



Bedeutung, Labordiagnostik und Prophylaxe von Varicella-Zoster- Virus-Infektionen

Andreas Sauerbrei

Bedeutung Varicella-Zoster-Virus-bedingter Erkrankungen

Das Varicella-Zoster-Virus (VZV) verursacht nach Primärinfektion die Varizellen (Windpocken). Diese Erkrankung ist in Ländern mit gemäßigttem Klima die häufigste impfpräventable Virusinfektion im Kindesalter. In Deutschland kam es bis zur Einführung der Impfung 2004 jährlich zu ca. 750.000 Erkrankungen [1]. Obwohl Varizellen in der überwiegenden Mehrzahl einen milden Verlauf nehmen, sind schwere Verläufe bei immungesunden Personen keine Seltenheit. Die Komplikationsrate der Varizellen wird in Deutschland mit durchschnittlich 6% angegeben [27]. Eine besondere Gefährdung stellen Varizellen für solche Patienten dar, bei denen die zellulären Immunfunktionen geschwächt sind wie z.B. Patienten mit onkologischen Erkrankungen, HIV-Infizierte, Stammzell- oder Organtransplantierte, Patienten mit Autoimmunopathien oder angeborenen Immundefekten. Häufigste Komplikationen sind bakterielle Superinfektionen sowie neurologische und hämatologische Manifestationen. Besonders gefährdet für komplizierte oder gar lebensbedrohliche Erkrankungen sind weiterhin Schwangere, Jugendliche und Erwachsene. Die medizinische Versorgung von Varizellen und ihren Komplikationen kostete die Krankenkassen in Deutschland vor Einführung der Impfung jährlich circa 33,5 Millionen Euro [1].

Unabhängig vom Zeitpunkt der Primärinfektion verbleibt das VZV lebenslang in Neuronen der hinteren Wurzeln der Spinal- und Hirnnervenganglien. Eine Reaktivierung dieser Viren kann zu einem Zoster führen. Mit circa 350.000 Fällen pro Jahr gehört der Zoster zu den häufigsten Virusinfektionen der Haut [22]. Für die allgemeine Bevölkerung liegt das Erkrankungsrisiko bei 20-30%. Das individuelle Krankheitsrisiko hängt jedoch wesentlich vom Alter und dem Immunstatus ab. Das bedeutet, dass Personen ab dem 50. Lebensjahr wesentlich häufiger als jüngere an einem Zoster erkranken und für immundefiziente Patienten aller Altersgruppen wie Patienten mit AIDS, malignen Lymphomen sowie nach Knochenmarktransplantation das Zosterrisiko besonders hoch ist. Während der Zoster aufgrund der zahlreichen Ganglien in diesem Bereich vorwiegend thorakal lokalisiert ist, werden mit zunehmendem Alter häufiger Innervationsgebiete des Nervus trigeminus befallen. Bei immungeschwächten Patienten verläuft der Zoster im Allgemeinen schwerer, die Erkrankung kann mit monatelang bestehenden Hautläsionen und wiederholt auftretenden Bläschen verlaufen, und es kommt häufiger zu Komplikationen. Wichtigste Komplikationen des Zosters sind neurologische Manifestationen, hämorrhagische und nekrotische Hautveränderungen, bakterielle Superinfektionen, Disseminierung der Infektion und Mitbeteiligung des Auges bzw. des Ohres. Schmerzen, die länger als 4 Wochen fortbestehen oder nach einem schmerzfreien Intervall erneut auftreten, werden als postzosterische Neuralgie (PZN) bezeichnet, deren Ursache irreversible Ganglienzellnekrosen sind.

Varicella-Zoster-Virus-Infektionen und Schwangerschaft

Varizellen während der Schwangerschaft können sowohl für die Mutter als auch für das Kind eine ernsthafte Bedrohung darstellen. Die mittlere Erkrankungshäufigkeit wird mit 2-3 Erkrankungen pro 1000 Schwangerschaften angegeben [4]. Trotz des hohen Anteils an seropositiven Frauen im gebärfähigen Alter von 96-97% gehen in Deutschland jährlich etwa 20.000 bis 30.000 Frauen ungeschützt vor Varizellen und deren Komplikationen in eine Schwangerschaft. Für schwangere Frauen mit Varizellen besteht ein erhöhtes Risiko einer Varizellenpneumonie mit lebensbedrohlicher respiratorischer Insuffizienz, wobei diese Komplikation im 3. Trimenon am häufigsten auftritt [25]. Die Letalität der Erkrankung kann ohne kausale Therapie bis zu 45% betragen [2]. Während der gesamten Schwangerschaft ist es möglich, dass bei mütterlichen Windpocken der Erreger transplazentar auf das ungeborene Kind übertragen wird. Die Auswirkungen auf das Kind stehen dabei in engem Zusammenhang mit dem Zeitpunkt der maternalen Erkrankung. Treten Varizellen in den ersten 20 Schwangerschaftswochen auf, kann die Virusübertragung auf das ungeborene Kind das gefürchtete fetale Varzellensyndrom auslösen. Auf der Grundlage der angegebenen Inzidenz von 1-2% [5, 9] ist in Deutschland jährlich mit circa 6-10 Fällen zu rechnen.

