

# **Analyse des maternalen CMV-Serostatus bei Geburt**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Simone Katrin Müller

2014

Dekan: Professor Dr. med. Ingo B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Hamprecht
2. Berichterstatter: Professor Dr. rer. nat. Christiane Wolz

***Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit***



# INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS .....	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	IX
TABELLENVERZEICHNIS .....	XII
RECOMBLOT-VERZEICHNIS.....	XIX
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	XXII
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1 Herpesviren: Allgemeines.....	1
1.2 Das humane Zytomegalievirus (CMV): Grundlagen .....	2
1.3 Vertikale CMV-Transmission (Mutter-Kind-Übertragungswege) .....	5
1.4 Epidemiologie der kongenitalen CMV-Infektion.....	7
1.5 Klinik der kongenitalen CMV-Infektion .....	13
1.6 Diagnostik der kongenitalen CMV-Infektion.....	16
1.7 Pränataldiagnostik.....	17
1.8 Serodiagnostik der maternalen CMV-Infektion .....	20
1.9 Postpartale Diagnostik der kongenitalen CMV-Infektion .....	25
1.10 CMV-Hyperimmunglobulin – eine neue Erfolg versprechende Therapieoption der infizierten Schwangeren?.....	26
1.11 Zielsetzung dieser Arbeit .....	28

<b>2 MATERIAL .....</b>	<b>31</b>
<b>2.1 Enzyme linked immunoabsorbent assay (ELISA).....</b>	<b>32</b>
2.1.1 CMV-IgG-ELISA PKS (Pipettier-Kontroll-System) Medac .....	32
2.1.1.1 Reagenzien und Probenmaterial .....	32
2.1.2 CMV-IgM-ELA PKS (Pipettier-Kontroll-System) Medac.....	33
2.1.2.1 Reagenzien und Probenmaterial .....	33
<b>2.2 Chemoluminescence linked immunoabsorbent assay (CLIA).....</b>	<b>34</b>
2.2.1 Liaison CMV IgG .....	34
2.2.1.1 Reagenzien und Probenmaterial .....	34
2.2.2 Liaison CMV IgG Avidität.....	35
2.2.2.1 Reagenzien und Probenmaterial .....	35
2.2.3 Liaison CMV IgM .....	36
2.2.3.1 Reagenzien und Probenmaterial .....	36
<b>2.3 Rekombinanter Immunoblot .....</b>	<b>37</b>
2.3.1 recomBlot CMV IgG .....	37
2.3.1.1 Reagenzien.....	37
2.3.1.2 Probenmaterial .....	38
2.3.2 recomBlot CMV IgG Avidität.....	39
2.3.2.1 Reagenzien.....	39
2.3.2.2 Probenmaterial .....	39
2.3.3 recomBlot CMV IgM .....	39
2.3.3.1 Reagenzien.....	39
2.3.3.2 Probenmaterial .....	39

<b>3</b>	<b>METHODEN .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1</b>	<b>Enzyme linked immunoabsorbent assay (ELISA).....</b>	<b>40</b>
3.1.1	CMV-IgG-ELISA, Medac .....	40
3.1.1.1	<i>Testprinzip</i> .....	40
3.1.2	CMV-IgM-ELA, Medac.....	41
3.1.2.1	<i>Testprinzip</i> .....	41
<b>3.2</b>	<b>Chemoluminescence linked immunoabsorbent assay (CLIA).....</b>	<b>43</b>
3.2.1	Liaison CMV IgG, DiaSorin.....	43
3.2.1.1	<i>Testprinzip</i> .....	43
3.2.2	Liaison CMV IgG Avidität, DiaSorin.....	44
3.2.2.1	<i>Testprinzip</i> .....	44
3.2.3	Liaison CMV IgM, DiaSorin .....	45
3.2.3.1	<i>Testprinzip</i> .....	45
<b>3.3</b>	<b>Rekombinanter Immunoblot .....</b>	<b>47</b>
3.3.1	recomBlot CMV IgG/IgM Mikrogen .....	47
3.3.1.1	<i>Testprinzip</i> .....	47
3.3.1.2	<i>Herstellung der Lösungen</i> .....	48
3.3.1.3	<i>Testdurchführung</i> .....	49
3.3.2	recomBlot CMV IgG Avidität, Mikrogen .....	51
3.3.2.1	<i>Testprinzip</i> .....	51
3.3.2.2	<i>Testdurchführung und Herstellung der Lösungen</i> .....	52
3.3.3	Auswertung des recomBlot CMV IgG (Avidität) und IgM.....	52
3.3.4	Testergebnisse und Testinterpretation des recomBlot CMV IgG (Avidität) und IgM .....	53
3.3.5	Evaluierung des recomBlot CMV IgG (Avidität) und IgM.....	57
<b>3.4</b>	<b>Grundlagen zur Auswertung .....</b>	<b>58</b>
3.4.1	Referenzmethode .....	58
3.4.2	Bestimmung der Güte eines Tests .....	58

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>60</b>
4.1	<b>Studiendesign .....</b>	<b>60</b>
4.2	<b>Maternale Seroprävalenz bei Geburt.....</b>	<b>62</b>
4.3	<b>Maternale IgG-Seronegativität .....</b>	<b>64</b>
4.3.1	Sonderfall: Grenzwertiger bzw. positiver IgG-ELISA sowie positiver IgG-CLIA bei negativem IgG im rekombinanten IgG-Immunoblot .....	66
4.4	<b>Maternale IgG-Seropositivität ohne IgM-Detektion.....</b>	<b>69</b>
4.4.1	Konkordant IgG-positive/IgM-negative Mütter .....	70
4.4.1.1	<i>Vergleich der Avidität konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter.....</i>	<i>72</i>
4.4.1.2	<i>Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern ....</i>	<i>77</i>
4.4.1.3	<i>Fragliche Primärinfektion ohne IgM-Nachweis: Einzelfälle .....</i>	<i>80</i>
4.4.1.4	<i>Sonderfälle von IgG-positiven/IgM-negativen Müttern .....</i>	<i>82</i>
4.4.2	Diskrepanz IgG-positive/IgM-negative Mütter .....	84
4.4.2.1	<i>Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunoblots IgG-positiver/diskrepanz-IgM-negativer Mütter.....</i>	<i>86</i>
4.4.2.2	<i>Vergleich der Avidität IgG-positiver/diskrepanz-IgM-negativer Mütter.....</i>	<i>88</i>
4.4.2.3	<i>Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei IgG-positiven/diskrepanz-IgM-negativen Müttern .....</i>	<i>91</i>
4.4.2.4	<i>Falsch positives IgM-Resultat in ELISA und CLIA .....</i>	<i>92</i>
4.5	<b>Maternale IgG-Seropositivität mit IgM-Detektion .....</b>	<b>95</b>
4.5.1	Konkordant IgM-positive Mütter.....	96
4.5.1.1	<i>Vergleich der Avidität konkordant IgM-positiver Mütter.....</i>	<i>97</i>
4.5.1.2	<i>Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten im rekombinanten IgM-Immunoblot konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Mütter ..</i>	<i>100</i>
4.5.1.3	<i>Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei konkordant IgG-positiven/IgM-positiven Müttern....</i>	<i>102</i>

---

4.5.1.4	<i>Nachweis einer CMV-Primärinfektion im letzten Trimenon</i> .....	105
4.5.1.5	<i>Ungewöhnliche Serokonstellation einer CMV-Primärinfektion</i> .....	106
4.5.1.6	<i>Unklarer Serostatus: IgM-Nachweis mit intermediärer Avidität</i> ....	108
4.5.1.7	<i>Unklarer Serostatus: IgM-Nachweis mit hoher Avidität</i> .....	109
4.5.2	<i>Diskordant IgM-positive Mütter</i> .....	111
4.5.2.1	<i>Vergleich der Avidität diskrepant IgM-positiver Mütter</i> .....	112
4.5.2.2	<i>Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunooblots diskrepant IgM-positiver Mütter</i> .....	117
4.5.2.3	<i>Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei diskrepant IgM-positiven Müttern</i> ....	121
4.5.2.4	<i>CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon: Einfluss der Hyperimmunglobulin-(HIG-)Therapie in der Schwangerschaft</i> ....	128
4.5.2.5	<i>Nicht eindeutig terminierbare CMV-Primärinfektion</i> .....	133
4.5.2.6	<i>Unklare Serokonstellation bei diskrepantem IgM-Befund</i> .....	134
4.5.3	<i>Fraglich IgM-positive Mütter</i> .....	147
4.5.3.1	<i>Vergleich der Avidität fraglich IgM-positiver Mütter</i> .....	148
4.5.3.2	<i>Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunooblots fraglich IgM-positiver Mütter</i> ...	148
4.5.3.3	<i>Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität fraglich IgM-positiver Mütter</i> .....	149
4.5.3.4	<i>Maternale Primärinfektion im dritten Trimenon: Virustransmitterin (T1)</i> .....	150
<b>4.6</b>	<b>Gesonderte Betrachtung der Mütter mit vertikaler Übertragung der CMV-Infektion auf das Neugeborene</b> .....	<b>153</b>
4.6.1	<i>Vergleich der Avidität der Mütter mit CMV-Transmission</i> .....	154
4.6.2	<i>Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunooblots der Frauen mit CMV-Transmission</i> .....	155
4.6.3	<i>Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei Müttern mit CMV-Transmission</i> .....	156
4.6.3.1	<i>Maternale Primärinfektion im dritten Trimenon: Virustransmitterin (T1)</i> .....	157

4.6.3.2	<i>CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon: Einfluss der Hyperimmunglobulin-(HIG-)Therapie in der Schwangerschaft (T2).....</i>	157
4.6.3.3	<i>Unklare Serokonstellation mit Verdacht auf Primärinfektion im Übergang erstes/zweites Trimenon (T3).....</i>	158
4.6.3.4	<i>Transmission bei nicht terminierbarer CMV-Primärinfektion (T4)</i>	159
<b>4.7</b>	<b>Methodenkritische Betrachtung des rekombinanten IgM-Immunooblots .....</b>	<b>161</b>
4.7.1	Konkordant IgG-positive/IgM-negative Mütter .....	162
4.7.1.1	<i>Singuläre p150-IgM-Bande in schwacher Intensität.....</i>	163
4.7.2	Konkordant IgG-positive/diskordant IgM-negative Mütter.....	164
4.7.2.1	<i>Breites Spektrum an IgM-Banden, jedoch in sehr schwacher Ausprägung .....</i>	164
4.7.2.2	<i>Singuläre p150-IgM-Bande in schwacher Intensität.....</i>	165
4.7.2.3	<i>Singuläre p150-IgM-Bande in sehr schwacher Intensität.....</i>	166
4.7.2.4	<i>Schwache p150-IgM-Bande in Kombination mit „inversen“ Banden bei p65 und gB1 .....</i>	167
4.7.2.5	<i>Schwacher Nachweis von p150- und p65-IgM-Reaktivität.....</i>	168
4.7.3	Diskordant IgM-positive Mütter.....	169
4.7.3.1	<i>Singuläre schwach positive p150-IgM-Reaktivität.....</i>	169
4.7.4	Fraglich IgM-positive Mütter .....	170
4.7.4.1	<i>Intensive IgM-Banden bei IE1 und p65 ohne Nachweis einer p150-Bande .....</i>	171
4.7.4.2	<i>Schwach sichtbare IgM-Banden bei p150 und CM2 .....</i>	172

---

<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>173</b>
<b>5.1 Screeningmethode - Vergleich ELISA und CLIA mit dem rekombinanten Immunoblot als Referenz .....</b>	<b>174</b>
5.1.1 Analytische Wertigkeit des IgG/IgM-ELISA im Teilkollektiv abweichender Testresultate .....	175
5.1.1.1 <i>IgG-ELISA</i> .....	175
5.1.1.2 <i>IgM-ELISA</i> .....	176
5.1.2 Analytische Wertigkeit des IgG/IgM-CLIA sowie des CLIA-Aviditätsindizes im Teilkollektiv abweichender Testresultate.....	178
5.1.2.1 <i>IgG-CLIA</i> .....	178
5.1.2.2 <i>IgM-CLIA</i> .....	179
5.1.2.3 <i>CLIA-Aviditätsindex</i> .....	180
5.1.3 Vergleich von ELISA und CLIA im Gesamtkollektiv CMV-seronegativer Mütter .....	183
5.1.4 Vergleich von ELISA und CLIA im Gesamtkollektiv CMV-IgG-seropositiver Mütter mit negativem IgM-Nachweis .....	184
5.1.5 Vergleich von ELISA und CLIA im Gesamtkollektiv CMV-IgG-seropositiver Mütter mit positivem IgM-Nachweis im rekombinanten IgM-Immunoblot .....	186
5.1.6 Sonderfall: Stabile und reproduzierbare diskrepante IgG-Serokonstellation bei Seronegativität im rekombinanten IgG-Immunoblot.....	189
5.1.7 Fazit .....	190
<b>5.2 Rekombinanter Immunoblot - Goldstandard oder „Lotterie“? .....</b>	<b>194</b>
5.2.1 Rekombinanter IgG-Immunoblot .....	194
5.2.2 Rekombinanter IgG-Aviditäts-Immunoblot.....	195
5.2.3 Rekombinanter IgM-Immunoblot .....	199
5.2.4 Fazit .....	202
<b>5.3 CLIA-Aviditätsindex - Schlüssel zur Detektion von CMV-Primärinfektionen?.....</b>	<b>203</b>

5.4	CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifische IgG-Antikörperreaktivität als sicherer Indikator einer zurückliegenden Infektion?.....	206
5.5	Transmissionen - bei Primärinfektionen oder auch bei Reaktivierungen? .....	210
6	ZUSAMMENFASSUNG .....	212
7	LITERATURVERZEICHNIS .....	215
8	DANKSAGUNG .....	226
9	CURRICULUM VITAE.....	227

## **ANHANG (ORIGINAL-TABELLEN)**

# ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Häufigkeiten kongenitaler Infektionen und neonataler Syndrome pro Jahr in den USA (Cannon und Davis, 2005) ..... 8

Abb. 2: Epidemiologie der kongenitalen CMV-Infektion in Deutschland (Schätzung adaptiert nach Collinet et al., 2004; modifiziert nach Hamprecht und Jahn, 2007)..... 11

Abb. 3: Ergebnisse der Real Time PCR aus 472 Fruchtwasserproben infizierter Frauen mit Risiko der CMV-Übertragung in Korrelation mit dem Schwangerschafts-Outcome (Lazzarotto et al., 2008) ..... 19

Abb. 4: Kinetik der Antikörperantwort und der Viruslast im Blut bei maternaler CMV-Primärinfektion in der 19. Schwangerschaftswoche (Revello und Gerna, 2004)..... 21

Abb. 5: Anti-gB-Profile zur Diskriminierung von CMV-Primärinfektion und Reaktivierung (Rothe et al., 2000; Schoppel et al., 1997) ..... 24

Abb. 6: Testprinzip des CMV-IgG-ELISA im Schema (Gebrauchsanweisung CMV-IgG-ELISA PKS Medac, 115-Q-PKS-VPD/300908) ..... 40

Abb. 7: Testprinzip des CMV-IgM-ELA im Schema (Gebrauchsanweisung CMV-IgM-ELA PKS Medac, 110-PKS-VPD/010708) ..... 41

Abb. 8: Testprinzip und Durchführung des rekombinanten Immunoblots im Schema (Gebrauchsinformation Mikrogen recomBlot, GIRBCM012DE.DOC)..... 51

Abb. 9: Studiendesign zur Abklärung des maternalen CMV-IgG-Serostatus bei Geburt in der Beobachtungszeit vom 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008 ..... 61

Abb. 10: Studiendesign zur Abklärung des maternalen CMV-IgM-Serostatus bei Geburt in der Beobachtungszeit vom 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008 ..... 61

Abb. 11: Mütterliche Seroprävalenz bei Geburt im Beobachtungszeitraum 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008 ..... 62

Abb. 12: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes von 738 der 749 IgG-seropositiven Mütter..... 63

