

# Die Labordiagnose der Viruspneumonie\*

## The laboratory diagnosis of virus pneumonia

H. W. Doerr<sup>1</sup>, G. Maass<sup>2</sup>, H. Rabenau<sup>1</sup>, S. Zielen<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zentrum der Hygiene des Universitätsklinikums Frankfurt/Main, Abt. für Med. Virologie

<sup>2</sup> Hygienisch-bakteriologisches Landesuntersuchungsamt Westfalen/Münster

<sup>3</sup> Zentrum der Kinderheilkunde des Universitätsklinikums Frankfurt/Main, Abt. für Allg. Pädiatrie

### Zusammenfassung:

Die Einteilung der Pneumonien richtet sich neben klinischen und pathologischen vor allem nach ätiologischen Gesichtspunkten. Es werden diesbezüglich die respirato- bzw. pneumotropen Viren vorgestellt, daneben differentialdiagnostisch wichtige andere Infektionserreger der „Viruspneumonie“ (*M. pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*) beschrieben und ihre klinischen Aspekte, labordiagnostischen Möglichkeiten sowie die Aussagekraft der verschiedenen Nachweisverfahren diskutiert. Die Letalität der primär virusbedingten Pneumonien ist zwar niedrig, der respiratorische Virusbefall kann aber Schrittmacher für schwere bakterielle Superinfektionen sein.

### Schlüsselwörter:

Respiratorische Infekte – Viruspneumonien – Erregernachweis – Epidemiologie – Labordiagnostik

### Summary:

The classification of pneumonia depends on clinical, pathologic and etiological aspects. Besides respiratory and pneumotropic viruses other relevant pathogens for differential diagnosis were described (*M. pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*). In addition, the clinical aspects, the laboratory diagnostics and the efficiency of different test systems were discussed. In general the lethality of virus-induced pneumonia is low. Viral infection, however, may be a promotor for hazardous bacterial superinfections.

### Keywords:

respiratory infections – virus pneumonia – demonstration of the infectious agent – epidemiology – laboratory diagnostic

## Einleitung

Unter den Eintrittspforten des Organismus für Infektionen nimmt der Respirationstrakt die bevorzugte Stellung ein. Die Erkrankungen der Atemwege belegen den Spitzenplatz in der Volksmorbidity. Gewöhnlich handelt es sich um eine banale Erkältung als Folge der Infektion des oberen und mittleren Respirationstraktes. Das Lungengewebe ist vergleichsweise selten betroffen. Dennoch weist die amtliche Todesursachenstatistik eine beachtliche Mortalität der Pneumonie aus (Tab. 1). Die Rolle der Vi-

rusinfektion ist dabei gewöhnlich als Schrittmacher für einen bakteriellen Lungenbefall zu sehen, während die primäre Viruspneumonie nur selten letal verläuft.

## Einteilung der Pneumonien nach allgemein-diagnostischen Gesichtspunkten

Die Einteilung der Pneumonien richtet sich nach klinischen, pathologischen und ätiologischen Gesichtspunkten (Tab. 2). Der behandelnde Arzt unterscheidet die Symptomatik einer „typischen“ von einer „atypischen“ bzw. untypisch beginnenden („primär atypischen“) Lungenzündung (1). Die typische Erkrankung beginnt schlagartig mit hohem Fieber und Schüttelfrost, Dyspnoe, Husten und rostfarbenem Auswurf. Subjektiv besteht starkes Krankheitsgefühl. Das klinische Labor weist eine stark erhöhte Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) und eine deutliche Leukozytose im Differentialblutbild auf. Diese Erkrankungsform wird vorwiegend von Bakterien verursacht: Bei der Obduktion findet der Pathologe einen lobären Befall der Lunge, der bereits röntgenologisch erkennbar gewesen ist. Histologisch besteht eine alveoläre leukozytäre Infiltration.

Tab. 1: Mortalität der Pneumonie in der BRD 1986 (Statistisches Bundesamt, Wiesbaden)

Diagnose	Lebensalter in Jahren				Σ
	<1	1–15	16–60	61–75	
Pneumonie	35	59	724	2619	3437
Viruspneumonie	3	–	13	20	36
Grippe	3	4	50	119	176

\* Vortrag im Rahmen der „Frankfurter diagnostisch-klinischen Gespräche“ (1989).

Die (primär) atypische Pneumonie beginnt mit einem mehr oder minder ausgeprägten Prodromalstadium in Folge einer den Respirationstrakt absteigenden Infektion. Im Anfangsstadium ist das klinische Bild mitunter wenig beeindruckend: Husteln, Fieber ohne Schüttelfrost, Kopfschmerzen, relative Bradykardie, Mattigkeit. Der physikalische Lungenbefund ist unauffällig. Es besteht eine mäßig erhöhte BSG, im Differentialblutbild eine Granulozytopenie und Lymphozytose. Dieser Erkrankungsform, die vorwiegend von Mykoplasmen und Viren verursacht wird, bezeichnet man pauschal als „Viruspneumonie“ obwohl noch andere Mikroben, z. B. Pilze und Protozoen eine ätiologische Rolle spielen und umgekehrt einige Virusinfektionen auch einen fulminanten Verlauf nehmen können. Der Pathologe findet einen bronchogenlobulären Befall der Lunge, der sich im Röntgenbild als streifige Lungenzeichnung bemerkbar gemacht hat. Histologisch besteht eine interstitielle mononukleäre (plasmazelluläre) Infiltration.

Eine Sonderstellung nimmt die Pneumonie des Säuglings ein, die prognostisch weniger günstig als diejenige des älteren Kindes und Erwachsenen ist. Bis zum dritten Lebensmonat sind disseminierte (dystelektatische), danach lobuläre, jenseits des ersten Lebensjahres lobäre Pneumonien gefürchtet.