Die klinische Symptomatik des fetalen Varzellensyndroms umfasst meist segmental angeordnete Hautveränderungen, neurologische Erkrankungen, Augenerkrankungen sowie Skelettanomalien [20]. Bei Neugeborenen, deren Mütter um den Geburtszeitpunkt erkranken, besteht die Gefahr lebensbedrohlicher neonataler Varizellen. Unter allen Lebendgeburten in Deutschland sind jährlich maximal 30 Fälle neonataler Windpocken zu erwarten. Der Verlauf neonataler Varizellen steht in enger Beziehung zum Erkrankungszeitpunkt der Mutter, da transplazentar übertragene maternale Antikörper in der Lage sind, die Schwere der kindlichen Symptomatik abzumildern. Tritt die mütterliche Erkrankung innerhalb von 4 (-5) Tagen vor bis zu 2 Tagen nach der Entbindung auf, muss mit generalisierten Windpocken beim Neugeborenen gerechnet werden, deren Letalität nahezu 20% beträgt [19]. Ein Zoster während der Schwangerschaft stellt nach dem gegenwärtigen Wissensstand kein Risiko für das ungeborene Kind dar. Mit den derzeit zur Verfügung stehenden diagnostischen, immunprophylaktischen und therapeutischen Maßnahmen besteht die Möglichkeit, die genannten schwerwiegenden Folgen von Varizellen während der Gravidität weitestgehend zu verhindern.

Labordiagnostik von Varicella-Zoster-Virus-Infektionen

- Indikationen

Die Diagnose von Varizellen und Zoster basiert grundsätzlich auf dem typischen Verlauf und dem charakteristischen klinischen Erscheinungsbild. Unter dem Aspekt der Differenzialdiagnostik werden virologische Untersuchungen vor allem zur Abklärung von atypischen Krankheitsbildern bei Patienten mit Immundefizienz, zur Abgrenzung anderer bläschenbildender Dermatosen, zur Abklärung von Infektionen während der Schwangerschaft und des Neugeborenen, zum Nachweis von ZNS-Infektionen oder einer Pneumonie sowie zur Resistenzbestimmung bei fehlendem Therapieerfolg erforderlich (Tab. 1). Mit der Einführung der allgemeinen Varizellenimpfung ist es notwendig, Impfvarizellen von natürlich erworbenen Windpocken zu unterscheiden. Indikationen für eine serologische Bestimmung des Immunstatus bestehen bei negativer oder zweifelhafter Varizellenanamnese nach VZV-Kontakt während der Schwangerschaft bzw. bei Personen, für die Varizellen eine schwerwiegende Gefahr darstellen können.

Tab. 1: Indikationen für eine Labordiagnostik von Varizellen

Differenzialdiagnostik von Varizellen und Zoster	Atypische Krankheitsbilder bei Immundefizienz Bläschenbildende Dermatosen anderer Ursache ZNS-Infektionen durch VZV VZV-Pneumonie
Diagnostik während der Schwangerschaft	Fragliche Immunität nach VZV-Kontakt Intrauterine Infektion (pränatale Diagnostik) Fetales Varzellensyndrom Neonatale Varizellen
Diagnostik im Zusammenhang mit Varizellenimpfung	Unterscheidung von Wild- und Impfviren bei Varizellen oder Zoster nach Impfung Diagnostik von Durchbruchserkrankungen nach Impfung Erkennung von empfänglichen Personen Kontrolle des Impferfolgs bei immundefizienten Impflingen und Beschäftigten im Gesundheitsdienst
Diagnostik bei fehlendem Therapieerfolg	Bestimmung der phänotypischen Resistenz

- Methoden

In der Labordiagnostik von VZV-Infektionen besitzt der Virusnachweis die größte Bedeutung, da er eine zweifelsfreie Diagnose des Erregers im Frühstadium der Erkrankung ermöglicht (Tab. 2).

Tab. 2: Prinzipien und Methoden der Labordiagnostik von VZV-Infektionen

Prinzip	Methode	Untersuchungs-material/Transport	Anmerkungen
Virus-DNA-Nachweis	Polymerasekettenreaktion (PCR)	Liquor, Bläscheninhalt, Gewebe, bronchoalveoläre Lavage (BAL)*, EDTA-Blut, Fruchtwasser	Methode der Wahl, spezifisch, sensitiv, schnell (ca. 5 Std.)
Virusisolierung	Anzüchtung in der Zellkultur, Nachweis mittels monoklonaler Antikörper	Bläscheninhalt, Gewebe, BAL*/Transportmedium notwendig	spezifisch, langwierig (3-8 Tage), schwierig, aufwendig
Resistenzbestimmung	Plaquereduktions-test	Virusisolat	schwierig, aufwendig
Virusantigen-nachweis	Immunfluoreszenz-test mit monoklonalen Antikörpern	zellreicher Bläscheninhalt, Gewebe	schnell (2-3 Std.), sehr materialabhängig, eingeschränkte Sensitivität u. Spezifität
Nachweis von Viruspartikeln	Elektronenmikroskopie	Bläscheninhalt, Gewebe, BAL*	schnell u. zuverlässig, keine Unterscheidung von anderen Herpesviren
Nachweis von Einschlusskörpern	Histologie bzw. Zytologie	Paraffinschnitt oder Zellpräparat auf Objektträger	keine Unterscheidung von anderen Herpesviren
Differenzierung von Wild- und Impfvirus	PCR, Restriktions-enzymanalyse	Bläscheninhalt, Gewebe, Virusisolat	bei Verdacht auf Varizellen oder Zoster nach Impfung, spezifisch

* Bei Verdacht auf VZV-Pneumonie indiziert.

