

Stolpersteine in der pränatalen HCMV-Diagnostik

Stellenwert von IgM und IgG-Avidität

Prof. Dr. Dr. Klaus Hamprecht, Institut für medizinische Virologie, Tübingen



HCMV-seronegative Schwangere mit einem Kleinkind sind für eine Primärinfektion besonders gefährdet.

Die HCMV-Primärinfektion (PI) von Frauen im 1. Trimenon ihrer Schwangerschaft ist in Deutschland und anderen europäischen Ländern mit einer Seroprävalenz von ca. 40–60 % Ursache der häufigsten ZNS-Schädigung des Fetus, mit Hör- und kognitiven Störungen beim Kind. Die PI in der Schwangerschaft verläuft in ca. 80 % der Fälle klinisch stumm und ein HCMV-Screening ist nicht in der Schwangerenvorsorge verankert. Damit bleibt die Identifikation von Risikoschwangeren in Deutschland leider Zufall, auch wenn Gynäkologen die Bestimmung von HCMV-IgG immer häufiger als individuelle Gesundheitsleistung (IGeL) anbieten. Die AWMF-S2k-Leitlinien zur „Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen“ widmen ein Kapitel der Epidemiologie und Diagnostik der HCMV-Infektion.¹ Darin wird eine Stufendiagnostik gefordert, mit den serologischen Parametern IgG, IgM sowie IgG-Avidität als Basis. Der folgende Beitrag umreißt die medizinische Relevanz der HCMV-Infektion in der Schwangerschaft, beschreibt das Leitlinien-orientierte diagnostische Vorgehen und zeigt häufige diagnostische Stolpersteine auf, die zu falschen Ergebnisinterpretationen führen können.

Epidemiologie der HCMV-Infektion

Das humane Cytomegalovirus (HCMV) ist ein Vertreter der Herpesvirusfamilie (HHV1-HHV8). Dies sind behüllte, doppelsträngige DNA-Viren mit komplex strukturiertem Genom. Sie replizieren im Zellkern unterschiedlichster Targetzellen² und zeigen nach abgelaufener PI das Phänomen der Latenz. Sie ist definiert als reversible, nicht-produktive Infektion einer Wirtszelle mit einem replikationskompetenten Virus.³ Um latenzfähig zu sein, müssen Viren der Immunabwehr entkommen können, und ihr Genom muss in der latent infizierten Zelle persistieren. HCMV-Latenz manifestiert sich in CD34-positiven Progenitorzellen des Knochenmarks sowie in CD14-positiven Monozyten der myeloischen Entwicklungsreihe.

Die HCMV-PI des Adoleszenten und Erwachsenen verläuft meist asymptomatisch, als grippaler Infekt oder unter einem der Mononukleose ähnlichen Krankheitsbild. Die PI von Schwangeren ist in ca. 80 % der Fälle klinisch stumm. Die epidemiologisch wichtigste Form der vertikalen postnatalen HCMV-Transmission ist das Stillen.

Wie alle Herpesviren führt HCMV zu einer persistenten Infektion. Zytotoxische CD8-T-Zellen kontrollieren die Disseminierung sehr effektiv. In immunsupprimierten Patienten allerdings kann es zur Aktivierung des latenten HCMV-Stammes kommen (z. B. im Zuge einer Sepsis oder im Rahmen einer Steroid- bzw. Chemotherapie).⁴ Auch die Sekundärinfektion mit einem weiteren Virusstamm kann rezurrente HCMV-Infektionen verursachen, z. B. bei seropositiven Schwangeren, die sich in Einrichtungen zur Kleinkindbetreuung aufhalten. Ein besonders hohes Risiko für Erst- oder Zweitinfektion besteht übrigens für Schwangere im „Prager Eltern-Kind-Programm“ (PEKiP),⁵ weil Kleinkinder hier keine Windeln tragen. Denn gestillte und asymptomatisch kongenital infizierte Kinder bis zu drei Jahren können sehr hohe Viruskonzentrationen in Urin und Speichel ausscheiden. In feuchtem Milieu bleibt das Virus auf unterschiedlichen Oberflächen über Stunden infektiös.

