

Wissenschaft und Fortbildung

Fluoreszenzserologischer Nachweis von Virusinfektionen*

H. W. Doerr, G. Darai

Institut für Med. Virologie der Universität Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. med. K. Munk)

Zusammenfassung:

Mit Hilfe der Immunfluoreszenztechnik lassen sich in der virologischen Routinediagnostik sowohl das Virus(antigen) als auch die virusspezifische Antikörperbildung erkrankter Patienten auf rasche Art und Weise erkennen. Dies wird am Beispiel der Isolierung von DNA- (Adenovirus, HSV) und RNA-Viren (Poliovirus) in der Zellkultur und des Virusnachweises im Patientenorgangewebe (HB_s-, HB_c-Ag) demonstriert. Als Hauptanwendungsgebiet der virologischen Immunfluoreszenztechnik in der Serodiagnostik werden CMV- und EBV-Infektionen ausführlich behandelt.

Schlüsselwörter:

Immunfluoreszenztechnik – Virusnachweis – Virusspez. Antikörpertest – CMV- und EBV-Infektionen.

Summary:

Rapid viral diagnosis (detection of antigen and antibodies) is accomplished by immunofluorescent technique. This is presented for the isolation of DNA (Adenovirus, HSV) and RNA viruses (Poliovirus) and for the detection of virus in patient's material (HB_s-ag, HB_c-ag). Especially discussed is the problem of CMV and EBV infections being the main field of viral antibody diagnostic through immunofluorescent technique today.

Key words:

Immunofluorescent technique – Rapid viral diagnosis – CMV and EBV infections.

1. Methoden zum Nachweis von Virusinfektionen mittels Immunfluoreszenz

a) Der Immunfluoreszenztest bei virusinfizierten Zellkulturen

Die Diagnostik einer Viruserkrankung ruht im wesentlichen auf zwei Säulen,

1. dem Nachweis des Virus bzw. Virusantigens,
2. dem Nachweis der virusspezifischen Antikörperbildung infizierter Patienten.

In beiden Teilgebieten hat sich die Immunfluoreszenztechnik als ein wertvolles Hilfsmittel bewährt. Bekanntlich hat die Virologie durch die Einführung der Virusisolierung und -anzüchtung auf Zellkulturen in vitro einen erheblichen Aufschwung genommen. Bereits lichtmikroskopisch lassen sich viele Virusarten an einem charakteristischen cytopathischen Effekt (CPE) voneinander unterscheiden. Mit dem Immunfluoreszenztest läßt sich eine rasche weitere Typisierung erreichen. Die Abb. 1 zeigt eine Zellkultur von humanen, embryonalen Lungenfibroblasten, infiziert mit Adenovirus 2. Nach Beginn des cytopathischen Effektes wurde die Zellkultur (Deckgläschen) mit Aceton bei -20°C für 10 Min. fixiert, in isotonischer Pufferlösung (pH 7,6) gewaschen und mit einem FITC-markierten virusspezifischen Antiserum für 1 h bei $+37^{\circ}\text{C}$ beschichtet.

* Nach einem Vortrag auf der Herbsttagung 1977 der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin in Kettwig/Essen.

Als Ergebnis sieht man in dem Präparat eine ausgeprägte Kernfluoreszenz, die für die im Zellkern stattfindende Viruspartikelsynthese eines DNA-Virus charakteristisch ist.

Die Abb. 2 zeigt dagegen die für die RNA-Virus-synthese typische Cytoplasm fluoreszenz. Erst im fortgeschrittenen Infektionsstadium, wenn die Zellmorphologie sich auflöst, entsteht eine Gesamtzellfluoreszenz. Die mit viruscodiertem Material angefüllte Zelle rundet sich dann ab und löst sich von dem Deckgläschen.

Die verschiedenen Stadien der Viruspartikelsynthese in den einzelnen Zellkompartimenten lassen sich besonders gut am Beispiel einer mit dem Herpes-

simplex-Virus (HSV) infizierten Zellkultur verfolgen: Die Abb. 3 zeigt bei einer für das Herpesvirus charakteristischen, beginnenden Syncytienbildung eine Cytoplasm fluoreszenz, an einer anderen Stelle ein deutlich angefarbtes Kerneinschlußkörperchen, das elektronenoptisch als Ansammlung von Nukleokapsiden zu identifizieren wäre, sowie eine leuchtende Gesamtzellfluoreszenz am Ende der CPE-Entwicklung.

Einschränkend zu dieser Technik der Virusidentifizierung muß allerdings gesagt werden, daß in vielen Fällen wegen starker unspezifischer Reaktionen (besonders bei Cytoplasm fluoreszenz) eine weitere Subtypisierung (z.B. bei Adeno- und Polioviren) nicht möglich ist. Dazu müssen mitunter aufwendige, für den

Abb. 1:

Immunfluoreszenzserologisch dargestellter cytopathischer Effekt von Adenovirus Typ 2 auf embryonalen, humanen Lungenfibroblasten in verschiedenen Stadien. (Arbeitstechnik s. Lit. 13.)



Abb. 3:

Immunfluoreszenzserologisch dargestellter cytopathischer Effekt von HSV Typ 1 auf permanenten Affennierenzellen (Vero) in verschiedenen Stadien. (Arbeitstechnik s. Lit. 5.)

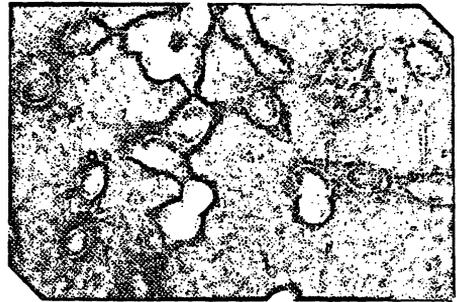


Abb. 2:

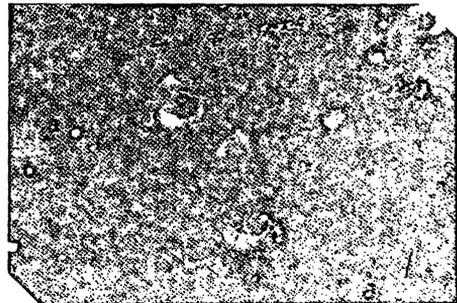
Immunfluoreszenzserologisch dargestellter cytopathischer Effekt von Poliovirus Typ 3 auf permanenten Affennierenzellen (Vero) in verschiedenen Stadien. (Arbeitstechnik s. Lit. 13.)



Abb. 4:

*Immunfluoreszenzserologischer Nachweis des HB_s-Ag im Gefrierdünnchnitt aus einer Leberbiopsie. (Arbeitstechnik s. Lit. 12.)**

* Wir danken Herrn Prof. Dr. H. P. Seelig herzlich für die Überlassung der Präparate.



normalen Routinebetrieb nicht geeignete Techniken herangezogen werden (Serumtitration, Blockierung der Fluoreszenz durch Vorinkubation mit einem nicht FITC-markierten Hyperimmunserum, Erfassung von typenspezifischen Membrantantigenen virusinfizierter, nicht fixierter Zellpräparate [z. B. HSV]).

*b) Immunfluoreszenztechniken
an histologischen Schnittpräparaten*

Die in der Gewebekultur erprobten Immunfluoreszenztechniken lassen sich auch ohne weiteres auf histologische Schnittpräparate übertragen. Hier sei nur an die p.m.-Diagnostik von Rabies und Herpesenzephalitiden am Sektionsmaterial (Gehirngewebe) erinnert. Aktuell

ler ist die intravitale Diagnostik der Hepatitis B-Antigene an Gefrierdünnschnitten aus Leberbiopsien. Die Abb. 4 zeigt eine typische Cytoplasmafluoreszenz einer das HB_s-Antigen synthetisierenden Leberzelle, die Abb. 5 eine entsprechende Aufnahme von Kernfluoreszenz als Ausdruck der HB_c-Ag-Produktion. Der quantitativen Verteilung von beiden Antigentypen in den Leberzellen unter Berücksichtigung der humoral gemessenen Antigene und Antikörper kommt eine erhebliche Bedeutung für die Beurteilung von Schweregrad und Prognose einer Lebererkrankung durch das Hepatitisvirus B zu. Die gegen das HB_s- und HB_c-Ag gerichteten Antikörper lassen sich ebenfalls routinemäßig mit der gleichen Technik (als indirekte Immunfluoreszenz) im Patientenserum nachweisen (1, 12).

Abb. 5:

*Immunfluoreszenzserologischer Nachweis des HB_c-Ag im Gefrierdünnschnitt aus einer Leberbiopsie. (Arbeitstechnik s. Lit. 12.)**

* Wir danken Herrn Prof. Dr. H. P. Seelig herzlich für die Überlassung der Präparate.

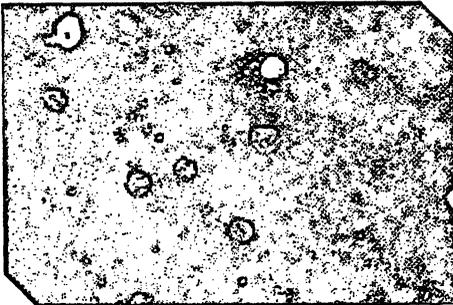


Abb. 6:

Nachweis von EBV-Antikörpern mit der indirekten Immunfluoreszenz. (Arbeitstechnik s. Lit. 11.) Dargestellt ist die Kernfluoreszenz als Ausdruck des Viruskapsidantigens (VCA) in Humanlymphozyten.



Abb. 7:

Nachweis von CMV-Antikörpern mit der indirekten Immunfluoreszenz. (Arbeitstechnik s. Lit. 9.) Dargestellt ist die Kern- (einschlußkörperchen)fluoreszenz und (unspezifische) Cytoplasmafluoreszenz von CMV-infizierten, embryonalen, humanen Lungenfibroblasten. Gewebekultur.

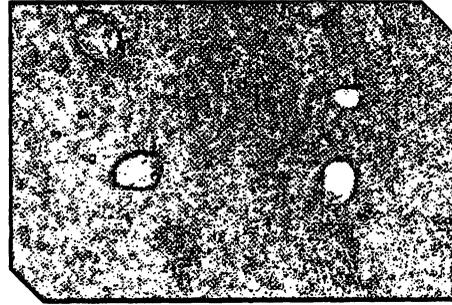
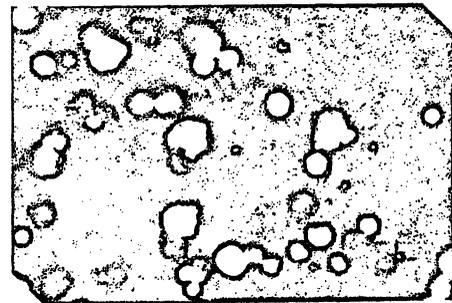


Abb. 8:

Immunfluoreszenzserologische Darstellung des Epstein-Barr-Virus-Nukleus-assoziierten Antigens (EBNA) in einer das EBV-Genom beherbergenden Gewebekultur (2). (Arbeitstechnik s. Lit. 8.)



