

Labordiagnostik von Infektionskrankheiten

L. Matter, P. Friderich, C. Schaefer

Fragestellung und Indikation

Für eine sinnvolle Labordiagnostik von Infektionskrankheiten stellt die Formulierung einer **Fragestellung** die wichtigste Voraussetzung dar. Diese berücksichtigt klinische und epidemiologische Gesichtspunkte und schliesst die Abschätzung der Wahrscheinlichkeit ein, dass eine vermutete Infektion vorliegt (Vortest-Wahrscheinlichkeit oder Prävalenz in der betreffenden Patientenpopulation) [1, 2]. Überlegungen zu den möglichen **Konsequenzen** der denkbaren Ergebnisse einer Laboranalyse helfen mit, die **Indikation** zu präzisieren: wird ein positives oder negatives Resultat die weitere Abklärung, Therapie oder Prognose beeinflussen oder ergibt sich Handlungsbedarf für Kontaktpersonen oder präventive Massnahmen? Es ist auch empfehlenswert, nach differentialdiagnostischer Wahrscheinlichkeit vorzugehen, indem zuerst die häufigsten und wichtigsten möglichen Diagnosen verfolgt werden und erst in einem zweiten oder dritten Schritt die weniger wahrscheinlichen.

Beispiel: Borreliose

Bei einem typischen Erythema migrans ist die Wahrscheinlichkeit, dass die klinische Diagnose stimmt, sehr hoch. Ein positives serologisches Resultat bringt deshalb kaum zusätzliche Erkenntnisse. Ein negatives Resultat ist fast sicher falsch negativ und dürfte die Therapieentscheidung nicht beeinflussen. Somit ergibt sich in dieser Situation keine Indikation für eine Laboranalyse: sie dient weder einer Bestätigung noch dem Ausschluss der klinischen Diagnose. Auch für die Beurteilung des Therapieerfolges ist der Antikörper-Nachweis nicht geeignet: einerseits kann die Antikörper-Bildung insbesondere bei frühzeitiger Therapie ausbleiben, andererseits bleibt eine etablierte Antikörper-Antwort meist viele Monate oder Jahre bestehen.

Bei einer subakuten Gonarthrit ist dagegen die Treffsicherheit der klinischen Diagnose bezüglich der Ätiologie weit geringer (etwa 30%). In diesem Fall erhöht ein positiver Antikörper-Nachweis im Serum die diagnostische Wahrscheinlichkeit auf etwa 90%, ein positiver Erregernachweis mittels PCR (polymerase chain reaction) in der Synovial-

biopsie oder im Punktat auf praktisch 100%. Dagegen schliesst ein negativer Antikörper-Nachweis eine Lyme-Arthritis weitgehend aus und verpflichtet zur weiteren Abklärung und anderen therapeutischen Überlegungen. Hier spielt somit die Labordiagnostik eine wichtige Rolle im Entscheidungsprozess.

Wenn eine Erkrankung vorliegt, die für eine Borreliose wenig charakteristisch ist (z.B. Fibromyalgie, chronische Kopfschmerzen), d.h. bei einer Vortest-Wahrscheinlichkeit von <5%, ist der Ausschluss einer Borreliose als Erkrankungsursache aufgrund eines negativen Ergebnisses möglich. Ein positives Resultat erhöht jedoch die Nachtest-Wahrscheinlichkeit nicht über 50%.

