

Infektiologie und Mikrobiologie
(Schwerpunkt Virologie)

Redaktion: B. Weber

Die Infektionsdiagnostik der Myo- und Perikarditis. Teil II: virologische Erreger

Laboratory diagnosis of myocarditis and pericarditis.
Part II: Virologic investigations

Miriam Wittek^{1,*}, Gudrun Hintereder¹, Regina Allwinn¹, Klaus-Peter Hunfeld² und Hans Wilhelm Doerr¹

¹ Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum Frankfurt am Main, Deutschland

² Zentralinstitut für Laboratoriumsmedizin am Krankenhaus Nordwest, Frankfurt am Main, Deutschland

Zusammenfassung

In Europa zählen Viren zu den häufigsten Verursachern einer Myokarditis. Im Unterschied zur Perikarditis ist die Symptomatik der Myokarditis oft uncharakteristisch und erfordert den Einsatz von Laboruntersuchungen. Die Abklärung der Virusätiologie begnügt sich meist mit dem Nachweis einer zeitgleich ablaufenden Infektionskrankheit (Plausibilitätsdiagnose). Zur direkten Virusdetektion ist die Entnahme einer Herzbiopsie erforderlich. An diesem Material kann das Virus mittels immunhistologischer und molekularbiologischer Methoden unter gleichzeitiger Beurteilung des inflammatorischen Prozesses nachgewiesen werden. Der Einsatz der verschiedenen Untersuchungsmethoden richtet sich nach dem Kosten-Nutzen-Verhältnis.

Schlüsselwörter: Myokarditis; Nachweismethoden; Perikarditis; virologische Erreger.

Abstract

Viral infections are the most common cause of myocarditis in Europe. Although the symptoms of pericarditis are often non-ambiguous, the diagnosis of “myocarditis” can be difficult in terms of clinical presentation and different testing

methods used for confirmation. Immunohistochemical techniques for characterization and quantification of inflammatory heart tissue reactions as well as molecular methods for viral genome detection are applied. The viral testing methods are described and their advantages and limitations are discussed.

Keywords: myocarditis; pericarditis; test methods; virologic agents.

Definition und Ätiologie

In Europa zählen Viren zu den häufigsten Verursachern einer Myokarditis [1]. Unter einer Myokarditis versteht man eine Entzündung des Herzmuskelgewebes. Ist zusätzlich der Herzbeutel betroffen, spricht man von Perikarditis. Die Perikarditis steht zur Myokarditis im gleichen Verhältnis wie die Meningitis zur Enzephalitis. Wie die Meningitis kann auch die Perikarditis „eigenständig“ ablaufen. Als prinzipielle Ursachen kommen Infektionen und Autoimmunreaktionen („rheumatischen“ Myokarditis) sowie metabolische Störungen (z.B. Urämie, Toxine) in Frage. Infektiologisch sind sowohl Viren als auch Bakterien, Protozoen, Pilze und vielzellige Parasiten (Würmer) relevant, die ihrerseits wieder immunpathologische und metabolisch degenerative Effekte auslösen können. Nachfolgend soll die virusbedingte Inflammation des Myo- bzw. Perikards und ihre labordiagnostischen Möglichkeiten besprochen werden.

Virales Erregerspektrum

In älteren Studien lagen Entero- und Adenoviren als auslösende Erreger einer Myokarditis weit vorn. Daneben werden heute in neueren Studien zunehmend Parvovirus B19 sowie das HHV-6 nachgewiesen [2, 3]. Influenza- und RSV-Viren stellen weitere wichtige kardiotope Viren dar, die mit epidemiologischer Häufung auftreten können. Darüber hinaus können gelegentlich auch viele weitere Virusinfektionen auf

*Korrespondenz: Dr. med. Miriam Wittek, Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main, Paul-Ehrlich Str. 40, 60596 Frankfurt am Main, Deutschland
Tel.: +49 069/6301-83062
Fax: +49 069/6301-83061
E-Mail: miriam.wittek@gmx.de, H.W.Doerr@em.uni-frankfurt.de

das Herz übergreifen. In etwa 30% der Fälle sind mehrere Erreger (Mischinfektionen) nachweisbar.