2. Anwendung der Fluoreszenzmethoden in der Virologie

a) Die Anwendung des EBV- und CMV-Antikörpernachweises

In der Virologie ist die Domäne der fluoreszenzserologisch bestimmten Antikörper die Diagnostik von Epstein-Barr-Virus- und Cytomegalie-Infektionen. Bekanntlich konnten erst mit Hilfe der einfachen indirekten Immunfluoreszenztechnik vor 10 Jahren die Henle's die Ursache der infektiösen Mononukleose als Epstein-Barr-Virus-Infektion aufklären (7). Inzwischen weiß man, daß das Epstein-Barr-Virus (EBV) — ursprünglich als ätiologisches Agens des Burkitt- und Schmincke-Tumors untersucht — eine Vielzahl, z.T. uncharakteristischer Krankheitssymptome verursachen kann und eine sehr hohe Populationsdurchseuchung aufweist (4). Ganz entsprechende Krankheitssymptome (CMV-Mononukleose, CMV-Hepatitis, Guillain-Barré-Syndrom) können auch durch das Cytomegalievirus (CMV) hervorgerufen werden, das obendrein noch eine eminente Rolle in der Schwangerschaftsvorsorge spielt und in der Gefahr der intrauterinen Kindesinfektionen nach neueren Untersuchungen auch das Rötelnvirus übertrifft (3, 10). Durch die Anwendung eines immunglobulinsubtypenspezifischen, FITC-markierten Antihumanserums läßt sich in der indirekten Technik mittels des IgM-Antikörpernachweises auch mit einer einzelnen Serumprobe eine floride Virusinfektion nachweisen. Dies hat für die Gruppe der humanpathogenen Herpesviren, wozu CMV und EBV gehören, eine hervorragende Bedeutung, weil wegen ständiger, z.T. subklinisch verlaufender Reinfektionen (bzw. Exazerbationen) eine fortwährende Stimulierung der Antikörper erfolgt und somit — außer bei einer Primärinfektion — mit den üblichen serologischen Methoden eine floride Erkran-

kung nicht nachgewiesen werden kann (signifikanter Antikörpertiteranstieg oder -abfall). Auf dem Felde der Mononukleose-Diagnostik hat der EBV- und CMV-IgM-Antikörpernachweis den bisher üblichen Test nach Paul-Bunnell-Davidsohn (Hanganutziu-Deicher) sowohl an Sensitivität als auch an Spezifität weit übertroffen. Dieser Test auf heterophile Antikörper fällt bei den CMV-Mononukleosen und sehr häufig bei EBV-Infektion der Kleinkinder negativ aus.

Bei beiden Immunfluoreszenztests (EBV und CMV) wird die Anfärbung von Kerneinschlüssen beurteilt. Eine solche ist bei EBV-transformierten Lymphozyten allerdings erst nach einer Vorinkubation bei +33°C nachweisbar (Expression des Viruskapsidantigenes, Abb. 6). Die Lymphozyten sind in einer Suspensionskultur relativ leicht zu halten und werden vor dem Test auf einen Objektträger aufgetropft, unter dem Fön getrocknet und für 2 Min. bei Zimmertemperatur in 1%igem Formalin fixiert. Eine entsprechende Technik verwenden wir mit in Aceton bei -20°C konservierten, CMV-infizierten Humanfibroblasten (Abb. 7), die vor dem Test in einem Brutschrank auf einen Objektträger angetrocknet werden. Beurteilt wird ausschließlich die Kernfluoreszenz, da die Cytoplasmaanfärbung besonders bei IgM-Tests häufig unspezifisch ausfällt.

b) Vergleich der Immunfluoreszenz-Tests mit der Komplementbindungsreaktion

Einige Tabellen sollen den Wert der IgM-Antikörperbestimmung im Vergleich zu der überall als Routinemethode etablierten Komplementbindungsreaktion (KBR) demonstrieren: Tab. 1 zeigt eine Titerverteilung der komplementbindenden Antikörper gegen CMV, zusammengestellt aus laufenden Routineergebnissen des Jahres 1974 am Freiburger Hygiene-Institut. Es zeigt sich, daß selbst bei relativ hohen KBR-Antikörpertitern

Tab. 1:

Titerverteilung bei gesunden und akut-infizierten Seropositiven. CMV-KBR. (Differentialdiagnostische Einsendungen im Hygiene-Institut Freiburg 1974.)

Reziproker AK-Titer	Gesamtzahl	davon akut-infiziert (%) (= IgM positiv)	95%-Vertrauensbereich für die Inzidenz von akuten Infektionen in %
4	135	3 (2,2)	0,4– 6,2
8	189	3 (1,6)	0,3– 4,5
16	305	12 (4,0)	2,0– 7,0
32	304	22 (7,3)	4,6– 11,0
64	203	40 (19,7)	14,7– 26,2
128	121	54 (44,6)	36,5– 55,1
256	9	5 (55,6)	21,0– 86,0

Chargen- reservierung

Bei Gerinnungs-
untersuchungen und
in der internen Qualitäts-
sicherung läßt sich die
Arbeit wesentlich verein-
fachen, wenn die verwen-
deten Reagenzienchargen
möglichst lange zur Verfügung
stehen. Große Vorräte führen jedoch
zu Lagerproblemen, z. B. in Ihrem Kühl-
schrank. Überlassen Sie deshalb die sach-
gerechte Lagerung und die pünktliche Bereit-
stellung dem Fachmann:
Wenden Sie sich an Ihren Gödecke-Händler -
gegebenenfalls auch direkt an uns. Alles weitere
wird wunschgemäß erledigt.

Labordiagnostica
GÖDECKE

Programm

Gerinnungs-
diagnostica
Photometrische
Tests
Schnelltests
Referenz und
Kontrollserien
Laborgeräte

Service

Telefonberatung
Literaturdienst
Fachseminare
und Kurse
Chargen-
reservierung
Auswerteservice
Arbeitsmittel

GÖDECKE AG. Berlin,
Abt. Labordiagnostica
Postfach 5169, 7800 Freiburg

Testseren Serologische Reagenzien

von BIOTEST

Qualität gibt Vertrauen

6-PGD

PGM

SEP

AK

Inv(1)

GPT

Gm(4)

Gm(10)

Gm(1)

ADA

Hp

Gc

Gm(2)

K k C

A B S

Le^a Le^b M N Js^a Js^b D Kp^a Kp^b

Xg^a Lu^a Lu^b Lu^e Fy^a Fy^b Tj^a S s C^w Jk^a Jk^b M I P₁ Ve^a O



nur teilweise akute Infektionen gesichert werden können (signifikanter Titeranstieg, IgM-Antikörpernachweis). Der Wert der IgM-spezifischen Antikörperbestimmung besteht auch für Primärerkrankungen, wenn bei zu später Blutentnahme der Titeranstieg verpaßt wird.

c) Der CMV-IgM-Antikörper-Test bei prae- und perinatalen Säuglingsinfektionen

Besonders notwendig ist der CMV-IgM-Antikörpertest bei der Untersuchung von prä- und perinatalen Säuglingsinfektionen, da dann die KBR-Antikörpertiter meist sehr niedrig liegen, sowie für die Diagnostik der Cytomegalie(exazerbation) in der Schwangerschaft. Die Tab. 2 belegt an einigen exemplarischen Fällen, daß es ohne IgM-Bestimmung nicht möglich gewesen wäre, eine für das Kind gefährliche Cytomegalie zu diagnostizieren.

d) Der EBV-IgM-Test und der Antikomplementfluoreszenztest

Das für die Cytomegaliediagnostik Gesagte gilt im Prinzip auch für den Nachweis von EBV-Infektionen. Mit der von Henle etablierten Anti-EBV-Gesamtimmungsglobulinbestimmung lassen sich „erhöhte“ Antikörpertiter nicht angeben, wie aus der Tab. 3 hervorgeht; signifikante Titeranstiege können praktisch nur bei prospektiven Untersuchungen, fast nie nach Krankheitsbeginn festgestellt werden (7). Die KBR mit einem EBV-Antigen hat sich bis jetzt nicht etabliert, einmal weil sie relativ unempfindlich ist, zum anderen weil die komplementbindenden Antikörper in der Regel erst spät nach der Infektion ansteigen. Dagegen hat der Antikomplementfluoreszenztest zum Nachweis des sog. EBNA-Antigens bei der Untersuchung von Gewebematerial, in welchem das EBV-Genom vermutet wird, eine sehr große Bedeutung gewonnen. Die Abb. 8

Tab. 2:

CMV-spezifische Antikörperentwicklung (IgM- und IgG-IFT, KBR) in den Serumproben von 5 Müttern mit florider Cytomegalie während der Schwangerschaft und ihren neugeborenen Kindern (aus Lit. 10). NS = Nabelschnurblut

Fall Nr.	Blutentnahme		Reziproker Antikörpertiter		
	von	am	IgM	IgG	KBR
1	Mutter	2.05.74	32	256	20
	Mutter	2.07.74	< 32	256	20
	Mutter	30.10.74	32	512	40
	Kind (NS)	30.10.74	32	512	40
	Kind	13.02.74	< 32	128	20
2	Mutter	7.05.74	128	—	20
	Kind (NS)	8.08.74	128	—	20
	Kind	20.02.74	32	—	20
3	Mutter	3.09.74	32	—	20
	Mutter	14.01.75	< 32	—	40
	Kind (NS)	28.01.75	64	—	20
	Kind	20.03.75	64	—	20
4	Mutter	20.06.74	64	—	10
	Mutter	26.10.74	< 32	—	40
	Kind (NS)	26.10.74	32	—	20
	Kind	20.03.74	128	—	40
5	Mutter	5.05.74	< 32	256	20
	Mutter	7.07.74	32	512	40
	Kind (NS)	15.10.74	128	4096	80
	Kind	20.03.75	< 32	2048	40

Cytomegalievirusisolierung aus Urinproben der Kinder 1 und 5 in der 1. Lebenswoche.
Nur bei Fall Nr. 4 signifikante Antikörpertiteränderung mit der KBR feststellbar.

Tab. 3:

Titerverteilung bei gesunden und akut-infizierten Seropositiven. EBV-IFT (VCA). (Differentialdiagnostische Einsendungen im Hygiene-Institut Freiburg 1974.)

Reziproker AK-Titer	Gesamtzahl	davon akut infiziert (%) (= IgM positiv)	95 %-Vertrauensbereich für die Inzidenz von akuten Infektionen in %
8/16	88	1 (1,1)	0 – 6,2
32	135	4 (3,2)	0,8 – 7,5
64	177	22 (12,4)	8,0 – 18,5
128	166	42 (25,3)	19,1 – 32,4
256	127	34 (26,8)	19,4 – 36,0
512	68	28 (41,2)	29,4 – 53,8
1024	23	17 (73,9)	51,6 – 89,8

zeigt eine solche typische Fluoreszenz (hier zum Nachweis des EBV-Genoms in einer Hybridzelle) [Rattenfibroblasten + EBV-transformierte Humanlymphozyten (2)]. Es werden dadurch die sonst zum Virusgenomnachweis sehr aufwendigen und kostspieligen Hybridisierungsexperimente mit radioaktiv markierter DNA oder cRNA umgangen.

3. Fehlerquellen des Immunfluoreszenztests

Es sollte zum Schluß nicht unerwähnt bleiben, daß es in manchen Fällen recht schwierig ist, die virusspezifischen IgM-Antikörper mit dem Immunfluoreszenztest nachzuweisen. Das liegt einmal daran, daß die evtl. nur in niedriger Konzentration vorhandenen IgM-Antikörper blockiert werden können, wenn hohe IgG-Antikörper vorliegen. Andererseits gibt es mitunter Kreuzreaktionen zwischen EBV und CMV sowie falsch positive Ergebnisse bei z.B. Rheumafaktor-positiven Serumproben (unspezifische Bindung von Serum-IgM). In solchen Fällen empfiehlt es sich, insbesondere auch dann, wenn wie bei HSV eine Cytoplasmafluoreszenz beurteilt werden muß, entweder das IgG zu reduzieren [dafür sind in neuerer Zeit einige Techniken genannt worden wie Präzipitation mit Anti-IgG oder Absorption mit Protein A (6)*] oder das IgM zu isolieren (z.B. mit der Saccharose-Gradienten-Ultrazentrifugation). Man kann dann die IgG-freie Serumfraktion in den Test einsetzen und anschließend die

konventionelle Anti-IgM-Technik durchführen oder durch Zugabe von Humankomplement und nachfolgender Inkubation mit FITC-Anti-C₃ eine verbesserte Sensitivität und Spezifität des Testsystems erreichen. Diese Testmodifikation hat sich in unserem Labor insbesondere zum Nachweis von HSV-spezifischen IgM-Antikörpern bewährt.