- Abb. 13: Übersicht über konkordante und diskrepante Ergebnisse seronegativer Mütter und Verifizierung via rekombinatem IgG-Immunoblot ..... 66
- Abb. 14: Seropositive Mütter ohne IgM-Detektion im Beobachtungszeitraum 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008 ..... 69
- Abb. 15: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der insgesamt 619 konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Mütter ..... 73
- Abb. 16: Veranschaulichung der Verteilung der CLIA-Aviditätsindizes und der zugehörigen Aviditätsresultate des rekombinanten Immunoblots bei konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern ..... 74
- Abb. 17: Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität von konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern und ggf. Korrelation mit Aviditätsresultaten (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot) ..... 78
- Abb. 18: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der insgesamt 17 konkordant-IgG-positiven/diskrepant-IgM-negativen Mütter..... 88
- Abb. 19: Seropositive Mütter mit positivem IgM-Serostatus bei Geburt im Beobachtungszeitraum 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008..... 96
- Abb. 20: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der insgesamt elf konkordant IgM-positiven Mütter ..... 98
- Abb. 21: Veranschaulichung der Verteilung der CLIA-Aviditätsindizes und der zugehörigen Aviditätsresultate des rekombinanten Immunoblots bei konkordant IgG-positiven/IgM-positiven Müttern..... 99
- Abb. 22: Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität von konkordant IgM-positiven Müttern und ggf. Korrelation mit Aviditätsresultaten (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot) ..... 104
- Abb. 23: Serokonstellationen und zugehörige Aviditätsresultate diskordant IgM-positiver Mütter ..... 112
- Abb. 24: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der diskrepant IgM-positiven Mütter: 68 von 93 ermittelten CLIA-Aviditätsindizes liegen im Bereich zwischen 0,2 und 0,4 (73,1 Prozent)! ..... 117
- Abb. 25: Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität von diskordant IgM-positiven Müttern und ggf. Korrelation mit Aviditätsresultaten (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot) ..... 126

Abb. 26: Verteilung aller ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes, bei denen auch ein rekombinanter Aviditäts-Immunoblot durchgeführt wurde (insgesamt 146) ..... 181

Abb. 27: Verteilung der Aviditätsergebnisse des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots in den einzelnen Serostatus-Kategorien der getesteten Mütter ..... 197

Abb. 28: Verteilung aller im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot ermittelten Aviditätsergebnisse ..... 198

Abb. 29: Verteilung aller 738 ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes aufgeteilt nach Kategorien ..... 204

Abb. 30: Verteilung gB2-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität und ggf. Korrelation mit Aviditätsergebnissen (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot) aller 157 im rekombinanten IgG-Immunoblot positiver Mütter ..... 208

## TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Humane Herpesviren, Einteilung und Krankheitsspektrum (Hamprrecht und Jahn, 2007) .....	1
Tab. 2: Inzidenz kongenitaler CMV-Infektionen in verschiedenen Ländern (Hamprrecht und Jahn, 2007) .....	9
Tab. 3: Hygienemaßnahmen (Adler et al., 2004; Adler, 2005; Cannon und Davis, 2005; modifiziert nach Hamprrecht und Jahn, 2007).....	13
Tab. 4: Befundkonstellation kongenitaler CMV-Infektion (Ross und Boppana, 2005; modifiziert nach Hamprrecht und Jahn, 2007).....	14
Tab. 5: Inzidenz der Folgeschädigungen symptomatisch kongenital CMV-infizierter Kinder im Langzeit-Follow-up (Boppana et al., 1997; modifiziert nach Hamprrecht und Jahn, 2007).....	16
Tab. 6: Fähigkeit des IgG-Aviditäts-Tests zur Detektion und zum Ausschluss kürzlicher CMV-Primärinfektion (Lazzarotto et al., 2008).....	22
Tab. 7: Resultat maternaler CMV-Infektion mittels serologischer Tests und Schwangerschafts-Outcomes (Lazzarotto et al., 2008) .....	23
Tab. 8: Virusisolierung und Real Time PCR im Fruchtwasser von 472 Frauen mit Risiko der kongenitalen CMV-Übertragung (Lazzarotto et al., 2008) .....	26
Tab. 9: Übersicht der serologischen CMV-Screeningverfahren zur Differenzierung von Primär-infektion und Reaktivierung (modifiziert nach Hamprrecht und Jahn in Mikrobiologische Diagnostik, Thieme Verlag, 2009) .....	31
Tab. 10: Zur Durchführung des CMV-IgG-ELISA benötigte Reagenzien und Materialien .....	32
Tab. 11: Zur Durchführung des CMV-IgM-ELA (Enzyme labelled Antigen) benötigte Reagenzien und Materialien.....	33
Tab. 12: Zur Durchführung des Liaison CMV IgG CLIA benötigte Reagenzien und Materialien .....	34
Tab. 13: Zur Durchführung des Liaison CMV IgG Avidität CLIA benötigte Reagenzien und Materialien .....	35

---

Tab. 14: Zur Durchführung des Liaison CMV IgM CLIA benötigte Reagenzien und Materialien .....	36
Tab. 15: Inhalt eines Reagenziensatzes .....	37
Tab. 16: Reagenziensatzinhalt zur Bestimmung des IgGs und der Avidität .....	38
Tab. 17: Reagenzien und erforderliches Zubehör zur Durchführung des recomBlot CMV IgG (Avidität) und recomBlot CMV IgM .....	38
Tab. 18: Reagenziensatzinhalt zur Bestimmung des IgMs .....	39
Tab. 19: Eckdaten des CMV-IgG-ELISAs .....	40
Tab. 20: Interpretation der Ergebnisse des CMV-IgG-ELISAs .....	40
Tab. 21: Eckdaten des CMV-IgM-ELAs .....	41
Tab. 22: Interpretation der Ergebnisse des CMV-IgM-ELAs .....	42
Tab. 23: Eckdaten und Interpretation der Testergebnisse des Liaison CMV IgG CLIAs .....	43
Tab. 24: Eckdaten und Interpretation der Ergebnisse des Liaison CMV IgG Avidität CLIAs .....	44
Tab. 25: Eckdaten und Interpretation der Ergebnisse des Liaison CMV IgM CLIAs .....	46
Tab. 26: Verwendete rekombinante CMV-Antigene .....	48
Tab. 27: Waschpuffer A pro eingesetzte Teststreifen .....	48
Tab. 28: Volumina der Anti-Human-IgG- bzw. IgM-Konjugat-Verdünnung .....	49
Tab. 29: Testdurchführung des recomBlots CMV IgG (Avidität) und IgM .....	50
Tab. 30: Graduierung der CMV-IgG/IgM-Reaktivität im rekombinanten Immunoblot .....	53
Tab. 31: Interpretation des IgG-Nachweises .....	53
Tab. 32: Interpretation des IgM-Nachweises .....	54
Tab. 33: Auswertung und Interpretation der Avidität .....	56
Tab. 34: Herstellerangaben zur Sensitivität und Spezifität des recomBlot CMV IgG/IgM .....	57

Tab. 35: Herstellerangaben zur diagnostischen Übereinstimmung des recomBlot CMV IgG Avidität .....	57
Tab. 36: Allgemeine Darstellung einer Vierfeldertafel in einer Diagnosestudie .....	59
Tab. 37: Konstellationen diskrepanter Fälle mit negativem IgG im rekombinanten Immunoblot.....	64
Tab. 38: Übersicht über Abweichungen für den IgG-Serostatus von seronegativen Müttern im rekombinanten IgG-Immunoblot .....	65
Tab. 39: Zusammenstellung ermittelter AU- bzw. IE-Werte bei diskrepanten IgG-Ergebnissen der Screeningtests ELISA und CLIA bei negativem IgG-Ergebnis im rekombinanten IgG-Immunoblot.....	65
Tab. 40: Übersicht aller durchgeführten Untersuchungen im Fall H3140 (AF 71085247) .....	67
Tab. 41: Übersicht über IgM-Serostatus und Avidität konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $\leq 0,4$ .....	70
Tab. 42: Vergleich der Avidität konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter im Detail und Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität .....	75
Tab. 43: Korrelation von gB2-IgG-Antikörperreaktivität mit Aviditätsstatus: Trend zu gemeinsamem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität in beiden Aviditäts-Tests bei konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern .....	79
Tab. 44: Konstellationen diskrepanter Fälle mit negativem IgM im rekombinanten Immunoblot.....	84
Tab. 45: Übersicht über IgM-Serostatus und Avidität IgG-positiver/diskordant-IgM-negativer Mütter .....	85
Tab. 46: Übersicht über IgG- und IgM-Serostatus diskordant-IgG-positiver/IgM-negativer Mütter .....	86
Tab. 47: Konstellationen diskrepanter Fälle mit positivem IgG im rekombinanten Immunoblot.....	86
Tab. 48: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunoblots aller IgG-positiver/diskrepanter-IgM-negativer Mütter .....	87

---

Tab. 49: Vergleich der Avidität IgG-positiver/diskrepanz-IgM-negativer Mütter und Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität .....	90
Tab. 50: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität diskrepanz-IgG-positiver/IgM-negativer Mütter .....	91
Tab. 51: Vergleich der Avidität bei konkordant IgM-positiven Müttern .....	97
Tab. 52: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunooblots aller konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Mütter .....	101
Tab. 53: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Mütter und Übersicht über die Avidität .....	103
Tab. 54: Korrelation von gB2-IgG-Antikörperreaktivität mit Aviditätsstatus: Trend zu gemeinsamem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität in beiden Aviditäts-Tests .....	104
Tab. 55: Konstellationen diskrepanzter Fälle mit positivem IgM im rekombinanten Immunooblot.....	111
Tab. 56: Vergleich der Avidität diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $\leq 0,30$ .....	113
Tab. 57: Vergleich der Avidität diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $> 0,30$ .....	114
Tab. 58: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunooblots aller diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $\leq 0,30$ .....	118
Tab. 59: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunooblots aller diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $> 0,30$ .....	119
Tab. 60: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $\leq 0,40$ .....	122
Tab. 61: Korrelation von gB2-IgG-Antikörperreaktivität mit Aviditätsstatus: Trend zu gemeinsamem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität in beiden Aviditäts-Tests? .....	127
Tab. 62: Aviditätsmaturation einer Mutter mit im Verlauf der Schwangerschaft diagnostizierter CMV-Primärinfektion (Kagan et al., 2011) .....	129

Tab. 63: Konstellationen diskrepanter Fälle mit fraglich positivem IgM im rekombinanten Immunoblot.....	147
Tab. 64: Vergleich der Avidität fraglich IgM-positiver Mütter.....	148
Tab. 65: Intensität der CMV-spezifischen Antigenreaktivität in den rekombinanten IgM-Immunoblots fraglich IgM-positiver Mütter.....	149
Tab. 66: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität fraglich IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex $\leq 0,40$ .....	150
Tab. 67: Serologie der Mütter kongenital CMV-infizierter Neugeborener zum Zeitpunkt der Geburt .....	154
Tab. 68: Übersicht der Mütter mit CMV-Transmission auf das Neugeborene	155
Tab. 69: Intensität der CMV-spezifischen Antigenreaktivität in den rekombinanten IgM-Immunoblots der Mütter mit CMV-Transmission .....	156
Tab. 70: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität der Mütter mit CMV-Transmission .....	157
Tab. 71: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgG-ELISA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgG-Immunoblot.....	175
Tab. 72: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgG-ELISA.....	176
Tab. 73: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgM-ELA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgM-Immunoblot.....	177
Tab. 74: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgM-ELISA.....	177
Tab. 75: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgG-CLIA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgG-Immunoblot.....	178
Tab. 76: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgG-CLIA .....	179
Tab. 77: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgM-CLIA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgM-Immunoblot.....	179
Tab. 78: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgM-CLIA.....	180

---

Tab. 79: Neunfeldertafel zum Vergleich des CLIA-Aviditätsindizes bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter Aviditäts-Immunoblot.....	181
Tab. 80: Sensitivität und positive prädiktive Werte des CLIA-Aviditätsindizes im Vergleich zum rekombinanten Aviditäts-Immunoblot.....	182
Tab. 81: Serokonstellationen aller CMV-seronegativen Mütter (grenzwertige oder positive Fälle wurden im rekombinanten IgG-Immunoblot als negativ verifiziert).....	183
Tab. 82: IgG-Serokonstellationen aller CMV-IgG-positiven und IgM-negativen Mütter .....	184
Tab. 83: IgM-Serokonstellationen aller CMV-IgG-positiven und IgM-negativen Mütter .....	185
Tab. 84: Serokonstellationen aller IgG-seropositiven Mütter (unabhängig vom IgM-Serostatus).....	186
Tab. 85: Serokonstellationen aller CMV-IgG-positiven und im rekombinanten IgM-Immunoblot IgM-positiv getesteten Mütter*.....	187
Tab. 86: Serokonstellationen aller IgM-seronegativen Mütter (unabhängig vom IgG-Serostatus).....	189
Tab. 87: Zusammenfassung der ermittelten Werte für Sensitivität, Spezifität, positiven sowie negativen prädiktiven Wert bei der IgG-Serodiagnostik unter Berücksichtigung des rekombinanten Immunoblots als Referenztest.....	191
Tab. 88: Zusammenfassung der ermittelten Werte für Sensitivität, Spezifität, positiven sowie negativen prädiktiven Wert bei der IgM-Serodiagnostik unter Berücksichtigung des rekombinanten Immunoblots als Referenztest.....	192
Tab. 89: AU- bzw. IE-Werte positiver oder grenzwertiger IgG-ELISA- oder IgG-CLIA-Ergebnisse bei negativem IgG-Serostatus im rekombinanten IgG-Immunoblot (zehn abweichende IgG-Resultate von insgesamt 21 via rekombinantem IgG-Immunoblot überprüften Fällen).....	195
Tab. 90: Übersicht der Resultate aller im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot untersuchten Fälle .....	196
Tab. 91: OD- bzw. AU-Werte positiver oder grenzwertiger IgM-ELA- bzw. IgM-CLIA-Ergebnisse bei negativem IgM-Serostatus im rekombinanten IgM-Immunoblot .....	201

Tab. 92: Verteilung aller ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes.....	204
Tab. 93: Übersicht der auf gB2-spezifische IgG-Antikörperreaktivität untersuchten Fälle .....	207

## RECOMBLOT-VERZEICHNIS

recomBlot CMV 1:	H3367, Abnahmedatum 02.09.2008.....	80
recomBlot CMV 2:	H1208, Abnahmedatum 26.03.2008.....	81
recomBlot CMV 3:	H2801, Abnahmedatum 22.07.2008.....	82
recomBlot CMV 4:	H1956, Abnahmedatum 28.05.2008.....	83
recomBlot CMV 5:	H1432, Abnahmedatum 14.04.2008.....	92
recomBlot CMV 6:	H845, Abnahmedatum 29.02.2008.....	93
recomBlot CMV 7:	H845, Abnahmedatum 29.02.2008, IgM-Wiederholung...	93
recomBlot CMV 8:	H1090, Abnahmedatum 17.03.2008 (5 Tage postpartal) .....	105
recomBlot CMV 9:	H1416, Abnahmedatum 09.04.2008 (28 Tage postpartal) .....	105
recomBlot CMV 10:	H3134, Abnahmedatum 15.08.2008.....	107
recomBlot CMV 11:	H2557, Abnahmedatum 01.07.2008.....	108
recomBlot CMV 12:	H475, Abnahmedatum 30.01.2008.....	109
recomBlot CMV 13:	Serum, 16. Schwangerschaftswoche (vor intravenöser HIG mit 200U/kgKG).....	130
recomBlot CMV 14:	Serum, 21. Schwangerschaftswoche (nach zweimaliger intravenöser HIG-Therapie mit 200 U/kgKG).....	130
recomBlot CMV 15:	Fruchtwasser, 21. Schwangerschaftswoche, Verdünnung 1:2.....	131
recomBlot CMV 16:	H1346, Abnahmedatum 08.04.2008 (erster Tag post partum).....	131
recomBlot CMV 17:	H1391, Abnahmedatum 08.04.2008.....	133
recomBlot CMV 18:	H987, Abnahmedatum 12.03.2008.....	134
recomBlot CMV 19:	H3540, Abnahmedatum 16.09.2008.....	135
recomBlot CMV 20:	H1947, Abnahmedatum 28.05.2008.....	136

recomBlot CMV 21: H132, Abnahmedatum 14.01.2008.....	137
recomBlot CMV 22: H1389, Abnahmedatum 08.04.2008.....	138
recomBlot CMV 23: H3415, Abnahmedatum 09.09.2008.....	139
recomBlot CMV 24: H846, Abnahmedatum 29.02.2008.....	140
recomBlot CMV 25: H2667, Abnahmedatum 08.07.2008.....	141
recomBlot CMV 26: H2667, Abnahmedatum 08.07.2008.....	141
recomBlot CMV 27: H1093, Abnahmedatum 17.03.2008.....	142
recomBlot CMV 28: H1093, Abnahmedatum 17.03.2008.....	142
recomBlot CMV 29: H2799, Abnahmedatum 22.07.2008.....	143
recomBlot CMV 30: H2799, Abnahmedatum 22.07.2008.....	143
recomBlot CMV 31: H1089, Abnahmedatum 17.03.2008.....	144
recomBlot CMV 32: H465, Abnahmedatum 30.01.2008.....	145
recomBlot CMV 33: H1783, Abnahmedatum 09.05.2008.....	151
recomBlot CMV 34: H1783, Abnahmedatum 09.05.2008, IgM-Wiederholung .....	151
recomBlot CMV 35: H1783, Abnahmedatum 19.05.2008, Variante .....	152
recomBlot CMV 36: H2457, Abnahmedatum 23.06.2008.....	158
recomBlot CMV 37: H4685, Abnahmedatum 15.12.2008.....	159
recomBlot CMV 38: Schwach-Positiv-Kontrollen, Durchführung 10.05.2008	161
recomBlot CMV 39: Schwach-Positiv-Kontrollen, Durchführung 24.09.2008	162
recomBlot CMV 40: H127, Abnahmedatum 14.01.2008.....	163
recomBlot CMV 41: H127, Abnahmedatum 14.01.2008, Variante .....	163
recomBlot CMV 42: H3096, Abnahmedatum 11.08.2008.....	164
recomBlot CMV 43: H3096, Abnahmedatum 11.08.2008, Variante .....	164
recomBlot CMV 44: H3168, Abnahmedatum 20.08.2008.....	165
recomBlot CMV 45: H3168, Abnahmedatum 20.08.2008, Variante .....	166