Die Schätzung der Prävalenz einer klinisch vermuteten Diagnose ist im Einzelfall oft schwierig. Allein schon die Grössenordnung der Prävalenz dient der genaueren Formulierung der Fragestellung. Bei einer Prävalenz von >80% wird vorwiegend eine Bestätigung, d.h. ein hoher Aussagewert eines positiven Resultats erwartet. Bei einer Prävalenz von <20% steht der Ausschluss einer Diagnose im Vordergrund, weil der Aussagewert eines negativen Resultats besonders hoch ist. Bei einer Prävalenz zwischen 20 und 80% ist sowohl von einem positiven als auch einem negativen Resultat eine Entscheidungshilfe zu erwarten [3, 4]. Für die genauere Beurteilung von Analyseergebnissen werden Angaben über die Sensitivität und Spezifität der entsprechenden Methoden benötigt. Diese test-spezifischen Eigenschaften können auch als «likelihood ratio» je für positive und negative Ergebnisse ausgedrückt werden und dienen mit Hilfe eines Nomogramms der anschaulichen Darstellung individueller Beispiele [1, 5, <http://cebm.jr2.ox.ac.uk/docs/nomogram.html>]. Die Fragestellung beeinflusst oft nicht nur die **Interpretation** der Ergebnisse, sondern auch die Wahl der **am besten geeigneten Analytik** und des bevorzugten **Untersuchungsmaterials**. Screening-Untersuchungen oder der Ausschluss einer Infektion erfordern vor allem eine hohe Sensitivität. Analysen zur Bestätigung einer Diagnose oder eines reaktiven Suchtests, aber auch Immunitätsnachweise im Rahmen der Schwangerschaft, müssen vorwiegend eine hohe Spezifität aufweisen. Für epidemiolo-

Korrespondenz:
PD Dr. med. Lukas Matter
Institut Dr. Viollier
Spalenring 145/147
CH-4002 Basel

l.matter@viollier.ch

gische Untersuchungen sind dagegen die Anforderungen an die Testcharakteristiken oft weniger hoch (z.B. Speichel- oder Urintests für

HIV-Antikörper). Die Frage nach einer früher durchgemachten Infektion oder Immunisierung kann mit einem IgG-Nachweis beantwortet werden. Der Nachweis einer kürzlich erworbenen oder zur Zeit aktiven Infektion erfordert jedoch den Erregernachweis aus geeignetem Material, spezielle serologische Nachweisverfahren oder Verlaufsuntersuchungen (Tab. 1). Die Beurteilung der Prognose sowie der Indikation oder Wirksamkeit einer antiviralen Therapie basiert oft auf dem quantitativen Erregernachweis oder speziellen immunologischen Tests. Selbst einfache Angaben zur Fragestellung können den Aufwand im Bereich der Laboranalytik wesentlich vermindern. Für schwierigere differentialdiagnostische Fragen und eine massgeschneiderte Stufendiagnostik ist eine Besprechung zwischen klinischen und labormedizinischen Partnern empfehlenswert. So kann das Laborteam den Kliniker unterstützen, das Richtige im richtigen Zeitpunkt zu tun oder zu unterlassen.

Tabelle 1.
Infektdiagnose: Erregernachweis versus Serologie (ohne Immunitätsnachweis).

Infektion	Erregernachweis	Serologie
Hepatitis-A-Virus (HAV)	–	+++
Hepatitis-B-Virus (HBV)	+++	+++
Hepatitis-C-Virus (HCV)	++	+++
Hepatitis-D-Virus (HDV)	–	+++ (nur wenn HBV aktiv)
HIV	+	+++
Epstein-Barr-Virus (EBV)	+	+++
Cytomegalovirus (CMV)	+++	+ (I° Infektion)
Varicella-Zoster-Virus (VZV)	+++	+ (I° Infektion)
Herpes-simplex-Virus (HSV)	+++	+ (I° Infektion)
Röteln	+	+++
Masern	+	+++
Mumps	++	+++
Humanes Parvovirus B19	+	+++
Virale Zeckenzephalitis (FSME)	–	+++
<i>Coxiella burnetii</i>	–	+++
Rickettsien	–	+++
<i>Borrelia burgdorferi</i>	+	++
Syphilis	–	+++
Leptospiren	–	+++
<i>Chlamydia trachomatis</i>	+++	+
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	++	++ (Paarseren)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	++	++ (Paarseren)
<i>Bordetella pertussis</i>	+++	++ (Paarseren)
Legionellen	+++	+ (Paarseren)
Mykobakterien	+++	–
Adenoviren	+++	++ (Paarseren)
Influenzaviren, Parainfluenzaviren	+++ (früh)	++ (Paarseren)
Respiratory syncytial Virus (RSV)	+++ (früh)	++ (Paarseren)
Enteroviren	+++	+ (Paarseren)
Campylobacter	+++	+ (Komplikationen)
Salmonellen	+++	+ (Komplikationen)
Yersinien	+++	+ (Komplikationen)
Rotaviren	+++	–
<i>Giardia intestinalis (lamblia)</i>	+++	–
<i>Entamoeba histolytica</i>	+++	++
<i>Strep. pyogenes</i> (Gruppe-A-Strep.)	+++	++
Brucellen	+++	++
<i>Francisella tularensis</i> (Tularämie)	+++	++
Listerien	+++	–
Candida	+++	–
Aspergillen	++	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	+++	–
<i>Toxoplasma gondii</i>	+	+++