Schrifttum:

1. BIANCHI, L., GUDAT, F.:
Histologische Charakteristika und Nachweis von Hepatitis B-Antigenkomponenten im Lebergewebe bei akuter und chronischer Virushepatitis
Imm. u. Int. 3, 159–171 (1975).
2. DARAI, G., DOERR, H. W., MATZ, B., FLUGEL, R. M., ZENTGRAF, H., MUNK, K.:
Establishment of somatic hybrid cell clones from rat embryonic fibroblast cells with Burkitt's lymphoblastoid cells using polyethylen glycol.
3. International Symposium on oncogenesis and Herpesviruses, Harvard University Science Center, Cambridge, MA, USA (im Druck) 1977.
3. DOERR, H. W., HAAS, R., MROSS, F., BARON, M., KAMPA, D., KUNZE, M., SCHMITZ, H.:
Quantitativer und virusspezifischer Serum-IgM-Nachweis bei Neugeborenen.
Imm. u. Inf. 3, 278–280 (1975).
4. DOERR, H. W., LEHMAIR, H., SCHMITZ, H., KAMPA, D., LUTHARDT, Th.:
Simple mathematical deductions in the seroepidemiology of viral infections. I. Herpesvirus group (Herpesvirus hominis, Varicella-Zoster-virus, Cytomegalovirus, Epstein-Barr-virus).
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 238, 149–164 (1977).
5. DOERR, H. W., RAU, M., SCHMITZ, H.:
Typing of Herpesvirus simplex hominis 1 and 2 by indirect immunofluorescence.
Med. Microbiol. Immunol. 159, 137–140 (1974).
6. DOERR, H. W., SCHMITZ, H.:
Detection of Rubella IgM and IgA antibodies after separation of IgG (comparison of two methods).
XV. Symposium of the European Ass. against poliomyelitis and other virus diseases, Wien, 1975.
7. MILLER, G.:
Epstein-Barr-Herpesvirus and infectious mononucleosis.
Progr. Med. Virol. 20, 84–112 (1975).
8. REEDMAN, B. M., KLEIN, G.:
Cellular localisation of Epstein-Barr-virus (EBV) associated complement fixing antigen in producer and non-producer lymphoblastoid cell lines.
Intern. J. Cancer 11, 499–520 (1973).
9. SCHMITZ, H., HAAS, R.:
Determination of different Cytomegalovirus immunoglobulins (IgG, IgM, IgA) by immunofluorescence.
Arch. ges. Virusforsch. 37, 131–140 (1972).
10. SCHMITZ, H., KAMPA, D., DOERR, H. W., LUTHARDT, Th., HILLEMANN, H. G., WÜRTELE, A.:
IgM antibodies to Cytomegalovirus during pregnancy.
Arch. Virol. 53, 177–184 (1977).
11. SCHMITZ, H., SCHERER, M.:
Rapid identification by indirect immunofluorescence: Isolation and identification of Adenovirus types 4 and 7 and Coxsackievirus type A 21 in microcultures.
Appl. Microbiol. 22, 784–796 (1971).
12. SEELIG, H. P.:
Immunhistologische Methoden. In: Vorländer, K. O.: Praxis der Immunologie, S. 131 ff.
Stuttgart: Thieme-Verlag 1976.
13. STEVENS, T. D., WATKINS, H. M. S.:
Rapid identification by indirect immunofluorescence: Isolation and identification of Adenovirus types 4 and 7 and Coxsackievirus type A 21 in microcultures.
Appl. Microbiol. 22, 784–796 (1971).

Anschrift des Verfassers:

Dr. med. H. W. Doerr
Institut für med. Virologie am Hygiene-Institut der Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 324
6900 Heidelberg

* In unserem Labor verwenden wir zur IgG-Präzipitation Anti-IgG-Lösung der Fa. Medac/Hamburg (Serumendverdünnung nach Präzipitation 1:32 bis 1:64) und zur IgG-Absorption Protein A-Sepharose der Fa. Pharmacia/Freiburg (6 mg/10 µl Serumprobe + 310 µl Puffer). Gegebenenfalls ist die Rekonzentration des Testvolumens oder sukzessive Inkubation mit Teilmengen des Testvolumens auf demselben Antigenpräparat im Immunfluoreszenztest erforderlich.

Relefact® LH-RH

Synthetisches Lutemalisierendes Hormon-Releasing-Hormon
zur Hypophysen-Gonaden-Diagnostik

Anwendungsgebiete

Differentialdiagnose von Fertilitätsstörungen, Pubertäts tarda

Primärer Hypogonadismus wie Klinefelter-Syndrom

Tumor-Syndrom
Sertoli-Cells-only-Syndrom

Sekundärer Hypogonadismus wie Kallmann-Syndrom

idiopathischer Eunuchismus
Pasqualini-Syndrom

Primäre Amenorrhoe

Sekundäre Amenorrhoe wie Anorexia nervosa

Lokalisation und Ausdehnung von Erkrankungen im Bereich des Hypothalamus und der Hypophyse

Zusammensetzung
Eine Ampulle Relefact LH-RH enthält 0,025 mg/l ml bzw. 0,1 mg/ml Gonadorelin als wässrige Lösung ohne Stabilisator und ohne Konservierungsmittel.

Anwendungsgebiete
siehe oben.

Gegenanzeigen sind nicht bekannt.

Nebenwirkungen

Die ganz vereinzelt berichteten Beschwerden bei gesunden Frauen (Bauchschmerzen, Übelkeit, Kopfschmerzen und verstärkte Menstruationsblutung) sind nicht sicher in ursächlichem Zusammenhang mit der Anwendung von Relefact LH-RH zu sehen.

Bei der Durchführung der Stimulationstests mit Relefact LH-RH in der folliculären Phase ist die Möglichkeit einer ungewollt eingeleiteten Ovulation nicht auszuschließen.
Ein anaphylaktischer Schock ist nach Injektion von Relefact LH-RH noch nicht beobachtet worden, ist aber nach parenteraler Anwendung grundsätzlich möglich.

Packungsgrößen und Apothekenverkaufspreise

Relefact LH-RH Amp. mit
0,025 mg/l 2 x 3 ml 22,40 DM
0,1 mg/ml 10 x 3 ml 161,00 DM
0,1 mg/ml 10 x 3 ml 245,30 DM
10 x 3 ml 385,12 DM
und Anfallpackungen

Hoechst Aktiengesellschaft
6230 Frankfurt (Main) 80

Hoechst



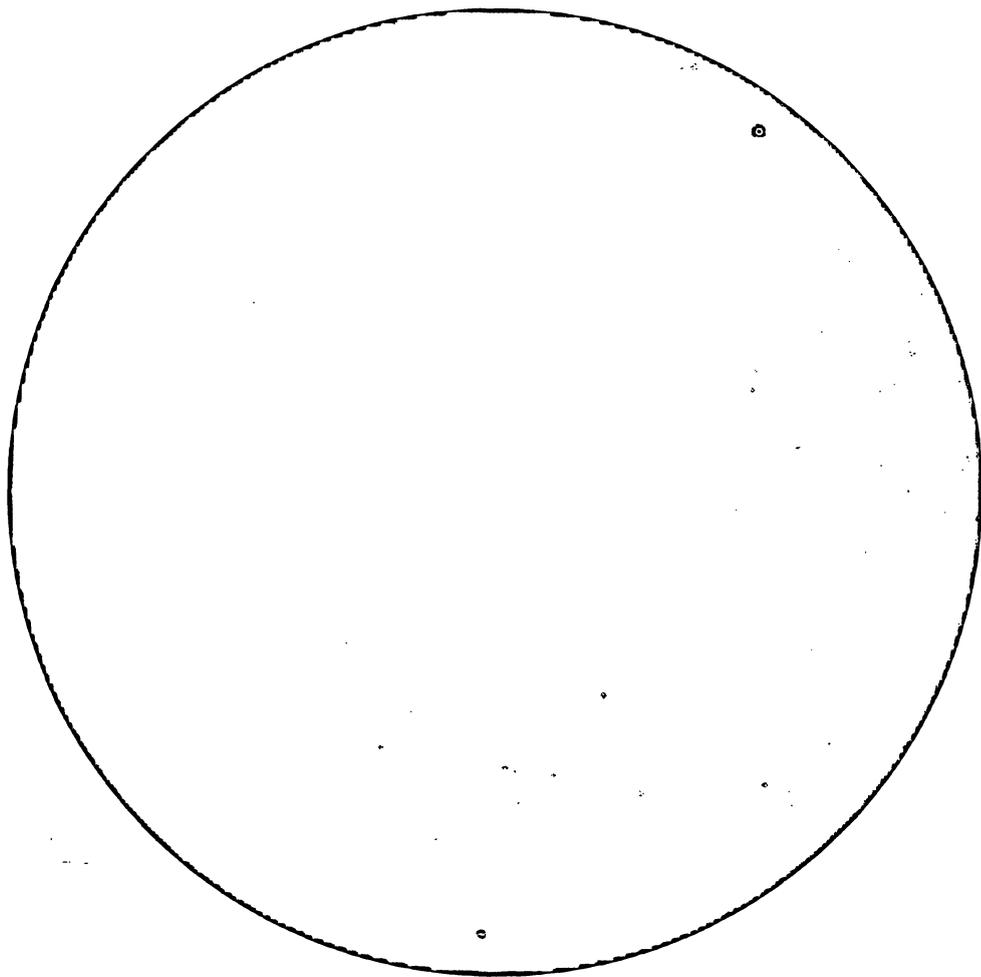
L 73485

Blutgruppe

- Ein rundes Programm:
Transfusionsserologie (ABO-, Rh-System) ·
Gutachterserologie (auch seltene Seren) ·
Coombsseren (poly- und monospezifisch) ·
Testerythrozyten · Supplemente und Hilfsstoffe.
- Überdurchschnittliche Qualität:
sorgfältige Spenderauswahl · schonende Verarbeitung
und Stabilisierung · kontrollierte sterile Abfüllung ·
systematische Qualitätskontrolle über die gesamte
Laufzeit · Innovation durch eigene Forschung.
- Professioneller Service:
regelmäßige Besuche durch unsere
Laborberater · Servicetelefon für Ihre Fragen
0761/5103-6351, -6352, -6356 ·
Fortbildungskurse · für Kunden Hilfsmaterial ohne
Berechnung · schnelle und zuverlässige Lieferung
per Post- oder Paketschnelldienst.

Ein Punkt mehr

Immunserologie



für Sicherheit

○ Blutgruppenserologie

GÖDECKE

Gödecke AG, Abt. Labordiagnostica,
Postfach 5169, 7800 Freiburg

Der bewährte und von Millionen Patienten akzeptierte Test auf okkultes Blut im Stuhl.

Aufgrund seiner bewiesenen Effizienz seit 1.1.1977 für die gesetzliche Krebsfrüherkennungs-Untersuchung* zugelassen.

Haemoccult®

Der modifizierte Guajak-Test nach Greegor

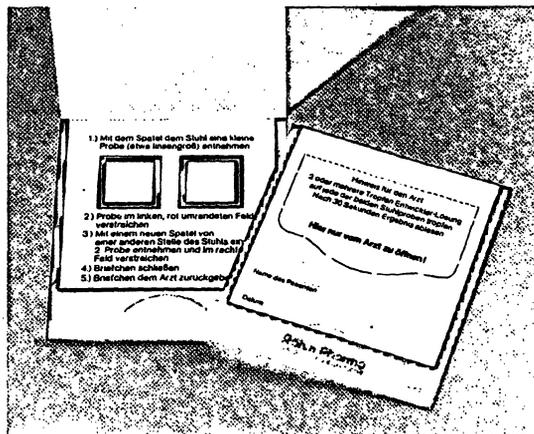
- Die ausgewogene Empfindlichkeit von Haemoccult bewahrt Sie, Ihre Patientinnen und Patienten vor vermeidbaren falsch-positiven Ergebnissen etwa
- wegen zu hoher Empfindlichkeit des Indikatorsystems:**
- Jetzt noch hygienischer durch Sicherheitsbeutel aus mikrobensicherem Papier.
- Ab sofort bietet Ihnen Haemoccult weitere Vorteile, die Sie den jeder Originalpackung beigefügten Hinweisen entnehmen können.