### Einteilung der Viruspneumonien und spezielle Labordiagnostik

Der Respirationstrakt von Mensch und Tier wird von einer Fülle von Viren mit und ohne Krankheitsfolge infiziert. Hierzu sollen in diesem Zusammenhang auch bestimmte sehr kleine, z. T. obligat zellparasitäre Bakterien gerechnet werden, deren Untersuchung aus historischen und technischen Gründen vielfach der Virologie übernimmt. Es handelt sich um Mykoplasmen, Chlamydien und die Rickettsienart *Coxiella burnetii*. Beim älteren Kind und Erwachsenen sind die meisten Virusinfektionen der

Tab. 2: Einteilung der Pneumonien

allgemein-diagnostische Merkmale		
Klinik:	„typisch“: akuter Beginn mit Schüttelfrost, Dyspnoe, hohes Fieber, BSG + + +, BB: Leukozytose, Rö: Verschattung, Auskultationsgeräusche	(primär) „atypisch“: respirat. Prodromi, Kopfschmerzen, Fieber mit relativer Bradykardie, BSG +, BB: Granulozytopenie, relative Lymphozytose, Rö: streifige Infiltration
Sonderstellung der Säuglingspneumonie		
Pathologie:	makro: lobärer Befall mikro: alveoläre leukozytäre Infiltration	makro: bronchogenlobulärer Befall mikro: interstitielle, mononukleäre (plasmazelluläre) Infiltration
Ätiologie:	Infektion mit Bakterien — Pilzen — Protozoen — Viren/Kleinbakterien (Mykopl. pn., Chlamydia psittaci, Coxiella burnetii) Resistenz, Immunstatus?	

Atemwege nicht primär pneumotrop, sondern viel häufiger Schrittmacher einer bakteriellen Besiedlung der Lunge. Für die Pathogenese sind neben der Virulenz des Erregers, der Immunstatus und die allgemeine Resistenz des Wirtsorganismus maßgeblich. Zu letzterem gehört auch die Intaktheit der Haut- und Schleimhautbarriere, die einem altersgemäßen Verschleiß unterliegt. Tab. 3 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse jüngerer Studien zur Verteilung des viralen Erregerspektrums bei Patienten mit Pneumonie im Kindes- und Erwachsenenalter. In Abb. 1 sind Daten aus dem Landesuntersuchungsamt Westfalen zusammengestellt, aus welchen hervorgeht, daß vor allem Kinder und Jugendliche von respiratotropen Virusinfekten betroffen sind.

Tab. 3: Verteilung des viralen Erregerspektrums bei Patienten mit Pneumonie

Studie	Altersgruppe	Fallzahl	Erregernachweis insges.	Mykopl. pneum.	Chlamy. psittaci
Murphy et al. (21)	Kinder (0–15 J.)	1483	361 24%	106 7%	ND
Woodhead et al. (22)	Erwachsene	236	37 15%	3 1%	3 1%
Mc Farkane et al. (23)	Erwachsene	1162	320 27,5%	105 9%	23 2%

Infl. A-virus	Infl. B-virus	RSV	Adenovirus	Parainfl.-Virus			CMV	Rhinovirus	Enterovirus
				1	2	3			
12 1%	14 1%	92 6%	25 2%	41 3%	7 0,5%	35 2%	ND	8 0,5%	21 1,5%
14 6%	5 2%	5 2%	5 2%		1 0,5%		1 0,5%	ND	ND
93 8%				Andere Viren 99 8,5%					

Die Prinzipien der virologischen Laboratoriumsdiagnostik sind in Tab. 4 zusammengestellt. Ihre Effizienz steht und fällt mit einer eingespielten Kooperation zwischen dem Arzt in Klinik und Praxis einerseits und dem Virologen andererseits. Dabei fällt dem Arzt die korrekte Entnahme und Versendung des Untersuchungsmaterials zu, während der Virologe das adäquate Testsystem unter Berücksichtigung der klinischen Angaben anbieten muß (2). Im folgenden sollen diesbezüglich die wichtigsten Infektionserreger der „Viruspneumonie“ besprochen werden.

Tab. 4: Laboratoriumsuntersuchungen bei Verdacht auf Pneumonie

klinisches Labor	BB: (Differential-), BSG, Zytologie
Virologie:	Erregeranzüchtung auf Brutei und Zellkulturen, Antigentest, DNA/RNA-Sonden, Antikörpertest
Immunologie:	Kälteagglutinine, Hanganatziu-Deicher-Reaktion

### Mykoplasmen, Chlamydien, Rickettsien

Ein Großteil der „Viruspneumonie“ wird von Mykoplasmen, spezielle dem *Mykoplasma pneumoniae*, verursacht (3). Die Erregeranzüchtung auf Spezialagar oder in Spezialbouillon mit Steroidzusatz ist unter Stickstoffbegasung möglich. Allerdings sind Resultate erst 2–3 Wochen nach der Materialeinsendung (in Transportmedium bei Raumtemperatur) zu erwarten. Auch die Serologie wird häufig erst 2–3 Wochen nach Krankheitsbeginn fündig (Tab. 5). Die einfachste und am besten eingeführte Methode ist nach wie vor die Komplementbindungsreaktion (KBR), wobei Titerwerte ab 1:20 als epidemiologisch auffällig, darüber hinaus je nach laborinterner Testeinstellung als mehr oder minder starker Hinweis auf eine frische Infektion gewertet werden (4). Infektionsbeweisend ist der mindestens vierfache („signifikante“) An-

tikörpertiteranstieg in zwei getrennten Blutproben. Andere Verfahren sind der Immunfluoreszenztest und der Enzymimmunoassay, die den Antikörnernachweis in der IgM-Klasse ermöglichen. Unserer Erfahrung nach ergeben sich damit jedoch kaum Vorteile gegenüber der KBR. Die Messung der Kälteagglutinine bringt ebenfalls einen Hinweis auf eine Mykoplasmeninfektion; allerdings sind diese Antikörper nicht erregerspezifisch. Wie dem spezifischen IgM kommt ihnen eher eine Bedeutung als Verlaufsmarker zu, da die komplementbindenden Antikörper auch nach Abheilung der Krankheit wochen- bis monatelang persistieren (4).