---

recomBlot CMV 46: H3593, Abnahmedatum 22.09.2008.....	166
recomBlot CMV 47: H3593, Abnahmedatum 22.09.2008, Variante .....	166
recomBlot CMV 48: H3733, Abnahmedatum 25.09.2008.....	167
recomBlot CMV 49: H3733, Abnahmedatum 25.09.2008, Variante .....	167
recomBlot CMV 50: H806, Abnahmedatum 22.02.2008.....	168
recomBlot CMV 51: H806, Abnahmedatum 22.02.2008, Wiederholung.....	168
recomBlot CMV 52: H806, Abnahmedatum 22.02.2008, Variante .....	169
recomBlot CMV 53: H1391, Abnahmedatum 08.04.2008.....	170
recomBlot CMV 54: H1391, Abnahmedatum 08.04.2008, Variante .....	170
recomBlot CMV 55: H3516, Abnahmedatum 11.09.2008.....	171
recomBlot CMV 56: H3516, Abnahmedatum 11.09.2008, Variante .....	171
recomBlot CMV 57: H2894, Abnahmedatum 04.08.2008.....	172
recomBlot CMV 58: H2894, Abnahmedatum 04.08.2008, Variante .....	172

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
AD	antigene gB-Domäne
AF	Auftragsnummer
AG	Antigen
AI	Aviditätsindex
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AK	Antikörper
APGAR	Appearance, Pulse, Grimace, Activity, Respiration
AS	Aminosäure
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
AU	arbitrary units
BSA	bovine serum albumin
bzw.	beziehungsweise
CD	cluster of differentiation
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CID	zytomegale Einschusserkrankung
CLIA	chemoluminescence linked immunoabsorbent assay
CMV	Zytomegalie-Virus
CPE	zytopathischer Effekt
CT	Computer-Tomografie
DBP	Dibutylphthalat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E	early
EBV	Epstein-Barr-Virus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELA	Enzyme labelled antigen
ELISA	Enzyme linked immunoabsorbent assay
ER	endoplasmatisches Retikulum
gB	Glykoprotein B
GPCMV	Guinea pig cytomegalovirus

---

HCMV	humanes Zytomegalie-Virus
HHV	humane Herpesviren
HIG	Hyperimmunglobulin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HRP	horse radish peroxidase
i.d.R.	in der Regel
IB	Immunoblot
IE	Internationale Einheit
IE	immediate early
IEA	immediate early antigen
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IQ	Intelligenzquotient
k.A.	keine Angaben
Kap.	Kapitel
kBp	Kilo-Basenpaare
KCl	Kaliumchlorid
KG	Körpergewicht
KSHV	Kaposi-Sarkom-assoziiertes Herpesvirus
L	late
M	Molar
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex)
MIT	Methylisothiazolon
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure (messenger-RNA)
NaCl	Natriumchlorid
NASBA	nucleic acid sequence based amplification
neg	negativ
NTFK	Nabelschnurtrockenblut-Filterkarte
P	Peroxidase
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction)
pfu	plaque forming units
PKS	Pipettier-Kontroll-System

pos	positiv
pp	Phosphoprotein
RCT	Randomized controlled trials
rek	rekombinant
RLU	relative light units
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (Natriumdodecylsulfat)
SNHL	Sensorineurale Hörstörung (sensorineural hearing loss)
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
TAP	Transporter associated with antigen-processing
TMB	Tetramethylbenzidin
TORCH	Toxoplasmose, Other (Parvovirus B19, Hepatitis C-Virus, VZV, Listeriose, Coxsackie-Virus), Röteln, Zytomegalie-Virus, Chlamydien, Herpes-simplex-Virus
UKT	Universitätsklinikum Tübingen
U <sub>L</sub>	Unique-long
U <sub>s</sub>	Unique-short
V.a.	Verdacht auf
VZV	Varizella-Zoster-Virus
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Herpesviren: Allgemeines

Herpesviren sind linear-doppelsträngige DNA-Viren mit einer Hüllmembran von einem Durchmesser von 150 bis 200 nm und 162 Kapsomeren. Weltweit sind mehr als 100 Spezies der Herpesviren bekannt, welche im Zellkern eines breiten Spektrums von Vertebraten replizieren. Als relevant für den Menschen gelten zum derzeitigen Stand der Forschung acht humanpathogene Spezies der Herpesviren (TAB. 1).

Tab. 1: Humane Herpesviren, Einteilung und Krankheitsspektrum (Hamprecht und Jahn, 2007)

Humane Herpesviren, Einteilung und Krankheitsspektrum			
Spezies	Name	Subfamilie	Syndrom/Erkrankung
HHV-1	Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1)	Alpha	Orale, okuläre Läsionen, Enzephalitis, genitale Läsionen
HHV-2	Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2)	Alpha	Genitale, anale Läsionen, Herpes neonatorum
HHV-3	Varizella-Zoster-Virus (VZV)	Alpha	Windpocken, Gürtelrose, fetale/neonatale Infektion
HHV-4	Epstein-Barr-Virus (EBV)	Gamma	Infektiöse Mononukleose, Burkitt-Lymphom, Nasopharynx-Karzinom
HHV-5	Humanes Cytomegalovirus (CMV)	Beta	Kongenitale, peri- und postnatale Infektionen, Retinitis, Kolitis, Hepatitis, Pneumonie, Enzephalitis
HHV-6	Humanes Herpesvirus 6	Beta	Roseola infantum (3-Tage-Fieber)
HHV-7	Humanes Herpesvirus 7	Beta	Roseola, Pityriasis rosea
HHV-8	Kaposi-Sarkom-assoziiertes Herpesvirus (KSHV)	Gamma	Kaposi-Sarkom, B-Zell-Lymphome

Herpesviren zeichnen sich durch das Phänomen der Latenz aus, das als reversible, nicht-produktive Infektion einer Wirtszelle mit einem replikationskompetenten Virus definiert ist. Diese Latenzfähigkeit erlangen die Viren zum einen dadurch, dass sie der Immunabwehr entkommen können, und zum anderen durch die Persistenz ihres Genoms in der latent infizierten Zelle. Die drei Subfamilien, Alpha-, Beta- und Gammaviren, unterscheiden sich nicht nur in ihrer Replikationszeit, sondern auch dadurch, dass neurotrope Alphaviren

(HSV, VZV) nicht teilungsfähige Neuronen befallen, während lymphotrope Gammaviren (EBV) sich teilende oder mitotische Zellen wie zum Beispiel B-Lymphozyten infizieren.

## **1.2 Das humane Zytomegalievirus (CMV): Grundlagen**

Das histopathologische Phänomen der zytomegalen Einschlusserkrankung (CID), welches in Autopsieproben verstorbener Kinder beobachtet wurde, war schon lange vor der Isolierung des ätiologischen Agens bekannt. Die ersten CMV-Isolierungen in Zellkultur wurden 1956 etwa zeitgleich von drei amerikanischen Arbeitsgruppen beschrieben (Smith, 1956; Rowe et al., 1956; Craig et al., 1957). Im Jahr 1957 folgte die erste deutsche Beschreibung der „Pathologie und Klinik der Cytomegalie“ (Seifert und Oehme, 1957).

Das HCM-Virus ist der Subfamilie der Betaviren zugeordnet, der auch die molekular und phylogenetisch verwandten HHV-6 und HHV-7 angehören. Es ist weltweit verbreitet und sehr wirtsspezifisch, in den Industrieländern geht man von einer Prävalenzrate von ca. 60 Prozent aus, in Ländern der Dritten Welt ist der Antikörpernachweis sogar bei fast 100 Prozent positiv (Staras et al., 2006). CMV hat in vivo einen sehr breiten Zelltropismus und kann neben Fibroblasten, Endothelzellen und Makrophagen auch epitheliale Zellen, glatte Muskelzellen und Leberzellen infizieren. Als Ort der Latenz werden myeloische CD34-positive Vorläuferzellen des Knochenmarks, Monozyten und Epithelzellen diskutiert.

CMV besitzt mit 235 kBp das größte Genom der acht humanpathogenen Herpesvirusspezies. Von den mehr als 160 viralen Genen zeigten sich in Genomanalysen und Mutageneseexperimenten nur 45 bis 57 als essenziell für die Virusreplikation. Andere, nicht-essenzielle Gene modulieren die Immunantwort. Das Genom wird in eine Unique-long- (UL-) Region sowie eine Unique-short- (US-) Region eingeteilt. Aus dieser Einteilung leitet sich die Nomenklatur der viralen Gene ab. Das Genom des CMV-Laborstammes AD169, welches in den 1980er Jahren komplett sequenziert wurde, besteht aus vier äquimolaren Isomeren, die durch jeweilige Inversion der UL- und US-Region

zueinander entstehen. Die U<sub>L</sub>- sowie die U<sub>S</sub>-Region werden von Terminal-repeat- und Internal-repeat-Sequenzen flankiert. CMV AD169 weist im Originalbericht (Chee et al., 1990) 208 offene Leserahmen auf, wovon 189 solitär und die restlichen in jeweils zwei Kopien in den Repeat-Regionen lokalisiert sind. Neuere Untersuchungen zeigten, dass klinische CMV-Isolate (Wildtypstämme) im Vergleich zu Laborstämmen wie AD169 über 22 bzw. 19 zusätzliche Gene aufweisen (Prichard et al., 2001; Dolan et al., 2004). Der CMV-Replikationszyklus wird wie bei allen humanen Herpesviren in drei Phasen eingeteilt: immediate early (IE), early (E) und late (L). In Fibroblastenkulturen repliziert CMV relativ langsam, es dauert ungefähr ein bis drei Wochen, bis ein zytopathischer Effekt (CPE), welcher auf der morphologischen Veränderung des adhärennten Fibroblastenmonolayers als Folge der Virusreplikation beruht, lichtmikroskopisch sichtbar wird.

Bei der IE-Genexpression, die innerhalb der ersten vier Stunden nach Infektion und noch vor der viralen DNA-Synthese abläuft, werden regulatorische Schlüsselproteine synthetisiert, die dem Virus die Kontrolle über die Wirtszelle ermöglichen. Im Anschluss an die IE-Genexpression werden die E-Genprodukte synthetisiert. In dieser Phase werden Proteine hergestellt, die in die DNA-Replikation involviert sind. Hierbei spielen die virale DNA-Polymerase (UL54) und die virale Serin-Threonin-Phosphotransferase (UL97), die für die Aktivierung des viralen Nukleosidanalogs Ganciclovir verantwortlich ist, eine wichtige Rolle, da sie Zielproteine der derzeitig zugelassenen antiviralen Therapiemodalitäten darstellen. Abschließend folgt in der L-Phase 24 bis 72 Stunden nach Infektion die Synthetisierung später Strukturgenprodukte. Die Funktionen dieser L-Genprodukte sind der Zusammenbau (assembly) und die Virusausschleusung (egress). Studien mittels quantitativer PCR zeigten jedoch, dass die Replikationsgeschwindigkeit des Virus in vivo sehr hoch sein kann (Emery et al., 1999).

Die postnatale CMV-Erkrankung mit Organmanifestation wie zum Beispiel Pneumonie, Hepatitis, Kolitis, Retinitis oder Enzephalitis ist im Gegensatz zur transienten CMV-Infektion immunkompetenter Individuen in der Regel auf

immunkompromittierte Patienten nach Organ- oder Stammzelltransplantation beschränkt, da der produktive und cytopathogene Zyklus der viralen Genexpression unter der Kontrolle des Immunsystems des infizierten Individuums steht. Außerdem kann sich die CMV-Infektion pränatal während der Fetalperiode entwickeln, da in dieser Periode das Immunsystem des Feten noch nicht ausreichend entwickelt ist, um die Virusreplikation kontrollieren zu können. Darüber hinaus hat das HCM-Virus Strategien entwickelt, wie es seiner Elimination durch das Immunsystem entrinnen kann (immune escape). Demnach ist die Balance zwischen Immunkontrolle und Immunevasion von zentraler Bedeutung für die Pathogenese von CMV. Die für die Induktion der zellulären und humoralen CMV-Immunantwort wichtigsten Proteine sind unter anderem die Tegument-Phosphoproteine pp65 und pp150, das immun-dominante IE1-Protein sowie andere funktionell modulatorische virale Genprodukte, die mit dem angeborenen und erworbenen Immunsystem sowie zelleigenen Apoptosemechanismen interferieren, wie zum Beispiel dem MHC-System, der natürlichen Killerzellfunktion, der Antigenpräsentation sowie der T-Zell-vermittelten Immunkontrolle. Haupteffektorzellen für die Immunkontrolle von CMV sind die CD8<sup>+</sup>-T-Zellen. Die persistierende CMV-Infektion bewirkt beim immunkompetenten Individuum eine dynamische lebenslange Interaktion mit T-Zellen, die zwar die Virusreplikation kontrolliert, jedoch weder das Virus eliminieren noch seine Transmission inhibieren kann. CMV als „immune escape artist“ verfügt über ein Repertoire von Immunevasionsproteinen, die hauptsächlich mit dem MHC-Klasse-I-Pfad der Antigenprozessierung und Präsentation interferieren (Reddehase, 2000; Alcamí und Koszinowski, 2000). Die MHC-Klasse-I-Antigenpräsentation wird nach gegenwärtigem Kenntnisstand durch vier CMV-Genprodukte inhibiert: Die U<sub>S</sub>2- und U<sub>S</sub>11-Genprodukte schleußen die schwere MHC-Klasse-I-Kette als nichtfunktionelles Protein aus dem Lumen des endoplasmatischen Retikulums (ER) ins Zytosol. Im Gegensatz dazu hält das U<sub>S</sub>3-Genprodukt MHC-Moleküle im ER zurück, sodass diese kein prozessiertes Antigen auf die Zelloberfläche transportieren können. Durch das U<sub>S</sub>6-Protein wird die TAP-assoziierte Peptidtranslokation vom Zytosol ins ER-Lumen inhibiert (Momburg und Hengel, 2002).

Aus der Kernmembran der Wirtszelle leitet sich die Virushülle (envelope) ab, die multiple Oberflächenglykoproteine enthält. Zu nennen wären davon gB und gH, welche die Hauptdeterminanten humoraler Immunität tragen. Da Antikörper gegen gB-Proteine neutralisierend sind, dient gB als Kandidat für eine Spaltvakzine oder die Entwicklung therapeutischer monoklonaler Antikörper (Plotkin, 1999).