Plakate für das Wartezimmer und eine Gebrauchsanweisung in italienisch, spanisch, serbokroatisch, griechisch und türkisch stehen auf Anfrage zur Verfügung. OP mit 50 x 3 Testbriefchen mit Spateln und Entwicklerlösung (ausreichend für 50 Patienten), ab jetzt mit 50 Sicherheitsbeuteln aus mikrobensicherem Papier.

* Veröffentlicht im Bundesanzeiger Nr. 214 v. 11. Nov. 76 als Bekanntmachung der Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen. Haemoccult ist mit dem in der Bekanntmachung genannten modifizierten Guajak-Test nach Greegor identisch.

** Greegor, D. H., in der Monographie von Kl. Göttler u. a.: Kolorektale Krebsvorsorge, Wachholz-Verlag, Nürnberg (1978).

Röhm Pharma
GMBH DARMSTADT



Interne und externe Qualitätskontrolle bei immunfluoreszenzserologischen Untersuchungen

Ringversuch zur Bestimmung von Antikörpern gegen Zellkernantigene (ANA, ANF)

U. P. Merten, H. P. Seelig

Aus dem Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (INSTAND)

Zusammenfassung:

Fünf Seren wurden an dreißig Laboratorien in Form eines Ringversuchs versandt. Die Laboratorien wurden gebeten, die Seren auf das Vorliegen antinukleärer Faktoren mittels der indirekten Immunfluoreszenzmethode zu untersuchen und die Resultate zusammen mit Angaben zur Methode und verwendeten Reagenzien zurückzusenden. Falsch positive Resultate wurden nicht berichtet, jedoch falsch negative. Die Ergebnisse, Methoden und Reagenzien werden verglichen und einige der Probleme diskutiert. Weitere Ringversuche sind geplant.

Schlüsselwörter:

ANF – ANA – Lupus erythematoses – Ringversuch – Immunfluoreszenz.

Summary:

A survey was performed by sending five sera to thirty laboratories. These were asked to test all sera for the presence of antinuclear factors by means of indirect fluorescence methods and to report the results together with information to which method and reagents were used. No false positive but false negative results were reported. Results, methods and reagents used are compared and some of the problems discussed. Further surveys are planned.

Key words:

ANF – ANA – Lupus erythematoses – Survey – Immunofluorescence.

Von den immunfluoreszenzserologischen Untersuchungsverfahren zur Bestimmung von Antikörpern gegen Gewebeanigene hat der Nachweis antinukleärer Antikörper (ANA, ANF) heute die weiteste Verbreitung gefunden. Kommerzielle Test-Kits ermöglichen die Durchführung dieser Untersuchungen auch ohne aufwendige immunhistologische Laboreinrichtung. Für die Diagnostik des Lupus erythematoses – insbesondere als Screening-Verfahren zum Ausschluß dieser Erkrankung – hat dieser Test seinen unbestreitbaren Stellenwert. Wegen seiner diagnostischen Bedeutung scheint es angebracht, eine Vereinheitlichung der Untersuchungsverfahren anzustreben und die Ergebnisse im Rahmen auch einer externen Qualitätskontrolle zu sichern.

Anläßlich der Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin (1977) wurde ein Ringver-

such zum immunfluoreszenzserologischen Nachweis von Antikörpern gegen Zellkernantigene durchgeführt. Dieser Ringversuch sollte einen Überblick über die derzeit gebräuchlichen Methoden und die damit erhaltenen Ergebnisse liefern.

Material

Es wurden fünf lyophilisierte Humanserumpräparationen an über 30 Teilnehmer verschickt:

Probe 1: Serum eines Patienten mit Lupus erythematoses (L.E.). Radioimmunologisch ließen sich Antikörper gegen Doppelstrang-DNS (DS-DNS) nachweisen. Das Serum war 1:10 mit 1% Rinderalbumin in PBS (phosphatgepufferter 0,9% NaCl) verdünnt.

- Probe 2: Serum eines Patienten mit Verdacht auf L.E. Keine Antikörper gegen DS-DNS nachweisbar. Das Serum war 1:10 mit 1% Rinderalbumin in PBS verdünnt.
- Probe 3: Serum einer gesunden Person, 1:10 mit 1% Rinderalbumin in PBS verdünnt.
- Probe 4: Mischserum mehrerer Personen mit positivem ANF verschiedener Fluoreszenzmuster. Das Mischserum war 1:10 mit 1% Rinderserumalbumin in PBS verdünnt.
- Probe 5: Dasselbe Serum wie Probe 4.

Die Seren wurden nach Sterilfiltration in Ampullen (je 1,0 ml) angefüllt und lyophilisiert. Die Teilnehmer waren aufgefordert, das Lyophilisat mit 1,0 ml Aqua dest. zu rekonstituieren. Der qualitative Nachweis der Zellkernantikörper, Bestimmung des Antikörpertiters und der Ig-Klasse sollten mit den in den Laboratorien üblichen Methoden durchgeführt werden.

Ergebnisse

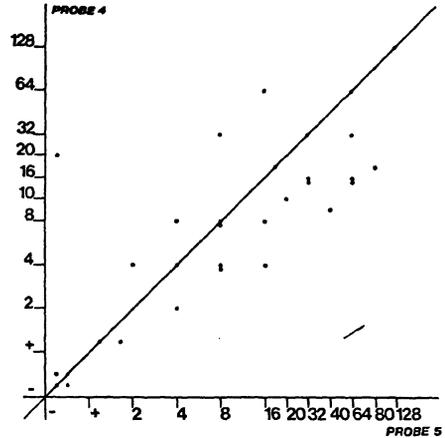
Einen Überblick über die Ergebnisse der einzelnen Teilnehmer geben Abb. 1 und Tab. 1. Probe 1 wurde von allen Teilnehmern als positiv bewertet. Die Angaben über die Titer der Antikörper schwanken jedoch erheblich von 1:2 bis 1:512. Probe 2 wurde in drei Fällen mit negativ bewertet, bei den positiven Befunden finden sich wiederum erhebliche Titerschwankungen von 1:2 bis 1:1012. Die negativen Befunde lassen sich in zwei Fällen durch die Verwendung von HCl-behandelten Hühnererythrozyten erklären, mit denen vorwiegend Antikörper gegen DS-DNS und SS-DNS nachgewiesen werden können. Antikörper gegen DS-DNS waren in der zweiten Probe jedoch nicht vorhanden. Probe 3 wurde von allen Untersuchern als negativ befundet.

Bei Probe 4 wurden viermal negative Ergebnisse, sonst positive mit Titern vom 1:2 bis 1:128, und bei Probe 5 (dasselbe Material wie bei Probe 4) wurden fünfmal negative, sonst positive Ergebnisse mit Titern von 1:2 bis 1:128 mitgeteilt.

Die Einzelergebnisse mit Angaben über Titerstufe, Fluoreszenzmuster, die verwendeten Antigene und Antiseren finden sich auf Tab. 2. Von 31 Teilnehmern haben 15 kommerzielle Kits mit humanen Amnionzellen, Mäusefibroblasten oder Rattenleber als Antigen verwendet. Die selbst hergestellten Antigene bestanden zumeist aus Kryostatschnitten von Leber oder Niere verschiedener Spezies sowie aus HCl-behandelten Hühnererythrozyten. Eine Beziehung zwischen dem qualitativen Ergebnis des Tests oder der Titerhöhe und den verwendeten Antigenpräparationen läßt sich aus den vorliegenden Angaben nicht ableiten. Auf die Ursache der negativen Ergebnisse bei Verwendung von Hühnererythrozyten wurde oben hingewiesen. Es fällt

Abb. 1:

Ringversuch – ANA, ANF – Oktober 1977. Gegenüberstellung der Ergebnisse von Probe 4 und 5



MUSTER	homogen	- homogen	10
	granuliert	- granuliert	5
	ringform	- ringform	2
	homogen	- granuliert	4
	ringform	- granuliert	1
	ringform	- homogen	1

Tab. 1:

Ringversuch – ANA, ANF – Oktober 1977. Häufigkeitsverteilung der Titer

Probe 1	Probe 2	Probe 4	Probe 5
β	X X X	X X X X	β X X X X X
+/-	X X		+/- X X X X X
? +			? + X X X X X
X X X X X X	+ X X X X	X X X	+ X X X X X
1/1	X		1/1 X
1/2	X X	X	1/2 X
1/4		X X X X	1/4 X X X X
1/8	X X	X X X X X X X	1/8 X X X X
X X X	1/16	X	1/16 X X X X X X
X X X X X	1/32	X X X X X X X	1/32 X X X X
X X X X X X X	1/64	X X X	1/64 X X X X X
X X X X X	1/128	X X X X	1/128 X
X X X	1/256		1/256
X X X X	1/512	X X X	1/512
	1/1024	X	1/1024

jedoch auf, daß von den 10 falsch negativ befundenen Proben (5 Untersucher) in sieben Fällen kommerzielle Test-Kits benutzt wurden. Da mit den Test-Kits der gleichen Firma von anderen Untersuchern jedoch positive Resultate erzielt wurden, dürften die falsch negativen Ergebnisse auf unzureichende Testbedingungen zurückzuführen sein.

Zu einem der wichtigsten Gesichtspunkte der Immunfluoreszenzserologie, der Beschaffenheit der fluoreszenzmarkierten Antisera, wurden nur spärliche Angaben gemacht. Die F/P-Bindungsrate der Konjugate wurde nur in sieben Fällen angegeben, der Plateau-Endpunkttiter von nur zwei Untersuchern (vgl. Tab. 2). Die Kenntnis der präzipitierenden Einheiten der Konjugate, des Gehaltes an spezifischem Antikörper, der F/P-Bindungsrate, der Plateau- und Plateau-Endpunkttiter ist für die Interpretation und den Vergleich immunfluoreszenzserologischer Befunde jedoch unumgänglich. Die Titerhöhe des nachzuweisenden Antikörpers wird durch die F/P-Bindungsrate des Konjugates be-

stimmt, für die Einstellung der Gebrauchsverdünnung ist die Kenntnis des Plateau-Endpunkttiters notwendig. Die erheblichen Schwankungen des Antikörpertiters, die in den vorliegenden Untersuchungen zu Tage treten, dürften großenteils auf die unterschiedliche Beschaffenheit und Spezifität der angewandten Konjugate zurückzuführen sein.

Ein direkter Methodenvergleich (Tab. 3), bei dem die Inaktivierung der Patientenserum, die Art des Verdünnungsmediums, des Waschmediums einschließlich Dauer, Temperatur und Häufigkeit des Pufferwechsels, die Dauer und Temperatur der Inkubation mit Serum und Konjugat berücksichtigt wird, ermöglicht keine Erklärung für die unterschiedlichen Titerhöhen und die falsch negativen Ergebnisse. Die Dauer der Waschvorgänge lag zwischen „Spülen“ und bis zu 40 Min. bei Raumtemperatur, wobei der Waschpuffer keinmal oder bis zu viermal gewechselt wurde. Die Inkubationszeiten lagen zwischen 30 und 60 Min. bei Raumtemperatur oder 37°C (in einem Fall 17—20h bei 4°C).