Die Messung der IgG-Antikörper mit einem Immunoassay in der ersten Blutprobe ist wegen der hohen Populationsdurchseuchung mit *Mykoplasma pneumoniae* von limitiertem Wert (5). Am Rande sei erwähnt, daß die eine

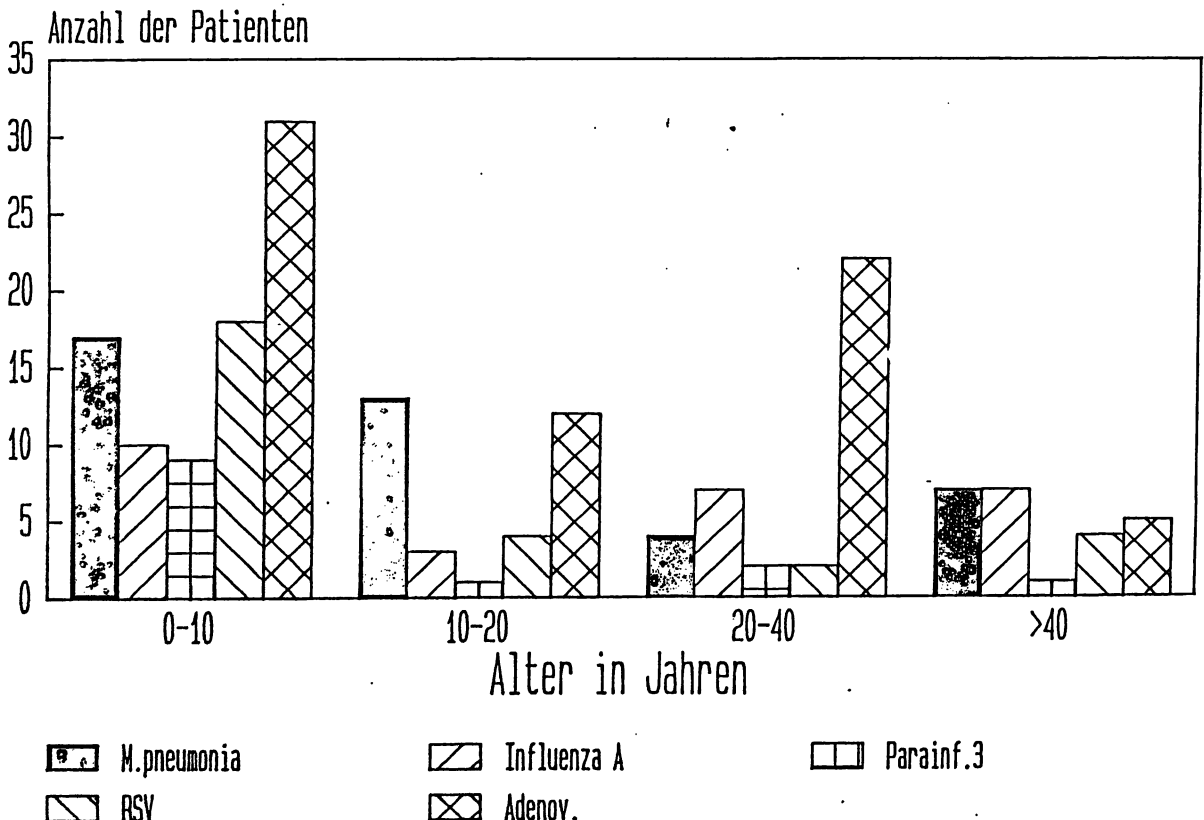


Abb. 1: Altersverteilung bei 179 Patienten mit respiratorischen Infekten. Auswertung des Landesuntersuchungsamtes Westfalen/Münster (1988)

nicht-gonorrhöische Urethritis (NGU) verursachenden Mykoplasmeninfektionen serologisch i. a. nicht erfaßt werden. Hier ist die Erregeranzüchtung die Methode der Wahl, solange ein Antigentest oder eine DNA-Sonde noch nicht verfügbar sind.

Die Chlamydia psittaci ist der Erreger einer meldepflichtigen zoonotischen Lungeninfektion, die von Vögeln (Papageien, Wellensittichen) auf den Menschen übertragen werden kann. Das Krankheitsbild ist allerdings durch die seuchenhygienischen Maßnahmen der Veterinäre und der Gesundheitsbehörden bei uns selten geworden. Der Gang der Untersuchungen entspricht dem der Mykoplasmen. Die zeit- und arbeitsaufwendige Erregerisolierung gelingt mit Zellkulturen, Versuchstieren und Hühnereiern.

Die Serologie verwendet ein gruppenspezifisches Antigen, das auch von den humanadaptierten NGU-Chlamydien (der Gruppe Chlamydia trachomatis) exprimiert wird. Bei diesen Erregern spielt der Antigennachweis die Hauptrolle in der screening-Diagnostik. Chlamydien-spezifische IgG-Antikörper finden sich in Blutproben Erwachsener (20–30 Jahre) zu ca. 25% (6).

Die Coxiella burnetii ist der Erreger einer in der Eifel und in Süddeutschland endemischen Anthroozoonose mit klinisch und röntgenologisch sehr typischen Pneumonie-verlauf: Q-Fieber (7). Es handelt sich um eine Sonderform der obligat zellparasitären Rickettsien, die außerhalb des Wirtsorganismus bei trockenem Klima sehr umweltresistent ist.