Primärinfektion schwangerer Frauen

Die HCMV-seronegative Schwangere mit einem Kleinkind bis zu drei Jahren ist durch

Exposition z. B. mit Urin (Windelwechsel) oder Speichel (gemeinsames Essbesteck) für eine HCMV-PI besonders gefährdet. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, bestehen allerdings weder in Deutschland noch international Empfehlungen für ein HCMV-IgG-Screening oder eine vorgeburtliche Beratung, wie das bei Toxoplasmose und fetalem Alkoholsyndrom der Fall ist. Damit bleibt die Identifikation von Risikoschwangeren in Deutschland leider ein Zufallsereignis, auch wenn Gynäkologen die Bestimmung von HCMV-IgG immer häufiger als individuelle Gesundheitsleistung (IGeL) anbieten. Durch Hygieneberatung Schwangerer lassen sich Primär- und Sekundärinfektionen um bis zu 50 % reduzieren.⁶

Die PI der seronegativen Schwangeren im 1. Trimenon führt in Ländern mit niedriger HCMV-IgG-Seroprävalenz (40–60 %), wie z. B. Deutschland, zur häufigsten angeborenen ZNS-Schädigung mit Hör- und kognitiven Störungen beim Kind. Britt rechnet nach maternaler PI mit ca. neun kongenitalen HCMV-Fällen pro 1000 Lebendgeborenen.⁷ In Ländern mit hoher (> 70 %) HCMV-IgG-Seroprävalenz (z. B. Asien, USA, Südamerika, Afrika) ist dagegen die maternale Nicht-PI Ursache für die mutmaßlich höhere Rate cHCMV-infizierter Neugeborener. Global schätzt man ca. $1,2 \times 10^6$ symptomatisch an kongenitaler HCMV-Infektion erkrankte Lebendgeborene/Jahr.⁸ Für Deutschland fehlen bislang studienbasierte Angaben hierzu.

Die maternofetale Transmissionsrate beträgt im 1. Trimenon ca. 40 %, davon sind 10–15 % der Neugeborenen von einer symptomatischen Infektion bedroht. Im 2. und 3. Trimenon nimmt zwar die Übertragungsrate auf bis zu 65 % zu, die meisten Kinder bleiben jedoch asymptomatisch. In der Untersuchung von Bilavsky et al. führte die maternofetale Transmission im 3. Trimenon nach negativer Fruchtwasseruntersuchung in der 20. Schwangerschaftswoche zu nur 2,2 % infizierten Neugeborenen mit Hörschädi-

gung, dagegen waren es 17,3 % bei Transmission im 1. und 2. Trimenon. Kongenital im 3. Trimenon infizierte Neugeborene mit fehlendem HCMV-DNA-Nachweis aus Fruchtwasser zeigten auch keine HCMV-spezifischen Langzeitfolgen.⁹

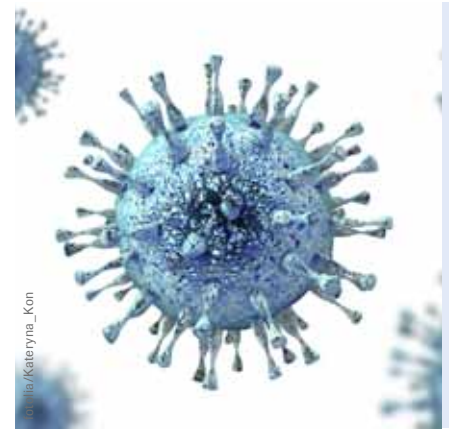
Die Fruchtwaspunktion zur Transmissionsdiagnose mittels direktem viralem DNA-Nachweis über PCR und/oder mittels Viruskultur kann zwischen der 17. und 20. Schwangerschaftswoche ohne Sensitivitätsverlust stattfinden, wenn die Erstdiagnose mehr als acht Wochen zurück liegt.¹⁰ Die Konkordanz zwischen beiden Methoden beträgt 99,1 %, die Sensitivität der PCR im Vergleich zur Viruskultur ist 72,7 % zu 70,5 %, der positive prädiktive Wert für eine fetale Infektion liegt jeweils bei 100 %.¹⁰

Pränatale Diagnostik einer PI

Erster Schritt der pränatalen HCMV-Diagnostik ist die serologische Erhebung des Infektionsstatus der Schwangeren. Ist eine PI klar bestätigt, muss nachfolgend über PCR-Untersuchungen die Viruslast in Blut und Urin kontrolliert werden.