– nicht geeignet/verfügbar, + für spezielle Indikationen geeignet, ++ oft geeignet, +++ bevorzugtes Verfahren

Screening, diagnostischer Suchtest und Bestätigungstest

Weshalb wird ein negativer HIV-Suchtest ohne weitere Untersuchungen mitgeteilt, bei einem reaktiven Ergebnis dagegen ein **Bestätigungsverfahren** eingeleitet? Das mag auf den ersten Blick insbesondere bei den heutigen HIV-Antikörper-Nachweisen erstaunen, die bezüglich Sensitivität und Spezifität mit >99,5% hervorragende Eigenschaften aufweisen. Beim Screening, d.h. der Untersuchung von Gesunden (Blutspender, Schwangere), erwartet man meist negative Ergebnisse. Das Risiko eines falsch negativen Ergebnisses ist somit *a priori* nahezu Null. Gerade dieser überwiegende negative Anteil der untersuchten Population ergibt aber die falsch reaktiven Resultate. Bei der in den Schweizer Screeninglabors auf HIV untersuchten Population ist damit zu rechnen, dass etwa jedes dritte bis zehnte reaktive Resultat falsch reaktiv ist. Diese Überlegungen gelten für die gesamte Population der Untersuchten. Im Einzelfall muss der Arzt möglicherweise die Vortest-Wahrscheinlichkeit wesentlich höher einschätzen, z.B. wenn der klinische Verdacht auf eine akute primäre HIV-Infektion oder AIDS besteht oder wenn ein besonderes Expositionsrisiko vorliegt. In diesem Fall ist ein negatives Ergebnis des diagnostischen Suchtests nicht ohne weiteres glaubhaft und sollte frühestens nach einer Woche in einer neuen Blutprobe überprüft werden. Die Anforderungen an einen diagnostischen Suchtest sind nicht dieselben wie für einen Screeningtest, der in grossen Serien durchgeführt wird. Beiden ist gemeinsam, dass sie eine Diagnose mit grosser Sicherheit ausschliessen sollen.

Methoden, die zum Screening eingesetzt werden, müssen aber auch eine sehr gute Spezifität aufweisen, weil die Bestätigungsverfahren aufwendig sind.

Der **Immunoblot** oder Western Blot ist das wohl bekannteste serologische Bestätigungsverfahren v.a. bei HIV-, HCV- und Borrelien-Infektionen. Die differenzierte Beurteilung der Antikörper-Reaktivität gegen einzelne Komponenten des entsprechenden Erregers ermöglicht die Steigerung der Spezifität der Antikörper-Nachweise. Der grosse Aufwand und die Subjektivität der Ablesung verunmöglichen jedoch in den meisten Fällen den Einsatz als Ersttest. Bei klar reaktiven Ergebnissen von Suchtests wird zunehmend der Virusnachweis zur Bestätigung in einer frisch entnommenen Blutprobe eingesetzt [6].

Eine andere alltägliche Situation betrifft die Screening-Untersuchungen in der **Schwangerschaft**. Die Prävalenz einer in der Schwangerschaft erworbenen Toxoplasmose beträgt zurzeit in der Schweiz etwa 3 pro 1000 Schwangerschaften. Ein positiver IgM-Suchtest ist nur in wenigen Fällen wahr positiv im Sinn einer in den letzten Monaten erworbenen Infektion. Bevor invasivere Abklärungen oder eine Therapie mit unerwünschten Wirkungen in Kauf genommen werden, sind deshalb in jedem Fall bestätigende Untersuchungen, z.B. mit der IgG-Aviditätsbestimmung, durchzuführen [7]. Ähnliche Verhältnisse gelten für einen positiven Röteln-IgM-Test, der potentiell tödliche Folgen hat und deshalb sehr sorgfältig überprüft werden muss.