Über den Kot der Schafszecke (Dermacentor marginatus) kommt es zur Infektion und Kontamination von Haustieren (Schafen, Kühe). Die Übertragung auf den Menschen geschieht durch den Genuß von tierischen Produkten (Milch) und durch Staubinhalation vor allem in der Lebensmittelindustrie (Schlachthöfe). Das Q-Fieber ist heute überwiegend nur noch eine Berufskrankheit der Veterinäre und des Schlachthofpersonals. Die Krankheit ist meldepflichtig im Sinne des Bundesseuchengesetzes.

Die Labordiagnostik entspricht derjenigen der Mykoplasmen und Chlamydien. Bei fehlender Volksdurchseuchung ist jeder Antikörpertiter in der KBR auffällig; ab 1:20 ein Hinweis auf eine frische Infektion. Nach Abhei-

lung der Krankheit fallen die Antikörpertiter innerhalb von Wochen auf Restwerte von 1:5 und 1:10 ab, die als Serumnarbe jahrelang persistieren können (4). Neben der KBR wurden auch Enzymimmunoassays entwickelt, die den Ig-(Sub)klassenspezifischen Antikörpernachweis ermöglichen und vor allem in der Veterinärmikrobiologie eingesetzt werden (8). Chronische Infektionsverläufe des Q-Fiebers sind beim Menschen selten (unsachgemäße Therapie) und können durch erhöhte KBR-Titer und spezifischen IgM-Nachweis diagnostiziert werden (4, 7) (Tab. 5).

## Influenza-, Parainfluenza- und Respiratory-Syncytial-Virus

Die Pathogenese der Influenzavirusinfektion ist mit molekularbiologischen Methoden sehr genau untersucht worden (9). Die unkomplizierte Influenza, die als Wintergrippe vom Dezember bis April gehäuft auftritt (10), ist eine Tracheobronchitis mit hohem Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen, deren Ausheilung durch kapillartoxische Wirkungen der Virämie mit der Folge von Kreislaufregulationsstörungen und Neuralgien besonders bei älteren Menschen beeinträchtigt wird. Absteigende bakterielle Superinfektionen sind für eine Letalität von 1–3% dieses zweiphasigen Krankheitsverlaufes verantwortlich. Die primär pneumotrope Infektion ist durch eine gefährliche Verschleimung der Atemwege gekennzeichnet, die den idealen Nährboden für eine bakterielle Besiedlung liefert. Umgekehrt vermag die enzymatische Aktivität bestimmter Bakterien die Influenzavirusinfektion der Schleimhautzellen zu begünstigen (9). Die fulminante Pneumonie kann innerhalb von wenigen Tagen zum Tode führen. Außerhalb von Epidemiewellen sind solche Verläufe selten. Die Influenzaviren werden in drei Typen eingeteilt (A, B und C). Während Influenza C-Viren bei uns keine wichtige Rolle spielen, ist epidemiologisch die Influenza A-Virusinfektion besonders problematisch.

Durch ein breites Wirtsspektrum sowie ein segmentiertes Genom kommt es zur Neubildung von Rekombinanten mit für den Menschen neuer Suszeptibilität und Pathogenität, die auf der Zellmembran-Interaktion der in der Vi-

Tab. 5: Laboratoriumsuntersuchungen zum Nachweis einer Infektion mit Mykoplasma pneumoniae, Chlamydia psittaci, Coxiella burnetii (Q-Fieber-Agens)

	Untersuchungsmaterial		Testmethode	Zeitaufwand zur Befunderstellung und Materialeingang	Befundbewertung
	a) Entnahme	b) Transport			
Erreger-nachweis	Rachenspülwasser, Sputum, Auswurf	ohne Zusätze, bei RT	Antigentest nur bei Chlamydien	Stunden	Infektionshinweis
			Zellkulturen, Versuchstiere; nur bei Mykopl.: Spezialagar/Bouillon	2–3 Wochen	Infektionsbeweis
Infektions-serologie	Nativblut, Serum	keine Konservierung	KBR, ELISA, IFT, IHA	24 Std.	Hoher Ak-Titer: Verdacht, IgM-Ak: Hinweis, 4facher Ak-Titeranstieg: Beweis einer Infektion. Kein Ak-Titerabfall nach 3–4 Mon., IgM-Persistenz: chronische Infektion

rushülle lokalisierten, den Subtyp determinierenden Hämagglutinin- und Neuraminidase-Antigene beruht. Neben einem solchen „shift“ bewirkt eine hohe Mutationsrate in den entsprechenden Genomsegmenten unter dem Selektionsdruck der Populationsimmunität eine fortlaufende Antigendrift, so daß in der heranwachsenden Bevölkerung ständig partielle Immunitätslücken aufklaffen, die durch Impfkampagnen gegen den jeweiligen Subtyp zu schließen sind. Letzteres gilt auch für das humanspezifische Influenza B-Virus.

Epidemiologisch weniger problematisch sind die Infektionen der Parainfluenzaviren mit den Typen 1, 2 und 3. Der Typ 4 ist bei uns nicht verbreitet. Das Respiratory-Syncytial-Virus verursacht besonders in den Wintermonaten November bis April Atemwegsinfektionen bei Säuglingen. Pneumonien entstehen bei schlechtem Allgemeinzustand und Ernährungszustand, so daß diese Virusinfektion in Slums eine große Rolle spielt.

Dem virusspezifischen Antigennachweis kommt die Bedeutung der Frühdiagnostik zu (Tab. 6a). Für die Immun-

fluoreszenz ist die Gewinnung noch intakter Zellen erforderlich (als Aspirat aus dem Nasen-Rachen-Raum). Die Präparation des Abstriches und seine Fixation auf dem Objektträger sollte am besten durch den behandelnden Arzt vorgenommen werden. Die Untersuchungsprobe kann dann ohne Qualitätseinbuße versandt werden. Anderenfalls ist der Enzymimmunoassay vorzuziehen, da das aus dem Wattetupfer in das Transportmedium diffundierte Virusantigen noch relativ lange stabil bleibt. Die Zuverlässigkeit der Tests hat durch die Entwicklung monoklonaler „tracer“-Antikörper gegen verschiedene Strukturproteine der Viren wesentlich zugenommen.