Klinische Diagnose

Die Myokarditis verläuft oft unauffällig und wird daher übersehen. Im unselektierten Obduktionsgut findet man bei ca. 5% der Verstorbenen histologische Zeichen einer abgelaufenen Myokarditis [4]. Andererseits werden viele Herzbeschwerden als Myokarditis fehlgedeutet. Insgesamt ist die Symptomatik der klinisch manifesten Myokarditis relativ wenig charakteristisch. Die Diagnose wird vermutet beim Vorliegen von Herzrhythmusstörungen, Dyspnoe und bei präkordialen Schmerzen [5]. Die Myokarditis liegt meist als akutes Geschehen vor, kann jedoch auch einen chronischen Verlauf nehmen. Letzteres spricht vor allem – wenn eine autoimmunologische Genese ausgeschlossen ist – für eine Parasitose. In Südamerika ist die Chagas-Myokarditis recht häufig (vgl. a. Teil I, [6]). Die Symptomatik der Perikarditis ist in der Regel gravierend und kann sich rasch auf die Kreislaufsituation bis hin zum Schock auswirken. Häufig kommt es zum Perikarderguss, welcher das Herzgeräusch dämpft und seine Aktion einschränkt (konstriktive Perikarditis). Nur selten ist das Herz das einzige oder bevorzugte Zielorgan einer Infektion. Hier sind Coxsackie- und andere Enteroviren (Echoviren) bei Kleinkindern zu nennen, wobei meist ein „Ausbruch“ vorliegt, der mehrere Personen betrifft. Coxsackie- bzw. Echovirusinfektionen beginnen oft als fieberhafte „Sommergrippe“. Besonders gefürchtet ist die neonatale Infektion, die oft letal verläuft. Die jahreszeitliche Häufung ist typisch. Im Übrigen ist die Myokarditis bzw. (Myo)perikarditis eine Begleiterkrankung, die bevorzugt oder primär Infektionen andere Organe betrifft.

Die Pathogenese der viralen Myokarditis mit kardialer Dysfunktion lässt sich in drei Phasen einteilen [7].

In der *ersten Phase* findet eine Infektion der Myokardzellen mit dem viralen Erreger statt.

Rezeptorvermittelt erfolgt die Aufnahme kardiotoxischer Viren in die Myokardzellen, wo eine intrazelluläre Virusvermehrung stattfindet. Bereits vor Einwanderung der Entzündungszellen (Makrophagen, „natürliche“-Killerzellen, zytotoxische T-Lymphozyten, T-Helferzellen u.a.) ist eine Zellyse befallener Myokardzellen zu beobachten.

Die eingewanderten Immunzellen bewirken häufig eine weitere Lyse sowie die Elimination des Virus. In den meisten Fällen heilt die Entzündung folgenlos aus; bei narbiger Defektheilung kann es jedoch zu einer bleibenden funktionellen Schädigung des Herzmuskels kommen.

Die *zweite Phase* (nicht obligatorisch ablaufend) ist durch einen postviralen Autoimmunprozess charakterisiert. Es handelt sich um einen chronisch autoreaktiven Prozess, bei dem das Zielorgan das Herz ist, d.h. die humorale und zelluläre Immunabwehr greift die Myokard-Zellen an und schädigt sie.

In der *dritten Phase* treten schließlich hämodynamische Folgen in Form von zunehmender Dilatation und sich anschließender Kardiomyopathie (oft ohne weiter bestehende Entzündungszeichen) auf.