Erregernachweis versus Antikörper-Nachweis

Sowohl **Erregernachweis** als auch **Antikörper-Nachweis** weisen Stärken und Schwächen auf. Der Erregernachweis vermittelt meist zuverlässigere Information über eine zum Zeitpunkt der Untersuchung vorliegende Infektion. Er ermöglicht oft die Quantifizierung als Ausdruck der Replikationsrate sowie die Typisierung und Resistenzprüfung gegen antimikrobielle Substanzen. Die Probengewinnung ist teilweise schwierig, und der Transport ins Labor kompliziert und kritisch, was davon abschrecken mag, das Richtige zu tun. Die Vielfalt der verfügbaren Techniken ist ausserdem verwirrend. Der Antikörper-Nachweis ist aus einfach zu gewinnendem Probenmaterial für ein breites Spektrum von Infektionserregern möglich. Dies verleitet leicht dazu, den Erregernachweis zu vernachlässigen, selbst wenn ihm klar der Vorzug zu geben wäre. Musterbeispiel dafür ist die Diagnostik von Herpes-simplex- und Varicella-Zoster-Virus-Infektionen. Für manche Infektionen steht aber der Antikörper-Nachweis im Vordergrund (Tab. 1). Er erlaubt die Diagnose auch in einem subakuten Stadium, wenn der Erregernachweis nicht mehr möglich ist. Der Antikörper-Nachweis dient zudem zur **Immunitätsabklärung** oder als Erfolgskontrolle nach Impfungen.

Technische Unsicherheiten sollten nicht über die Abklärung entscheiden. Im Zweifelsfall lohnt sich eine Besprechung mit dem Labor zur Planung des Vorgehens. Die technische Entwicklung ist so schnell, dass es für den Ausenstehenden kaum möglich ist, in allen Bereichen *à jour* zu sein! Für den optimalen Einsatz der verfügbaren Techniken ist eine gut formulierte **Fragestellung** und Charakterisierung des klinischen Problems wichtig – auch im Interesse der Wirtschaftlichkeit.

Dem **Erregernachweis** gebührt grundsätzlich der Vorrang, wenn es darum geht, eine aktive (frisch erworbene, persistierende oder reaktivierte) Infektion nachzuweisen. Einige Punkte sind dabei für den Erfolg ausschlaggebend:

Welches Material?

- Erregernachweis möglichst vom Ort des pathologischen Prozesses! Die Empfindlichkeit hängt von der Menge des Untersuchungsmaterials ab.
- Biopsiematerial ist ergiebiger als Punktat oder gar bloss ein Abstrich.
- Keine Fixation (z.B. Formalin)!
- Die korrekte Bezeichnung des Probenmaterials sowie die Angabe von Entnahmedatum und -zeit sind für eine zufriedenstellende Untersuchung essentiell.

Tabelle 2.
Einsatz der Nukleinsäureamplifikationstests in der Infektdiagnostik.

Atemwegsinfektion (akut)	Respiratorische Viren: Adeno-, Influenza-, Parainfluenzaviren, RSV
Atemwegsinfektion (akut-subakut, rezidivierend)	<i>Bordetella pertussis</i> & <i>parapertussis</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Arthritis	<i>Borrelia burgdorferi</i> (bei atypischem Immunoblot)
Konnatale Infektion/Fruchtwasser	CMV Rubellavirus <i>Toxoplasma gondii</i>
Meningo-Enzephalitis	Enteroviren HSV-1, HSV-2, VZV Mumpsvirus <i>Borrelia burgdorferi</i> (bei neg. Antikörper-Liquor/Serum-Index)
Urogenitale Infektion	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Vesikulöses Exanthem	HSV-1, HSV-2, VZV Enteroviren

Welches Transportmedium?