### **1.3 Vertikale CMV-Transmission (Mutter-Kind-Übertragungswege)**

Die kongenitale CMV-Infektion kommt in entwickelten Ländern mit einer Inzidenz von 0,3 bis 2,4 Prozent aller Lebendgeburten vor (Alford et al., 1990). Das Risiko einer Mutter-zu-Kind-Übertragung wird variabel angegeben und liegt zwischen 24 und 75 Prozent (Mittelwert 40 Prozent). Die Transmission resultiert hauptsächlich aus einer primären maternalen CMV-Infektion. Bei einer CMV-Sekundärinfektion der Mutter wird das Transmissionsrisiko mit 1 bis 2,2 Prozent angegeben, das bedeutet, wesentlich geringer als bei einer Primärinfektion (Fowler et al., 1992; Kenneson und Cannon, 2007).

Die vertikale CMV-Transmission verläuft über zwei Hauptwege:

Epidemiologisch bedeutsamer als der fetale Übertragungsweg ist die Muttermilch-assoziierte postnatale Übertragung der seropositiven Mutter auf ihr Kind. Diese über die Muttermilch erworbene Infektion ist aber für gesunde, reif geborene Kinder asymptomatisch und ohne Langzeitfolgen. Aus longitudinalen Studien stillender Mütter von Frühgeborenen weiß man heute, dass nahezu jede seropositive Mutter während der Laktation CMV reaktiviert und in bis zu 35 Prozent der Fälle auf ihr Frühgeborenes überträgt (Hamprrecht et al., 2001; Meier et al., 2005).

Der zweite epidemiologisch relevante Weg des Mutter-Kind-Transfers ist die maternofetale intrauterine Virustransmission nach Primärinfektion der seronegativen Schwangeren. Weltweit ist dies die häufigste bekannte Form einer Virusinfektion während der Schwangerschaft (Stagno und Cloud, 1994).

Die intrauterine Transmissionsrate wird hier mit 40 bis 50 Prozent angegeben (Nigro et al., 2005; Stagno et al., 1986).

Zunehmende Evidenz gibt es jedoch auch für eine maternofetale intrauterine Virustransmission der bereits präkonzeptionell CMV-seropositiven Mutter nach rekurrenter Infektion oder Reinfektion der Schwangeren (Sekundärinfektion) mit einem in der Schwangerschaft erworbenen exogenen Virusstamm. In dieser Konstellation infizieren sich kongenital allerdings nur etwa ein Prozent der Neugeborenen und nur wenige davon sind symptomatisch infiziert. Etwa acht Prozent der über maternale CMV-Sekundärinfektion infizierten Kinder entwickeln Spätfolgen wie einseitigen Hörverlust (Fowler et al., 1992).

Einen weiteren Übertragungsweg stellt die Virustransmission nach präkonzeptionell (das heißt ein bis zwei Wochen vor der letzten Menstruation) erworbener CMV-Primärinfektion der Schwangeren dar. In diesem Fall beträgt das Transmissionsrisiko 8,7 Prozent (Revello et al., 2006). Diese Transmissionsrate liegt damit deutlich unter der von 45,4 Prozent, die bei CMV-Primärinfekt im ersten Trimenon der Schwangerschaft von einer italienischen Gruppe beobachtet wurde (Revello und Gerna, 2004). In einer deutschen retrospektiven Studie von 166 Fällen, bei denen eine maternale CMV-Primärinfektion prä- und perikonzeptionell terminiert werden konnte, war in drei Fällen eine präkonzeptionelle Infektion (zwei bis acht Wochen vor der letzten Periode) nachweisbar, in keinem dieser Fälle führte dies jedoch zu einer kongenitalen CMV-Infektion (Daiminger et al., 2005). Dagegen kam es bei neun Frauen von 20 (45 Prozent) mit perikonzeptioneller Primärinfektion (eine Woche vor bis fünf Wochen nach der letzten Periode) zu einer intrauterinen Virustransmission. Dieser deutliche Anstieg der Transmissionsrate bei Annäherung an den Zeitpunkt der Konzeption wird durch italienische Daten bestätigt (Revello und Gerna, 2002). Deshalb sollten bei der Beratung von Schwangeren mit perikonzeptioneller CMV-Primärinfektion die gleichen diagnostischen Maßnahmen zur Anwendung kommen wie bei Risikoprimärinfizierten in den ersten 20 Wochen der Schwangerschaft. Die pränatale Diagnostik sollte hoch auflösenden Ultraschall sowie eine pränatale CMV-

Diagnostik nach Amniozentese in der 18. bis 21. Schwangerschaftswoche (SSW) beinhalten (Daiminger et al., 2005).

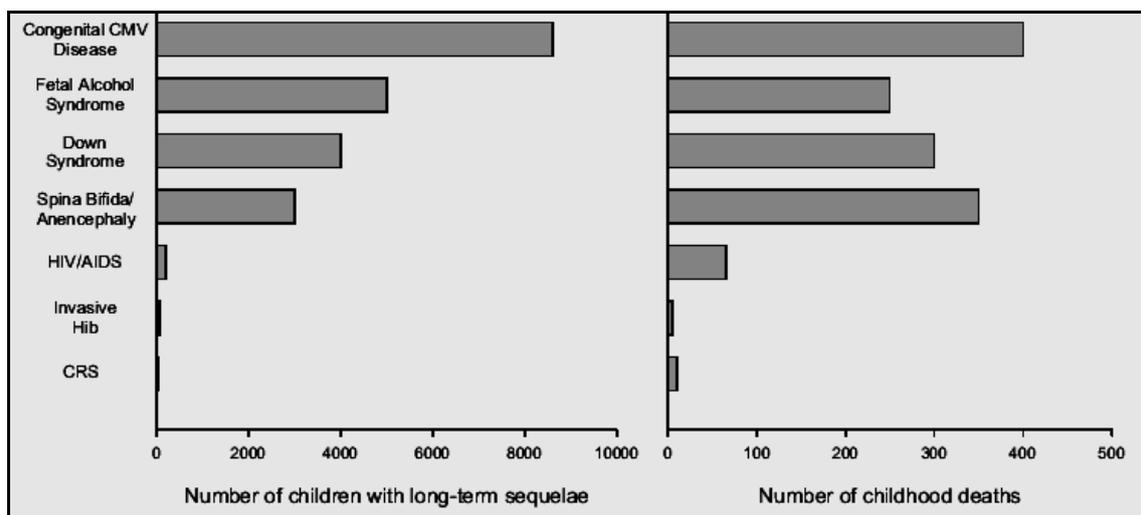
Fragwürdig ist noch ein weiterer Übertragungsweg, der so genannte perinatale Mutter-Kind-Transfer, an dem zumindest in der angelsächsischen Literatur festgehalten wird (Griffiths und Walter, 2005; Schleiss und McVoy, 2004). Diese perinatale CMV-Übertragung ist jedoch weder eindeutig definiert noch existieren klinische Studien, die diese eindeutig belegen könnten. Fälschlicherweise wird der perinatalen Transmission die postnatale Übertragung durch Muttermilch sowie die heute zumindest bei seronegativen Frühgeborenen kontraindizierte Gabe seropositiver Blutprodukte und der Kontakt zu Zervixsekret während der vaginalen Geburt zugeordnet. Anhand spärlich vorhandener longitudinaler Studiendaten konnte der perinatalen Transmission sensu strictu (durch Kontakt des Neonaten zum maternalen Genitalsekret bei vaginaler Entbindung) keine epidemiologische Bedeutung zugesprochen werden. Nur in fünf Prozent peripartal entnommener Vaginalabstriche von Müttern Frühgeborener fand sich CMV-DNA, dagegen reaktivierten 67 Prozent dieser stillenden Mütter das Virus in der Muttermilch (Mosca et al., 2001).

#### **1.4 Epidemiologie der kongenitalen CMV-Infektion**

Vor über 100 Jahren wurden in den Organen eines Kindes mit angeborenem Lues ungewöhnliche histopathologische Veränderungen in Form von stark vergrößerten „protozoenähnlichen“ Zellen mit 20 bis 30 nm Durchmesser mit prominenten intranukleären Einschlusskörperchen gefunden, die heute CMV zugeschrieben werden (Jesionek und Kiolemenoglou, 1904). Ähnliche Befunde fanden sich 1904 in einem Nierenbiopsat eines syphilitischen totgeborenen Kindes. Außerdem wurden weitere protozoenähnliche Zellen in Speicheldrüsen verstorbener Kleinkinder sowie von Meerschweinchen beschrieben (Ribbert, 1904; Tietze, 1905; Jackson, 1920). Als Folge einer Viruserkrankung erkannt wurde dieses Phänomen der intranukleären sowie kleineren zytoplasmatischen Einschlusskörperchen erstmalig von Goodpasture im Jahre 1921 (Goodpasture und Talbot, 1921). Dieser hatte ähnliche Zellkernveränderungen schon früher

bei Hautläsionen durch Windpockeninfektion beobachtet. Die aufgeschwollenen infizierten Zellen nannte er „cytomegal“ und prägte damit den Namen des HCM-Virus. In den 50er-Jahren des 20. Jahrhunderts konnte dank zunehmender Verfügbarkeit der Zellkulturtechnik erstmalig CMV aus Speicheldrüsen isoliert werden, kurze Zeit später wurde durch Thomas H. Weller, der 1954 für die Isolierung von Polioviren in Zellkultur mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde, der Begriff der „Cytomegalen Einschlusserkrankung (CID)“ geprägt (Weller und Hanshaw, 1962).

CMV verursacht weltweit die häufigste kongenitale Infektion und ist ein wichtiges Pathogen bei immunsupprimierten Patienten nach Organ- und Stammzelltransplantation sowie bei HIV-infizierten Individuen (ABB. 1).



**Abb. 1: Häufigkeiten kongenitaler Infektionen und neonataler Syndrome pro Jahr in den USA (Cannon und Davis, 2005)**

Die Inzidenzrate der kongenitalen CMV-Infektion liegt bei 0,3 bis 1,2 Prozent der Lebendgeburten. Für die USA werden jährlich 40 000 und für Großbritannien 2100 Fälle kongenitaler CMV-Infektion angegeben. Laut Schätzungen des Institute of Medicine US (2000) versterben jährlich 400 Kinder an kongenitaler CMV-Infektion und etwa 8000 Kinder erleiden schwere klinische Folgezustände wie Hörverlust, Sehstörungen und mentale Retardierung. Durch diese Folgeerkrankungen entsteht schätzungsweise ein Kostenaufwand von ein bis zwei Milliarden US Dollar. Damit übersteigt die jährlich registrierte

Zahl kindlicher Langzeitfolgeschäden sowie Todesfälle im ersten Jahr durch kongenitale CMV-Infektion deutlich die Zahl der Kinder mit Folgeschäden oder Tod durch das fetale Alkoholsyndrom, Down-Syndrom oder Spina bifida/Anenzephalie (Cannon und Davis, 2005). In den USA werden durch die kongenitale CMV-Infektion mehr Hörschädigungen verursacht als durch die epidemisch auftretende Rötelninfektion vor Einführung der Impfung (Pass, 2005). Daraus ergibt sich die hochrangige Bedeutung der CMV-Infektion für das öffentliche Gesundheitswesen der USA und die Forderung im Bericht des Institute of the National Academy of Sciences nach der Entwicklung eines Impfstoffs zur Prävention der kongenitalen CMV-Infektion mit höchster Priorität, basierend auf dem Potenzial für die Verbesserung von Lebensqualität und unter Berücksichtigung des Kostendrucks im Gesundheitswesen. (Stratton et al., 2000)

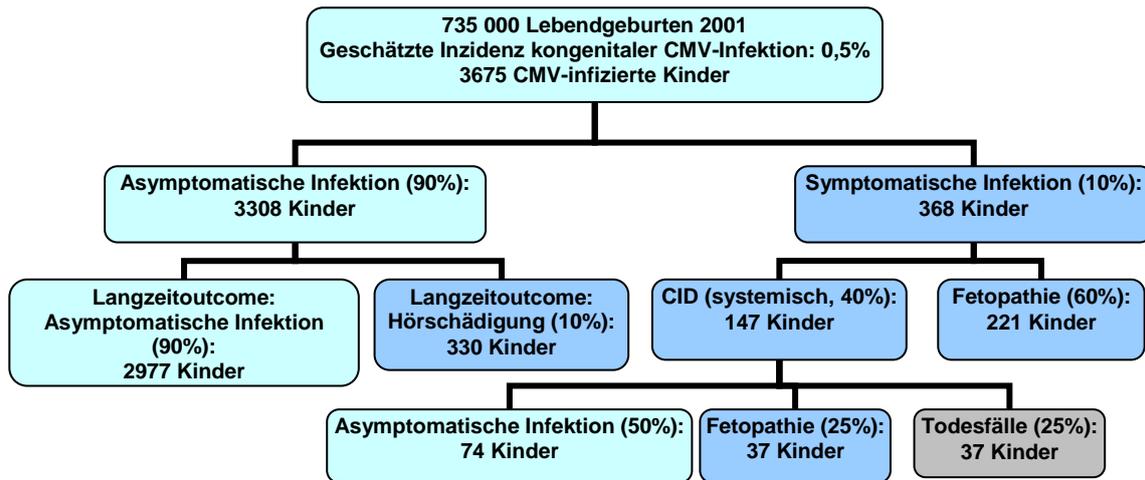
Für einzelne europäische Staaten sowie für die USA liegen Studien zur Ermittlung der Inzidenz der kongenitalen CMV-Infektion vor (TAB. 2).

**Tab. 2: Inzidenz kongenitaler CMV-Infektionen in verschiedenen Ländern (Hamprecht und Jahn, 2007)**

Land/Autoren	Anzahl der Neugeborenen im Screening	Rate/1000 Lebendgeborene
Kanada, Larke et al., 1980	15 212	4,2
England, Peckham et al., 1983	14 200	3,0
Schweden, Ahlfors et al., 1984	10 328	4,8
USA, Fowler et al., 1993		
- niedriger sozioökonomischer Status	18 343	11,8
- mittlerer sozioökonomischer Status	11 154	4,8
Israel, Schlesinger et al., 2005	2000	0,7
Niederlande, Gaytant et al., 2005	7793	0,9

Es zeigt sich, dass die Inzidenz kongenitaler CMV-Infektion abhängig ist von der ethnischen Herkunft der untersuchten Population sowie deren sozioökonomischen Status. Leider liegen bisher für Deutschland ebenso wenig vergleichbare, im Rahmen prospektiver Studien erhobene, Daten vor wie für

Frankreich. Die bisherigen verfügbaren Daten zur Inzidenz der kongenitalen CMV-Infektion basieren lediglich auf einer Umfrageaktion, die eine Inzidenzrate von 0,2 Prozent aller Neugeborenen ergab (Scholz, 2000). Diese Untersuchung ist aber wenig aussagekräftig, weil sie bei Geburt asymptomatisch CMV-infizierte Kinder (90 Prozent aller kongenital infizierten Neugeborenen) nicht erfassen konnte und außerdem eine hohe Rate an nicht auswertbaren Meldungen enthielt (25,3 Prozent). Basierend auf einer Annahme der Inzidenz der kongenitalen CMV-Infektion von 0,5 Prozent in Deutschland lässt sich folgendes Szenario erschließen (ABB. 2): Bekanntermaßen ist die CMV-Infektion in 10 bis 15 Prozent der Fälle symptomatisch (Ross und Boppana, 2005), dies würde pro Jahr zu etwa 370 infizierten Neugeborenen sowie etwa 37 Todesfällen führen. Nimmt man eine Mortalitätsrate von fünf Prozent der symptomatisch infizierten Kinder an, so würden etwa 18 weitere Todesfälle verzeichnet. Etwa zehn Prozent der asymptomatisch infizierten Kinder entwickeln eine sensorineurale Hörstörung (SNHL), dies entspräche jährlich ungefähr 330 Kindern in Deutschland. Epidemiologisch von Bedeutung ist die aus Hochrechnungen ermittelte Zahl von 3308 asymptomatisch infizierten Kindern, die über Jahre hinweg sowohl im Speichel als auch im Urin große Mengen an potenziell infektiösem Virus ausscheiden können. Relevant ist dies aus dem dadurch entstehenden Risiko für seronegative schwangere Frauen, sich auf diesem Weg primär zu infizieren. Außerdem entwickelt etwa die Hälfte der symptomatisch infizierten Kinder Spätschäden wie Hörstörungen, mentale Retardierung mit IQ < 70 und Mikrozephalie. Vorzeichen für diese Spätfolgen könnten die Präsenz von Mikrozephalie, Retinitis sowie auffällige Schädel-CT-Befunde im ersten Lebensmonat sein.



