Frühe Antikörper (Anti-p138, Anti-p54) erlauben nur dann die Diagnose einer

akuten EBV Infektion (Tabelle 2: C, D), wenn die späten Antikörper negativ sind. Dabei können frühe Antikörper in manchen zurückliegenden Fällen positiv sein, auch bei klinisch Gesunden, so dass die Diagnose einer EBV Reaktivierung nicht schlüssig ist und bei immunkompetenten Personen nicht zwangsläufig einen Krankheitswert besitzt. Durch die Verwendung rekombinanter Antigene stellen auch Seren mit antizellulärer Reaktivität kein diagnostisches Problem dar. Der IgG-Lineassay ist unter standardisierten Bedingungen ohne großen technischen Aufwand einsetzbar.

Die Sicherheit der serologischen Aussage kann in Einzelfällen durch Aviditätsbestimmung der IgG-Antikörper erhöht werden (4,5), die bei präziser Quantifizierung eine hohe analytische Schärfe aufweist. Diese kann durch eine denkbare IgM-Bestimmung im Lineassay nicht erreicht werden, da auch hier die besondere Problematik von IgM-Befunden (fehlender, verzögert auftretender bzw. persistierender IgM-Befund) besteht.

FAZIT

Bei Verdacht auf eine akute EBV-Infektion ist auch die Möglichkeit von negativen EBNA-1-Antikörpern in Betracht zu ziehen, wodurch eine frische Infektion vorgetäuscht werden kann. Diese aberranten Konstellationen treten bei Athleten und Normalpersonen gleich häufig auf, bedürfen aber einer eindeutigen serologischen Diagnose, um Fehlbefunde zu vermeiden. Der Nachweis von VCA-IgM ist nicht eindeutig und daher diagnostisch nicht sinnvoll. Die deutliche Positivität von mindestens einem der späten Marker kann als Ausschluss einer frischen EBV-Infektion gewertet werden. Der Nachweis früher Antikörper erlaubt bei gleichzeitig vorhandenen späten Antikörpern nicht notwendigerweise die Diagnose einer EBV-Reaktivierung. Fehlen bei Seropositivität beide späten Antikörper, so gilt dies als Hinweis auf eine frische Infektion. Bei Bedarf sollte die Diagnostik durch die Aviditätsbestimmung ergänzt werden.

LITERATUR

1. POTTGIESSER T, WOLFARTH B, SCHUMACHER YO, BAUER G: Epstein-Barr virus serostatus: no difference despite aberrant patterns in athletes and control group. *Med Sci Sports Exerc* 38 (2006) 1782-1791.
2. LINDE A: Diagnosis and pathogenesis of infectious mononucleosis and other Epstein-Barr virus associated diseases. *Rev Med Microbiol* 3 (1992) 43-51.
3. SCHILLINGER M, KAMPMANN M, HENNINGER K, MURRAY G, HANSELMANN I, BAUER G: Variability of humoral immune response to acute Epstein-Barr virus (EBV) infection: evaluation of the significance of serological markers. *Med Microbiol Letters* 2 (1993) 296-303.
4. BAUER G: Simplicity through complexity: Immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. *Clin Lab* 47 (2001) 223-230.
5. ANDERSSON A, VETTER V, KREUTZER L, BAUER G: Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr virus serology. *J Med Virol* 43 (1994) 238-244.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Torben Pottgießer

Medizinische Universitätsklinik

Abteilung Rehabilitation, Prävention und Sportmedizin

Postfach D-79095 Freiburg

E-Mail: torben.pottgiesser@uniklinik-freiburg.de