In Abhängigkeit von mehreren Faktoren kann sich auch ein kardiotropes Virus dem Immunsystem entziehen und bei einem Teil der Patienten im Myokard persistieren. Bei diesen Patienten findet man in kardialen Myozyten eine niedrig replikative Virusvermehrung, die einen chronischen Entzündungsprozess unterhalten kann [8].

Physikalische Diagnostik

Röntgen-Thorax, EKG, Auskultation, Ultraschall. Alle vier Untersuchungen sind sensitiv, aber nicht spezifisch, denn sie können nicht die Myo/Perikarditis von einer Kardiopathie anderer Ursache unterscheiden. Davon ausgenommen ist die Echokardiographie als diagnostische Methode der Wahl bei Perikarditis. Die Kardio-Magnetresonanztomographie (Kardio-MRT) kann je nach Sensitivität und Anzahl der angewandten MRT-Sequenzen in 25% bis 80% der Fälle myokardiale Veränderungen feststellen [5].

Laboratoriumsdiagnose und Nachweis einer Virusinfektion

Aufgrund jahrzehntelanger klinischer Erfahrungen bei zahlreichen Einzelfällen und vielen Epidemien gilt es von den in der Tabelle 1 aufgelisteten Viren als sicher oder zumindest als sehr wahrscheinlich, dass sie (auch) eine Myokarditis verursachen können.

Eingangsuntersuchung ist die CRP-Bestimmung. Ein negatives Ergebnis spricht gegen eine infektiöse Ätiologie der Herzbeschwerden, auch wenn die chronische Coxsackievirusmyokarditis weniger inflammatorisch als zytotoxisch verläuft (zur klinischen Chemie siehe Teil I, [6]).

Die virologische *Plausibilitätsdiagnose* beruht im Wesentlichen darauf, dass Myo/Perikarditis und die jeweilige Infektionskrankheit weitgehend zeitgleich auftreten:

Bevor man den Aufwand einer Biopsiediagnostik erwägt, empfiehlt sich die virologische Allgemeindiagnostik mit Standardmethoden an leichter zugänglichem Untersuchungsmaterial: Suche nach viruspezifischen Antikörpern in Blutproben, Analyse auf Viren und virale Antigene oder Nukleinsäuresequenzen in Rachen/Nasenabstrich, Sputum, Stuhl, Urin, Haut/Schleimhauteffloreszenzen und Blut: Ein negatives Ergebnis jeweils schließt auch eine Infektion des Herzmuskelgewebes aus, sofern die richtige Untersuchungsmethode ausgewählt wurde. Fällt dagegen die allgemeinvirologische Untersuchung positiv aus, begnügt man sich in der Regel mit der Plausibilitätsdiagnose. Nur in schwierigen und chronischen Fällen wird man die Herzkatheterisierung und Gewinnung einer Gewebebiopsie erwägen.

Musterbeispiel ist der „grippale Infekt“. Das Untersuchungsmaterial der Wahl bei Influenza ist der Rachenabstrich [9], bei enteralen Infekten („Sommergrippe“) die Stuhlprobe zum direkten Virusnachweis mit Antigentest, PCR und Zellkulturen.

Der Virus-IgM-Diagnostik kommt in der routinemäßigen Abklärung vieler verschiedener Infektionen eine große

Tabelle 1 Virale Ätiologie von Myokarditis (und Perikarditis) aufgeführt nach der epidemiologischen Häufigkeit in Mitteleuropa.