Nachweis viraler Nukleinsäure:

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) zum sensitiven Nachweis viraler DNA wird heute als Methode der Wahl zur schnellen und zuverlässigen Labordiagnostik von VZV-Infektionen angesehen [15].

Eine besondere Bedeutung hat die PCR zur Liquoruntersuchung bei Verdacht auf akute Infektionen des ZNS sowie bei der Untersuchung des Fruchtwassers im Rahmen der pränatalen Diagnostik nach Windpocken in der Schwangerschaft. Bei immunsupprimierten Patienten mit Zoster kann der Nachweis von VZV-DNA im EDTA-Blut (kein Heparin-Blut!) hilfreich sein, das potentielle Risiko einer Disseminierung einzuschätzen. Neben den bereits genannten Proben kommen vor allem Bläscheninhalt sowie bronchoalveoläre Lavage (V.a. Pneumonie) und Gewebe als Untersuchungsmaterialien in Frage. Als Primer finden Oligonukleotide aus den Open Reading Frames (ORF) 4, 13, 28, 29, 36, 62, 63 und 68 Verwendung. Proben, die ausschließlich für einen Virus-DNA-Nachweis mittels PCR vorgesehen sind, können ungekühlt, z.T. auch auf dem Postweg, eingesandt werden, da die virale DNA bei Raumtemperatur relativ stabil ist.

Virusisolierung:

Die Anzüchtung des VZV in der Zellkultur wird von vielen Autoren als „Goldstandard“ zum Nachweis des VZV bezeichnet. Eine Virusisolierung ist jedoch nur in wenigen Zelltypen möglich (diploide oder primäre Zellkulturen vom Menschen oder Affen, z.B. humane Fibroblasten). Sie ist relativ zeitaufwendig und besitzt keine klinisch relevante Sensitivität [15]. Wesentlich für eine erfolgreiche Virusisolierung sind eine frühzeitige und sorgfältige Materialgewinnung (Bläscheninhalt in frühem Krankheitsstadium!) und ein optimaler Probentransport. Liquor ist zur Virusisolierung meist ungeeignet. Zytopathische Effekte sind fokal angeordnet und bestehen aus großen, abgerundeten, synzytial verschmolzenen, vielkernigen Zellen mit intranukleären Einschlüssen. Eine Identifizierung der Isolate wird zweckmäßigerweise unter Verwendung monoklonaler Fluoreszein- oder Enzym-markierter Antikörper mittels Immunfluoreszenz bzw. immunhistologischer Methoden vorgenommen. Der Probentransport sollte unverzüglich und gekühlt (4°C) in einem Virustransportmedium oder in Zellkulturmedium mit Antibiotikazusatz erfolgen. Bei längerer Lagerung sind Temperaturen von -20°C oder besser von -80°C vorzuziehen.

Direktnachweis viraler Antigene:

Der Direktnachweis von VZV-Antigenen ist eine häufig eingesetzte und ökonomische Methode, die innerhalb weniger Stunden ein Ergebnis liefert. Unter Routinebedingungen hat sie hinsichtlich Sensitivität und Spezifität jedoch deutliche Nachteile und ist in starkem Maße von der Qualität des Untersuchungsmaterials abhängig [15]. Zur Untersuchung sind zellreicher Bläscheninhalt (Zellen vom Blasengrund) oder Gewebe geeignet, wobei das Material auf Objektträger ausgestrichen bzw. als Imprint oder Gefrierschnitt verarbeitet wird. Die Auswertung der Präparate sollte durch einen erfahrenen Untersucher erfolgen. Typisch sind virusinduzierte intranukleäre Einschlüsse.

Direktnachweis von Viruspartikeln bzw. Einschlusskörpern:

Die elektronenmikroskopische Darstellung viraler Strukturen erfolgt am effektivsten mittels Negativkontrastierung. Die Virionen können in Bläscheninhalt oder infizierten Zellen nachgewiesen werden. Die Morphologie der Virus-Partikel lässt keine Unterscheidung des VZV von anderen Herpesviren zu. Für eine Routinediagnostik ist die Methode zu unspezifisch und materialaufwendig. Der Virusdirektnachweis kann ebenfalls mittels zytomorphologischer Methoden (Tzanck smear) erfolgen. Zur Darstellung kommen vielkernige Riesenzellen sowie typische intranukleäre Einschlusskörper. Auch mit dieser Methode ist keine Differenzierung zwischen VZV und anderen Herpesviren möglich.

Genotypisierung:

Eine Unterscheidung des VZV hinsichtlich Wild- und Impfviren (Impfstamm Oka) hat mit der Einführung der Varizellenimpfung Bedeutung erlangt. Es ist möglich, Varizellen oder Zoster-Erkrankungen, die nach Impfung auftreten, ursächlich einer Impf- oder Wildvirus-Infektion zuzuordnen. Die Methode mit dem geringsten Aufwand ist eine Amplifikation von viralen DNA-Sequenzen der offenen Leserahmen 38 und 62, verbunden mit einer Restriktionsenzymanalyse der amplifizierten DNA [18]. Eine Unterscheidung verschiedener VZV-Wildtypen ist nur über eine Sequenzierung geeigneter Genomabschnitte möglich [23]. Bis heute wurden in Abhängigkeit von der regionalen Verteilung vor allem europäisch-nordamerikanische, asiatisch-afrikanische und japanische Genotypen des VZV beschrieben [17].