Tab. 2:

Ringversuch – ANA, ANF – Oktober 1977. Gegenüberstellung der ermittelten Titer und Fluoreszenzmuster im Vergleich zur verwendeten Zellart, FITC-markierten Antisera und deren Verdünnung

Nr.	Proben: 1		2		3		4		5		Zellart	AK-Spezifität antihuman	Verwendete Antisera		Gebrauchl. Verd.	Verd. Medium 1: Rinderalbumin in PBS
	Titer	Muster	Titer	Muster	Titer	Muster	Titer	Muster	Titer	Muster			Sp. mgp 7/1 A. (ml)	Plateau		
4	+++	homogen	-	-	+	+	homogen	(+)	homogen		Erythrozyten (Huhn) HCl-eluiert	IgG, Behring	3		1:6	
6	+		-	-	-	-					Amnionzellen, BAG	Ig, BAG				
7	128	homogen	8	ringform	-	2	granuliert	4	granuliert		Rattenleber, Travanol	Ig, Travanol	(25.9) (2.6)	x		
8	128	homogen	2	ringform	-	8	homogen	8	granuliert		Amnionzellen, BAG	? BAG				
11	512		-	-	-	64		64			Erythrozyten (Huhn)	IgG, Behring			1:60	NaCl
14	256	homogen	32	ringform	-	16	homogen	32	homogen		Rattenleber, Travanol	Ig, Triton Sciences	3.8			H ₂ O dest.
15	20	homogen	3+	ringform	-	-	-	-	-		Amnionzellen, BAG	Ig, Microbot. Res. Corp.			1:25	PBS
17	80	homogen	40	ringform	-	20	granuliert	20	granuliert		Rattenleber, Kryostat	AMG, IgG, A, M, Behring			1:15	PBS
18	+		+	ringform	-	+		+			Amnionzellen, BAG	Im, Ig, BAG (Ziege)				fertige Verdünnung des Herstellers
19	64	homogen	128	ringform	-	8	granuliert	16	granuliert		Rattenleber Kryostat	AMG, A, M, G, Behring	x		1:16	PBS
20	80	granuliert	80	ringform	-	16	homogen	32	homogen		Schweineleber Schweineleber Kryostat	Im, Ig, Wellcome	2.7 7.7 0.32		1:20	Coons
21	16	homogen	8	ringform	-	8	ringform	4	homogen		Rattenleber, Kryostat	Im, Ig, Wellcome	3.7		1:8-1:64	
22	64	homogen	128	ringform	-	4	granuliert	16	granuliert		Schweineleber- fibroblasten, Kryostat	Im, Ig, BAG	x		1:30	PBS
24	128		128		-	32		32			Mäusefibroblasten Melo	AMG, IgG, A, M, Behring			1:10	PBS
25	64	homogen	64	ringform	-	8	homogen	8	homogen		Rattenleber, Kryostat	AMG, IgG, A, M, Travano	x x		1:40	
26	+		+		-	+		+			Erythrozyten (Huhn)	AMG, G, Behring	x x x x		1:5-1:10	PBS
28	+	ringform	-		-	-		-			Amnionzellen, BAG	Im, Ig, BAG M, IgM, Wellcome			1:1 1:4	PBS PBS
31	32	ringform	(+)	ringform	-	4	ringform	2	ringform		Amnionzellen, BAG	Im, Ig, BAG				
32	500	homogen	1	homogen	-	32	homogen	8	homogen		Rattenleber, Kryostat	AMG, IgG, A, M, Behring				undil.
33	+		+/-		-	-		-			?	?				
34	16	ringform	32	ringform	-	8	ringform	4	granuliert		Amnionzellen, BAG	AMG, IgG, A, M, BAG		1:800	1:200	Coons
36	64	homogen	64	ringform	-	128	homogen	16	granuliert		Affenierenzellen	AMG, IgG, A, M, Wellcome	2.3 9.1 2.75 1.60		1:30	PBS
38	512 256	homogen	1024 512	ringform	-	128 32	homogen	128 64	homogen		Mäuseleber, Kryostat	AMG, IgG, A, M, Behring			1:5	NaCl
40	32	ringform	2	ringform	-	4	homogen	4	homogen		Amnionzellen, BAG Erythrozyten, HCl-el.	G, IgG, Behring	x x x		1:8	PBS
41	512	homogen	512	ringform	-	16	ringform	64	ringform		Rattenleber, Kryostat	Im, Ig, Wellcome	x x x		1:250	PBS
42	40	homogen	180	homogen	-	20	granuliert	80	granuliert		Rattenleber, Mäusefibroblasten Melo	AMG, IgG, A, M, BAG Im, Ig, Melo	x x x		1:50 1:10	PBS PBS
43	128	ringform	32	ringform	-	4	homogen	8	homogen		Rattenleber + Niere, Amnionzellen, BAG, Trav.	AMG, Travanol AMG, Wellcome	2.7 7.7 0.82		1:80	Evans-Blau 1:5000
46	200 64	granuliert	500 16	ringform	-	10 64	homogen	40 16	granuliert		Nasenleber, Rattenleber, Kryostat	Im, A, M, G, Travano, Sevac			1:10-1:15 1:30	NaCl NaCl
47	160	homogen	40	ringform	-	10	homogen	20	homogen		Amnionzellen, BAG	(?) Im, BAG			1:30	PBS
49	40	granuliert	40	ringform	-	20	homogen	-			Rattenleber, Kryostat	AMG, Behring	x x x x		1:7	PBS
50	32	homogen	32	ringform	-	16	homogen	64	homogen		Affenierenzellen	G, BAG			1:10	PBS

Tab. 3:

**Ringversuch – ANA, ANF – Oktober 1977.
Methodenvergleich**

nr.	Verf. Nr.	Verf. Name	Antigen	Max. Titer (Bsp.)	Temp.	p-Wert	Inhibition mit Serum Antikörper
4	-	Phosphat-NaCl	PBS	3x5'	RT	3a	30' RT, dto
6	-	PBS 7.4 2 d I	PBS	9'	RT	3a	30' 37° 15-20 Std. 4d
7	-	DA	PBS	3x5'	RT	2a	30' 37°
8	-	PBS	PBS	10'	RT	2a	30' RT dto
11	-	phys. NaCl	PBS	3x5'	RT	3a	30' RT dto
14	-	PBS	PBS	2x10'	RT	1a	30' RT dto
15	-	phys. NaCl	PBS	10'	RT	4a	30' 37° dto
15'	-	PBS 7.2	PBS	10'	RT	3a	30' RT dto
16	-	PBS	PBS	3x5'	RT	3a	30' 37° dto
19	-	PBS 7.4	PBS	15'	RT	2a	30' RT dto
22	-	Coons	Coons	30'	RT	0x/2x	30' RT dto
21	-	PBS	PBS/PBS dann H ₂ O	10'/75'	RT	spülen	30' RT dto
22	-	PBS	PBS	20'	RT	1a	60' RT 30' RT
24	-	PBS	PBS	15'	RT	2a	30' 37° dto
25	-	PBS	PBS	30'	RT	2a	30' RT dto
26	-	PBS 7.2	PBS	3x5'	RT	3a	30' RT dto
28	-	PBS	PBS	1'	RT	spülen	30' 37° dto
31	-	PBS	PBS	30'	RT	3a	40' 37° dto
32	-	NaCl	PBS	20'	RT	2a	60' RT dto
33	DA						
34	-	Coons	Coons	10'	RT	3a	30' 37° dto
36	-	PBS	PBS	40'	RT	4a	30' RT dto
38	+(-)	PBS	PBS	30'	RT	3a	45' 37° dto
40	-	PBS	PBS	3x5'	RT	4a	30' RT 45' 37°
41	-	PBS 7.4	PBS/PBS dann H ₂ O	2x10'	RT	2a	30' RT dto
42	-	PBS	phys. NaCl	2x5'	RT	2a	30' 37° dto
43	-	PBS	PBS	10'	RT	1a	30' RT dto
46	-	phys. NaCl	PBS	25'	RT	3a	30' 37° dto
47	-	PBS	PBS		RT	spülen	30' 37° dto
49	-	PBS	PBS	15'/30'	RT	1a	30' RT dto
50	-	PBS	PBS	10'	RT	1a	30' 37° dto

Bei Probe 4 und 5 handelte es sich um das gleiche Material. Auffallend ist, daß von 23 Untersuchern, die sowohl die Titerhöhe der Antikörper und das Fluoreszenzmusterangaben, nur drei identische Resultate erhielten. In Abb. 1 wurden die Titerhöhen der beiden Proben in Art eines Youden-Plots gegenübergestellt. Abgesehen von einigen „Ausreißern“ liegen sie im allgemeinen jedoch ziemlich gleichmäßig um die zu erwartende Achse.

In Tab. 4 sind die beschriebenen Fluoreszenzmuster aufgeführt. Die Beschreibung der sog. Ringfluoreszenz scheint den Untersuchern die wenigsten interpretatorischen Schwierigkeiten bereitet zu haben.

Schlußbemerkung

Seit den ersten Arbeiten von Coons et al. (2, 3) zur Immunfluoreszenztechnik, und seit Hargraves et al. (4) dargelegt haben, daß im Serum von L.E.-Patienten Faktoren vorliegen, die grundlegend mit dem L.E.-Zellphänomen zusammenhängen, ist neben der L.E.-Zellpräparation und der L.E.-Latexagglutination die indirekte Immunfluoreszenztechnik von Rapp (5) und Casals et al. (1) zur Diagnostik des Lupus erythematoses eingeführt worden. Die diagnostische Bedeutung der Bestimmung von Antikörpern gegen Zellkernantigene erfordert die Angleichung der unterschiedlichen Testverfahren.

Die Ergebnisse des Ringversuches unterstreichen diese Forderung. Es wurde nicht ein einziges Mal ein dekongungsgleiches Ergebnis in allen fünf Proben erhalten. Bei ein und derselben Probe wurden differente Fluoreszenzmuster und beträchtliche Unterschiede in der Titerhöhe der Antikörper angegeben. Hervorzuheben ist, daß in keinem Fall ein falsch positives Ergebnis ermittelt wurde. Eindeutige Beziehungen zwischen den verschiedenen angewandten Methoden und der Höhe der Antikörpertiter bzw. den falsch negativen Ergebnissen ließen sich nicht aufstellen. Ansatzpunkte zu einer Vereinheitlichung der Methode wären in erster Linie in einer einheitlichen Testdurchführung gegeben. Die Auswahl eines einheitlichen Antigens dürfte auf größere Schwierigkeiten stoßen, da Laboratorien ohne entsprechende apparative Ausrüstung auf kommerzielle Antigene zurückgreifen müssen. Unabdingbar ist eine hinreichende Charakterisierung der Konjugate, die vom Hersteller bzw. im eigenen Labor erfolgen muß. Ein Vorschlag für eine vereinheitlichte Methode, basierend auf den Ergebnissen dieses Ringversuches, wird derzeit erarbeitet. Weitere Ringversuche sind für die nächste Zeit geplant, um eine Vereinheitlichung und eine interne Weiterbildung zu erreichen.

Literatur beim Verfasser

Anschrift des Verfassers:
Dr. med. Utz P. Merten
Dürener Straße 199
5000 Köln 41

Tab. 4:

**Ringversuch – ANA, ANF – Oktober 1977.
Fluoreszenzmuster**

Homogen: diffus, Kernfluoreszenz
Ringförmig: Kernrandfluoreszenz, peripher, ringförmig, membranös, anular, Randfluoreszenz, zirkulär, ringförmige Fluoreszenz
Granuliert: gefleckt, speckled, grobschollig, fleckig, gepunktet, fleckförmig-granulär, gesprenkelt

Proben	1	2	4	5
Homogen	17	2	14	11
Granuliert	3		5	9
Ringförmig	5	22	4	2



Immer mehr Fachzeitschriften stellen die Ergebnisse wissenschaftlicher Arbeiten bereits in den neuen SI-Einheiten vor.