RNA-Viren	DNA-Viren
<ul style="list-style-type: none"> • Enteroviren: <ul style="list-style-type: none"> Coxsackievirus der Gruppen A (einige Serotypen) und B (Serotypen 1–5) Echoviren (einige Serotypen) mit fakultativ bevorzugtem Kardiotropismus Poliovirus (Serotyp 1 und 3, selten; Serotyp 2 gilt als eradiziert) • Influenzavirus A und B (Kardiotropismus meist nur beobachtet bei Grippewellen) • Respiratory-Syncytial-Virus (Säuglinge) • Masernvirus • Mumpsvirus • HIV • Rötelnvirus (postnatal extrem selten, pränatal Embryo/Fetopathie) • Hepatitis B Virus (HBV, selten, eher als Immunkomplexschädigung) • Hepacivirus: Hepatitis C • Flaviviren: <i>Denguevirus</i> (im Rahmen einer immunkomplexbildenden, hämorrhagischen Zweitinfektion), weitere <i>Arboviren</i> (meist Erreger einer Enzephalitis), <i>Gelbfiebertvirus</i> (im Rahmen einer generalisierten Infektion) • Ebolavirus und Lassavirus (im Rahmen einer generalisierten hämorrhagischen Infektion) 	<ul style="list-style-type: none"> • Parvovirus B19 • Adenoviren • Herpesviren <ul style="list-style-type: none"> HHV-6 • Herpes simplex Virus • Varizellen Zoster Virus • Zytomegalievirus • Epstein-Barr-Virus

Bedeutung zu (bei Influenza u.a. respiratorischen Viren auch der IgA-Diagnostik). Die Rationale ist die Beobachtung, dass Antikörper dieser Ig-Klasse in größerer Menge nur nachweisbar sind, solange der Erreger noch im Organismus vorhanden ist oder vor Kurzem war. Bei Influenza erfolgt die Antikörperbildung zwar erst am Ende der zweiten Krankheitswoche, die Begleitmyokarditis ist jedoch keine Frühkomplikation.

Bei den kardiologisch relevanten Coxsackie- und Echoviren ist die serologische Labordiagnostik nicht besonders gut entwickelt: Das Problem ist die Vielfalt der Serotypen, die weder mit einer traditionellen KBR noch mit einem modernen (Enzym)immunoassay poolmäßig gut erfassbar sind. Nicht viel besser ist die typenspezifische Einzeltestung, die viel zu arbeits- und kostenaufwendig ausfällt. Ein positiver Enteroviruspool-IgM-Test kann einen Infektionshinweis geben, der virologisch am besten durch eine Stuhluntersuchung abzuklären ist. Ein negativer Enterovirus-IgM-Test schließt eine aktive Infektion nicht aus. Der Nachweis infektiöser neutralisierender Antikörper ist zwar sensitiv und spezifisch, jedoch für eine Testung mit der isolierten IgM-Fraktion weniger praktikabel; außerdem kann das Ergebnis erst nach fünf Tagen abgelesen werden. Wegen der Typenvielfalt und der damit vorliegenden großen Durchseuchung ist mit einer Seronegativität der Ig-Klassen-unabhängigen Antikörpertestung, auch beim Säugling, bei dem eigene oft ohne Übergang die maternalen Antikörper ablösen, nicht zu rechnen [10, 11].

Im Interesse einer rechtzeitigen und lebensrettenden Therapie ist stets nach Superinfektionen zu fahnden, z.B. nach Bakterien im Respirationstrakt, die septisch auf das Herz streuen (siehe Teil I, [6]).

Goldstandard der labormedizinischen Untersuchungen ist die Histologie, ergänzt durch die immun- und molekularbiologischen Methoden der Virusdetektion. Dafür ist die Entnahme einer Gewebibiopsie erforderlich, die im Rahmen einer Herzkatheterisierung erfolgt. Prinzipiell problematisch

bleibt das Risiko, bei der Biopsie das entzündete Areal des Herzmuskels zu verfehlen.

Pathognomonisch ist der immunologische oder molekularbiologische Virusnachweis im Gewebe einer Herzbiopsie (bzw. in der Perikardflüssigkeit) gemeinsam mit der histologischen Entzündungsdiagnose (Infiltration mit Lymphozyten und Makrophagen). Typisch für die akute Virusmyokarditis sind rundzellige Infiltrate (Lymphozyten, Makrophagen), während bakterielle Abszesse großenteils aus Granulozyten bestehen. In der Umgebung des Nodus rheumaticus findet man das großzellige Granulom. Die einzelnen Zelltypen werden anhand von Oberflächenmarkern und ihrer mRNA-Expression immunhistologisch oder molekularbiologisch identifiziert.