Resistenzbestimmung:

Eine phänotypische Bestimmung der Resistenz des VZV gegenüber antiviralen Chemotherapeutika ist bislang die Methode der Wahl. Sie setzt jedoch die Anzüchtung des Virus voraus, was relativ zeitaufwendig ist und auch mit einem negativen Ergebnis verbunden sein kann. Als Testverfahren werden verschiedene Versionen des Plaquereduktionstests eingesetzt [6]. Eine schnellere Alternative bietet die genotypisierende Bestimmung der Resistenz, welche eine Sequenzanalyse des viralen Thymidinkinase- und DNA-Polymerasegens erfordert [7]. Die Interpretation von DNA-Mutationen im Sinne einer Resistenz ist jedoch schwierig, wenn sich die Analyse nur auf genotypische Befunde stützt.

- Stellenwert Serologie

Als Domäne der VZV-Serologie gilt die Bestimmung des VZV-Immunstatus. Im Allgemeinen korreliert das virusspezifische Immunglobulin G (IgG) mit der spezifischen zellulären Immunität, die zwar hinsichtlich des Schutzes vor VZV-Infektionen dominiert, aber methodisch schwierig zu bestimmen ist.

Für die Induktion der Immunantwort gegen das VZV werden virale Glykoproteine (gp) verantwortlich gemacht. VZV-gp-spezifische Antikörper lassen sich mittels Fluoreszenz-Antikörper-Membran-Antigen-Test (FAMA) erfassen, weshalb dieser Test auch als Methode der Wahl für die Bestimmung der VZV-spezifischen Immunität angesehen wird [16]. Beim FAMA reagieren die Antikörper mit den an der Oberfläche VZV-infizierter Zellen exprimierten Glykoproteinen. Der Test wird jedoch nur in Speziallabors vorgehalten, da seine Durchführung Erfahrungen bei der Kultivierung des VZV voraussetzt. VZV-gp-spezifische Antikörper lassen sich auch im Neutralisationstest erfassen, der jedoch gleichfalls aufgrund seiner schwierigen Durchführbarkeit keine Routinemethode darstellt. In der täglichen Laborpraxis stehen deshalb meist der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) und Immunfluoreszenztest (IFT) zur Verfügung, die in der Regel mit Vollvirus-Antigenen auf der Basis VZV-infizierter Zellkulturen arbeiten. Bislang wurden erst wenige VZV-gp-spezifische ELISA-Teste kommerziell vertrieben [21]. Die in der Routinediagnostik relativ häufig verwendete Komplementbindungsreaktion (KBR) ist zur Beurteilung der Immunität ungeeignet, da niedrige Antikörpertiter und damit eine Langzeitimmunität nicht erfasst werden.

Um eine Vergleichbarkeit der serologischen Untersuchungsergebnisse zu sichern, werden die ELISA-Ergebnisse auf einen internationalen Standard bezogen und in mIU/ml angegeben. Seropositiv sind im allgemeinen Proben mit >100 mIU/ml, negativ mit <50 mIU/ml. Als grenzwertig werden Ergebnisse zwischen 50 und 100 mIU/ml eingestuft [10]. Für eine Standardisierung stehen der WHO "International Standard for Varicella Zoster Immunoglobulin" (50 IU) sowie der „British Standard for VZV antibodies“ (National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, Großbritannien) zur Verfügung.

Der Nachweis von Antikörpern kann auch zur Bestätigung von Varizellen und Zoster eingesetzt werden. Auf die Serologie sollte jedoch nur zurückgegriffen werden, wenn kein Untersuchungsmaterial zum Virusnachweis zur Verfügung steht bzw. nur eine retrospektive Diagnose erforderlich ist [15]. Die Bestimmung des Anti-VZV-IgM wird in der Praxis häufig zur Bestätigung einer aktiven VZV-Infektion in Form von Varizellen oder Zoster eingesetzt, wobei jedoch nur bei maximal 50-60% der Zoster-Patienten VZV-spezifisches IgM nachweisbar ist [3, 28]. Anti-VZV-IgA lässt sich relativ häufig bei latent mit VZV infizierten Personen nachweisen, hohe Titerwerte korrelieren nahezu regelmäßig mit einem Zoster. Varizellen führen zu einer Serokonversion des VZV-spezifischen IgG, während der Zoster in der Regel mit einem Anstieg des VZV-IgG verbunden ist. Der Nachweis intrathekalen VZV-spezifischer IgG-Antikörper kann für die retrospektive Diagnostik von ZNS-Infektionen genutzt werden. In der täglichen Laborpraxis stehen für den Nachweis VZV-spezifischer IgM-, IgA- und IgG-Antikörper meist Bindungsteste, wie der ELISA und der IFT zur Verfügung.

Sie erlauben eine Differenzierung der Ig-Klassen und können aufgrund ihrer Sensitivität auch zur Bestimmung von Antikörpern im Liquor eingesetzt werden. Entsprechende Test-Kits, z.T. mit automatischer Durchführung, werden durch zahlreiche Firmen kommerziell vertrieben. Die Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die wichtigsten Verfahren zum Nachweis VZV-spezifischer Antikörper.