Wie ist eine HCMV-PI labordiagnostisch definiert? Der Goldstandard ist die HCMV-IgG-Serokonversion. Weil dies die Verfügbarkeit einer Serumrückstellprobe oder eines Erstserums voraussetzt, empfehlen die AWMF-LL seit 2014 die Kryokonservierung einer zu Schwangerschaftsbeginn vom Gynäkologen entnommenen Serumprobe. Diese sollte in einer diagnostischen Einrichtung bis zwei Jahre nach der Schwangerschaft gelagert werden, damit in besonderen Risikokonstellationen eine zweifelsfreie Diagnostik erfolgen kann.

Die labordiagnostischen Kriterien einer PI beinhalten u. a. niedrige HCMV-IgG-Level. Da kein WHO-Standard verfügbar ist, sind Konzentrationsangaben abhängig vom Kit-Hersteller (U/ml vs. IU/ml vs. AU/ml) und Messwerte abhängig von den testspezifisch eingesetzten Virusantigenen. Wichtig zur



Ergebnisinterpretation ist daher die Angabe des jeweiligen Cut-off für „IgG positiv“. Bei sehr früher PI kann IgG negativ oder in Cut-off Nähe sein, die Werte steigen im Verlauf von ca. sechs Monaten auf ein Plateau an.

Ein weiteres PI-Kriterium ist der hohe IgM-Index (Probe vs. Cut-off). Er sinkt im weiteren Schwangerschaftsverlauf auf 1 ab (d. h. kein IgM mehr nachweisbar). Da dies, abhängig vom Zeitpunkt der PI, mehr als sechs Monate dauern kann, sind – bei maternofetaler Transmission im 3. Trimenon – auch bei Geburt noch deutlich positive HCMV-IgM-Ergebnisse möglich.

In Risikokonstellationen – also bei jedem IgM-Nachweis, insbesondere mit hohem Index – sollte nach Leitlinie im Sinne einer Stufendiagnostik neben HCMV-IgG und -IgM eine Bestimmung der IgG-Avidität erfolgen. Bei sehr früher PI ist die IgG-Avidität allerdings in der Regel nicht bestimmbar oder es liegt ein sehr niedriger Aviditätsindex vor. Bei bestätigter PI sollte ein HCMV-Immunblot folgen, der anhand des Bandenmusters (IE1/CM2/p150/gB2-Einzelreaktivität) die Differenzierung in hohe und niedere IgG-Avidität unabhängig von Hersteller-spezifisch schwankenden Enzymimmunoassay-Aviditätsindizes (AI 0-1) ermöglicht.

Die anti-gB2-IgG-Reaktivität im Immunblot wird ca. 12–14 Wochen nach HCMV-

Exposition nachweisbar und kann für die Bestimmung des Infektionszeitpunktes hilfreich sein. Allerdings sind interindividuelle Unterschiede zu beachten und ca. 15 % der Individuen zeigen keine anti-gB2-Reaktivität.¹¹ Zusätzlich erlaubt das Muster der HCMV-spezifischen Antigenreaktivitäten im IgM-Immunblot Aussagen zum Zeitpunkt des Erwerbs der PI:

- nur p150 schwach reaktiv: lange zurückliegend, persistierend oder einfach falsch positiv
- IE1- und CM2-IgM reaktiv: sehr frühe PI

Die Interpretation des HCMV-Infektionsstatus aus den unterschiedlichen Ergebniskonstellationen zeigt Tab. 1.

Diagnostik PI oder Nicht-PI

Ergebnisse der anti-HCMV-IgM (negativ oder positiv) Testung sind mit verschiedenen Infektionsstatus assoziiert (Tab. 1). Ein positiver Nachweis kann sowohl eine PI als auch eine Nicht-PI reflektieren (Tab. 2). Daher bedarf es weiterer diagnostischer Maßnahmen.