Es ist empfehlenswert, die Transportmedien des labormedizinischen Partners zu verwenden und diesen bei heiklen Materialien vor der Entnahme bzw. dem Transport anzufragen. Allgemein gilt:

- Biopsien aus nicht besiedeltem Gebiet: nur wenn Austrocknen droht, wenig sterile 0,9% NaCl-Lösung beigegeben.
- Blut: spezielle Blutkulturmedien für Bakterien und Pilze (Blutkulturflaschen aerob und anaerob), Zitrat- oder Heparinblut für Mykobakterien, EDTA-Blut für Viren und PCR.
- Punktate, Flüssigkeiten ohne Zusatz in sterilem Gefäss: «Tempo geht vor Transportmedium»; für kleine Volumina abgestöpselte Spritze (ohne Kanüle) möglichst ohne Luft einsenden. Für den Nachweis von anaeroben Bakterien sind entsprechende Transportmedien zu verwenden.
- Alle Abstriche in Transportmedien für Bakteriologie bzw. für PCR/Viren/Chlamydien (Ausstriche für Gram-Präparate usw. können direkt anfertigt werden).

- Urin in Borsäure [8].
- Stuhl nativ ausser für Parasiten (SAF) und für Stuhlbakteriologie (Cary-Blair).

Was suchen?

- Kultur von Material aus kolonisierten Regionen: gezielt Pathogene suchen (z.B. *Strep. pyogenes*, *Strep. agalactiae*/GBS, Legionellen, *M. tuberculosis*, Durchfallerreger), evtl. nur Mikroskopie/«Chemie» (z.B. bakterielle Vaginose, Plaut-Vincent-Angina, Sputum).
- Kultur von Material aus nicht kolonisiertem Gebiet: alle Mikroorganismen sind potentiell relevant.

Der Erregernachweis erfolgt zunehmend mittels Nukleinsäureamplifikationstests anstelle der klassischen kulturellen Verfahren. Einige sinnvolle Indikationen dafür sind in Tabelle 2 zusammengestellt. In diesem Bereich der Infektdiagnostik sind in den nächsten Jahren rasche Veränderungen zu erwarten.

Beim **diagnostischen Antikörper-Nachweis («Serologie»)** handelt es sich um ein indirektes Verfahren der Infektdiagnostik, das auf der Reaktion des Wirtsorganismus als Indikator beruht. Die Bestimmung des Zeitpunkts bzw. des Stadiums einer Infektion ist in vielen Fällen vom Nachweis einer evolutiven Immunantwort abhängig. Die Sicherstellung einer Serumprobe möglichst früh im Krankheitsverlauf (sog. **Nullserum**) ist deshalb sehr zu empfehlen. Für allfällige spätere Untersuchungen (zusammen mit einem Konvaleszenz-Serum) kann sie in einem sterilen Röhrchen mehrere Wochen bei +4 °C oder gefroren aufbewahrt werden. «Verzweiflungsserologien» in einer frühen Krankheitsphase helfen kaum weiter!

Neuere Techniken zielen darauf ab, selbst aus einer früh im Krankheitsverlauf entnommenen Serumprobe eine eindeutige Infektdiagnose stellen zu können. Erregerspezifische IgM oder IgA erlauben bei ausgewählten Infektionen die Diagnose einer kürzlich erworbenen Infektion. Dies trifft überwiegend für virale und «atypische» bakterielle Infektionen zu (Tab. 1). Diese idealerweise nur wenige Monate dauernde Phase der Immunantwort erstreckt sich jedoch in einzelnen Fällen oder bei gewissen Infektionen regelmässig über eine längere Periode und kann sogar Jahre persistieren. In selteneren Fällen führt eine polyklonale B-Zell-Stimulation etwa infolge einer EBV-Infektion oder einer Autoimmunkrankheit zu multiplen IgM-Reaktivitäten. Deshalb ist der Einbezug des klinischen Bildes bei der Beurteilung der Resultate hilfreich, und in manchen Fällen erlauben nur der Erregernachweis oder eine Verlaufsbeobachtung eine schlüssige Interpretation.