Für die zeitaufwendige Virusisolierung ist das Untersuchungsmaterial zu kühlen (Kühlbox mit 4°C) oder einzufrieren (bei -70°C). In der Regel geben sich die Influenzaviren nicht durch einen zytopathologischen Effekt zu erkennen, während dies bei Parainfluenza-2- und Respiratory-Syncytial-Viren die Labordiagnostik sehr erleichtert. In jedem Fall muß die Virusproduktion mit einem Hämagglutinationshemm- oder Hämadsorptionstest

Tab. 6a: Laboratoriumsuntersuchungen zum Nachweis respiratorischer Virusinfektionen

Virus	Virusanzucht		Antigen- direktnachweis	Infektions- serologie
	auf	Materialentnahme/ Transport		
Influenza A	Hühnereier <sup>a</sup> , primäre und KZK vom Affen <sup>a</sup> , Huhn <sup>a</sup> , Rind <sup>a</sup> , Hamster <sup>b</sup> , Schwein <sup>b</sup> , Hund <sup>b</sup> , Mensch <sup>b</sup> (Anzucht bei 33°C)	Rachen- und Nasenabstriche bzw. Spülungen (im frühen Infektionsstadium) Transport: Tryptose-Phosphat-Puffer mit 0,5% Gelatine. Lagerung: bis 4 Tage bei 4°C, länger als 4 Tage bei -70°C	IFT, ELISA	KBR, HHT, ELISA, IFT, NT <sup>b</sup>
Influenza B	MK <sup>a</sup> , KZK vom Rind und Huhn, Hühnereier <sup>b</sup>	siehe bei Influenza A	IFT, ELISA	KBR, HHT, ELISA, IFT, NT <sup>b</sup>
Parainfluenza Typ 1, 2, 3	PMK <sup>a</sup> , HDF <sup>b</sup> , MK <sup>b</sup> , KZK von Mensch <sup>b</sup> (Anzucht bei 33°-36°C)	Rachen- und Nasenabstriche Transport: HBSS mit 0,5% Gelatine Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -70°C	IFT, ELISA, EM	KBR, HHT, ELISA, NT
Respiratory-Syncytial-Virus	HDF, KZK von Mensch	Rachen- und Nasenabstriche (optimal 3-7 Tage <sup>a</sup> bzw. 37 Tage <sup>b</sup> p.i.) Transport: HBSS mit 0,5% Gelatine Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -70°C	IFT, ELISA, EM	KBR, ELISA, NT
Adenoviren Typ 1-5, 7, 21	KZK von Mensch <sup>a</sup> , primäre ZK vom Mensch <sup>a</sup> , PMK <sup>b</sup> , HDF <sup>b</sup>	Rachen- und Nasenabstriche bzw. -spülungen, Konjunktival- und Rektalabstriche, Urin, Blut: Transport: HBSS mit 0,5% Gelatine Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -70°C	IFT, ELISA, EM, Latex-Agglutinationstest	KBR, HHT, ELISA, NT, passive Hämagglutination

<sup>a</sup> = gut geeignet.

<sup>b</sup> = weniger geeignet.

Mk = Monkey kidney cells.

KZK = Kontinuierliche Zellkulturen.

HDF = Humane Diploide Fibroblasten.

PMK = Primäre Affenierenzellen.

HBSS = Hanks balanced salt solution.

IFT = Immunfluoreszenztest.

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay.

EM = Elektronenmikroskopie.

NT = Neutralisationstest.

KBR = Komplementbindungsreaktion.

HHT = Hämagglutinationstest.

überprüft werden. Auf diesem Wege gelingt auch die epidemiologisch wichtige Virustyp- und -subtypbestimmung, die im Vorfeld der Diagnostik zu bedenken ist (10).

Die Infektionsserologie verwendet meistens die Komplexbindungsreaktion oder den Hämagglutinationshemmtest (11). Der Antikörperanstieg erfolgt oft erst in der zweiten Krankheitswoche. Je nach eingesetztem Virusstrukturantigen (Nukleoprotein = S-Antigen in der KBR, Hüllprotein = V-Antigen in KBR und HHT) besteht eine Typ- bzw. Subtypspezifität des Tests. Infektionsbeweisend ist auch die Messung des spezifischen IgA im Nasensekret und bei höherem Titerwert in Blutproben. Letzteres gilt als dem IgM-Test überlegen.

viren mit über 40 humanspezifischen Typen infizieren den Respirations- und Gastrointestinaltrakt sowie Binde- und Hornhaut des Auges mit oder ohne Krankheitsfolge zu meist in mehr oder minder großen Epidemiewellen, oft in geschlossenen Einrichtungen (Heime, Kasernen, Arztpraxen). Die Infektion der Atemwege bleibt gewöhnlich im Rahmen einer banalen Erkältungskrankheit; bei Kindern kommt es gelegentlich auch zur Pneumonie. Die virologische Labordiagnostik, die mit Kulturen humaner Fibroblasten oder HeLa-Zellen die problemlose Erregeranzüchtung ermöglicht, ähnelt derjenigen der Influenza- und Parainfluenzaviren (Tab. 6a). Die Serologie verwendet zum meist ein gruppenspezifisches Antigen, mit dem die Antikörper gegen die meisten Virustypen erfaßt werden. Am besten eingeführt ist die Komplexbindungsreaktion. Titerwerte ab 1:40 sind epidemiologisch auffällig, darüber hinaus ein Hinweis auf eine relativ frisch abgelauene Infektion, die über einen weiteren signifikanten Titeranstieg abgeklärt werden muß (4). Daneben wurden auch der ELISA und der Immunblot zur Ig-Klassen-spezifischen Antikörperdiagnostik entwickelt (12).