Im Falle der PI finden sich ein hoher IgM-Index sowie ein IE1/CM2/p150-IgM reaktives

Antikörpermuster. Das anti-HCMV-IE1-IgM ist nur kurz in der frühen Phase der PI nachweisbar und die IgM-Indizes sind in der Regel testspezifisch hoch. Eine Nicht-PI dagegen ist gekennzeichnet durch die solitäre p150-IgM-Reaktivität und einen niederen IgM-Index im EIA. Ist jedoch IgM positiv und kein IgG nachweisbar, kann dies bei einer im Abstand von 10 Tagen wiederholten Testung auf eine falsch positive IgM-Reaktivität hindeuten.

Die bis dato verfügbaren virologischen Laborbefunde im Kontext PI versus Nicht-PI lassen eine zuverlässige Einordnung nur mit zusätzlichen anamnestischen Angaben, Voruntersuchungen oder Rückstellproben zu. Darüber hinaus lässt sich heute grundsätzlich aus nur einer punktuellen Serumprobe eine Nicht-PI mit hoher IgG-Avidität, hohem IgG, anti-gB2-IgG-Nachweis und CMV-DNA-Nachweis im EDTA-Gesamtblut nicht als Reaktivierung oder rekurrente Sekundärinfektion diagnostizieren. Dazu bedarf es der Sequenzierung, wobei die Sensitivität der Sanger-Methode meist jedoch nicht ausreicht. Neue NGS-Methoden (Next generation sequencing) werden hier in Zukunft mehr Licht ins Dunkel bringen.

Die Kenntnis, ob es sich bei Schwangeren um eine primäre oder eine latent länger zurückliegende HCMV-Infektion handelt, ist medizinisch relevant, um das Gefährdungspotential des Ungeborenen abschätzen zu können. Die PI perikonzeptionell und im 1. Trimenon führt zu einer deutlich höheren Rate an Schädigungen beim Fetus verglichen mit der Rekurrenz durch Virusreaktivierung bzw. Reinfektion mit einem neu erworbenen Virusstamm. Hierzu besteht aber noch weiterer Forschungsbedarf.

Ungeachtet dessen findet in der Literatur eine rege Diskussion über die Epidemiologie der PI versus Nicht-PI statt. Eine kürzlich erschienene Arbeit errechnete

- pro 1000 „immunem“ (HCMV-IgG positiv) Schwangeren nach Nicht-PI etwa 12 Fälle kongenitaler HCMV-Infektionen
- pro 1000 „nichtimmunem“ Schwangeren (HCMV-IgG negativ) etwa 9 Fälle kongenitaler HCMV-Infektionen.

Testergebnisse	Interpretation
Serum: IgG neg; IgM neg	Nicht infiziert, seronegativ, suszeptibel für PI
Serum: IgG (niedrig) pos; IgM pos (IgM-Index eher hoch); IgG-Avidität niedrig (AI 0-< „intermediär“)	Primärinfektion (PI)
Immunblot: niedrig-avide IE1/CM2/p150/gB2-Reaktivität; IE1/CM2-IgM-Reaktivität; anti-gB2-IgG nicht reaktiv	
Serum: IgG pos; IgM neg; IgG-Avidität hoch	Latent infiziert (lange zurückliegende PI)
Serum: IgG (hoch) pos; IgM pos (IgM-Index eher niedrig); IgG-Avidität hoch	Rekurrente Infektion (Reinfektion oder Virusreaktivierung)
PCR: HCMV-DNA in Blut und/oder Urin positiv	

Tab. 1: **Virologische Laborparameter in Abhängigkeit vom HCMV-Infektionsstatus**

Primärinfektion	Nicht-Primärinfektion
Initial niederes IgG	Initial hohes IgG
Kein Nachweis von anti-gB2-IgG	Nachweis von anti-gB2-IgG
Niedere IgG-Avidität	Hohe IgG-Avidität
Hoher IgM-Index	Niederer IgM-Index
IgM-Immunblot: IE1, CM2, p150	IgM-Immunblot: isoliert anti-p150-IgM
Viruslast im EDTA-Gesamtblut/Urin ggf. präsent	Viruslast im EDTA-Gesamtblut/Urin ggf. präsent

Tab. 2: **HCMV-Primärinfektion vs. Nicht-Primärinfektion: Einfluss auf Basis-Laborparameter**

