



## eVADEMECUM – Antikörpernachweis / Serologie

1. Einfachbestimmungen
2. Messunsicherheit bei quantitativen Bestimmungen
3. Bestimmung von IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern
4. Methoden der Serologie
5. Liquor-Diagnostik

### 1. Einfachbestimmungen

Einfachbestimmungen werden eingesetzt für die Abklärung der folgenden Fragestellungen:

- Besteht Immunität?
- Besteht eine aktive Infektion?
- Hat (bei persistierenden Erregern) eine Infektion in der Vergangenheit stattgefunden?
- Kann der Zeitpunkt der Infektion eingegrenzt werden?

IgM-Antikörper können frühestens nach 10-14 Tagen, IgG-Antikörper nach 14-21 Tagen mit Sicherheit nachgewiesen werden. Eine zu frühe Probenentnahme nach Infektion ist eine häufige Ursache für ein negatives Resultat. Für den sicheren Ausschluss einer Infektion ist eine Wiederholung der Untersuchung nach 4-6 Wochen nach der ersten angezeigt. Bei Verdacht auf eine HIV-Infektion kann ein Ausschluss frühestens 3 Monate nach Exposition erfolgen.

Der Verlauf eines Infektionsgeschehens kann grundsätzlich nur mit einem **Serumpaars** (Akutserum und Rekonvaleszenzserum) beurteilt werden, welches im **Abstand von 2-3 Wochen** entnommen wird. Nur die Untersuchung beider Seren **parallel im gleichen Versuchsansatz** (sog. „Parallelansatz“) erlaubt einen exakten quantitativen Vergleich. Ein vierfacher Titeranstieg oder ein signifikanter Anstieg des Messwertes weist auf eine akute Infektion hin. Bei einer Antikörperbestimmung mit quantitativer Aussage kann auch ein einzelner hoher Messwert auf eine akute Infektion hindeuten.

Der **Zeitbedarf** für die vollständige Abarbeitung eines serologischen Untersuchungsauftrags beträgt je nach Komplexität des Auftrags 1-3 Tage. Aus technischen und personellen Gründen können nicht jeden Tag alle serologischen Tests durchgeführt werden. Jede Bestimmung wird aber mindestens zweimal pro Woche durchgeführt (Ausnahme: Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern gegen Poliovirus 1/3).

Die für einen serologischen Auftrag benötigten **Materialmengen** variieren je nach Anzahl der verlangten Untersuchungen. Eine Mindestmenge von 0.5 ml Serum sollte jedoch nicht unterschritten werden. Bei pädiatrischen Blutproben können kleinere Blutmengen akzeptiert werden. Das erforderliche Minimalvolumen hängt jedoch von der Anzahl der verlangten Untersuchungen ab. Im Zweifelsfalle erkundigen Sie sich bitte direkt im Labor.



## **Institut für Medizinische Virologie**

Die Reproduzierbarkeit von qualitativen Untersuchungsergebnissen wird durch die in jedem Testansatz mitgeführten Kontrollen und die periodisch mitgeführten Standards sichergestellt. Das Labor beteiligt sich zur Qualitätssicherung auch an Ringversuchen von renommierten europäischen Qualitätskontrollorganisationen (NEQAS, Instand).

### **2. Messunsicherheit bei quantitativen Resultaten**

Die Methoden zur Bestimmung von Antikörpern weisen auf Grund ihrer biologischen Natur Schwankungen auf, sowohl bei Mehrfachbestimmung eines gegebenen Serums in einem Lauf (Intratest-Variation), als auch bei wiederholter Untersuchung über die Zeit (Test-zu-Test-Variation). Ergebnisse von gleichartigen Einzelbestimmungen, die in unterschiedlichen zeitlich voneinander getrennten Testserien bestimmt worden sind, können folglich beträchtlich voneinander abweichen. Deshalb erlaubt nur die parallele Untersuchung von zwei Proben im selben Testansatz (Parallelansatz) einen direkten quantitativen Vergleich und somit eine korrekte Beurteilung des Verlaufs eines Parameters über die Zeit.

Die Messunsicherheit für quantitative Untersuchungen kann im Labor nachgefragt werden.