**CID: Kongenitale Einschusserkrankung (Weller et al., 1962):**  
 Petechien, Ikterus, Hepatosplenomegalie, Purpura, interstitielle Pneumonie

**CMV-Fetopathie:**  
 Mikrozephalie, periventriculäre Verkalkungen, Ventrikeldilatation, Hypotonie, Retinitis, Optikusatrophy

**Fazit der Hochrechnung\* (Fälle/Jahr):**

1. Asymptomatische Infektionen: 3308 Kinder
2. Symptomatische CMV-Infektion (CID/Fetopathie): 368 Kinder
3. Langzeit-Hörschädigungen: 331 Kinder
4. Todesfälle: 37 Kinder

\* Diese Hochrechnung berücksichtigt nicht die infolge maternaler Sekundärinfektion in der Schwangerschaft infizierten Neugeborenen mit Spätfolgen, wie z.B. Hörschädigung (etwa 300 Kinder/Jahr, nach Fowler et al., 1992).

**Abb. 2: Epidemiologie der kongenitalen CMV-Infektion in Deutschland (Schätzung adaptiert nach Collinet et al., 2004; modifiziert nach Hamprecht und Jahn, 2007)**

Diese Hochrechnung für Deutschland berücksichtigt nicht die durch Sekundärinfektion bzw. Rekurrenz der Mutter verursachten Fälle kongenitaler CMV-Infektion. Basierend auf den Daten der USA würde man bei etwa einem Prozent aller seropositiven Mütter während der Schwangerschaft eine Sekundärinfektion mit CMV erwarten, was bei der Annahme von einer ca. 50-prozentigen Seroprävalenz und 735 000 Lebendgeburten pro Jahr zu etwa 3675 zusätzlich infizierten Neugeborenen führen würde. Hiervon würden etwa acht Prozent Spätfolgen wie zum Beispiel Hörstörungen erleiden, was 294 Kindern pro Jahr entspräche.

Aktuell gibt es in verschiedenen Ländern Studien zur Erfassung der Inzidenz der kongenitalen CMV-Infektion, in Israel beispielsweise ergab sich eine über verschiedene Populationen gemittelte Inzidenz von 0,7 Prozent (Schlesinger et al., 2005). Diese relativ niedrige Inzidenz wird von den israelischen Autoren als

Anlass für die Einführung eines nationalen Screeningprogramms betrachtet. Die in den Niederlanden ermittelte Inzidenz von 0,9 Prozent wird auch als nicht-repräsentativ für Großstädte angesehen (Gaytant et al., 2005). Auch für Deutschland ist es von großer gesundheitspolitischer Relevanz vergleichbare epidemiologische Daten zu erheben.

In den USA wurden außerdem Studien erhoben zur Erfassung des horizontalen und retrograd vertikalen CMV-Transfers in Einrichtungen zur Betreuung von Kleinkindern, sogenannte group day care center, diese fanden aber im deutschen Sprachraum kaum Beachtung. Vor bereits über 40 Jahren wiesen schwedische Autoren auf eine Rate von 22 Prozent asymptomatisch infizierter Kinder unter drei Jahren in Kindertagesstätten hin, die das Virus im Urin ausschieden (Strangert et al., 1976). Dies wurde durch eine zehn Jahre später in den USA durchgeführte Studie unterstützt, die zeigte, dass CMV aus Spielzeugoberflächen sowie Kinderhänden isoliert werden konnte (Hutto et al., 1986). Interessanterweise fand man mittels molekularer Urinanalyse (DNA-Restriktionsverdau) heraus, dass CMV von Kindern in Kindertagesstätten im Vergleich zu hospitalisierten Kindern bei Weitem effizienter horizontal transmittiert werden kann (Adler, 1985). Außerdem erkannte man, dass bei Kindern in individueller häuslicher Betreuung die CMV-Virurie mit wesentlich geringerer Frequenz auftritt als bei Kindern in Gruppenbetreuung (Pass et al., 1984; Hutto et al., 1986). Die Problematik hieraus ergibt sich aus dem Risiko, dass CMV von Kindern mit Virurie auf seronegative Eltern sowie betreuendes Personal übertragen werden kann und damit mögliche Ursache für eine Primärinfektion in der Schwangerschaft sein kann. In einer kanadischen Studie wurden Faktoren wie zunehmendes Alter, Geburt in einem Niedriglohnland sowie ein Zahlenverhältnis von Betreuerin zu Kindern von  $> 6$  als riskant für den Erwerb einer CMV-Infektion identifiziert (Joseph et al., 2005). Laut Stuart P. Adler könnten studienbasierte Interventionsstrategien zur Prävention der CMV-Transmission auf Schwangere im Wesentlichen aus Maßnahmen zur Händehygiene und Vermeidung eines intensiven Körperkontakts zwischen Schwangeren und Kleinkindern bestehen (Adler et al., 2004; Adler, 2005; TAB. 3). Diese Empfehlungen wurden in jüngster Zeit von der CDC (Center for

Disease Control and Prevention, Atlanta, USA) übernommen (Cannon und Davis, 2005).

**Tab. 3: Hygienemaßnahmen (Adler et al., 2004; Adler, 2005; Cannon und Davis, 2005; modifiziert nach Hamprecht und Jahn, 2007)**

<b>Hygienemaßnahmen zur Reduktion des Risikos für seronegative Schwangere, eine CMV-Infektion durch Kleinkinderbetreuung zu erwerben</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Annahme, dass das zu betreuende Kleinkind (&lt; 3 Jahre) CMV im Urin und Speichel ausscheidet.</li> <li>– Händehygiene mit Seife und warmem Wasser nach Windelwechsel, Füttern, Baden, Nase schnäuzen, Spielzeug anfassen.</li> <li>– Vermeidung der gemeinsamen Nutzung von Tassen, Tellern, Zahnbürsten und gemeinsamer Nahrungsaufnahme. Kein Küssen auf den Mund, kein gemeinsamer Gebrauch von Handtüchern und Waschlappen.</li> <li>– Reinigung von Spielzeug und anderen Oberflächen, die mit Urin oder Speichel des Kindes in Kontakt kamen.</li> </ul>

## 1.5 Klinik der kongenitalen CMV-Infektion

Über 90 Prozent aller Kinder mit kongenitaler CMV-Infektion zeigen zum Zeitpunkt der Geburt keine klinischen Auffälligkeiten, das bedeutet, sie sind asymptomatisch CMV-infiziert. Die Langzeitprognose ist bei diesen Kindern besser als die der etwa zehn Prozent symptomatisch kongenital CMV-infizierten Kinder. Etwa zehn Prozent der zunächst asymptomatisch infizierten Kinder entwickeln jedoch im Kleinkindesalter eine sensorineurale Hörstörung (SNHL), dies übertrifft die Inzidenz von Hörstörungen der Allgemeinpopulation (0,1 bis 0,4 Prozent). Anhand aktueller Studien wurden bei 22 bis 65 Prozent symptomatisch infizierter Kinder sowie bei sechs bis 23 Prozent bei Geburt asymptomatisch infizierter Kinder Hörstörungen festgestellt (Fowler und Boppana, 2006). Diese Hördefekte sind bei der Hälfte der asymptomatisch infizierten Kinder bilateral und reichen von mildem Frequenzverlust bis zu schwergradigen Hörstörungen. Da der Hörverlust dieser Kinder meist progressiv ist und zudem verzögert auftreten kann, ist eine kontinuierliche Hörtestung bis zum Schuleintritt erforderlich. Weniger häufig als die SNHL zeigen sich bei anfangs asymptomatisch infizierten Kindern eine Mikrozephalie

und neuromuskuläre Defekte (etwa fünf Prozent), eine Retinitis kann bei ca. zwei Prozent beobachtet werden. Derzeit wird noch darüber diskutiert, ob neonatal asymptomatisch CMV-infizierte Kinder auch Lern- und Verhaltensstörungen entwickeln (Ross und Boppana, 2004). Über die Pathogenese der CMV-Labyrinthitis sind sich die Forscher derzeit noch im Unklaren. Es werden jedoch Studien am Tiermodell, unter Verwendung von speziesspezifischen GPCMV-Stämmen an Meerschweinchen, zur CMV-Innenohrschwerhörigkeit durchgeführt (Fowler und Boppana, 2006). Zur Temporalknocheninfektion durch CMV ist die Datenlage allerdings limitiert (Keithley, 2005).

In den USA zeigen zehn bis 15 Prozent der jährlich 40 000 Kinder mit kongenitaler CMV-Infektion bei Geburt klinische Auffälligkeiten (symptomatische CMV-Infektion). Von der Infektion können verschiedene Organsysteme wie zum Beispiel das retikuloendotheliale System und das Zentrale Nervensystem (ZNS) betroffen sein. In TAB. 4 sind klinische Symptomatik sowie begleitende Laborparameter zusammengefasst.

**Tab. 4: Befundkonstellation kongenitaler CMV-Infektion (Ross und Boppana, 2005; modifiziert nach Hamprecht und Jahn, 2007)**

<b>Befundkonstellation von Kindern mit symptomatischer kongenitaler CMV-Infektion</b>	
<b>Klinik</b>	<b>Häufigkeit (%)</b>
Petechien	76
Ikterus	67
Hepatosplenomegalie	60
Mikrozephalie	53
Intrauterine Wachstumsretardierung	50
Retinitis/ Optikusatrophie	20
Purpura	13
Krämpfe	7
<b>Laborbefunde</b>	
ASAT-Erhöhung (> 80 U/L)	83
Konjugierte Hyperbilirubinämie (direktes Bilirubin > 4 mg/dL)	81
Thrombozytopenie (< 100 000/nm <sup>3</sup> )	77
Liquorproteinerhöhung (> 120 mg/dL)	46

Selbst nach unauffällig verlaufender Schwangerschaft kann die kongenitale CMV-Infektion Neugeborener fatal verlaufen (Jahn et al., 1988). Durch post mortem vorgenommener immunhistochemischer Gewebefärbung eines exemplarischen Falles einer unmittelbar postpartal fatal verlaufenden kongenitalen CMV-Infektion konnte eine extensive Beteiligung von Lunge, Pankreas, Niere, Leber, Milz, Nebenniere, Dünndarm, Plazenta, Knochenmark, Herz und Dienzephalon nachgewiesen werden. In Lunge und Pankreas fanden sich immunhistochemisch mit CMV infizierte Epithelzellen, Mesenchymalzellen, Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Granulozyten sowie Monozyten und Makrophagen, was auf einen breiten Zelltropismus des HCM-Virus schließen lässt (Bissinger et al., 2002).

Die früher angenommene neonatale Mortalitätsrate von zehn Prozent wurde anhand von aktuellen Daten auf eher fünf Prozent korrigiert. Bei überlebenden symptomatisch CMV-infizierten Kindern zeigen sich leichte bis schwere psychomotorische und kognitive Handicaps. Anhand verschiedener prospektiver Studien konnte bei etwa der Hälfte der symptomatisch infizierten Kinder Hörstörungen, mentale Retardierung mit IQ < 70 sowie Mikrozephalie dokumentiert werden, wie in TAB. 5 dargestellt wird (Boppana et al., 1992; Williamson et al., 1982; Conboy et al., 1987). Zeigen die Kinder zum Zeitpunkt der Geburt oder in der frühen Kindheit Mikrozephalie und Retinitis sowie pathologische Schädel-CT-Befunde im ersten Lebensmonat, so kann dies prädiktorisch für einen ungünstigen neurologischen Verlauf gewertet werden. Die CMV-assoziierte Hörstörung kann sowohl bereits bei Geburt präsent sein, sich aber auch erst im Kindesalter entwickeln. Weiterhin problematisch ist die Definierung von Prädiktionsfaktoren für die Manifestation und Dynamik der Entwicklung einer Hörstörung. Detaillierte virologische Diagnostik klinisch auffälliger Neugeborener könnte dazu beitragen, die Ursache dieser Hörstörungen zu bestimmen (Boppana et al., 2005). Einen ersten Schritt in diese Richtung stellt das seit Januar 2009 eingeführte Hörscreening für Neugeborene dar.

**Tab. 5: Inzidenz der Folgeschädigungen symptomatisch kongenital CMV-infizierter Kinder im Langzeit-Follow-up (Boppana et al., 1997; modifiziert nach Hamprecht und Jahn, 2007)**

Folgeschäden	Inzidenz (%)
Sensorineurale Hörschädigung	59
Mentale Retardierung	
- IQ < 70	47
- IQ < 50	36
Zerebralparese	49
Krämpfe	11
Psychomotorische Schäden	63
Chorioretinitis	13
Irgendwelche Folgen	71

## 1.6 Diagnostik der kongenitalen CMV-Infektion

Die Schwierigkeit der Diagnose einer kongenitalen CMV-Infektion liegt in der meist asymptomatisch verlaufenden Infektion der Mutter. In weniger als fünf Prozent der Fälle wird über eine symptomatische Primärinfektion schwangerer Frauen berichtet und ein noch geringerer Prozentsatz weist das Mononukleose-Syndrom auf. Selbst in den seltenen symptomatischen Fällen ist die Manifestation der CMV-Infektion meist unspezifisch und mild, wie zum Beispiel leichtem Fieber, Muskelschmerzen und Lymphknotenvergrößerung. Laborparameter zeigen manchmal eine atypische Lymphozytose und leicht erhöhte Transaminasespiegel (Lazzarotto et al., 2008). Aufgrund des Fehlens klinischer Symptome muss auf virologische Laboruntersuchungen zur Diagnosefindung zurückgegriffen werden.

Die Methoden zum Nachweis intrauteriner CMV-Infektion konnten in jüngster Zeit wesentlich verbessert werden, sowohl in der Serologie (zum Beispiel in der Differenzierung zwischen maternaler Primär- und Sekundärinfektion), der groben Terminierung einer CMV-Primärinfektion, als auch in der Nukleinsäurediagnostik zur Pränatal- und retrospektiven Postnataldiagnostik mit Trockenblutfilterkarten (Guthrie-Testkarten) und viraler DNA-Quantifizierung bei Neugeborenen.

Eine eindeutige Identifizierung maternalen prädiktiver Faktoren für die intrauterine CMV-Transmission gelang bisher jedoch nicht. Signifikante Unterschiede zwischen mütterlichen Transmittern und Non-Transmittern fanden sich weder bei der CMV-Viruslast, dem CMV-spezifischem IgM-Titer, der IgG-Avidität noch bei der Frequenz CMV-spezifischer CD4-T-Zellen. In Korrelation zur Virustransmission zu stehen scheint lediglich die reduzierte maternale CMV-spezifische Lymphozytenproliferation (Revello et al., 2006).