## Adenoviren, Corona- und REO-Viren

Diese sehr verschieden strukturierten Viren zeigen infektiologisch einen ähnlichen Organotropismus. Die Adeno-

Tab. 6b: Laboratoriumsuntersuchungen zum Nachweis respiratorischer Virusinfektionen

Virus	Virusanzucht auf	Materialentnahme/ Transport	Antigen- direktnachweis	Infektions- serologie
Coronaviren 3 Typen	HDF, KZK vom Mensch <sup>b</sup> Organkulturen von humaner embryonaler Trachea	Rachen- und Nasenspülungen Transport: HBSS mit 0,5% Gelatine Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -70°C	EM	KBR, HHT, ELISA, NT
REO-Viren	PMK	Rachen-, Nasen- und Rektalabstriche, Stuhl, Urin, Blut, Cerebrospinalflüssigkeit Transport: HBSS Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -70°C		HHT, KBR <sup>b</sup> , NT <sup>b</sup>
Rhinoviren	HDF, MK, PMK, KZK vom Mensch, humane Organkulturen (Anzucht bei 33°C)	Nasopharyngaspülung <sup>a</sup> Rachen- und Nasenabstriche <sup>b</sup> (in den ersten drei Tagen der Rhinitis) Transport: HBSS Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -70°C	IFT	HHT, NT
Enteroviren: Coxsackie A, B	Beimpfung von Säuglingsmäusen, HDF, PMK, KZK vom Mensch und Affen	Rachenabstriche (1. Krankheitswoche) Stuhl und Rektalabstriche (mehrere Wochen) Transport: HBSS Lagerung: bis 12 Std. bei 4°C, länger als 12 Std. bei -20°C	EM	KBR, HHT, ELISA, NT <sup>b</sup> , Latex-Agglutinationstest
Echo Typ 1-9, 11-34	HDF, PMK, Typ 9 in Säuglingsmäusen	Rachenabstriche (1. Krankheitswoche), Stuhl (mehrere Wochen), Liquor (bei Verdacht auf Typ 5, 6, 9, 12) Transport und Lagerung siehe Coxsackie A, B	EM	KBR, HHT, ELISA, NT

<sup>a</sup> = gut geeignet.

<sup>b</sup> = weniger geeignet.

MK = Monkey kidney cells.

KZK = Kontinuierliche Zellkulturen.

HDF = Humane Diploide Fibroblasten.

PMK = Primäre Affenierenzellen.

HBSS = Hanks balanced salt solution.

IFT = Immunfluoreszenztest.

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay.

EM = Elektronenmikroskopie.

NT = Neutralisationstest.

KBR = Komplexbindungsreaktion.

HHT = Hämagglutinationstest.

IFT, HHT und NT haben ihre Bedeutung mehr für den Virusnachweis und -typisierung (13). Der Antikörpertiteranstieg erfolgt meist erst in der zweiten Krankheitswoche. Die Serologie ist bei der Adenovirus-bedingten okulären oder gastrointestinalen Infektion wenig ergiebig, so daß hier für die Schnelldiagnostik der Antigendirektnachweis im Untersuchungsmaterial (Stuhlproben) oder die Elektronenmikroskopie im Vordergrund steht (14). Die Virusstammidentifikation gelingt am exaktesten mit der DNA-Restriktionsanalyse (15), die die Aufklärung nosokomialer Infektionen ähnlich wie bei Rotaviren ermöglicht.

Coronaviren sollen in einem hohen Prozentsatz für die Virusbronchitis verantwortlich sein. Da bis jetzt kein kommerzieller Antikörpertest eingeführt ist und die Viren nur schwer anzüchtbar sind, erfolgt ihr Nachweis mit der Elektronenmikroskopie. Auch dieser Erreger spielt daneben eine Rolle in der Differentialdiagnostik der Virusgastroenteritis.

REO-Viren (Respiratory-Enteric-Orphan) werden ebenfalls in den beiden Organsystemen gefunden. Sie gehören auch zu den Erregern der banalen Erkältungskrankheit ("common cold"). Viele Infektionen verlaufen subklinisch ("orphan"). Die Serodiagnostik ist unergiebig (Tab. 6b).

### Rhino- und Enteroviren

Rhinoviren sind häufige Erreger der Rhinitis, Pharyngitis und Tracheobronchitis. Auf die virologische Labordiagnostik wird gewöhnlich verzichtet, obwohl eine Erregerisolierung in Zellkulturen für viele Virustypen möglich ist. Mit der Erforschung der Enteroviren, zunächst der Polio-, später der Coxsackie- und ECHO-Viren, begann der Aufstieg der medizinischen und speziell der diagnostischen Virologie in der mittelbaren Krankenversorgung. Besonders gefürchtet sind die Infektionen des ZNS und des Myokardes im Rahmen kleiner Epidemiewellen. Die Darmpathogenität ist dagegen selten (ECHO); der Eigenname charakterisiert den fäkal-oralen Übertragungsweg dieser Viren. Die erste Eintrittspforte ist der Rachenring. Die Pharyngitis kann sich zu einer Spätsommergrippe ausweiten. Die Frühdiagnose erfolgt durch die Virusanzüchtung aus Rachenspülwasser. Dafür sind am besten primäre Affennierenzellen, aber auch eine Reihe anderer Zellkulturen geeignet (Tab. 6b). Später muß der Virusnachweis aus einer Stuhlprobe oder einem Rektalabstrich versucht werden.