Tab. 3: Verfahren zum Nachweis VZV-spezifischer Antikörper

Methode	Anmerkungen
Fluoreszenz-Antikörper-Membran-Antigen-Test (FAMA)	Methode der Wahl zur Bestimmung der Immunität, Nachweis von VZV-Glykoproteinen (gp), aufwendig, keine Routinemethode
Neutralisationstest	Nachweis von VZV-gp, gute Korrelation mit FAMA, schwierig, keine Routinemethode
Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	Einfach in der Durchführung, Differenzierung der Ig-Klassen, sensitiv, geeignet zur Bestimmung von Antikörpern im Serum und Liquor, kommerziell vertrieben, automatisiert, Ergebnis in mIU/ml
indirekter Fluoreszenzantikörpertest (IFAT)	Einfache Durchführung, erfordert Erfahrung bei der Auswertung, Differenzierung der Ig-Klassen, sensitiv, geeignet zur Bestimmung von Antikörpern im Serum und Liquor, z.T. kommerziell vertrieben, Ergebnis in Titern
Komplementbindungsreaktion (KBR)	Einfache Durchführung, keine Differenzierung der Ig-Klassen, Nachweis von Titerbewegungen, wenig sensitiv, Serokonversion bei Zoster vorgetäuscht, z.T. kommerziell vertrieben, Ergebnis in Titern

- Diagnostische Evaluierung der VZV-ELISA PKS medac

Im Folgenden wurden Sensitivität und Spezifität der VZV-IgG-ELISA PKS medac, VZV-IgA-ELISA PKS medac sowie des VZV-IgM-ELA Test PKS medac (medac GmbH GE Diagnostika, Wedel) zum Nachweis VZV-spezifischer IgG-, IgA bzw. IgM-Antikörper überprüft. Anhand definierter Serumpanel erfolgte ein Vergleich zu den Referenzmethoden, dem FAMA (IgG) und dem indirekten Fluoreszenzantikörpertest (IFAT/IgA/IgM), sowie zu den in der Praxis häufig eingesetzten ELISA Enzygnost® Anti-VZV/IgG bzw. Anti-VZV/IgM der Firma Siemens (ehem. Dade Behring). Alle verwendeten kommerziellen Teste wurden entsprechend den Vorgaben der Hersteller durchgeführt.

Für den FAMA dienten Glutaraldehyd-fixierte [30] virusinfizierte Zellen in Flachboden-Mikrotiterplatten als Antigen, wobei VZV-Oka-infizierte humane embryonale Lungenfibroblasten verwendet wurden [16]. Antikörpertiter von $\geq 1:2$ wurden als positiv bewertet. Der IFAT wurde ebenfalls nach einer bereits beschriebenen In house-Methode [15] unter Verwendung von VZV-Oka-infizierten humanen embryonalen Lungenfibroblasten als Antigen durchgeführt. Antikörpertiter von $\geq 1:10$ wurden als positiv eingestuft. Eine In house-Modifikation des IFAT wurde zur Bestimmung der Herpes-simplex-Virus (HSV) Typ 1/2-spezifischen IgG-Antikörper eingesetzt, um Kreuzreaktionen zwischen HSV-spezifischen Antikörpern und VZV-Antigenen bewerten zu können. Mit HSV-2 infizierte HEp-2-Zellen auf Objektträgern dienten als Antigen [14].

Folgende Serumpanel wurden in die Studie einbezogen:

- 1) Serumpanel 1: 25 Serumproben von VZV/HSV-seronegativen Personen, VZV-IgG/VZV-IgA/VZV-IgM negativ (IgG: FAMA $<1:2$, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgG negativ <50 mIU/ml; IgA/IgM: IFAT $<1:10$, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgM negativ), HSV-1/2-IgG negativ (IFAT $<1:10$)
- 2) Serumpanel 2: 25 Serumproben von VZV-seronegativen/HSV-IgG-positiven Personen, VZV-IgG/VZV-IgA/VZV-IgM negativ (FAMA $<1:2$, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgG <50 mIU/ml; IgA/IgM: IFAT $<1:10$, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgM negativ), HSV-1/2-IgG positiv (IFAT $\geq 1:10$)
- 3) Serumpanel 3: 50 Serumproben von latent mit VZV infizierten Personen, VZV-IgG schwach bis mäßig positiv (FAMA 1:2- 1:16, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgG $< 50-800$ mIU/ml)
- 4) Serumpanel 4: 30 Serumproben von Impfungen ≥ 6 Wochen nach erster bzw. zweiter Varizellenimpfung, VZV-IgG schwach bis deutlich positiv (FAMA: 1:8-1:64, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgG $>50-1400$ mIU/ml)
- 5) Serumpanel 5: 30 Serumproben von Patienten mit Zoster, VZV-IgA positiv (IFAT $> 1:10$)
- 6) Serumpanel 6: 30 Serumproben von Patienten mit Varizellen oder Zoster, VZV-IgM positiv (IFAT $\geq 1:10$, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgM $\Delta E \geq 0,200$), Proben 1-10: IFAT $\geq 1:160$, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgM $\Delta E > 0,600$, Proben 11-20: IFAT 1:20-1:80, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgM $\Delta E = 0,350-0,650$, Proben 21-30: IFAT 1:10-1:20, Enzygnost[®] Anti-VZV/IgM $\Delta E = 0,200-0,350$)