Wollen Sie auch künftig die Fachliteratur noch verstehen können?

Was soll man noch verstehen, wenn sie neue Begriffe enthält? Wenn plötzlich die Stoffmengenkonzentration mol der Maßstab für alle Abhandlungen ist? 90% aller zur Zeit praktizierenden Mediziner haben es damals anders gelernt.

Die neuen, auf anderen Dimensionen beruhenden Zahlenwerte werden zumindest für die nächsten Jahre Verwirrung schaffen: Faktorentabellen, Taschenrechner und Nomenogramme sind einerseits unsichere, andererseits zeitraubende Behelfe.

Was können Sie tun, um Ihren Kopf zu entlasten? Um die Sicherheit Ihrer Diagnose zu erhöhen?

Labora Mannheim hat einen auf die medizinischen Belange maßgeschneiderten Taschencomputer entwickelt, den SI-computer. In ihm

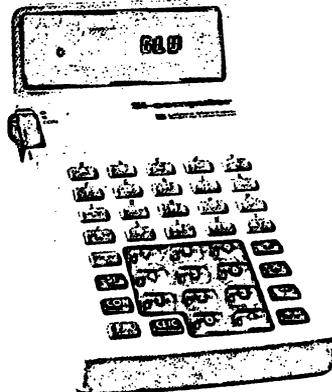
sind die Umrechnungsfaktoren von 69 Parametern aus den Bereichen klinische Chemie, Allgemein- und Nuklear-Medizin fest eingespeichert. Mit dem SI-computer können Sie „alte“ in „neue“ Maßeinheiten per Knopfdruck umrechnen und umgekehrt. Sicherer, einfacher und

schneller bekommen Sie die neuen Maßeinheiten nicht in den Griff. Die 4 Grundrechenarten beherrscht der SI-computer natürlich auch.

Labora Mannheim
 GmbH für Labortechnik
 Sandhofer Straße 176 · 6800 Mannheim 31

Den SI-computer erhalten Sie ausschließlich im medizinisch-technischen Fachhandel. Schicken Sie uns daher den Coupon bitte nur mit der Angabe Ihres Händlers.

TESTCOUPON



Ich möchte den neuen SI-computer kennenlernen und ausprobieren, ob er in der Praxis hält, was er verspricht. Schicken Sie ihn mir für 14 Tage zu einem kostenlosen und unverbindlichen Praxistest. Wenn mich der SI-computer überzeugt, und ich ihn behalten möchte, veranlassen Sie bitte, daß ich von meinem nachstehend aufgeführten Fachhändler eine Rechnung über DM 326,- (unverbindliche Preisempfehlung) incl. MwSt. erhalte.

Meine Anschrift/Unterschrift:

Die Anschrift meines Fachhändlers lautet:

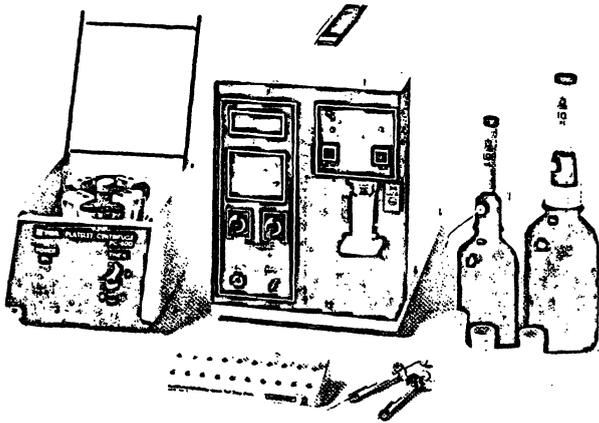
SI-computer.
 Ihr Dolmetscher für die neuen Maßeinheiten in der Medizin

LN 2/78

Labora Mannheim
 GmbH für Labortechnik

TOA-Thrombozytenzähler PL-100.

Wir arbeiten nach der einfachen
CD-Methode.



Der TOA-Thrombozytenzähler in Verbindung mit der hämatologisch fundierten CD-Methode schafft die erprobten Voraussetzungen für zuverlässige Messergebnisse:

- Einfach im methodischen Arbeitsablauf, keine Hkt-Bestimmung.
 - Wirtschaftlich durch geringen Zeitaufwand und minimales Verbrauchsmaterial bei nur 20 µl Blut.
 - Genau auch im thrombopenischen Bereich.
- Und das macht den TOA-Thrombozytenzähler PL-100 so zuverlässig und leicht in der Bedienung:
- Wassermanometer, wartungsfrei und umweltfreundlich, kein Quecksilber.
 - Bruchsicherer Kunststoff-Messwandler mit 80 µm-Rubinkapillare.
 - Totalabschirmung gegen magnetische Streufelder.
 - Akustik- und Lichtsignale bei Störungen.
 - Störungsbeseitigung durch Tastendruck.
 - Fensterdiskriminator mit Zwei-Kanal-Monitor.
 - Datenausgänge für Drucker und EDV.

Alleinvertretung für die
Bundesrepublik Deutschland
und Berlin (West):

Colora Messtechnik GmbH
Postfach 1240
7073 Lorch/Württ.
Telefon: (0 7172) 60 41
Fernschreiber: 07-248 886

Technische Büros
in Berlin, Düsseldorf,
Frankfurt, Hamburg,
Hannover, Lorch, München

colora

Analysentechnik
für Forschung, Medizin
und Industrie

LABORATORIUMSMEDIZIN

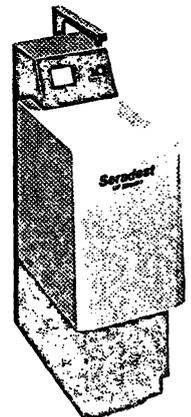
Wenn Sie Ihre Zeitschrift
Jahrgang 1977

noch einbinden lassen wollen, können wir
Ihnen noch Einbanddecken zum Vorzugspreis
von DM 11,-80 + MwSt. zur Verfügung stellen

Bestellungen bitte an den
Verlag Kirchheim GmbH + Co.
Postfach 25-24, 6500 Mainz

Hochrein, steril, partikel- u. pyrogenfrei SERADEST-UF

Nur durch Ultrafiltration
oder die Kombination
von Revers-Osmose
und Ultrafiltration
lassen sich höchste
Ansprüche an die
Wasserreinheit erfüllen.
SERAL forscht und
entwickelt seit mehr
als 8 Jahren Geräte
und Anlagen zur Her-
stellung von hochreinem
Wasser. Verlangen
Sie den Informationsprospekt. Nennen
Sie schon in Ihrer An-
frage Ihre speziellen
Anforderungen.



Erich Alhauser GmbH 5412 Ransbach 2
Postfach 128 Tel. 0 26 23-70 61
St. 24 Telex d 863 142

B C H I N N L S F S

Immunologische Diagnostik der Hepatitis und ihrer Folgezustände

H. W. Baenkler

Institut und Poliklinik für klinische Immunologie der Universität Erlangen-Nürnberg
(Vorst.: Prof. Dr. J. Kalden)

Zusammenfassung:

Die immunologische Diagnostik ermöglicht eine Klassifizierung der Mehrzahl von Leberkrankheiten, was mit Methoden der Biochemie oder der Histologie nicht möglich ist. Bei der akuten Hepatitis lassen sich verschiedene Typen einer Virusinfektion von einer hypersensitiven Form abgrenzen, bei der chronischen Hepatitis und bei Zirrhosen virusbedingte von autoimmunen Formen. Darüberhinaus lassen immunologische Untersuchungen prognostische Rückschlüsse zu. Die entscheidenden immunologischen Kriterien sind einerseits Virusantigene und deren korrespondierenden Antikörper, andererseits Autoantikörper.

Schlüsselwörter:

Immunologische Diagnostik – Virusantigene – Virusantikörper – Autoantikörper.

Summary:

Immunological tests are suitable for the classification of most liver diseases. In acute hepatitis some types of viral infection and hypersensitivity can be differentiated, in chronic hepatitis and in cirrhosis virusinduced and autoimmune types. Moreover, immunological tests are of prognostic value. The crucial criteria are on the one hand viral antigens and corresponding antibodies, on the other hand autoantibodies.

Key-words:

Immunological-Tests – Viral antigens – Viral antibodies – Autoantibodies.

Definition der Thematik

Die Diagnose Hepatitis ist zunächst eine klinische Feststellung. Sie beruht auf Symptomen und körperlichen Untersuchungsbefunden. Nicht selten werden die Hepatitis und ihre Folgezustände jedoch allein aufgrund von Laborbefunden erkannt. Hier bilden biochemische Analysen, Szintigraphie, Sonographie und, im weiteren Rahmen, histologische Befunde ein engmaschiges diagnostisches Netz. Die Summe der genannten Daten läßt eine genaue Bestimmung der Prozeßaktivität, der verbliebenen Organfunktion, der Verlaufsform und des Stadiums der Erkrankung zu. Pathogenetische Zusammenhänge können allerdings so nicht aufgedeckt werden. Dies gelingt allein mit immunologischen Methoden. Im folgenden werden, getrennt für die verschiedenen Verlaufsformen, die Möglichkeiten der klinischen Immunologie hinsichtlich der Klassifizierung und der Verlaufsbeobachtung einschließlich der Prognose aufgeführt. Die Bestimmung der onkofetalen Antigene, des Coeruloplasmin, des Lipoprotein X und anderer Größen wird ausgeklammert, da sie lediglich

mit immunologischen Techniken nachgewiesen werden, letztlich mit einer in der Leber ablaufenden Immunreaktion aber nichts zu tun haben.

Akute Hepatitis

Die akute Form der Hepatitis auf dem Boden einer pathogenen Immunreaktion ist zumeist durch eine Sensibilisierung gegen Viren und virusinduzierte Antigene, selten gegen Medikamente und andere Faktoren bedingt. Daher müssen zur Charakterisierung der einzelnen Mechanismen entweder die entsprechenden, als Antigene wirksamen Faktoren oder die spezifische Immunreaktion nachgewiesen werden.

1. Viralinduzierte Hepatitis

Eine Hepatitis kann durch primär hepatotrope Viren oder als Begleitkrankheit durch andere Viren hervorgerufen werden. Nach derzeitigen Erkenntnissen gibt es

offenbar 3 Typen von Viren der erstgenannten Gruppe und eine nicht genau bekannte Zahl der zweitgenannten Form. Wie sich gezeigt hat, verursachen die Viren keineswegs durch ihre unmittelbare Einwirkung die Erkrankung, vielmehr ist erst die daraufhin einsetzende Immunreaktion hierfür verantwortlich. Daraus ergeben sich neben der diagnostischen Bedeutung auch prognostische Rückschlüsse.

1.1 Spezifische Befunde

Hepatitis A

Die Hepatitis A wird durch das Hepatitis-A-Virus (HAV) hervorgerufen. Es findet sich bei Krankheitsbeginn noch wenige Tage im Stuhl, wo es mit der für die Routine ungeeigneten Immunelektronenmikroskopie gefunden werden kann. Bereits zu diesem Zeitpunkt sind spezifische Antikörper (HAAK) im Serum nachweisbar. Ihr Titer steigt im Laufe der folgenden Wochen rasch an. Mit der durch den Titeranstieg gesicherten Diagnose ist das immunologische Untersuchungsprogramm beendet, da die Hepatitis A offenbar stets eine gute Prognose aufweist und ausheilt.

Hepatitis B

Die Hepatitis B wird durch das HBV hervorgerufen. Es weist drei unterschiedliche, antigen wirksame Struktu-

ren auf: während das HB_s-Ag als Hüllprotein und das HB_c-Ag als Kernprotein erkannt sind, ist das HB_e-Ag noch ungenügend charakterisiert. Diese Antigene finden sich in der Regel nach klinischem Beginn der Erkrankung noch einige Tage bis Wochen im Serum. Vereinzelt sind sie zu diesem Zeitpunkt bereits nicht mehr nachweisbar.