Bei der Perikarditis mit Erguss lässt sich durch eine Flüssigkeitspunktion pathognomonisches Untersuchungsmaterial gewinnen (s.u.). Nach wie vor kann die Basisdiagnose einer Erreger- oder einer immunologisch/metabolisch bedingten Inflammation durch die kostensparende konventionelle Histologie erfolgen, wie sie sich seit Jahrzehnten bewährt hat.

Mit bestimmten Färbungen lässt sich im histologischen Präparat nach Bakterien und Parasiten fahnden (siehe Teil I, [6]). Die virologische Infektionsdiagnostik gelingt nur im Einzelfall mit einer histologischen Färbung, z.B. beim Nachweis von Zytomegalievirus (CMV)-spezifischen Kerneinschlüssen („Eulenaugen“) und Riesenzellen. Ansonsten benötigt man zur Detektion viraler Strukturproteine oder Nukleinsäuren spezifische (monoklonale) Antikörper und Gensonden.

Als molekularbiologische Methode hat sich ergänzend zur Histologie die In-situ-Hybridisierung bewährt. In den letzten Jahren sind zunehmend die Nukleinsäureextraktion und nachfolgende Virus-Nukleinsäure-PCR an ihre Stelle getreten. Während das Ergebnis dieser Untersuchungen innerhalb von Stunden vorliegt, gelingt die Zellkultur-basierte, zeitaufwendige Virusisolierung nur im Einzelfall. Die biopsische Analyse von Herzmuskelgewebe bei Vorliegen einer *chronischen*

bzw. rezidivierenden Myokarditis hat ergeben, dass nicht nur Herpesviren (CMV, HSV, EBV), sondern auch Enteroviren (Coxsackie, Echo) ätiologisch relevant sein können.

Ablauf der virusdiagnostischen Untersuchungen (Stufenprogramm)

Differentialdiagnostische Vorüberlegungen

Detaillierte Anamnese: Herz-Kreislaufbeschwerden mit oder ohne andere Grundkrankheit?

Einzelfall – Ausbruch – Epidemie? Blutbild? Röntgen-Thorax? EKG? Auskultation? Echokardiographie? Cardio-MRT? Akuter oder chronischer Verlauf?

Herzbeschwerden ohne weitere Krankheitszeichen

Einsendung von EDTA-Blutplasma und Stuhlprobe (keine Konservierung): Untersuchung auf **Enterovirus-RNA** mit der inversen PCR (kommerzieller Testkit verfügbar). Ergebnis kann zwei Stunden nach Materialeingang vorliegen. Plasmaprobe positiv: Der Befund spricht für eine akute und systemische Infektion mit einem Enterovirus. Ggf. nachfolgende Typisierung durch Sequenzierung der cDNA. Stuhlprobe entweder ebenfalls für PCR oder für **Enterovirusanzüchtung in Zellkultur** (Amnion, Vero, Fibroblasten). Negatives Ergebnis schließt akute Enterovirusinfektion aus. Ggf. Kontrolle mit zweiter Untersuchungssprobe angezeigt. Positive Stuhlprobe zeigt akute Enterovirusinfektion an ohne zwingende pathognomonische Relevanz für die Karditis.

Serologie, nur sehr eingeschränkt aussagekräftig, aber preiswerter: Kommerziell verfügbare Enterovirus-IgM-ELISAs oder andere Immunoassays sind vergleichsweise weniger sensitiv und spezifisch. Zellkultur-gestützte Infektionsneutralisationstests sind hoch sensitiv und spezifisch, aber zeitaufwendig. Frühzeitige Materialentnahme erforderlich, um signifikante Titerbewegung bei akuter Infektion zu erfassen! Isoliert hohe Titer sind dafür nicht ausreichend.