HCMV-IgG und IgG-Avidität
IgG-Level in Nähe des Cut-off: Kontrolle durch Immunblot!
Reproduzierbare Hersteller-abhängige IgG-Abweichungen auch in mittleren IgG-Konzentrationen
Cave freiwillige Mutterpassangabe „CMV-Immunschutz“: Rekurrenz möglich!
Divergenz von CMV-Aviditätstests: Intermediärzone z. T. extrem breit
Interindividuelle Unterschiede in IgG-Maturationsreifung
HCMV-IgM
Falsch positives CMV-IgM bei negativem CMV-IgG über 2 Wochen
Persistierendes CMV-IgM: Im rekombinanten Immunblot bis zu 1,5 Jahre nach Primärinfektion
Divergenz von CMV-Ligandenassays, deshalb IgG-Avidität
IgM positiv und hohe Avidität: EBV-Koreaktivierung, Parvo-IgM, Rekurrenz?
Niedere oder grenzwertige IgM-Indizes: stets IgG-Avidität bestimmen
Quantitative Fruchtwasser-PCR: keine Korrelation zwischen Viruslast und neonatalem Outcome

Tab. 3: **Stolpersteine der HCMV-Diagnostik bei PI**

Jedoch weist diese Publikation auch darauf hin, dass Berechnungsparameter wie die Suszeptibilität für und die Transmissionsrate bei Nicht-PI mit einem Fragezeichen zu versehen sind.⁷

Diagnostische Stolpersteine

- CMV IgG-Testsysteme stimmen in der Regel relativ gut überein. Problematisch sind Einzelfälle mit sehr niedrigem (im Bereich des Cut-off) oder grenzwertigem IgG-Befund. Hier kann auf den rekombinanten Immunblot zurückgegriffen werden. Die analytische Performance von fünf verschiedenen CMV-IgG-Testen (ECLIA/Roche, CMIA/Abbott, ELISA Enzygnost/Siemens, ELISA/Medac, CLIA/Liaison) am Beispiel von 1243 Tübinger Frauen bei Entbindung war mit einem over-all Kappa-Koeffizient von 0,98 sehr gut. Allerdings bedeuten die hierbei ermittelten 98,73 % (n = 545/552) konkordant positiven CMV-IgG-Ergebnisse umgekehrt eine Abweichungsrate von 1,27 %. Dies könnte im Kontext eines potentiellen HCMV-IgG-Screenings von 100 000 Frauen zu 1270 Fehlbestimmungen führen. Es gab jedoch Testsysteme, die den kombinierten IgG/IgM-Serostatus „seronegativ“ und „latent infiziert“ sehr gut erfassen.
- Bei fakultativer Angabe von „CMV-Immunschutz“ im Mutterpass muss vorsichtig abgewogen werden. Prinzipiell kann bei den Schwangeren mit HCMV-IgG-Nachweis eine rezurrente Infektion im Sinne einer Nicht-PI vorliegen.
- Bei IgG-Aviditätstests sind die teilweise stark unterschiedlich definierten Bereiche ohne direkte diagnostische Aussagekraft („intermediäre“ Avidität) zu berücksichtigen. Gerade im Übergang von einer frühen in eine fortschreitende IgG-Aviditätsmaturation können verschiedene Testsysteme zu ganz unterschiedlichen Aviditätsbeurteilungen kommen.⁵
- Darüber hinaus ist eine weitere Besonderheit zu berücksichtigen: es gibt Schwangere mit protrahiertem IgG-Aviditätsmaturation. Hier steigt die Avidität zwar stetig geringfügig an, der Übergang zwischen niedriger und hoher IgG-Avidität zeigt sich aber erst neun Monate nach Exposition.