Die hohe Stabilität der Enteroviren läßt eine Materialkonservierung nicht erforderlich erscheinen. Für Rachenabstriche existieren bestimmte Transportmedien, die vom Labor bereitgestellt werden. Die Schnelldiagnostik macht in Abwesenheit von Antigentests die Elektronenmikroskopie erforderlich. An der Entwicklung von RNA-Sonden wird gearbeitet. Im Hinblick auf zahlreiche Virustypen in dieser Gruppe der Infektionserreger, die nicht über ein gruppenspezifisches Antigen verfügen, ist die Virusserologie nicht einfach und nach wie vor für die Praxis einer Routinediagnostik nicht befriedigend gelöst. Am zuverlässigsten funktioniert der Antikörpernachweis mit hoher Typenspezifität als Infektionsschutzversuch mit Zellkulturen im Neutralisationstest (16). Die wenig sensitive Komplementbindungsreaktion und der ELISA haben screening-Charakter, die eine ausgewählte Nachtestung im NT oder Immunoblot erforderlich machen (17). Daher sollte stets die (zusätzliche) Virusisolierung aus Stuhlproben angestrebt werden.

## **E. I. ASSAY: DIAGNOSTIK- TESTSYSTEME VON FLOW**

**Wir sind weltweit präsent.  
Mit Spitzenprodukten.  
Von allen Experten akzeptiert.**

### **Beispiel:**

Differential-Diagnose für  
Bordetella pertussis

- Einzelbestimmung von IgG-, IgM-, IgA – AK
- automatisierbar
- quantitativ als Enzym-Immuno-Units
- einfach zu handhaben
- preisgünstig

Fragen Sie uns, auch wenn Sie Bedarf haben für andere E. I. ASSAY-Testsysteme, zum Beispiel in den Bereichen

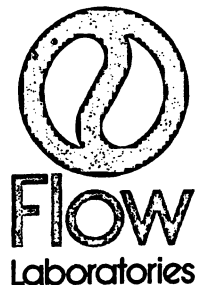
- Bakteriologie
- Parasitologie
- Tumormarker
- Autoantikörper
- Fertilität.

Wir sind kompetent als Berater und Lieferant.

### Informationen:

Flow Laboratories GmbH  
Mühlgrabenstraße 10  
D-5309 Meckenheim  
Tel. (0 22 25) 8 80 50  
Telex 8 869 334 aflo d  
Fax (0 22 25) 88 05 81

**DIAGNOSTIK**



## Zytomegalie und andere Herpesvirusinfektionen, Masern

Die Fortschritte der Medizin bringen bekanntlich auch neue Probleme in der Krankenversorgung mit sich. In unserer Bevölkerung wächst ständig der Anteil älterer Menschen mit physiologisch eingeschränkter Resistenz und Schutzfunktion der Haut- und Schleimhautbarriere. Eine Vielzahl von Tumorpatienten kann therapeutisch über Jahre hinweg am Leben erhalten werden. Frühgeborene haben eine weit bessere Überlebensquote als in früheren Jahrzehnten. Die Transfusions- und Transplantationsmedizin macht die Betreuung von iatrogenen Immunbeeinträchtigungen erforderlich. Schließlich konfrontiert uns die AIDS-Epidemie mit neuen Krankheitsbildern. Eine wesentliche Komplikation im Gesundheitszustand von Personen mit unreifem oder gestörten zellulären Immunsystem ist die Zytomegalie-Pneumonie, die häufig mit dem Lungenbefall durch *Pneumocystis carinii* vergesellschaftet ist (18).

Gegenüber der Zytomegalie ist der Epstein-Barr- und Herpes-simplex-Virusinfekt der Lunge selten und wird nur gelegentlich bei immunsupprimierten Patienten beobachtet. Die Varizella-Zoster-Virusinfektion kann dagegen auch bei Personen mit normalen Immunfunktionen primär pneumotrop und behandlungsbedürftig verlaufen. Die Windpockenpneumonie ist jedoch häufiger Folge einer bakteriellen Superinfektion.

Bei den Masern ist eine primäre Viruspneumonie als gefährdete Komplikation des Krankheitsverlaufs bekannt, die gleichzeitig mit dem Exanthem auftritt.

Die Labordiagnose der Herpesviren und Masern ist ebenfalls über Virusanzüchtung, Antigennachweis (und Gensonden) sowie mit einer gut eingeführten Infektionsserologie zum Ig-Klassen-differenzierten Antikörpernachweis etabliert, wie an anderer Stelle ausführlich abgehandelt (4). Die Zytomegaliepneumonie bei AIDS-Patienten läßt sich sehr effizient innerhalb von 24 Std. über den Antigennachweis aus einer Bronchiallavage abklären. Serologisch kann hier der virusspezifische IgA-Test als wertvolle Ergänzung zu der üblichen Bestimmung der IgG- und IgM-anti-CMV-Antikörper empfohlen werden (19, 20).

## Verlaufsbeurteilung der Viruspneumonie

Die Beurteilung des Pneumonieverlaufes muß in erster Linie aus klinischer Sicht erfolgen. Tritt nach vier bis sechs Wochen keine Entfieberung auf, wird von chronischer Lungenentzündung gesprochen. Mit Hilfe des klinischen und mikrobiologischen Laboratoriums ist vor allem auf eine bakterielle Superinfektion der Viruspneumonie zu achten (neuer Fieberanstieg, Leukozytose im Blutbild). Nur dann erscheint eine Antibiotikaapplikation indiziert. Die früher angewandte Antibiotikaprophylaxe hat die Resistenzbildungen der Bakterien gefördert sowie die Rate der nosokomialen Infektionen erhöht. Die rein virologische Verlaufsbeurteilung kann durch den Erregernachweis geführt werden, wenn eine Persistenz der Virusinfektion die Pathogenese bestimmt (Zytomegalie). Im allgemeinen stellt sich die Abheilung deutlich vor Verschwinden spezifischer IgM- und IgA-Antikörper bzw. vor dem Abfall von Antikörpertitern ein. Komplementbindende Antikörper verschwinden schneller als die im HHT oder NT gemessenen (Ausnahme: CMV- und HSV-Infektion), die noch jahrelang in hoher Konzentration persistieren können. Eine solche Serumnarbe wegzutherapieren, ist natürlich nicht angezeigt.