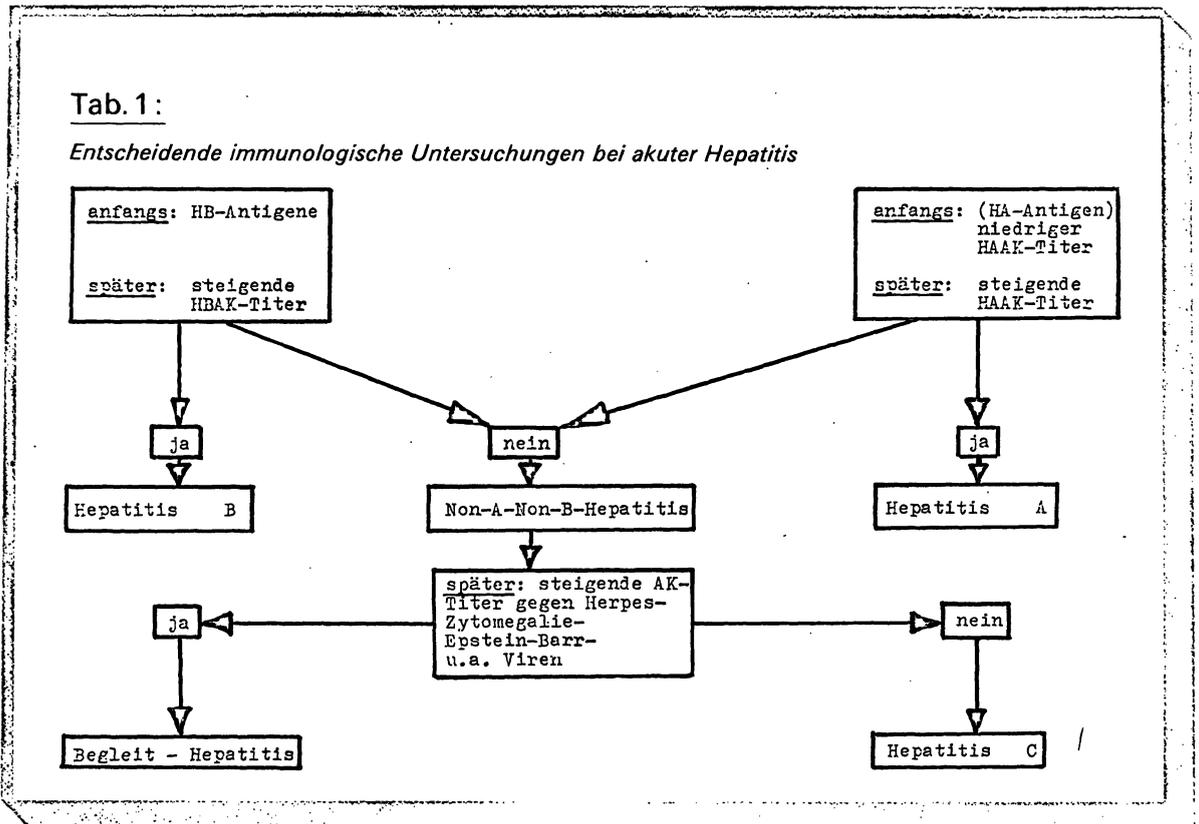
Praktische Bedeutung besitzt vor allem das HB_e-Ag. Die Dauer seiner Persistenz steht in enger Korrelation zum Krankheitsverlauf: verschwindet es bereits wenige Tage nach Krankheitsbeginn, so kann mit einer unkomplizierten Form gerechnet werden; persistiert es länger als 3 Monate, so ist eine verzögerte Heilung mit der Gefahr einer chronischen Entwicklung zu befürchten.

Die anderen Antigene treten bei der Diagnostik in den Hintergrund, zumal sie teilweise bevorzugt in den Hepatozyten vorliegen, was jeweils eine Untersuchung bioptisch gewonnenen Materials erforderlich macht. Sie haben daher mehr Gewicht bei der chronischen Hepatitis.

Im Laufe der Erkrankung treten Antikörper gegen die verschiedenen, inzwischen nicht mehr nachweisbaren Antigene auf. Antikörper gegen das HB_c-Ag, die HB_c-Ak, treten vergleichsweise rasch auf und sind regelmäßig nachweisbar. Die HB_s-Ak werden erst Monate nach Krankheitsbeginn gebildet. Der Nachweis von

Tab. 1:

Entscheidende immunologische Untersuchungen bei akuter Hepatitis



spezifischen Antikörpern ist vor allem dann unerlässlich, wenn bei Beginn der Erkrankung die Virusmarker, insbesondere das HB_s-Ag, nicht gefunden worden sind. So können Antikörper gegen HB_s-Ag oder HB_c-Ag als Beweis für eine durchgemachte Hepatitis selbst dann gelten, wenn die Erkrankung vom Patienten überhaupt nicht bemerkt worden ist.

Non-A-Non-B-Hepatitis

Sofern trotz Suche nach HA-Ag und HB-Ag sowie nach den entsprechenden Antikörpern kein Hinweis auf eine Hepatitis A oder B gewonnen worden ist, liegt eine Non-A-Non-B-Hepatitis vor. Sie kann von verschiedenen Viren, etwa Epstein-Barr-, Zytomegalie-, Herpes-u.a. Viren ausgelöst sein. Diese Formen werden zweckmäßigerweise als Begleithepatitis bezeichnet, da das hauptsächliche Krankheitsgeschehen in der Regel in anderen Organen abläuft. Der Beweis wird durch direkten Virusnachweis oder Nachweis des späteren Auftretens entsprechender Antikörper geführt.

Hepatitis C

Bei einem kleinen Teil der Fälle mit akuter Hepatitis läßt sich auch eine Begleithepatitis ausschließen. Diese Formen können epidemiologisch gut verfolgt werden und zeigen hinsichtlich Übertragungsmodus und Krankheitscharakteristik große Ähnlichkeit mit der Hepatitis B. Diese dritte Form der akuten Hepatitis kennt derzeit keinen immunologischen Marker und kann vorerst nur durch eine Ausschlussdiagnostik angenommen werden.

1.2. Unspezifische Befunde

Im Verlaufe einer Hepatitis steigen einzelne Immunglobulinklassen im Serum vorübergehend an. Bei der Hepatitis A ist häufig das IgM, bei der Hepatitis B das IgG vermehrt. Weiterhin treten passager und in niedrigem Titer Antikörper gegen körpereigene Gewebe und Zellen auf, etwa gegen Kernbausteine, Mitochondrien oder glatte Muskulatur. Diese unspezifischen Befunde sind bei den akuten Verlaufsformen von untergeordneter Bedeutung, weshalb auf sie verzichtet werden kann.

2. Medikamentös induzierte Hepatitis

Die Leber wird nicht selten durch Medikamente in ihrer Funktion beeinträchtigt. Unter den verschiedenen Formen ist die mit den Zeichen einer Entzündung und Stauung einhergehende Variante, die verschiedentlich auch als Hepatose oder Drogenikterus bezeichnet wird, am häufigsten. Hier besteht vorwiegend aus klinischen Gründen der Verdacht auf eine Immunopathie im Sinne einer Allergie, wenn die Erscheinungen mit zunehmend geringeren Dosen ausgelöst werden können, wenn eine Begleiteosinophilie oder andere allergische Phänomene vorliegen. Der Versuch, gegen die angeschuldigte Substanz eine spezifische antikörpervermittelte oder zelluläre Immunreaktion nachzuweisen, ist häufig vergeblich, weil die Sensibilisierung genauso gut gegen die für den in vitro Test nicht verfügbaren Metaboliten erfolgt sein kann.

Tab. 2:

Entscheidende immunologische Untersuchungen bei chronischer Hepatitis

		HB-Antigene nachweisbar	
		ja	nein
Massive Hypergamma- globulinämie und Antikörper gegen Kernbestandteile, glatte Muskulatur Mitochondrien, Immunglobuline (=Rheumafaktoren)	ja	Autoaggressive Hepatitis bei HBsAG-Träger	Autoaggressive Hepatitis
	nein	chronische Hepatitis B	chronische Hepatitis C (?)

3. Durch andere Faktoren induzierte Hepatitis

Eine sog. allergische Hepatitis im Zusammenhang mit anderen Antigenen dürfte zumeist auf eine Fehlinterpretation zurückgehen, wenn etwa über Leberschmerz nach Genuß bestimmter Speisen geklagt wird. Vereinzelt scheint die Leber gemäß einer Frühreaktion auf eine Sensibilisierung gegen Parasiten zu antworten.

Chronische Hepatitis

Auch bei der chronischen Hepatitis überwiegen Immunopathien. Neben die viralinduzierte Variante tritt die autoaggressive Form. Andere Ursachen scheiden für die chronische Hepatitis als Folge einer Immunreaktion in der Praxis aus.

1. Chronisch persistierende Hepatitis (CPH)

Die CPH stellt eine Sonderform dar, die nur durch ihren Verlauf charakterisiert wird. Bemerkenswert ist, daß es sich offenbar um einen virusinduzierten Prozeß handelt. Da nicht selten das HB_s-Ag gefunden wird, liegt möglicherweise eine extrem protrahiert verlaufende Hepatitis B vor. Daher konzentriert sich die immunologische Diagnostik bei der CPH auf den Nachweis des HB_s-Ag. Andere Untersuchungen bringen keinen Informationsgewinn. Selbst die Vermehrung der Serumimmunglobulinspiegel fehlt in der Regel bei der CPH.

2. Chronisch aktive aggressive Hepatitis (CAH)

2.1 Viralinduzierte Form

Nach heutigen Kenntnissen kann eine nicht zur Heilung kommende Infektion eine chronisch progrediente, unter

den Zeichen einer Autoaggression hoher Aktivität verlaufende Hepatitis durch verschiedene Viren unterhalten werden. Dabei kommt in erster Linie das HBV in Betracht. Demnach liegt der Schwerpunkt der Diagnostik auf dem Nachweis des HB_s-Ag, das hier persistiert. Als ein weiterer Marker ist das HB_e-Ag zu erwähnen, das gerade bei der CAH auf dem Boden einer Hepatitis B vorhanden ist.

Klinische Hinweise lassen vermuten, daß auch die Hepatitis C in eine CAH münden kann. Da es derzeit für diese Form keinen immunologischen Marker gibt, kann die Diagnose CAH nach Hepatitis C allein durch den Ausschluß anderer Möglichkeiten gestellt werden.

Neben den charakteristischen Virusmarkern finden sich bei der viralinduzierten Form teilweise Autoantikörper, etwa gegen Kernbausteine. Sie kommen jedoch allenfalls in niedrigem Titer (unter 1:20) und inkonstant vor. Auch fehlt die bei anderen Formen der CAH zu beobachtende Hypergammaglobulinämie; ein Anstieg der Serumimmunglobuline tritt vergleichsweise spät und in nur geringem Umfang auf.

Die für die virusinduzierte Form charakteristischen Immunphänomene lassen keine verlässliche Verlaufsbeobachtung zu. Daher kann der Therapieerfolg nicht mit immunologischen Kriterien erfaßt werden. Zwar scheint die Menge des HB_s-Ag im Serum bei günstiger Entwicklung zurückzugehen, doch schwankt dieser Wert ohnedies sehr stark.