## 1.7 Pränataldiagnostik

Über die erste pränatale Diagnostik mit dem Hinweis auf eine kongenitale CMV-Infektion wurde bereits im Jahre 1971 berichtet (Davis et al., 1971). Mittels Ultraschall können bei Schwangeren mit Verdacht auf eine CMV-Primärinfektion Auffälligkeiten wie fetale Wachstumsretardierung, Aufweitung der Liquorräume, Aszites, intrakranielle Verkalkung, ein Oligohydramnion, Mikrozephalie, Hepatosplenomegalie oder Kardiomegalie festgestellt werden (Crino, 1999). Die Sensitivität ist allerdings niedrig und weniger als fünf Prozent tatsächlich infizierter Babies können damit identifiziert werden (Lazzarotto et al., 2008). Außerdem besteht die Möglichkeit einer invasiven Pränataldiagnostik, hierbei liegt das Risiko des fetalen Fruchttodes für infizierte (1,9 Prozent) und nicht infizierte (1,5 Prozent) Feten in vergleichbarer Größenordnung. Die Amniozentese (Fruchtwasseruntersuchung) schneidet dabei mit 0,5-prozentigem Risiko für den Fetus besser ab als die Nabelschnurblutentnahme (1 bis 2 Prozent) (Lazzarotto et al., 2008). In Italien kann bei Erkennen einer schweren CMV-Infektion durch Pränataldiagnostik die baldige Terminierung der Schwangerschaft erfolgen (Revello und Gerna, 2004). Bevor invasive Pränataldiagnostik in Erwägung gezogen wird, sollte man zur Abschätzung des Fehlgeburtsrisikos den Zeitpunkt der Primärinfektion grob terminieren. Im Falle der präkonzeptionell erworbenen Primärinfektion besteht ein sehr geringes Transmissionsrisiko, sodass auf invasive Pränataldiagnostik verzichtet werden kann (Revello et al., 2002). Problematisch ist allerdings der prädiktive Wert einer nahe dem Zeitpunkt der invasiven Pränataldiagnostik gelegenen

maternalen CMV-Infektion, da hier das Risiko für falsch negative Pränatalbefunde auch unter Einbeziehung der PCR sehr hoch sein kann (Bodéus et al., 1999; Lipitz et al., 1997; Ruellan-Eugene et al., 1996; Revello et al., 1995). Die Sensitivität einer Kombination aus PCR und Zellkultur zur CMV-Detektion im Fruchtwasser korreliert mit der Dauer zwischen Beginn der maternalen Primärinfektion und dem Zeitpunkt der Amniozentese und steigt von 50 Prozent (bei weniger als acht Wochen) auf etwa 75 Prozent (neun bis zwölf Wochen) und schließlich nach mehr als 13 Wochen auf 90 Prozent an. Eine gewisse Restunsicherheit von ca. zehn Prozent bleibt allerdings auch nach adäquat durchgeführter Pränataldiagnostik bestehen, da auch 13 Wochen nach Beginn der maternalen Primärinfektion selbst mittels äußerst sensitiver PCR-Technik keine Sensitivitätssteigerung auf 100 Prozent erzielt werden kann (Revello und Gerna, 2004). Trotzdem kann zusammenfassend gesagt werden, dass mittels sensitiver PCR-Assays zur Fruchtwasseranalyse jenseits der 21. SSW eine maternale CMV-Infektion mit hoher Gewähr diagnostiziert werden kann. Außerdem konnte in einer Studie mit 111 CMV-positiven Fruchtwasserbefunden, bei denen eine Virusübertragung auf das Baby stattgefunden hatte, eine Korrelation der Viruslast in der Amnionflüssigkeit mit dem Schweregrad der Schädigung des Säuglings bei Geburt und/oder der Manifestation von Hörschäden oder verzögerter psychomotorischer Entwicklung festgestellt werden (Abb. 3). Im Falle eines negativen Befunds invasiver Pränataldiagnostik kann eine CMV-Infektion zu fast 100-prozentiger Sicherheit ausgeschlossen werden. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich durch sensitive Pränataldiagnostik und richtige Interpretation der Testbefunde die Rate unnötiger Aborte signifikant reduzieren lässt (Lazzarotto et al., 2008).

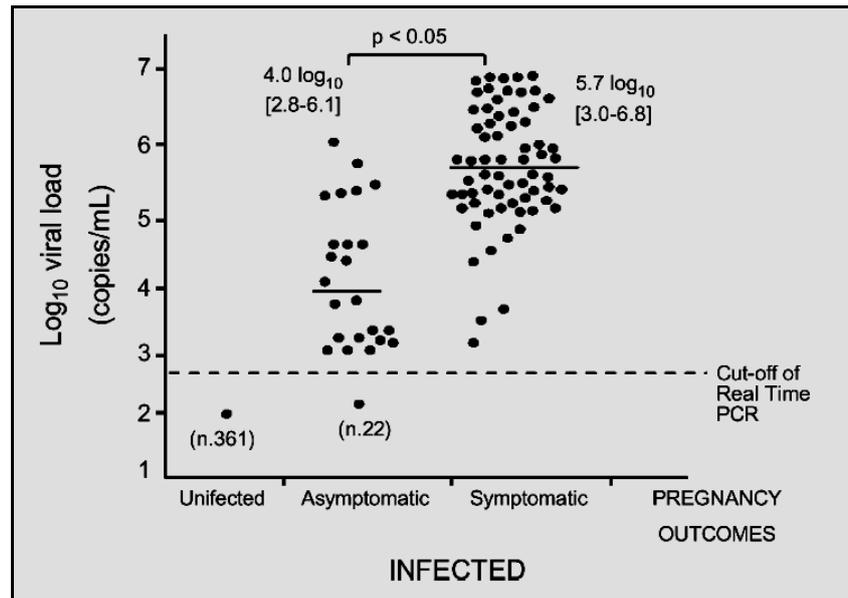


Abb. 3: Ergebnisse der Real Time PCR aus 472 Fruchtwasserproben infizierter Frauen mit Risiko der CMV-Übertragung in Korrelation mit dem Schwangerschafts-Outcome (Lazzarotto et al., 2008)

Der Nachweis von CMV-DNA kann sowohl qualitativ als auch quantitativ aus Fetalblut erfolgen, außerdem ist der Nachweis von CMV-IgM möglich, welcher lange Zeit als alleinige Diagnostikmethode diente. Dieser spezifische IgM-Nachweis aus Fetalblut weist allerdings eine beschränkte Sensitivität auf (20 bis 75 Prozent).

Der Goldstandard der CMV-Detektion in Fetalblut ist aber die PCR, welche die höchste Sensitivität aufweist. Die Angaben verschiedener Studien zur Sensitivität von CMV-DNA-Detektion aus Fetalblut reichen allerdings von 41 Prozent (Liesnard et al., 2000) über 85 Prozent (Revello und Gerna, 2002) bis zu 92,6 Prozent (Enders et al., 2001). Dagegen werden bei der Spezifität stets (mit Ausnahme einer Studie von Lazzarotto et al., 1998) 100 Prozent erreicht. Die Durchführung des kommerziell verfügbaren IE-mRNA- oder pp67-mRNA-Nachweises mittels NASBA (nucleic acid sequence based amplification, einem alternativen Nukleinsäureamplifikationsverfahren) wird zur Bestätigung positiver PCR-Ergebnisse empfohlen (Revello und Gerna, 2004). Dieses Verfahren bietet etwa die gleiche Sensitivität sowie Spezifität wie die DNA-PCR und aufgrund seiner kommerziellen Verfügbarkeit ein hohes Maß an Standardisierung. Alle untersuchten Fetalblutparameter zeigten zum Zeitpunkt

der Pränataldiagnose bei symptomatischen Feten mit Ultraschallabnormalitäten eine signifikante Erhöhung im Vergleich zu asymptomatisch geborenen Feten oder Neugeborenen.

Aufgrund ihrer hohen Spezifität hat sich die Virusisolierung aus Fruchtwasser in der Pränataldiagnostik als Goldstandard erwiesen (Revello und Gerna, 2004). Bereits nach 18 Stunden Inkubationszeit kann ein kultureller Schnelldiagnostiknachweis von infektiösem Virus aus Fruchtwasser erfolgen, dies gelingt über eine Kurzzeitkultur und Färbung des CMV-IE1p72-Proteins durch kommerziell verfügbare monoklonale Antikörper in der Shell-Vial-Technik, das bedeutet niedertourige Aufzentrifugation des Inokulums aus einem Fibroblastenmonolayer. Es ist jedoch auch möglich, CMV aus der Amnionflüssigkeit (Fruchtwasser) mittels nested PCR-Verfahren zu detektieren (Revello et al., 1998).

## **1.8 Serodiagnostik der maternalen CMV-Infektion**

Die Serodiagnostik von CMV-Primärinfektionen in der Schwangerschaft spielt eine herausragende Rolle in der initialen Diagnostik von Risikoschwangerschaften, sie ist aber auch ein sehr störanfälliges Instrument. In mehreren Fällen kam es in der Vergangenheit zu falsch positiven CMV-IgM-ELISA-Befunden in automatisierten Screening-Verfahren bei Schwangeren.

Momentan basieren die in der CMV-Diagnostik angewandten Methoden entweder auf dem Nachweis des Virus oder Virusbestandteilen (z.B. Virusisolierung, pp65-Antigen, PCR) oder auf der Detektion CMV-spezifischer Antikörper (Abb. 4). Mit Hilfe eines ELISAs (Enzyme linked immunoabsorbent assay) lässt sich die humorale Immunantwort sowohl quantitativ als auch qualitativ bestimmen. Ein großer Nachteil liegt allerdings in der Tatsache, dass sich Primärinfektion einerseits und rezidivierende Infektion andererseits nicht immer mit Gewissheit via CMV-spezifischer IgG/IgM-Bestimmung identifizieren lassen.

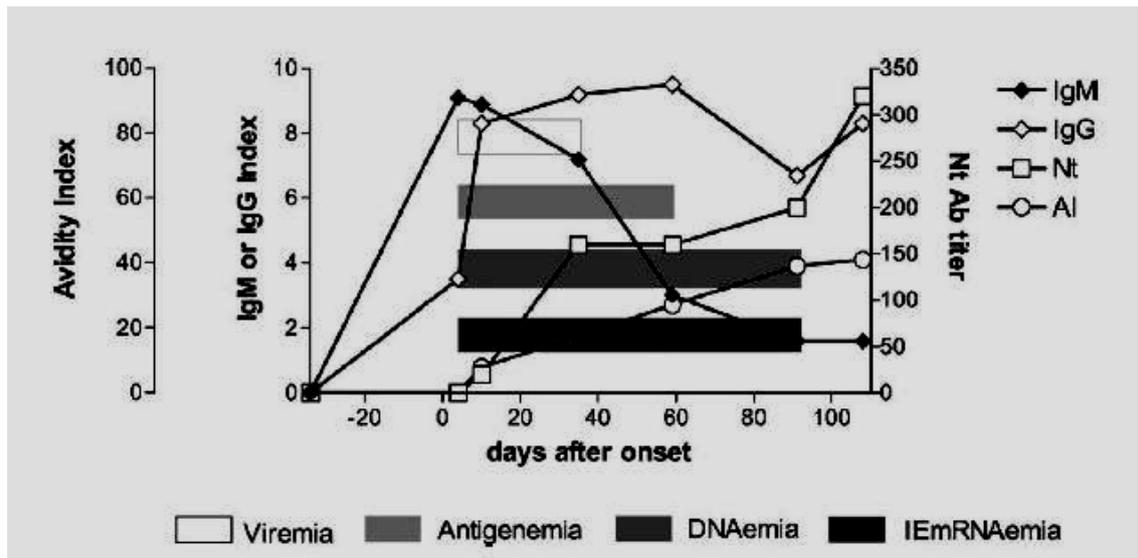


Abb. 4: Kinetik der Antikörperantwort und der Viruslast im Blut bei maternaler CMV-Primärinfektion in der 19. Schwangerschaftswoche (Revello und Gerna, 2004)

Problematisch für die CMV-Diagnostik ist hierbei auch vor allem die Möglichkeit der Reaktivierung einer bereits länger zurückliegenden CMV-Infektion. Unter einer CMV-Reaktivierung ist die Wiederaufnahme einer permissiven Virusreplikation in einer latent infizierten Person zu verstehen. Diese Reaktivierung kann kurzzeitiger Dauer sein (z.B. bei Infekten) oder über einen langen Zeitraum hinweg anhalten wie z.B. bei immunkompromittierten Patienten (Immunsuppressiva, AIDS, etc.). Erregerspezifische IgM-Antikörper weisen nicht nur auf eine akute Infektion hin, sondern können auch hinweisend auf eine rekurrente Infektion sein. Dahingegen deutet ein positiver IgG-Befund bei Abwesenheit von spezifischen IgM-Antikörpern auf eine länger zurückliegende Infektion hin. Der Nachweis einer Serokonversion spricht eindeutig für eine akute CMV-Infektion. Dieser Nachweis gelingt allerdings selten, da Frauen vor Beginn einer Schwangerschaft normalerweise nicht auf CMV-Antikörper gescreent werden (Lazarotto et al., 2008). Das (nicht gerade seltene) Auftreten von Fehldiagnosen lässt sich durch die Variabilität der Immunantwort und das Auftreten aberranter serologischer Verläufe wie z.B. persistierende, reaktivierte oder fehlende IgM-Antwort begründen. Der Nachweis von IgM-Antikörpern ist zwar ein guter Indikator einer akuten oder kürzlich aufgetretenen Infektion, korreliert aber nicht immer mit einer Primärinfektion. Es zeigte sich, dass

schwängere Frauen während einer CMV-Reaktivierung oder Reinfektion IgM-Antikörper produzieren. Durch die Avidität, die durch die Gesamtbindungskraft, mit der ein Antikörper an einem Antigen bindet, definiert ist, kann diese diagnostische Lücke weitgehend geschlossen werden und ist damit momentan die verlässlichste Methode zur Differenzierung einer maternalen Primär- und Sekundärinfektion (Lazzarotto et al., 2008; Grangeot-Keros, 1997; Lazzarotto et al., 1997b; Eggers et al., 2000; Macé et al., 2004). Das Prinzip der Aviditätsbestimmung basiert auf der Reifung der IgG-Antikörper im Verlauf der humoralen Immunantwort auf CMV. Die Erhöhung der Avidität der IgG-Antikörper (d.h. die Reifung der Immunantwort) nimmt mit fortschreitender Infektionsdauer durch Vermehrung des Anteils an hoch avidem IgG zu. Niedrige Aviditätsindizes finden sich 18 bis 20 Wochen nach CMV-Erstinfektion immunkompetenter Patienten und sind somit ein Hinweis auf eine Primärinfektion. Daher kann ein hoher Aviditätsindex während der ersten zwölf bis 16 Schwangerschaftswochen als guter Indikator einer zurückliegenden Infektion gewertet werden, da bei Nachweis hoch aviden IgG-Antikörper von einer zurückliegenden oder reaktivierten Infektion ausgegangen werden kann. Die Bestimmung der IgG-Avidität trägt daher entscheidend zur Unterscheidung akuter und länger zurückliegender Infektionen bei. In vergleichenden Studien verschiedener Assays (kommerzielle und „in-house“-Methoden) konnte eine hohe Sensitivität sowie hohe Spezifität des IgG-Aviditäts-Assays gezeigt werden (Lazzarotto et al., 2008; TAB. 6).

**Tab. 6: Fähigkeit des IgG-Aviditäts-Tests zur Detektion und zum Ausschluss kürzlicher CMV-Primärinfektion (Lazzarotto et al., 2008)**

	Method	Before weeks' gestation	Sens (%)	Spec (%)
Lazzarotto et al. (1997a): avidity assay	Commercial	16–18	92.8	85.7
Eggers et al. (2000): avidity assay and neutralising antibodies	In-house	20	nd	100
Grangeot-Keros and Cointe (2001): avidity assay	Commercial	17	nd	100
Bodéus et al. (2001): avidity assay	Commercial	12	100	82.5
Revello et al. (2004): avidity assay	Commercial	12	92.8	84.7

Sens: sensitivity; spec: specificity; nd: not determined.

Goldstandard zum Nachweis von IgM-Antikörpern ist der Immunoblot mit einer Sensitivität sowohl als auch Spezifität von 100 Prozent. Der Vorteil des Immunoblots im Vergleich zum ELISA liegt in der Möglichkeit des Nachweises von Reaktivitäten gegen Einzelantigene, was eine Einengung des Infektionszeitpunktes erlaubt, allerdings nur drei Monate zurückblickend. In einer Studie mit 2477 Frauen, die während der ersten beiden Trimester der Schwangerschaft ein positives IgM aufwiesen, konnte gezeigt werden, dass die Kombination eines positiven IgM-Nachweises zusammen mit einer niedrigen Avidität nahezu genau so aussagekräftig ist wie der Nachweis einer Serokonversion. Die Inzidenz einer kongenitalen CMV-Infektion lag bei 30,3 Prozent in der Gruppe der serokonvertierten Frauen und bei 25 Prozent bei den Frauen mit positivem IgM plus niedrigem Aviditätsindex (Lazzarotto et al., 2008; TAB. 7).