Quintessenz

- Eine konkrete Fragestellung erleichtert die Wahl der am besten geeigneten Analysen, deren angemessene Interpretation und ein wirtschaftliches Vorgehen.
- Bei geringer Vortest-Wahrscheinlichkeit (<10%) ist der Aussagewert positiver Ergebnisse gering; diese bedürfen der Bestätigung durch entsprechende Analysen oder andere Kriterien.
- Bei hoher Vortest-Wahrscheinlichkeit sind negative Ergebnisse zu überprüfen.
- Der Erregernachweis sollte in der Infektdiagnostik wenn möglich den Vorrang haben.
- Für den Erregernachweis ist Untersuchungsmaterial möglichst vom Ort des pathologischen Prozesses am ergiebigsten.
- Bei Unsicherheiten bezüglich Entnahme und Transport lohnt sich die Rücksprache mit dem Labor.
- Nukleinsäureamplifikationstests gewinnen laufend an Bedeutung und müssen besonders kritisch beurteilt werden.
- Beim indirekten Infektnachweis muss die erregerabhängige Kinetik der Immunantwort berücksichtigt werden.
- Die Sicherstellung einer Serumprobe früh im Krankheitsverlauf für spätere Analysen («Nullserum») steigert den Aussagewert zahlreicher serologischer Analysen.
- Für Antikörper-Nachweise gelten keine Referenzwerte im üblichen Sinn: je nach Exposition, Immunkompetenz und immunologischer Erfahrung können alle Werte normal oder abnorm sein. Unterschiedliche Nachweisgrenzen beeinflussen die Interpretation der Ergebnisse.

Mit **Avidität** wird eine qualitative Eigenschaft der IgG bezeichnet, die die Bindungsstärke zwischen den IgG und einem Antigen mit verschiedenen Epitopen charakterisiert. Die Avidität ist Ausdruck der Reifung der Immunantwort und erlaubt eine Abschätzung des Zeitfensters, in dem die Infektion erworben wurde. Diese Technik wird vor allem als Zusatzuntersuchung bei positiven IgM-Suchtests im ersten Trimenon der Schwangerschaft eingesetzt [7]. Weder der isotypenspezifische Antikörper-Nachweis noch die Aviditätsbestimmung erlauben eine Unterscheidung zwischen natürlich erworbener und Impfmunisierung, so dass ohne diese Information das Risiko einer Fehlinterpretation besteht. Nur nach einer Pertussis-Impfung bleibt im Gegensatz zur natürlich

erworbenen Infektion ein Anstieg der spezifischen IgA aus, womit die Unterscheidung zwischen Infektion und Impfung möglich wird, und nach einer Hepatitis-B-Impfung sind nur Anti-HBs-Antikörper nachweisbar.

Die Resultate eines Antikörper-Nachweises sind nicht mit solchen der klinischen Chemie vergleichbar: es gibt keine analogen «**Referenzwerte**». Je nach immunologischer Erfahrung und Kompetenz sowie Exposition und Zeitpunkt im Geschehen zwischen Infektionserreger und Wirtsorganismus kann jedes Resultat sowohl normal als auch abnorm sein. Gegebenenfalls ist die Kenntnis der Nachweisgrenze oder des Grenzwerts für den Immunitätsnachweis nützlich.

Literatur

- 1 Speich R. Der diagnostische Prozess in der Inneren Medizin: Entscheidungsanalyse oder Intuition? Schweiz Med Wochenschr 1997;127:1263-79.
- 2 Glenck U, Pewsner D, Bucher HC. Evidence-based Medicine: Wie beurteile ich eine Studie zu einem diagnostischen Test? Swiss Med Forum 2001;1(9):213-20.
- 3 Tugwell P, Dennis DT, Weinstein A, Wells G, Nichol G, Shea B, et al. Guidelines for laboratory evaluation in the diagnosis of Lyme-disease. Ann Intern Med 1997;127:1106-8.
- 4 Tugwell P, Dennis DT, Weinstein A, Wells G, Shea B, Nichol G, et al. Laboratory evaluation in the diagnosis of Lyme-disease. Ann Intern Med 1997;127:1109-23.
- 5 Fierz W. Basic Problems of serological laboratory diagnosis. Methods in Molecular Medicine 1999;13:443-71.
- 6 Erb P, Matter L. HIV-Diagnostik 1998. Ther Umschau 1998;55:279-84.
- 7 Suter BJ, Blatter S, Bittar M, Viollier EH. Toxoplasmose-IgG-Avidität: welchen Schwellenwert hat sie in der Schwangerschaft? Schweiz Med Wochenschr 1999;129:1938-41.
- 8 Schmidli J, Heinzer I. Chemical preservation of urine for bacteriology (the urine culture kit) - an alternative to the dip slide method. Schweiz Med Wochenschr 1982;112:1462-8.