2.2 Autoaggressive Form

Bei der autoaggressiven Form der CAH lassen sich eine Reihe von Autoimmunphänomenen nachweisen. Es

Tab. 3:

Entscheidende immunologische Untersuchungen HB_s-Ag-Trägern

	wahrscheinlich immer gesund	wahrscheinlich später krank
HB _s AG	+	+
HB _s AK	-	-
HBeAG	-	+
HBeAK	+	-

handelt sich um Antikörper gegen verschiedene intra- und extrazelluläre Strukturen. Sie sind konstant und in hohem Titer (meist über 1:40) vorhanden. Am bekanntesten sind die antinukleären Faktoren, die, weil sie auch beim Lupus erythematoses disseminatus vorkommen, den Begriff der „lupoiden“ Hepatitis geprägt haben. Sie finden sich in etwa 45% der Fälle und sind, im Gegensatz zu den DNS-Antikörpern beim LED, gegen Nukleoprotein gerichtet. Weiterhin finden sich in etwa 50% der Fälle Antikörper gegen glatte Muskulatur, in etwa 30% der Fälle Antikörper gegen Mitochondrien. Weitere Autoimmunphänomene, etwa gegen Ductuli oder Membranantigene der Hepatozyten, sind für die Routinediagnostik nicht geeignet und Speziallaboratorien mit wissenschaftlicher Orientierung vorbehalten. Schließlich sind noch die Rheumafaktoren, Autoantikörper gegen Immunglobuline, zu erwähnen.

Neben diesen spezifischen Immunphänomenen bietet die CAH eine frühzeitig einsetzende extreme Hypergammaglobulinämie. Nicht selten übersteigt die Summe der Immunglobuline im Serum 30 g/l. Dies läßt sich bereits mit der Papierelektrophorese erkennen. Ein weiteres unspezifisches Immunphänomen, das ansonsten bei Autoaggressionsprozessen eine diagnostische Hilfe darstellt, entfällt bei der CAH: die Erniedrigung des Serumkomplementspiegels. Da Komplement zu einem großen Teil in der Leber synthetisiert wird, führt jede Leberfunktionsstörung mit eingeschränkter Syntheseleistung auch zur Erniedrigung des Komplements im Serum.

Die autoaggressive Form der CAH kann nur synoptisch unter Berücksichtigung spezifischer und unspezifischer Immunphänomene objektiviert werden. So genügt es nicht, die Diagnose allein auf eine Hypergammaglobulinämie zu stützen, da eine Vermehrung der Immunglobuline auch durch andere chronische Prozesse bedingt sein kann. Doch erübrigt sich eine weitergehende Analyse insofern, als nicht unbedingt die Titer der Autoantikörper und die Serumspiegel der einzelnen Immunglobulinklassen gesondert ermittelt werden müssen; dies bedeutet bei der CAH einen nur geringen Informationsgewinn.

Die Immunphänomene gestatten bis zu einem gewissen Grade eine Prognosestellung, da starke humorale Veränderungen bei schwerem Verlauf gehäuft vorkommen. Wertvoller sind indes Kontrolluntersuchungen für die Beurteilung des Therapieerfolges. Zwar verschwinden die Autoantikörper keineswegs, doch gehen die Titer zurück. Eindrucksvoll ist dagegen die Rückbildung der Hypergammaglobulinämie. Doch sollte bedacht werden, daß die Halbwertszeit des IgG, der hauptsächlich vertretenen Immunglobulinklasse, etwa 3 Wochen beträgt, so daß die Intervalle zwischen Kontrollen wenigstens einen Monat umfassen sollen.

Zirrhosen

Sofern Zirrhosen aus immunologisch bedingten Lebererkrankungen hervorgehen, gelten die gleichen diagnostischen Kriterien wie bei der CAH, so daß Folgezustände eines virusinduzierten und eines autoaggressiven Prozesses unterschieden werden können.

Eine Sonderform stellt die primär biliäre Zirrhose (PBZ) dar. Sie ist charakteristischerweise in mehr als 90% der Fälle mit dem Vorliegen von Antikörpern gegen Mitochondrien in hohem Titer (über 1:80) vergesellschaftet. Zugleich ist die IgM-Klasse im Serum stark vermehrt.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß die alkoholische Zirrhose von einem hohen Serumspiegel des IgA begleitet wird. Da das Verhalten der Immunglobuline bei verschiedenen Zirrhosen an großen Kollektiven ermittelt worden ist, muß die Interpretation der Immunglobulinmuster im Einzelfalle mit großer Zurückhaltung vorgenommen werden. Es ist bedenklich, etwa in Gutachten die Konstellation der Serumimmunglobulinklassen zur Bemessungsgrundlage ätiologischer Momente zu machen.

Sonderformen

Die Einteilung in virusinduzierte Hepatitis einerseits und in autoaggressive Hepatitis andererseits ist nicht in allen Fällen möglich. Etwa jeder zehnte Fall einer CAH weist entweder Zeichen einer Virusinduktion zusammen mit Autoimmunphänomenen auf oder entbehrt aller Zeichen einer Immunopathie. Im erstgenannten Fall handelt es sich wahrscheinlich um eine autoaggressive Form einer CAH bei primär gesundem Virusträgerstatus, im letztgenannten Fall könnte, bei Ausschluß aller anderer Möglichkeiten, eine chronisch verlaufende Hepatitis C vorliegen.

Auch bei den Zirrhosen kommen Sonderformen vor, insbesondere Mischformen zwischen einer PBZ und Zirrhosen anderer Genese. Vorerst ist es nicht möglich, in all den genannten Fällen exakt zu differenzieren.

Trägerstatus

Bei einem geringen Anteil der Bevölkerung ist das HB_s-Ag ohne die Zeichen einer Hepatitis nachweisbar. Dieser Status ist für den einzelnen harmlos. Charakteristischerweise finden sich bei dieser Personengruppe häufig Antikörper gegen das HB_e-Ag. Von ihr zu trennen sind Personen, bei denen sich eine CAH in einem quasi noch nicht manifesten Anfangsstadium findet. Sie weisen ebenfalls noch ohne Zeichen einer Hepatitis das HB_s-Ag auf. Doch ist hier häufig zugleich das HB_e-Ag nachweisbar. Daher kann das HB_s-Ag/HB_e-Ag-System als ein wertvolles Kriterium für die weitere Ent-

wicklung bei einer HB_s-Ag-Persistenz ohne aktive Hepatitis herangezogen werden.

Labormethoden

Die immunologische Routinediagnostik der Hepatitis kommt mit serologischen Techniken aus. Grundsätzlich sollte für den Nachweis der Virusantigene und deren korrespondierenden Antikörper die empfindlichste Methode herangezogen werden, da ansonsten durch falsch negative Ergebnisse eine Hepatitis A oder B als Non-A-Non-B-Hepatitis klassifiziert wird. Einen Radioimmunoassay gibt es für das HB_s-Ag, den HB_c-Ak, den HAAK und den HB_s-Ak; zum Nachweis des HB_s-Ag gibt es darüber hinaus einen Enzymimmunoassay. Antikörper gegen andere Viren werden mit den klassischen immunserologischen Techniken nachgewiesen. Autoantikörper gegen Zellantigene werden mit der Immunfluoreszenztechnik entdeckt, ausgenommen die Rheumafaktoren, für die sich passive Agglutinationsmethoden (Latex-Test und Hämagglutination) empfehlen. Zum Nachweis von Antikörpern gegen DNA, eine Subspezifität der antinukleären Faktoren, die allein beim Lupus erythematodes disseminatus vorkommen, gibt es einen Radioimmunoassay. Die Hypergammaglobulinämie wird durch die Papierelektrophorese objektiviert. Die exakte quantitative Messung der Serumspiegel einzelner Immunglobulinklassen erfolgt durch Präzipitationstechniken (radiale Immundiffusion- oder Nephelometrie).

Schrifttum:

- BAENKLER, H. W.:
Immunologie und Hepatologie.
Fortschr. d. Medizin 96, 734–738 (1978).
- BIANCHI, L., GUDAT, F.:
Histologische Charakteristika und Nachweis von Hepatitis-B-Antigen-Komponenten im Lebergewebe bei akuter und chronischer Hepatitis.
Immunität und Infektion 3, 159–171 (1975).
- BERG, P. A.:
Humorale Immunphänomene bei akuter und chronischer Virushepatitis.
Immunität und Infektion 3, 172–181 (1975).
- DONIACH, D., WALKER, J. G., SHERLOCK, S.:
Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implications.
Clin. Exp. Immunol. 1, 871–885 (1971).
- FEINSTONE, S. M., KOPIKIAN, A., PURCELL, R.:
Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus-like antigen associated with acute illness.
Science 128, 1026–1028 (1973).
- FROESNER, G. G.:
Nachweis von Hepatitis-A-Antigen und Antikörpern zur Diagnose der Hepatitis-A-Infektion.
Münchn. Med. Wschr. 119, 825–828 (1977).
- GERLICH, W. H., BISWAS, R. M., STAMM, B., THOMSEN, R.:
The diagnostic significance of antibodies against Hepatitis-B-core antigen.
Klin. Wschr. 55, 1051–1056 (1977).
- KELLER, J.:
Prognostische Aspekte der akuten Hepatitis.
Z. Allg. Med. 54, 332–337 (1978).
- HESS, G., ARNOLD, B., MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.:
Diagnostische Wertigkeit und Spezifität von Antikörpern gegen Gallectanocaliculi.
Inn. Med. 3, 131–136 (1976).

MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K., ARNOLD, W., HUTTEROTH, T.:
Immunologische Aspekte der Virushepatitis.
Internist 18, 201–207 (1977).

MÜLLER, R., MAESS, J., DEICHER, H.:
Fluoreszenzserologischer Nachweis von Australia-Antigen in der Leber
Dtsch. Med. Wschr. 98, 93–99 (1973)

RAY, M., DESMET, V., BRADBURN, A., DESMYTER, J., FEVERY, J., DE GROOTE, J.:
Differential distribution of hepatitis-B surface antigen and hepatitis-B core antigen in the liver of hepatitis-B patients.
Gastroenterology 71, 462–467 (1976).

SHERLOCK, S.:
Predicting progression of acute type B hepatitis to chronicity.
Lancet II, 354–356 (1976).

THAMER, G., GMELIN, K., BARTSCH, U.:
Die diagnostische Bedeutung der Antikörper gegen das e-Antigen.
Inn. Med. 4, 161–163 (1977).

THAMER, G., GMELIN, K., KOMERRELL, B.:
Das e-Antigen.
Dtsch. Med. Wschr. 101, 1573–1575 (1976).

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. H. W. Baenkler
Institut und Poliklinik
für klinische Immunologie
der Universität Erlangen-Nürnberg
Krankenhausstraße 12
8520 Erlangen

Buchbesprechung

Immunologische Aspekte der Entzündungsreaktion

XIII. Kongreß d. Dtsch. Gesellschaft f. Allergie und Immunitätsforschung in München vom 8.–9. September 1975

Herausgegeben von M. Werner, K. Rother und J. Meier-Sydow,
1. Aufl. — Stuttgart/New York: Fischer 1977

Dieser Band, Supplemente Bd. 2 der Zeitschrift für Immunitätsforschung, Immunbiology, gliedert sich in 2 Teile.

Im ersten werden Entzündungsreaktionen aus immunologischer Sicht behandelt, wobei das Komplement- und Gerinnungssystem sowie die Kinine, die zelluläre Immunabwehr und die hormonelle Kontrolle einen besonderen Platz einnehmen.

Der zweite Teil behandelt die freien Vorträge der Tagung der Gesellschaft zum Thema: Allergie und Immunitätsforschung sowie Asthma bronchiale. Eingeleitet werden diese Vorträge von den Kurzfassungen der beiden Arbeiten, die mit dem Karl-Hansen-Gedächtnispreis ausgezeichnet wurden: Beurteilung inhalativer Provokationsproben und Immunpathologie der Neurodermitis constitutionalis.

Dieses Buch enthält wichtige immunologische und allergologische Grundlagen und Einzelfragen.

K.A.