Tabelle 4 gibt eine zusammenfassende Darstellung der Studienergebnisse. Folgt man den Empfehlungen des Robert Koch-Instituts und interpretiert grenzwertige VZV-IgG-Befunde zur Beurteilung der natürlich erworbenen Immunität als Antikörper-negativ [9], so zeigt der zu bewertende VZV-IgG-ELISA PKS medac mit 98% eine sehr gute Spezifität, jedoch mit lediglich 78% eine eingeschränkte Sensitivität im Vergleich zu dem als "Goldstandard" anerkannten FAMA (Tab. 5). Werden die grenzwertigen Befunde als Antikörper-positiv bewertet, ergibt sich bei einer Spezifität von 96% eine Sensitivität von 84%.

Zum Nachweis einer Impfmunität gegen das VZV betrug die Sensitivität des VZV-IgG-ELISA PKS medac 86,7%, wenn die grenzwertigen Befunde als positiv interpretiert wurden (Tab. 5). Eine deutlich eingeschränkte Sensitivität von 66,7% ergibt sich nach Bewertung der grenzwertigen Befunde als Antikörper-negativ. Vergleicht man die vorliegenden Ergebnisse mit denen des Enzygnost® Anti-VZV/IgG von Siemens, so ist der VZV-IgG-ELISA PKS medac als gleichwertig einzuschätzen. Hinsichtlich des Nachweises einer natürlich erworbenen VZV-Immunität bestehen im Vergleich zum Enzygnost® Anti-VZV/IgG geringe Nachteile und bezüglich des Nachweises einer Impfmunität geringe Vorteile. In Bezug auf die praktische Durchführbarkeit sind beide Tests vergleichbar, wenngleich Unterschiede in der Ergebnisauswertung (medac cut off 180 mIU/ml) bestehen.

Der geprüfte VZV-IgA-ELISA PKS medac hat zur Bestimmung VZV-spezifischer IgA-Antikörper eine ausgezeichnete Spezifität und Sensitivität im Vergleich zum IFAT (Tab. 5). Dadurch ist er für die retrospektive serologische Diagnostik des Zosters sehr gut geeignet.

Zur Bestimmung VZV-spezifischer IgM-Antikörper zeigte der getestete VZV-IgM-ELA Test PKS medac bei einer ausgezeichneten Spezifität eine gering eingeschränkte Sensitivität zwischen 87 und 93% im Vergleich zum IFAT und zum Enzygnost® Anti-VZV/IgM (Tab. 5). Damit kann dieser Test ebenfalls zur serologischen Diagnostik von Varizellen und Zoster empfohlen werden.

Tab. 4: Zusammenfassung der Ergebnisse der ELISA VZV-IgG-ELISA PKS medac, Enzygnost® Anti-VZV/IgG, VZV-IgA-ELISA PKS medac und VZV-IgM-ELA Test PKS medac im Vergleich zum FAMA (IgG) bzw. IFAT (IgA, IgM)

Serumpanel	Anzahl der Proben	VZV-IgG medac			Enzygnost® Anti-VZV/IgG			VZV-IgA medac			VZV-IgM medac		
		+	+/-	-	+	+/-	-	+	+/-	-	+	+/-	-
1) VZV-IgG/IgA/IgM negativ HSV-IgG negativ	25	1	0	24	0	0	25	0	0	25	0	0	25
2) VZV-IgG/IgA/IgM negativ HSV-IgG positiv	25	0	1	24	0	0	25	0	0	25	0	0	25
3) VZV-IgG schwach bis mäßig positiv	50	39	3	8	41	3	6	-	-	-	-	-	-
4) Nach Varizellenimpfung	30	20	6	4	15	11	4	-	-	-	-	-	-
5) VZV-IgA positiv	30	-	-	-	-	-	-	30	0	0	-	-	-
6) VZV-IgM positiv	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26	2	2

Tab.5: Spezifität, Sensitivität und Korrelation der VZV-IgG-ELISA PKS medac, Enzygnost® Anti-VZV/IgG, VZV-IgA-ELISA PKS medac und VZV-IgM-ELA Test PKS medac im Vergleich zum FAMA (IgG), IFAT (IgA) bzw. IFAT und Enzygnost® Anti-VZV/IgM (IgM)

Bewertung	VZV-IgG-ELISA PKS medac	Enzygnost® Anti-VZV/IgG	VZV-IgA-ELISA PKS medac	VZV-IgM-ELA PKS medac
Spezifität	96,0%** – 98,0%*	100%	100%	100%
Sensitivität	Natürlich erworbene Immunität: 78,0%* – 84,0** Impfimmunität: 66,7%* – 86,7%**	Natürlich erworbene Immunität: 82,0%* – 88,0%** Impfimmunität: 50,0%* – 86,7%**	100%	86,7%* – 93,3%**
Korrelation	83,1%* – 89,2%**	81,5%* – 92,3%**	100%	95,0%* – 97,5%**