- Nicht selten kommt es zur Befundkonstellation HCMV-IgM positiv / -IgG negativ. In solchen Fällen führt eine Testwiederholung nach zehn Tagen zum Ergebnis einer testbedingt falsch positiven IgM-Reaktivität, wenn in diesem Zeitfenster keine IgG-Serokonversion erfolgt. Auch diese Konstellation lässt sich durch einen IgG-Immunblot rasch klären.
- Bis über ein Jahr persistierende IgM-Befunde sind von Patienten nach Organtransplantation hinlänglich bekannt. Diese IgM-Persistenz kennt man aber auch nach abgeklungener PI. In diesem Kontext sind insbesondere p150-IgM-Reaktivitäten im Immunblot-Testsystem (recomLine Blot, Mikrogen) mit sehr schwacher, nahezu nicht erkennbarer IgM-Kontrolle zu beobachten.
- Jeder in der Schwangerschaft erhobene IgM-Befund, muss durch eine IgG-Aviditätsbestimmung verifiziert werden.¹ Findet sich ein IgM-Befund mit hoher IgG-Avidität, muss auch eine Koinfektion mit EBV oder Parvo B19 in Betracht gezogen werden. Auch hier kann im Hintergrund eine rezurrente Infektion bei Nicht-PI vorliegen.
- Bleibt noch darauf hinzuweisen, dass die Amniozentese eine klare Aussage zur maternofetalen Transmission erlaubt, jedoch ist die Höhe der Viruslast nicht prädiktiv für eine symptomatische kongenitale HCMV-Infektion.

Zusammenfassung

Die HCMV-Infektion in der Schwangerschaft führt derzeit in Deutschland jedes Jahr zu 700–1400 symptomatisch infizierten Neugeborenen¹² mit ZNS-Läsionen im Sinne von Hörstörungen und kognitiven Beeinträchtigungen. Einer sorgfältigen Diagnose der bei uns vorherrschenden HCMV-PI in der Schwangerschaft kommt daher epidemiologisch große Bedeutung zu. Offene Fragen bestehen zur Rolle der PI und der Nicht-PI hinsichtlich Inzidenz, Transmissionsrate und Krankheitslast.

Im Sinne einer Stufendiagnostik kommen die serologischen Parameter HCMV-IgG, IgG-Avidität und IgM zur Anwendung. Ein Immunblot kann zusätzliche Informa-

tion über erfolgte gB2-IgG-Serokonversion liefern, die Aviditätsreaktivität gegen vier Antigene visualisieren sowie eine sehr frühe PI durch die Präsenz von IE1, CM2 und p150-IgM-Reaktivität bestätigen. Zusätzlich sollte unbedingt bei jeder PI-Diagnose die Viruslast in Blut und Urin mittels PCR untersucht werden.

Die Diagnose einer Nicht-PI kann erfolgen, wenn präkonzeptionell HCMV seropositive Serum-Rückstellproben vorliegen, und die Schwangere folgende Labor-Parameter aufweist: hohes IgG, hohe IgG-Avidität mit niedrigerem IgM-Index und eventuell Nachweis einer disseminierten HCMV-Infektion mit viraler DNA in Plasma oder EDTA-Gesamtblut.

Neben dem Serostatus aller Schwangeren in Deutschland, sind die Rolle der Nicht-PI bei schwangeren Migrantinnen sowie das Virusausscheidungsprofil von Kleinkindern in Kindertagesstätten weitere Unbekannte.

Literatur

- 1 AWMF Registernummer 0093/001 (2014): Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen, S2k-Leitlinie
- 2 Sinzger C et al: *Curr Top Microbiol Immunol.* (2008); 325: 63–83
- 3 Roizman B, Sears AE: *Annu Rev Microbiol.* (1987); 41: 543–571
- 4 Heining A et al: *Crit Care.* (2011); 15(2): R77
- 5 Hamprecht K et al: *J Clin Virol.* (2014); 60(2): 119–126
- 6 Revello MG et al: *EBioMedicine.* (2015); 2(9): 1205–1210
- 7 Britt WJ: *J Virol.* (2017); May 10; pii: JVI.02392–16
- 8 Van Zuylen WJ: *Microbiol Australia* (2015); 153–156
- 9 Bilavsky E et al: *Clinical Infectious Diseases* (2016); 63(1): 33–38
- 10 Enders M et al: *Prenatal Diagnosis* (2017); 37: 1–10
- 11 Rothe et al: *Biotest Bulletin* (2000); 6, Nr 2: 147–157
- 12 Buxmann et al: *Dtsch Arztebl Int* (2017); 114: 45–52

Korrespondenzadresse



Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Hamprecht
Oberarzt und Bereichsleiter Virusisolierung
Institut für Medizinische Virologie und
Epidemiologie der Viruskrankheiten
Universitätsklinikum Tübingen
Elfriede-Aulhorn-Straße 6
72076 Tübingen
klaus.hamprecht@med.uni-tuebingen.de