### **3. Bestimmung von IgG, IgM und IgA Antikörpern**

Die verschiedenen Antikörperklassen werden je nach Erreger mit verschiedenen Methoden bestimmt.

Zum Nachweis einer durchgemachten Infektion oder Bestimmung der Immunität genügt im Allgemeinen der Nachweis von spezifischen IgG Antikörpern.

Ein Nachweis von spezifischen IgM und IgA Antikörpern ist ein Hinweis auf einen frischen oder kürzlich durchgemachten Infekt. Bei Reaktivierungen von Viren der Herpesfamilie können (müssen aber nicht unbedingt) IgM Antikörper auftreten.

Bei der Interpretation von positiven IgM Resultaten ist Vorsicht geboten da Störfaktoren auftreten können:

- Bei bestimmten Krankheitsbildern (z.B. Lupus erythematodes) findet man positive IgM Resultate, welche durch Kreuzreaktionen von antinukleären Antikörpern verursacht werden und nicht von Erreger-spezifischen IgM.
- Bei Schwangeren ist bei der Interpretation von IgM Resultaten Vorsicht geboten, da neben Störfaktoren auch unspezifische IgM auftreten können. Hier empfiehlt sich, zur Sicherung der Diagnose zusätzlich einen IgM-Bestätigungstest (Siehe 4.2:  $\mu$ -capture ELISA) oder eine Bestimmung der Avidität der IgG-Antikörper (Siehe 4.3: IgG-Avidität) durchzuführen. Ebenfalls nützlich ist die Untersuchung eines Zweitserums.
- Kreuzreaktionen von IgM Antikörpern sind bei den Herpes- (HSV, VZV, CMV, EBV) oder den Flaviviren (FSME, Zikavirus, Gelbfieber, Dengue, HCV) nicht ausgeschlossen.



## **4. Methoden der Serologie**

### **4.1 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**

Die ELISA Methode ist die heute am meisten verwendete Methode für die Bestimmung von Antikörpern und wird auch in unserem Institut bevorzugt eingesetzt.

Die Resultate werden wie folgt abgegeben:

- IgG:
  - qualitativ: positiv / negativ / grenzwertig
  - semi-quantitativ: -in AE/ml (Arbiträren Einheiten/ml) (CMV, Toxoplasma)  
- als Index (Verhältniszahl Messwert über Cut-Off; positiv wenn >1)
  - quantitativ: in IE/ml oder mIE/ml (Internationale oder Milli-Internationale Einheiten/ml Serum)  
(Röteln:  $\geq 15$  IE/ml = Immunität, 10-14 IE/ml = grenzwertig)
- IgM, IgA: qualitativ positiv / negativ / (grenzwertig)

### **4.2 $\mu$ -capture ELISA (Sandwich-ELISA) für IgM**

Der eindeutigen Abklärung eines fraglich positiven IgM Befunds kommt vor allem bei Schwangeren grösste Bedeutung zu. Der  $\mu$ -capture ELISA (Sandwich-Typ) wird als Bestätigungstest bei fraglich positivem IgM Befund im Screening-Test eingesetzt bei:

- CMV-IgM
- Rubella-IgM
- Toxoplasma-IgM

Die Resultate werden rein qualitativ als IgM positiv / negativ abgegeben. Weist der Bestätigungstest ein unterschiedliches Resultat zum Screening-Test auf, dann ist der Bestätigungstest als relevant zu betrachten.

### **4.3 ELISA für IgG-Avidität**

Die Avidität der IgG-Antikörper wird zum ungefähren Abschätzen des Zeitpunkts einer Infektion herangezogen:

- IgG Antikörper nach einer frischen Infektion weisen eine niedere Avidität auf.
- IgG Antikörper nach einer durchgemachten Infektion weisen eine hohe Avidität auf. Die maximale Avidität tritt ca. 4 Monate nach Infektion auf.