* grenzwertige Befunde mit negativ bewertet

** grenzwertige Befunde mit positiv bewertet

Prophylaxe von Varicella-Zoster-Virus-Infektionen

Die Prophylaxe von Varizellen erfolgt mit einer attenuierten Lebendvakzine auf der Basis des japanischen Oka-Stammes [26]. Sie wird in Deutschland als Standardimpfung für alle Kinder zwischen dem vollendeten 11. und 14. Lebensmonat empfohlen [11]. Die Nachholeimpfungen sollten spätestens bei allen 9- bis 17-Jährigen mit negativer Varizellenanamnese erfolgen. Weiterhin wird die Varizellenimpfung empfohlen für seronegative Frauen mit Kinderwunsch, seronegative Risikopatienten und deren Kontaktpersonen, seronegatives Personal im Gesundheitsdienst sowie bei Neueinstellung in Gemeinschaftseinrichtungen für das Vorschulalter. Bei gesunden Personen wird mit der Impfung eine Serokonversionsrate von über 97% erreicht, bei Risikopatienten liegt diese zwischen 80 und 90%. Die Impfung ist auch für die postexpositionelle Varizellen-Prophylaxe von Wert. Sie kann bei Exposition empfänglicher Personen mit Kontakt zu Risikopersonen innerhalb von 5 Tagen nach Exposition oder innerhalb von 72 Std. nach Beginn des Exanthems beim Indexpatienten durchgeführt werden.

Derzeit stehen in Deutschland die monovalenten Varizellenimpfstoffe Varilrix® (GlaxoSmithKline) und Varivax® (Sanofi Pasteur MSD) sowie der Mumps-Masern-Röteln-Varizellen (MMRV)-Vierfachimpfstoff Priorix-Tetra® (GlaxoSmithKline) zur Verfügung. Die Applikation der monovalenten Impfstoffe erfolgt bei Kindern ab dem 12. Lebensmonat bis zum vollendeten 13. Lebensjahr bislang in Form einer Dosis á 0,5 ml subkutan. Eine bessere Wirksamkeit ist durch die Einführung eines Zwei-Dosen-Impfschemas zu erwarten [29]. Jugendliche ab vollendetem 13. Lebensjahr und Erwachsene erhalten 2 Dosen á 0,5 ml subkutan im Abstand von ≥ 6 Wochen (Varilrix®) bzw. im Abstand von 4-8 Wochen (Varivax®). Der MMRV-Vierfachimpfstoff Priorix-Tetra® ist zur aktiven Immunisierung von Personen ab dem vollendeten 9. Lebensmonat bis zum vollendeten 12. Lebensjahr vorgesehen. Die Immunisierung besteht aus 2 Dosen, vorzugsweise im Mindestabstand von 6 Wochen [13]. Klinische Studien haben eine gute Immunantwort gegen alle 4 Komponenten und lediglich eine geringe Zunahme leichter Fieberreaktionen belegt [24]. Bei der Anwendung verschiedener Impfstoffe ist zu beachten, dass die zugelassenen Impfschemata Berücksichtigung finden.

Zu den wichtigen Gegenanzeigen der Varizellenimpfung gehören eine intensive immunsuppressive Therapie, eine symptomatische HIV-Infektion sowie eine Gravidität, einschließlich der Zeitraum von 3 Monaten vor einer geplanten Schwangerschaft. In sehr seltenen Fällen wurde eine Übertragung des Impfvirus beschrieben. Deshalb sollten Schwangere mit negativer Varizellenanamnese, Neugeborene von Müttern ohne Varizellenanamnese und Personen mit Risiko für schwer verlaufende Windpocken den Kontakt von Impfungen mit Hauteffloreszenzen vermeiden. Die Schwangerschaft einer Mutter gilt nicht als Kontraindikation für die Impfung ihres ungeschützten Kindes [12].

In Anlehnung an den Varizellenimpfstoff wurde ein Zosterimpfstoff entwickelt, der eine mindestens 14-fach höhere Konzentration des Impfvirus enthält. Es konnte gezeigt werden, dass die Impfung von Erwachsenen eine Reduktion der Zosterinzidenz und der Schwere des Zosters um etwa 50% sowie der Häufigkeit der PZN um 67% bewirken kann [8].

Eine passive VZV-Immunprophylaxe wird für empfängliche abwehrgeschwächte Risikopatienten nach Varizellenexposition empfohlen. Wichtige Voraussetzung dafür ist die rechtzeitige Gabe innerhalb von 72-96 Std. nach Expositionsbeginn. Zu den empfänglichen Risikopatienten gehören ebenfalls seronegative Schwangere, Neugeborene, deren Mütter 5 Tage vor bis 2 Tage nach der Entbindung an Varizellen erkranken, sowie Frühgeborene. Bei exponierten Personen ist grundsätzlich auch eine Varizellenprophylaxe mit Aciclovir möglich.