## Schrifttum:

1. ALEXANDER, M.: Atypische Pneumonien — Mykoplasmen, Rickettsien, Chlamydien, *Viran. Internist* 26, 341—346 (1985).
2. SPRÖSSIG, M., ANGER, G.: *Mikrobiologisches Vademecum*. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1988.
3. BURKHARDT, H. U., DOERR, H. W., MUNK, K., REICHEL, G.: Computergestützte Befundspeltcherung und -auswertung in der virologischen Laboratoriumsdiagnostik. *Arztl. Lab.* 27, 52—58 (1981).
4. REICHEL-HÖHNE, G., DOERR, H. W.: Die Aussagekraft der Komplementbindungsreaktion (KBR) in der Virusserologie. Vergleich mit modernen Immunassays an Hand von ausgewählten Fallbeispielen. *Arztl.* 30, 133—140 (1984).
5. DOERR, H. W., SCHWEISS, H. D., HENNINGER, K., SOCHANIK, H.: Simple Mathematical Deductions in the Seroepidemiology of viral infections. II. (Para) Myxoviruses, Rubella, Enteroviruses, Adenoviruses, and Mycoplasma pneumoniae. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.* A238, 165—176 (1977).
6. KOPP, B.: Beiträge zur Diagnostik und Epidemiologie der Chlamydia-trachomatis-Infektion, Dissertation, Univ. Frankfurt, in Vorbereitung.
7. DOERR, H. W., HOFERER, E., LESCHHORN, V., NASSAL, J.: Q-Fieber — eine in Süddeutschland endemische Infektionskrankheit. *Dtsch. Med. Wschr.* 106, 1532—1535 (1981).
8. SCHMEER, N.: Enzymimmuntest (ELISA) zum Nachweis von IgG<sub>1</sub>-, IgG<sub>2</sub>- und IgM-Antikörpern bei der Q-Fieberinfektion des Rindes. *Zbl. Bakt. Hyg.* A259, 20—34 (1985).
9. KLENK, H.-D., TASHIRO, M., ROTT, R.: Viral Glycoproteins as Determinants of Pathogenicity. In: *Molecular Basis of Viral and Microbial Pathogenesis*. Springer Verlag (Ed.: ROTT, R., GOEBEL, W.), Mosbach 1987.
10. HÖPKE, W., WILLERS, H., KNOCKE, K.-W.: Die Bedeutung der Epidemiologie für die Virusdiagnostik. In: *Virusdiagnostik für Klinik und Praxis* (Hrsg.: SPIESS, H.), Deutsches Grünes Kreuz München, 1979.
11. HÖHER, P. G., KUWERT, E. W.: Virusdiagnostik bei Atemwegsinfektionen durch Influenza. In: *Virusdiagnostik für Klinik und Praxis* (Hrsg.: SPIESS, H.), Deutsches Grünes Kreuz, München 1979.
12. HACK, T.: Antikörpernachweis bei Adenovirusinfektionen mit ELISA und Immunoblot, Dissertation, Univ. Frankfurt, in Vorbereitung.
13. DOERR, H. W., DARAI, G.: Fluoreszenzserologischer Nachweis von Virusinfektionen. *Lab.med.* 2, 209—214 (1978).
14. SCHOENEMANN, W.: Labordiagnose von Adenovirusenteritiden. *Imm. u. Inf.* 16 Supplement, 32—34 (1988).
15. ADRIAN, T. H., WADELL, G., HIERHOLZER, J. C., WIGAND, R.: DNA Restriction Analysis of Adenovirus Prototypes 1 to 41. *Arch. Virol.* 91, 277—290 (1986).
16. DOERR, H. W.: Neutralisierende Coxsackievirus-B-Antikörper bei Myokarditis und Pleurodynie. *Dtsch. Med. Wschr.* 98, 1396—1400 (1973).
17. MÜRRIS, R., TER MEULEN, V.: Specificity of IgM Antibodies in Acute Human Coxsackievirus B Infections, analysed by Indirect Solid Phase Enzyme Immunoassay and Immunoblot Technique. *J. Gen. Virol.* 64, 159—167 (1983).
18. DOERR, H. W., BRAUN, R., MUNK, K.: Human Cytomegalovirus Infection: Recent Developments in Diagnosis and Epidemiology. *Klin. Wochenschr.* 63, 241—251 (1985).
19. BRAUN, W., HEHR, B., RABENAU, H., DOERR, H. W.: Serologische Diagnostik der Zytomegalie bei immunsupprimierten Patienten. *AIFO* 11, 634—638 (1987).
20. SCHACHERER, C., BRAUN, W., BAUER, G., DOERR, H. W.: Detection of Cytomegalovirus in Bronchial Lavage and Urine Using a Monoclonal Antibody to an HCMV Early Nuclear Protein. *Inf.* 16, 288—292 (1988).
21. MURPHY, T. F., et al.: Pneumonia: An eleven-year study in a pediatric practice. *American Journal of Epidemiology* 113, 12—21 (1981).
22. WOODHEAD, M. A., Mc FARLANE, J. T., et al.: Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet* 21, 671—674 (1987).
23. Mc FARLANE, J. T.: Community acquired pneumonia. *British Journal of Diseases of the Chest* 81, 116—127 (1987).

## Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. med. H. W. Doerr  
Dipl.-Biologe H. Rabenau  
Zentrum der Hygiene  
des Universitätsklinikums Frankfurt/M.  
Abt. f. Med. Virologie  
Paul-Ehrlich-Str. 40  
6000 Frankfurt/M. 70

Prof. Dr. med. G. Maass  
Landesuntersuchungsamt Westfalen  
von Stauffenbergstr. 36  
4400 Münster

Dr. med. S. Zielen  
Zentrum der Kinderheilkunde  
des Universitätsklinikums Frankfurt/M.  
Abt. f. Allg. Pädiatrie  
Theodor-Stern-Kai 7  
6000 Frankfurt/M. 70