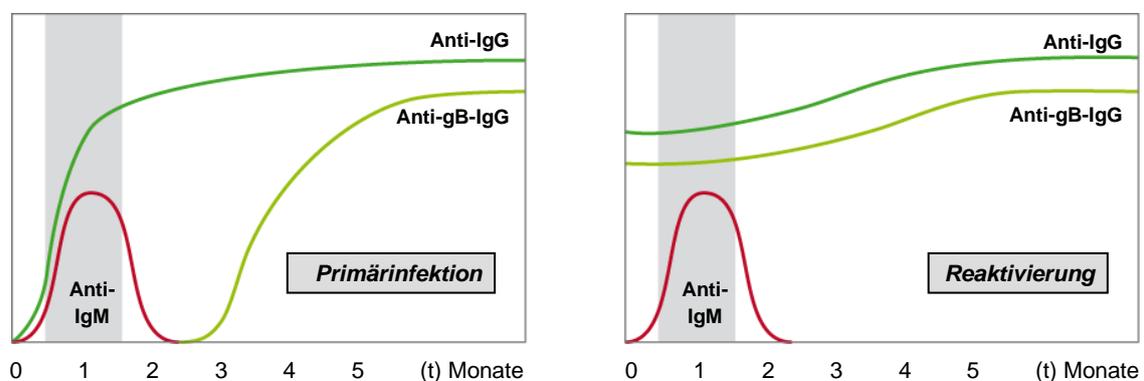
**Tab. 7: Resultat maternaler CMV-Infektion mittels serologischer Tests und Schwangerschafts-Outcomes (Lazzarotto et al., 2008)**

Maternal infection	Total (%)	IgM blot positive	Low/mod AI	High AI	Fetuses/newborns examined	Congenital infection (%)
Not active	1367 (55.1)	0	0	1367	977	1 (0.1)
Primary true IgM plus low/mod avidity	514 (20.8)	514	514	0	484	121 (25.0)
Primary seroconversion	183 (7.4)	183	183	0	175	53 (30.3)
Non-primary	336 (13.6)	336	0	336	292	6 (2.0)
Undefined	77 (3.1)	77	mod 65	12	64	3 (4.7)
<b>Total</b>	<b>2477</b>	<b>1110</b>	<b>762</b>	<b>1715</b>	<b>1992</b>	<b>184</b>

AI: avidity-IgG index; mod: moderate.

Zur Differenzierung maternaler Primär- und Sekundärinfektion beitragen kann auch die CMV-Glykoprotein-B-(gB)-spezifische Antikörperreaktivität. Die humorale Immunantwort gegen CMV-gB (UL55) ist im Unterschied zur Immunantwort gegen virale Phosphoproteine (pp150, pp65) bei CMV-Erstinfektion um bis zu 100 Tage verzögert (Schoppel et al., 1997; ABB. 5). Die Abwesenheit Glykoprotein-B-(gB)-spezifischer Antikörper ist daher ein geeigneter Indikator zur Identifizierung von Risikoschwangeren mit CMV-Primärinfektion. Eine um Wochen vorausgehende Primärinfektion kann bei Präsenz von CMV-gB-spezifischen Antikörpern ausgeschlossen werden. Die antigene gB-Domäne 1 (AD1) ist das Haupttarget neutralisierender Antikörper,

da es als 80 Aminosäuren (AS) lange lineare Bindungsstelle zwischen den Positionen 560 und 640 von Antikörpern erkannt wird. Die AD1-kodierende Nukleotidsequenz ist bei verschiedenen Virusstämmen konserviert. Die Lokalisation der zweiten antigenen gB-Domäne AD2 liegt zwischen den AS 28 und 84 des CMV-Laborstammes AD169. AD1 ist im C-terminalen gB-Spaltprodukt der Transmembrankomponente gp55 lokalisiert, während AD2 im N-terminalen gB-Spaltprodukt der Oberflächenkomponente gp116 liegt. Um die Differenzierung maternaler Primär- und Sekundärinfektion einfach durchführen zu können, wurde der gB-ELISA entwickelt (Rothe et al., 2000). Für diesen wurde aus den CMV-Laborstämmen AD 169 und Towne ein rekombinantes gB-Antigen generiert. Rothe fand jedoch heraus, dass nur 82 Prozent der CMV-seropositiven Blutspender eine Reaktivität im gB-ELISA zeigten (Rothe et al., 2001). Es ist empfehlenswert, für die Differenzierung maternaler Primär- und Sekundärinfektion verschiedene serologische Nachweisverfahren wie Mikroneutralisation und Avidität zu kombinieren (Eggers et al., 2000) oder einen Immunoblot für die glykoproteinspezifischen Antikörper gB und gH durchzuführen (Eggers et al., 2001). Mittlerweile sind auch rekombinante Immunoblots für CMV-IgG und -IgM kommerziell erhältlich, mit denen Antikörper gegen Phosphoproteine wie pp150 und pp65 sowie IE und die gB-Glykoproteine nachgewiesen werden können. Bei Kombination dieser Immunoblots mit der Avidität können maternale CMV-Primär- und Sekundärinfektionen erfolgreich differenziert werden.



**Abb. 5: Anti-gB-Profile zur Diskriminierung von CMV-Primärinfektion und Reaktivierung (Rothe et al., 2000; Schoppel et al., 1997)**

Die virologischen Tests spielen im Vergleich zur Serologie eine weniger bedeutende Rolle bei der Diagnose der CMV-Primärinfektion schwangerer Frauen. Virusisolation in Urin und Zervixsekret zeigte sich als schlechter Indikator für ein intrauterines Transmissionsrisiko sowie für den Schweregrad des fetalen bzw. neonatalen Schadens. Auch der Nachweis von CMV im mütterlichen Blut mittels Virusisolation, Antigenämie oder PCR korrelierte nicht mit Transmissionsrisiko oder Schweregrad der fetalen Schädigung. Dies führt zur Vermutung, dass der Nachweis von CMV im mütterlichen Blut nicht mit einem größeren Übertragungsrisiko noch mit fetalem/neonatalem Schaden assoziiert ist (Lazzarotto et al., 2008).

## **1.9 Postpartale Diagnostik der kongenitalen CMV-Infektion**

Eine kongenitale CMV-Infektion eines Neugeborenen kann mittels einer Kurzzeitkultur aus Urin über Nacht diagnostiziert werden, unabhängig, ob bei Geburt eine klinische Symptomatik vorliegt oder nicht. In der postnatalen Diagnostik kongenitaler CMV-Infektionen gilt diese Methode der Virusanzüchtung, welche aus Urin und/oder Rachenspülwasser erfolgen kann, nach wie vor als Goldstandard. Das für den Nachweis benötigte Zeitfenster musste mit der Einführung der PCR (die bezüglich der Sensitivität und Spezifität der Virusanzucht entspricht (Lazzarotto et al., 2008; Revello und Gerna, 2002; Ross und Boppana, 2005; Lanari et al., 2006; TAB. 8) auf ungefähr zehn Tage nach der Geburt reduziert werden, da aus longitudinalen postpartalen Studien bekannt ist, dass postnatal durch Stillen übertragenes Virus schon ab dem zwölften Lebenstag mittels PCR detektierbar sein kann (Hamprrecht et al., 2001). In dieser Arbeit konnte auch gezeigt werden, dass unmittelbar postpartal beim Kind abgenommene Oberflächenabstriche wie zum Beispiel aus Rachen oder Ohr nur bei kongenital CMV-infizierten Kindern positiv war (Hamprrecht et al., 2001). Die Serologie hingegen ist unzuverlässiger, denn nur bei 70 Prozent aller kongenital infizierten Neugeborenen zeigt sich ein positiver IgM-Nachweis (Lazzarotto et al., 2008). Man stellte außerdem eine Korrelation von Quantität der CMV-DNAämie und CMV-DNAurie mit dem Schweregrad der Ausprägung

der klinischen Symptomatik kongenital infizierter Kinder fest. Symptomatisch infizierte Kinder scheiden mehr infektiöses Virus im Urin aus und zeigen eine höhere Viruslast im Blut als asymptomatisch infizierte Kinder. Somit besteht eine Assoziation von hoher Viruslast innerhalb der ersten Lebensmonate mit sensorineuralen Hörstörungen (SNHL). Dagegen ließ sich nachweisen, dass Kinder mit einer Urin-Virusinfektiosität  $< 5 \times 10^3$  pfu (plaque forming units) und weniger als  $10^4$  Kopien/mL Blut haben, ein deutlich geringeres Risiko für die Entwicklung einer Hörstörung haben. Die Signifikanz des Unterschieds beträgt  $P=0,03$  für Urin und  $P=0,02$  für Blut (Boppana et al., 2005). Im Falle einer negativen Virusisolierung kann das Neugeborene als nicht infiziert betrachtet werden und es sind keine weiteren Tests erforderlich (Lazzarotto et al., 2008).

**Tab. 8: Virusisolierung und Real Time PCR im Fruchtwasser von 472 Frauen mit Risiko der kongenitalen CMV-Übertragung (Lazzarotto et al., 2008)**

		Congenital infection		Sens	Spec	PPV	NPV
		Yes	No				
Virus isolation	Positive	78	0	70.3	100	100	91.6
	Negative	33	361				
qPCR copies/mL	$\geq 500$	89	0	80.2	100	100	94.2
	$< 500$	22	361				

Sens: sensitivity; spec: specificity; PPV and NPV: positive and negative predictive value; qPCR: quantitative PCR.

## 1.10 CMV-Hyperimmunglobulin – eine neue Erfolg versprechende Therapieoption der infizierten Schwangeren?

Die Indikation zur Gabe von Hyperimmunglobulin besteht bei Organtransplantatempfängern und kann allein oder in Kombination mit einem Nukleosidanalogen zur Prophylaxe einer CMV-Erkrankung gegeben werden. Außerdem wird es nebst antiviralen Agenzien bei Patienten mit manifester CMV-Endorganerkrankung innerhalb von drei Tagen intravenös verabreicht. Diese Prozedur wird alle zwei bis vier Wochen bis zum vierten Monat nach Transplantation wiederholt (Razonable und Emery, 2004). Das CMV-Hyperimmunglobulin wird durch gepoolte Immunglobulinpräparation aus

Spenderblut mit einem hohen Titer an CMV-spezifischen IgG-Antikörpern hergestellt. Antiviral wirksam ist das Hyperimmunglobulin aufgrund seiner Wechselwirkungen mit den viralen gB-Oberflächenproteinen und der daraus folgenden Neutralisation der Virusinfektiosität.

Ein erster Fallbericht über den Einsatz von Hyperimmunglobulin bei Schwangeren mit CMV-Primärinfektion während der Fetalzeit wurde 1999 publiziert. In einer Zwillingschwangerschaft wurde bei einem der Feten eine Wachstumsretardierung diagnostiziert. Der Heilversuch mit Hyperimmunglobulin-Infusionen war erfolgreich, denn der retardierte Fetus begann wieder zu wachsen. Zum Zeitpunkt der Geburt zeigte er an Symptomen nur Hepatosplenomegalie und Virurie bei viraler DNAämie. Neun Monate nach Geburt wurden beide Zwillinge CMV-DNA-negativ getestet (Nigro et al., 1999). Beim Einsatz von CMV-Hyperimmunglobulin handelt es sich um einen sogenannten „Off-Label-Use“, das bedeutet, einer zulassungsüberschreitenden Anwendung von Arzneimitteln hinsichtlich der Anwendungsgebiete und Indikationen, der Dosierung oder der Behandlungsdauer. Besonders häufig kommt der Off-Label-Use in der Pädiatrie und Onkologie zum Einsatz. Erstattungsfähigkeit bei den gesetzlichen Krankenkassen erlangen derartig verordnete Arzneimittel nur bei der Behandlung schwerwiegender Erkrankungen, für die keine andere Therapie verfügbar ist, und bei der auf Grund der Datenlage die begründete Aussicht auf einen Behandlungserfolg besteht (Ärzte-Zeitung online, 2009). Da es derzeit keine wirksamen Alternativen zur Prävention konnataler CMV-Infektionen (das bedeutet, weder einen Aktivimpfstoff noch eine antivirale Therapie) zu geben scheint und es keine konkreten Hinweise auf Sicherheitsrisiken gibt, erscheint der Off-Label-Einsatz von CMV-HIG bei einem relativ großen erwarteten Nutzen für die betroffenen Kinder ethisch vertretbar (Biotest Pressemitteilung, 2010).

Der Behandlungserfolg durch Hyperimmunglobulingabe bei der Zwillingschwangerschaft gab den Anlass zur Initiierung einer italienisch-amerikanischen Studie, die 181 Schwangere mit CMV-Primärinfektion einschloss. Von diesen 181 Frauen wurde bei 55 von 79 Schwangeren, bei

denen eine Amniozentese durchgeführt wurde, CMV im Fruchtwasser detektiert (Therapiegruppe), bei den restlichen 102 Frauen erfolgte keine Fruchtwasseruntersuchung. Von diesen 102 Frauen wurden 37 mit Hyperimmunglobulin behandelt (Präventionsgruppe), nur bei sechs (16,2 Prozent) der behandelten Frauen wurde ein kongenital infiziertes Kind geboren, während bei den unbehandelten Frauen in 19 von 47 Fällen (40,4 Prozent) eine kongenitale Infektion festgestellt werden konnte. In der Gruppe der Frauen mit Virusnachweis im Fruchtwasser (Therapiegruppe) wurden 31 von 55 Frauen mit Hyperimmunglobulin therapiert, in dieser Gruppe wurde nur ein Kind mit symptomatischer CMV-Infektion geboren (3,2 Prozent), während in der Gruppe der untherapierten Frauen sieben von 14 Müttern kongenital infizierte Kinder zur Welt brachten (50 Prozent). Fazit dieser Studie war, dass eine sichere und effiziente Strategie zur Prävention kongenitaler CMV-Infektion durch passive Immunisierung in der Schwangerschaft mit Hyperimmunglobulin realisierbar sein könnte (Nigro et al., 2005). Allerdings wurde die Studie dafür kritisiert, dass sie nicht Placebo-kontrolliert durchgeführt worden war. Dies gab verschiedenen Forschungsgruppen weltweit den Anlass zur Durchführung von Randomized Controlled Trials (RCT) zur Hyperimmunglobulingabe bei CMV-primärinfizierten Schwangeren, welche zum Teil erst jetzt anlaufen.

### **1.11 Zielsetzung dieser Arbeit**

Die CMV-Infektion des Neugeborenen ist die weltweit am häufigsten vorkommende kongenitale Infektion und kann in bis zu zehn Prozent der Fälle schwere Schäden des zentralen Nervensystems verursachen, darunter am häufigsten eine sensorineurale Hörstörung. Ein erster Schritt zur Reduktion der Gefahr kongenitaler CMV-Infektionen wäre die flächendeckende Einführung von CMV-Screenings aller Neugeborenen bei Geburt. Außerdem wäre ein routinemäßiges Screening aller Schwangeren vor Geburt auf ihren CMV-Serostatus wünschenswert. Leider fehlen in Deutschland bisher noch verlässliche Daten zur Inzidenz und zu den Transmissionsraten kongenitaler CMV-Infektionen. Dies sollte mit der im Institut für Medizinische Virologie und

Epidemiologie des Universitätsklinikums Tübingen im April 2007 angelaufenen prospektiv klinisch-virologisch angelegten Studie zur kongenitalen CMV-Infektion geändert werden. Involviert in diese Studie sind alle Mütter, die in der Frauenklinik des Universitätsklinikums Tübingen ein Kind zur Welt bringen und die dazu korrespondierenden Neugeborenen. Die Studie war angelegt auf die Evaluierung von insgesamt 5000 korrespondierenden Mutter-Kind-Paaren. Ziele im Rahmen dieser kongenitalen CMV-Studie sind zum einen epidemiologisch und zum anderen auf die Evaluierung der maternalen Serodiagnostik und der neonatalen Diagnostik anhand von Trockenblutkarten ausgerichtet. Zu den epidemiologischen Zielen gehören die Fragen nach der Häufigkeit der kongenitalen CMV-Infektion Neugeborener, dem maternalen CMV-Serostatus der Mutter zum Zeitpunkt der Geburt sowie nach der Häufigkeit maternaler CMV-Primärinfektionen und der Transmissionsrate der kongenitalen CMV-Infektion während des letzten Schwangerschaftstrimenons. Vor allem die Frage nach einer verlässlichen und routinemäßig anwendbaren Methode zur Diagnostik maternaler CMV-Primärinfektionen sowie zur Differenzierung von Primär- und reaktivierter Sekundärinfektion bzw. Reinfektion schwangerer Frauen stand dabei im Vordergrund. Zielsetzung dieser Arbeit war der Vergleich von verschiedenen kommerziell verfügbaren, CMV-spezifischen serodiagnostischen Tests wie dem CMV-IgG- und CMV-IgM-ELISA der Firma Medac (Deutschland), dem CMV-IgG-/IgM-CLIA sowie dem CLIA-IgG-Aviditätstest von DiaSorin (Italien) mit dem rekombinanten CMV-IgG-/IgM-Immunoblot und dem rekombinanten CMV-IgG-Aviditäts-Immunoblot von Mikrogen (Deutschland), als Referenzmethode. Der Schwerpunkt der Evaluation lag dabei zum einen beim Nachweis und der Verifizierung maternaler CMV-IgM-Reaktivität zum Zeitpunkt der Geburt und zum anderen auf der Korrelation der IgG-Avidität zum IgM-Serostatus sowie zum Virusnachweis durch PCR im mütterlichen Serum. Außerdem wurde ein Vergleich der Aviditätsergebnisse aus dem CLIA-IgG-Aviditätstest, dessen Grenzen der intermediären Aviditätsindizes sehr eng definiert sind, mit den Aviditätsreaktivitäten des rekombinanten CMV-Immunoblots und eine anschließende Auswertung der Korrelation angestrebt. Bei der Evaluation der rekombinanten Immunoblots wurde zur Differenzierung

maternalen Primär- und rekurrenter Infektion die Ausprägung der Antikörperreaktivität von CMV-spezifischem Glykoprotein B (gB) miteinbezogen. Weiterführend wurden alle Neugeborenen CMV-seropositiver Mütter via PCR aus EDTA-Nabelschnurblut auf kongenitale CMV-Transmission gescreent und gegebenenfalls mittels PCR aus Trockenblutkarten (Nabelschnurblut) überprüft. Zum jetzigen Zeitpunkt ist die Gesamtstudie noch nicht abgeschlossen, der Zeitraum von Januar bis Dezember 2008 ist jedoch vollständig evaluiert und bildet damit den zeitlichen Rahmen dieser Arbeit.