Gegebenfalls kann die IgM-Fraktion mit einem Standardverfahren isoliert und in den Tests eingesetzt werden. Bei Vorliegen einer chronischen Myokarditis ist die Entnahme einer Gewebebiopsie mit dem Herzkatheter angezeigt. Die Kokultivation des Herzgewebes mit Indikatorzellen zur Virusanzüchtung ist praktisch zu Gunsten der Nukleinsäureextraktion und Virus-PCR aufgegeben. Die Pathohistologie kann durch die Virus-Nukleinsäure-Insitu-Hybridisierung ergänzt werden.

Bei der Perikarditis mit Erguss liefert die Flüssigkeitspunktion das pathognomonische Untersuchungsmaterial für PCR und Virusanzüchtung.

Herzbeschwerden im Rahmen einer individuellen oder epidemischen Grundkrankheit

Bei Vorliegen einer Influenza oder einer anderen respiratorischen Infektion (RSV) wird die Myokarditis oder Perikarditis auf den Virusnachweis in nasopharyngealen Untersuchungspuren zurückgeführt, wenn keine weiteren mikrobiologischen Befunde vorliegen. Herzbiopsie nur bei langwierigem Verlauf der Kardiopathie.

Sinngemäß gilt das für alle übrigen in der Tabelle 1 aufgeführten Viren und ihre Hauptzielorgane sowie Körperexkretionen.

Literatur

1. Pankuweit S, Maisch B. Kardiogene Virusinfektionen. In: Doerr HW, Gerlich WH. (Hrsg.) Medizinische Virologie. Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie viraler Erkrankungen. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 2010:228–32.
2. Dennert R, Crijns HJ, Heymans S. Acute viral myocarditis. Eur Heart J 2008;29:2973–3082.
3. Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, Seeberg B, Bock T, Lassner D, et al. High prevalence of viral genome and multiple viral infections in the myocardium of adults with “idiopathic” left ventricular dysfunction. Circulation 2005;111:887–93.
4. Kandolf R. Perikarditis und Myokarditis. In: Marre R, Mertens T, Trautmann M, Vanek E (Hrsg.) Klinische Infektiologie. Urban & Fischer. München, Jena 2000:338–48.
5. Holzheimer RG, Horstkotte D, Kühl U, Niebel J, Piper C, Wiemer M. Kardiovaskuläre Infektionen. In: Adam D, Doerr HW, Link H, Lode H, editors. Die Infektiologie. Heidelberg, New York: Springer, 2003:353–81.
6. Wittek M, Hintereder G, Allwinn R, Doerr HW, Hunfeld K-P. Die Infektionsdiagnostik der Myo- und Perikarditis. Teil I: mikrobiologische Erreger. J Lab Med 2010;34:243–251.
7. Maisch B, Alter P, Kartolius K, Ruppert V, Pankuweit S. Das Herz bei viralen, bakteriellen und parasitären Infektionen. Internist 2007;48:255–67.
8. Kandolf R. Myokarditis und Kardiomyopathie. In: Schuhmacher G, Hess J, Bühlmeier K, editors. Klinische Kinderkardiologie. Diagnostik und Therapie angeborener Herzfehler. Heidelberg: Springer, 2008:449–60.
9. Allwinn R, Preiser W, Rabenau H, Buxbaum S, Stürmer M, Doerr HW. Laboratory diagnosis of influenza – virology or serology. Med Microbiol Immunol 2002;19:157–60.
10. Buxbaum S, Berger A, Preiser W, Rabenau HF, Doerr HW. Enterovirus infections in Germany: comparative evaluation of different laboratory diagnostic methods. Infection 2001;29:138–42.
11. Doerr HW, Caspari G, Gerlich WH. Viruskrankheiten. In: Thomas S, editor. Labor und Diagnose 2005;1659–720.