Literatur

1. Banz K, Wagenpfeil S, Neiss A et al. The burden of varicella in Germany. *Eur J Health Econom* 2004;5:46-53.
2. Chandra PC, Patel H, Schiavello HJ, Briggs SL. Successful pregnancy outcome after complicated varicella pneumonia. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 680-2.
3. Doerr HW, Rentschler M, Scheifler G. Serologic detection of active infections with human herpes viruses (CMV, EBV, HSV, VZV): Diagnostic potential of IgA class and IgG subclass-specific antibodies. *Infection* 1987;14:93-8.
4. Enders G, Miller E. Varicella and herpes zoster in pregnancy and the newborn. In: A.M. Arvin and A.A. Gershon (Eds.), *Varicella-zoster virus. Virology and clinical management*. University Press, Cambridge, 2000:317-47.
5. Enders G, Miller E, Cradock-Watson J et al. Consequences of varicella and herpes zoster in pregnancy: prospective study of 1739 cases. *Lancet* 1994;343:1548-51.
6. Klöcking R, Schacke M, Wutzler P. Primärscreening antiherpetischer Verbindungen mit EZ4U. *Chemother J* 1995;4:141-7.
7. Morfin F, Thouvenot D, De Turenne-Tessier M et al. Phenotypic and genetic characterization of thymidine kinase from clinical strains of varicella-zoster virus resistant to acyclovir. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2412-6.
8. Oxman MN, Levin MJ, Johnson GR et al. A vaccine to prevent herpes zoster and postherpetic neuralgia in older adults. *N Engl J Med* 2005;352:2271-84.
9. Pastuszak AL, Levy M, Schick B et al. Outcome after maternal varicella infection in the first 20 weeks of pregnancy. *N Engl J Med* 1994;330:901-5.
10. Robert Koch-Institut. Mitteilung der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut. Fragen und Antworten zu verschiedenen Impfungen. *Epidemiol Bull* 2001;8:58.
11. Robert Koch-Institut. Empfehlungen der Ständigen Impfkommision (STIKO) am RKI (Stand Juli 2004). *Epidemiol Bull* 2004;30:235-50.
12. Robert Koch-Institut. Neuerungen in den aktuellen Impfempfehlungen der STIKO. *Epidemiol Bull* 2005;31:273-6.
13. Robert Koch-Institut. Empfehlungen der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut (Stand: Juli 2006). *Epidemiol Bull* 2006;30:235-50.
14. Sauerbrei A, Eichhorn U, Hottenrott G et al. Virological diagnosis of herpes simplex encephalitis. *J Clin Virol* 2000;17:31-6.
15. Sauerbrei A, Eichhorn U, Schacke M et al. Laboratory diagnosis of herpes zoster. *J Clin Virol* 1999;14:31-6.

16. Sauerbrei A, Färber I, Brandstädt A et al. Immunofluorescence test for highly sensitive detection of varicella-zoster virus-specific IgG - alternative to fluorescent antibody to membrane antigen test. *J Virol Methods* 2004;119:25-30.
17. Sauerbrei A, Philipps A, Zell R et al. Genotyping of varicella-zoster virus strains after passages in cell culture. *J Virol Methods* 2007;145:80-3.
18. Sauerbrei A, Uebe B, Wutzler P. Molecular diagnosis of zoster post varicella vaccination. *J Clin Virol* 2003;27:190-9.
19. Sauerbrei A, Wutzler P. Neonatal varicella. *J Perinatol* 2001;21:545-9.
20. Sauerbrei A, Wutzler P. Das fetale Varizellensyndrom. *Monatsschr Kinderheilkd* 2003;151:209-13.
21. Sauerbrei A, Wutzler P. Serological detection of varicella-zoster virus-specific immunoglobulin G by an enzyme-linked immunosorbent assay using glycoprotein antigen. *J Clin Microbiol* 2006;44:3094-7.
22. Sauerbrei A, Wutzler P. *Varicella-Zoster-Virus-Infektionen: Aktuelle Prophylaxe und Therapie*. 2. Auflage. Uni-Med, Bremen London Boston, 2007.
23. Sauerbrei A, Zell R, Philipps A et al. Genotypes of varicella-zoster virus wild-type strains in Germany. *J Med Virol* 2008;80:1123-30.
24. Shinefield H, Black S, Digilio L et al. Evaluation of a quadrivalent measles, mumps, rubella and varicella vaccine in healthy children. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:665-9.
25. Smego RA Jr, Asperille MO. Use of acyclovir for varicella pneumonia during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1991;78:1112-6.
26. Takahashi M. 25 years' experience with the Biken Oka strain varicella vaccine: a clinical overview. *Paediatr Drugs* 2001;3:285-92.
27. Wagenpfel S, Neiss A, Banz K et al. Empirical data on the varicella situation in Germany for vaccination decisions. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:425-30.
28. Wittek AE, Arvin AM, Koropchak CM. Serum immunoglobulin A antibody to varicella-zoster virus in subjects with primary varicella and herpes zoster infections and in immune subjects. *J Clin Microbiol* 1983;18:1146-9.
29. Wutzler P, Knuf M, Liese J. Varizellen: Besserer Schutz durch zweimalige Impfung im Kindesalter. *Dtsch Arztebl* 2008;105:567-72.
30. Zaia JA, Oxman MN. Antibody to varicella-zoster virus-induced membrane antigen: immunofluorescence assay using monodisperse glutaraldehyde-fixed target cells. *J Infect Dis* 1977;156:519-30.

Verfasser: Prof. Dr. Andreas Sauerbrei
Institut für Virologie und Antivirale Therapie
Universitätsklinikum Jena
Hans-Knöll-Straße 2
07745 Jena
e-mail: Andreas.Sauerbrei@med.uni-jena.de

Herausgeber: medac GmbH
GE Diagnostika
Produktmanagement Virologie
Dr. Martina Radtke
Theaterstraße 6
22880 Wedel
e-mail: m.radtke@medac.de