Die Bestimmung der IgG-Avidität wird als zusätzlicher Parameter zur Abklärung einer Serokonversion während der Schwangerschaft eingesetzt und ist möglich bei:



- Toxoplasmose
- Röteln (gehört zum nicht-akkreditierten Bereich)
- CMV (gehört zum nicht-akkreditierten Bereich)

Die Resultate werden als Verhältniszahl zwischen 0 und 1 zusammen mit einer entsprechenden Interpretation abgegeben.

#### **4.4 Immunfluoreszenz (IF)**

Die indirekte Immunfluoreszenz ist eine verlässliche Methode zum Nachweis von Antikörpern gegen komplexe Erreger und wird bei uns für folgende Antikörpernachweise eingesetzt:

- |                |             |
|----------------|-------------|
| • Dengue Virus | IgG und IgM |
| • Masern Virus | IgM         |
| • Mumps Virus  | IgM         |
| • Zika Virus   | IgG und IgM |

Die Methode der indirekten Immunfluoreszenz ist im schwach positiven Bereich etwas weniger empfindlich (Sensitivität), jedoch spezifischer als der ELISA.

Die Resultate werden rein qualitativ als IgG oder IgM positiv / negativ abgegeben.

#### **4.5 Neutralisierende Antikörper gegen Polioviren**

Mittels Neutralisationstest auf Zellkulturen werden neutralisierende Antikörper gegen Polio Virus Typ 1 und 3 bestimmt.

Der Test ist sehr aufwendig und dient der Kontrolle von seronegativen, immunkompromittierten Individuen, die durch periodische Gabe von Immunglobulinen passiv immunisiert werden müssen, jedoch nicht aktiv geimpft werden können (Bsp. Kinder mit Leukämien). Der Test soll NICHT oder nur in speziell begründeten Fällen zur Kontrolle des Impfstatus bei Immungesunden herangezogen werden!

Die Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern gegen Poliovirus Typ 1/3 benötigt mindestens 0.5 ml Serum.

**Zeitbedarf:** Der Test wird nur bei Bedarf durchgeführt. Es muss mit einer Wartezeit von bis zu zwei Wochen gerechnet werden.

Die Resultate werden als reziproke Zahl (1:X) der Serumverdünnung, die noch eine Neutralisation gewährleistet, zusammen mit einer Interpretation abgegeben.



#### **4.6 Charakterisierung einzelner Antikörper (Line-Blot Immunoassay)**

Bei einzelnen Viren (HIV, HTLV, HCV) werden zur Spezifizierung der vorhandenen Antikörper sog. Line-Blot-Immunoassays durchgeführt. Diese Tests werden v.a. zur Überprüfung eines reaktiven Befundes aus Screening-ELISA-Tests eingesetzt und haben damit Bestätigungsfunktion.

**Zeitbedarf:** Der Test wird bei Bedarf 2-3x pro Woche durchgeführt

Die Resultate werden semi-quantitativ mit 0 / ± / + / ++ ausgewiesen.

#### **5. Liquor-Diagnostik:**

Antikörper gegen neurotrope Viren mit Ausnahme der Enteroviren können auch aus dem Liquor nachgewiesen werden. Für diese Untersuchungen wird allerdings ein Serum-Liquorpaar vom gleichen Entnahmedatum benötigt.

Der Liquor wird nur untersucht, wenn die gesuchten Antikörper im Blut nachgewiesen wurden. Bei negativem Antikörpernachweis im Blut wird keine Liquoranalyse durchgeführt.

Durch vergleichende Analysen von zeitgleich entnommenen Blut- und Liquorproben können Aussagen über eine allfällige intrathekale Antikörperproduktion gemacht werden. Dazu benötigen wir jedoch die Angaben der jeweiligen Konzentrationen von Albumin und Total-IgG aus dem Blut und dem Liquor, um den spezifischen Antikörperindex berechnen zu können. Diese Untersuchung wird für folgende Viren durchgeführt:

- FSME
- HSV
- VZV
- CMV
- Masern
- Mumps

Die Resultate werden als Indexzahl zusammen mit einer Interpretation abgegeben. Ein spezifischer Antikörperindex von  $> 1.5$  ist pathologisch. Eine spezifische, intrathekale Antikörperproduktion ist erst ca. 2 – 3 Wochen nach Symptombeginn zu erwarten.