## 2 MATERIAL

Die Erhebung serologischer Befunde hat im Kontext von Schwangerschaft und Pränataldiagnostik einen hohen Stellenwert. Die Differenzierung von Primärinfektion und Reaktivierung wäre einfach im Falle einer (zufällig) detektierten Serokonversion, da aber in Deutschland bisher keine serologischen Screenings zu CMV im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchung vorgesehen sind, kann auf diesem Wege kaum eine infizierte Schwangere identifiziert werden. Durch Kombination einzelner serologischer Parameter (IgM-Nachweis, IgG-Avidität, gB-Reaktivität und rekombinanter IgG/IgM-Immunoblot mit Avidität) kann es nur im Kontext einer Stufendiagnostik gelingen, den Infektionszeitpunkt näher einzugrenzen.

Die für die vorliegende Arbeit verwendeten serologischen Tests sind zur Übersicht in TAB. 9 zusammengefasst.

**Tab. 9: Übersicht der serologischen CMV-Screeningverfahren zur Differenzierung von Primärinfektion und Reaktivierung (modifiziert nach Hamprecht und Jahn in Mikrobiologische Diagnostik, Thieme Verlag, 2009)**

Methoden	serologische Targetstrukturen/Testprinzip	Testsysteme	Literatur
IgM-ELISA	Gesamtviruslysate (AD169), $\mu$ -capture-Assay, ELA (enzyme labelled antigen) HRP-Konjugat, TMB-Substrat	CMV-IgM-ELA Test PKS Medac	Schmitz et al., 1980
IgM-CLIA	indirekter Chemolumineszenzassay, AD169-beladene Magnetpartikel Konjugat-Antikörper-Isoluminol, Absorptionsreagenz: Anti-Human-Ziege-IgG	LIAISON CMV IgM, DiaSorin	
IgG-Avidität	vollautomatisiert, IgG-CLIA, Aviditätsindex $\leq 0,2$ : Verdacht auf Primärinfekt (< drei Monate)	LIAISON CMV IgG avidity assay, DiaSorin	Revello et al., 2004
IgG/IgM-Immunoblot mit Avidität	rekombinante Antigene: IE1/U <sub>L</sub> 123, p150/U <sub>L</sub> 32, CM2/U <sub>L</sub> 44/U <sub>L</sub> 57, p65/U <sub>L</sub> 83, gB1/U <sub>L</sub> 55, gB2/U <sub>L</sub> 55	recomBlot CMV IgG/IgM, Mikrogen	Vornhagen et al., 1994, 1995

## 2.1 Enzyme linked immunoabsorbent assay (ELISA)

### 2.1.1 CMV-IgG-ELISA PKS (Pipettier-Kontroll-System) Medac

*Katalognummer: 115-Q-PKS-VPD/300908, Firma Medac, Wedel, Deutschland*

Der Medac ELISA ist ein manuell durchzuführender Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen das Zytomegalie-Virus in Serum, Plasma und Liquor.

#### 2.1.1.1 Reagenzien und Probenmaterial

Tab. 10: Zur Durchführung des CMV-IgG-ELISA benötigte Reagenzien und Materialien

<b>Im Kit mitgelieferte Reagenzien:</b>	
Mikrotiterplatte mit 12 Teststreifen à 8 Vertiefungen, beschichtet mit CMV-Antigen (AD169-Lysat), BSA und pH-Indikator	
Negativkontrolle	1,5 mL (Humanserum)
Positivkontrolle	1,5 mL (Humanserum)
Kalibrator	1,5 mL (Humanserum)
Waschpuffer	100 mL
Probenverdünnungspuffer	110 mL
Konjugat (Ziege-Anti-Human-IgG-Antikörper)	3 Fläschchen à 4,5 mL
TMB-Substrat	10 mL
Stopplösung (0,5 M Schwefelsäure(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ))	2 Fläschchen à 11 mL
<b>Zusätzlich benötigte Reagenzien und Materialien:</b>	
Aqua ad iniectabilia	
Mikroliterpipetten	
Saubere Glas- oder Kunststoffgefäße zur Verdünnung von Waschpuffer und Proben	
Geeignete Vorrichtung zum Waschen der Mikrotiterplatte	
Inkubator für 37°C	
Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern für 450 nm und 620 - 650 nm	
<b>Untersuchungsmaterial</b>	
Humanserum, Plasma oder Liquor	50 µL

### 2.1.2 CMV-IgM-ELA PKS (Pipettier-Kontroll-System) Medac

*Katalognummer: 110-PKS-VPE/010708, Firma Medac, Wedel, Deutschland*

Dies ist ein indirekter Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von IgM-Antikörpern gegen das Zytomegalie-Virus in Serum, Plasma und Liquor. Der CMV-IgM-ELA basiert auf dem  $\mu$ -capture-Prinzip.

#### 2.1.2.1 Reagenzien und Probenmaterial

**Tab. 11: Zur Durchführung des CMV-IgM-ELA (Enzyme labelled Antigen) benötigte Reagenzien und Materialien**

<b>Im Kit mitgelieferte Reagenzien</b>	
Mikrotiterplatte mit 12 Teststreifen à 8 Vertiefungen, beschichtet mit Ziege-Anti-Human-IgM-Antikörpern, BSA und pH-Indikator	
Negativkontrolle	1,5 mL (Humanserum)
Positivkontrolle	1,5 mL (Humanserum)
Waschpuffer	100 mL
Probenverdünnungspuffer	110 mL
Antigen CMV-IgM-ELA	2 Fläschchen à 5,0 mL
TMB-Substrat	10 mL
Stopplösung (0,5 M Schwefelsäure (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ))	2 Fläschchen à 11 mL
<b>Zusätzlich benötigte Reagenzien und Materialien</b>	
Aqua ad iniectabilia	
Mikroliterpipetten	
Saubere Glas- oder Kunststoffgefäße zur Verdünnung von Waschpuffer und Proben	
Geeignete Vorrichtung zum Waschen der Mikrotiterplatte	
Inkubator für 37°C	
Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern für 450 nm und 620 - 650 nm	
<b>Untersuchungsmaterial</b>	
Humanserum	50 $\mu$ L

## 2.2 Chemoluminescence linked immunoabsorbent assay (CLIA)

### 2.2.1 Liaison CMV IgG

*Katalognummer 310740, Firma DiaSorin, Saluggia (Vercelli), Italien*

Der Liaison CMV IgG ist ein indirekter immunologischer Test basierend auf der Chemolumineszenz-Technologie (CLIA) für die quantitative Bestimmung von spezifischen IgG-Antikörpern gegen CMV im Humanserum oder -plasma. Er ist mittels des Liaison Analyzers automatisiert durchführbar.

#### 2.2.1.1 Reagenzien und Probenmaterial

Tab. 12: Zur Durchführung des Liaison CMV IgG CLIA benötigte Reagenzien und Materialien

<b>Im Kit mitgelieferte Reagenzien</b>	
Magnetpartikel mit inaktiviertem CMV-Antigen (Stamm AD169) beschichtet	2,3 mL
Kalibrator 1 (Humanserum/-plasma mit niedrigen Anti-CMV-IgG-Niveaus)	2,3 mL
Kalibrator 2 (Humanserum/-plasma mit hohen Anti-CMV-IgG-Niveaus)	2,3 mL
Probenverdünnungslösung (Rinderserumalbumin, Phosphatpuffer, Farbstoff)	2 x 28 mL
Konjugat (Anti-Human-IgG-Antikörper (Maus, monoklonal) mit einem Isoluminol-Derivat konjugiert)	23 mL
Anzahl der Bestimmungen	100
Zusätzlich werden weitere Materialien von Liaison DiaSorin zur Durchführung des CMV-IgG-CLIA benötigt.	
<b>Untersuchungsmaterial</b>	
Humanserum oder -plasma (Probenmindestvolumen)	170 µL

## 2.2.2 Liaison CMV IgG Avidität

*Katalognummer 310760, Firma DiaSorin, Saluggia (Vercelli), Italien*

Hier wird die Chemolumineszenz-Technologie in einem via Liaison Analyzer automatisiert durchführbaren indirekten immunologischen Test für die Bestimmung der Avidität der Bindung von spezifischen IgG-Antikörpern gegen CMV in Humanserum oder -plasma eingesetzt.

### 2.2.2.1 Reagenzien und Probenmaterial

**Tab. 13: Zur Durchführung des Liaison CMV IgG Avidität CLIA benötigte Reagenzien und Materialien**

<b>Im Kit mitgelieferte Reagenzien</b>	
Magnetpartikel mit inaktiviertem CMV-Antigen (Stamm AD169) beschichtet	2,3 mL
Kalibrator 1 (Humanserum/-plasma mit niedrigen Anti-CMV-IgG-Niveaus)	2,3 mL
Kalibrator 2 (Humanserum/-plasma mit hohen Anti-CMV-IgG-Niveaus)	2,3 mL
Puffer B (Boratpuffer, Harnstoff)	3,5 mL
Probenverdünnungslösung (Rinderserumalbumin, Phosphatpuffer, Farbstoff)	2 x 28 mL
Konjugat (Anti-Human-IgG-Antikörper (Maus, monoklonal) mit einem Isoluminol-(4-Aminophthalhydrazid-)Derivat konjugiert)	23 mL
Anzahl der Bestimmungen	25
Zusätzlich werden weitere Materialien von Liaison DiaSorin zur Durchführung des CMV-IgG-CLIA benötigt.	
<b>Untersuchungsmaterial</b>	
Humanserum oder -plasma (Probenmindestvolumen)	180 µL

### 2.2.3 Liaison CMV IgM

*Katalognummer 310750, Firma DiaSorin, Saluggia (Vercelli), Italien*

Beim Liaison CMV IgM wird die Chemolumineszenz-Technologie (CLIA) in einem immunologischen Test, der automatisiert mittels des Liaison Analyzers durchführbar ist, für die Bestimmung von spezifischen IgM-Antikörpern gegen CMV im Humanserum oder -plasma eingesetzt.

#### 2.2.3.1 Reagenzien und Probenmaterial

Tab. 14: Zur Durchführung des Liaison CMV IgM CLIA benötigte Reagenzien und Materialien

<b>Im Kit mitgelieferte Reagenzien</b>	
Magnetpartikel mit inaktiviertem CMV-Antigen (Stamm AD169) beschichtet	2,3 mL
Kalibrator 1 (Humanserum/-plasma mit niedrigen Anti-CMV-IgM-Niveaus)	2,3 mL
Kalibrator 2 (Humanserum/-plasma mit hohen Anti-CMV-IgM-Niveaus)	2,3 mL
Puffer A (Anti-Human-Ziege-IgG (Absorptions-Reagenz), Ziegenserum, Rinderserumalbumin, Phosphatpuffer, Farbstoff)	25 mL
Probenverdünnungslösung (Rinderserumalbumin, Phosphatpuffer, Farbstoff)	2 x 28 mL
Konjugat (Anti-Human-IgM-Antikörper (Maus, monoklonal) mit einem Isoluminol-(4-Aminophthalhydrazid-)Derivat konjugiert, unspezifisches IgG (Maus, polyklonal))	23 mL
Anzahl der Bestimmungen	100
Zusätzlich werden weitere Materialien von Liaison DiaSorin zur Durchführung des CMV-IgG-CLIA benötigt.	
<b>Untersuchungsmaterial</b>	
Humanserum oder -plasma (Probenmindestvolumen)	170 µL

## 2.3 Rekombinanter Immunoblot

Der recomBlot von Mikrogen ist ein qualitativer in-vitro-Immunoblot-Test mit rekombinant produzierten und gelelektrophoretisch aufgetrennten Antigenen zur Bestimmung von IgG- und IgM-Antikörpern sowie der Aviditätsbestimmung von IgG-Antikörpern gegen CMV in humanem Serum oder Plasma. Er wird im Rahmen dieser Arbeit als Bestätigungstest für CMV-IgG/IgM sowie Avidität verwendet. Im Unterschied zu Enzymimmunoassays gelingt durch den Einsatz rekombinanter Virusproteine der Simultan-Nachweis diverser CMV-spezifischer Antikörper, zum Beispiel gegen IEA (Immediate Early Antigen) oder virale Phosphoproteine (pp65, pp150) und Glykoproteine (gB).

### 2.3.1 recomBlot CMV IgG

*Artikelnummer 5502, Firma Mikrogen, Neuried, Deutschland*

#### 2.3.1.1 Reagenzien

Jeder Reagenziensatz eines Kits reicht für 20 Bestimmungen und enthält (TAB. 15):

**Tab. 15: Inhalt eines Reagenziensatzes**

100 mL	Waschpuffer A (zehnfach konzentriert) Enthält Phosphat-Puffer, NaCl, KCl, Detergenz, Konservierungsmittel: MIT (0,1%) und Oxypyron (0,2%)
40 mL	Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin (TMB, gebrauchsfertig)
5 g	Magermilchpulver
2 Stück	Inkubationsschalen mit je zehn Vertiefungen
1	Vorentwickelter Kontrollstreifen (kitspezifisch)

Im Reagenziensatz zur Bestimmung des IgGs und der Avidität sind zusätzlich enthalten (TAB. 16):

**Tab. 16: Reagenziensatzinhalt zur Bestimmung des IgGs und der Avidität**

2 Stück	Röhrchen mit zehn fortlaufend nummerierten Western-Blot-Teststreifen, beschichtet mit CMV-Antigenen
70 µL	Schwachpositiv-Serumkontrolle IgG (rote Verschlusskappe)
500 µL	Anti-Human-IgG-Konjugat (hundertfach konzentriert, grüne Verschlusskappe)
1	Aviditätsreagenz (Feststoff) für 60 mL gebrauchsfertige Lösung

Zusätzlich benötigte Reagenzien und erforderliches Zubehör sind (TAB. 17):

**Tab. 17: Reagenzien und erforderliches Zubehör zur Durchführung des recomBlot CMV IgG (Avidität) und recomBlot CMV IgM**

Deionisiertes Wasser in hoher Qualität
Mikropipetten
Plastikpinzette
Schüttler
Messzylinder
Laborwaage

### **2.3.1.2 Probenmaterial**

Als Probenmaterial kann Serum oder Plasma verwendet werden, das zur Vermeidung einer Hämolyse nach Entnahme möglichst rasch vom Blutkuchen getrennt wurde. Mikrobielle Kontaminationen der Proben sind unbedingt zu vermeiden. Die Verwendung von lipämischen, hämolytischen oder trüben Proben kann einen dunklen Hintergrund auf den Streifen von recomBlot CMV IgG/IgM zur Folge haben und darüber hinaus zu verfälschten Ergebnissen führen.

Das Probenmaterial kann bei 2°C bis 8°C bis zu zwei Wochen aufbewahrt werden. Durch Aufbewahrung der Proben bei -20°C oder tiefer ist eine längere Lagerung möglich.

### 2.3.2 recomBlot CMV IgG Avidität

Artikelnummer 5502, zusätzlich Aviditätsreagenz Artikelnummer 11010, Firma Mikrogen, Neuried, Deutschland

#### 2.3.2.1 Reagenzien

Die zur Bestimmung der IgG Avidität benötigten Reagenzien sind in TAB. 15, TAB. 16 und TAB. 17 aufgeführt.

#### 2.3.2.2 Probenmaterial

siehe Kap. 2.3.1.2

### 2.3.3 recomBlot CMV IgM

Artikelnummer 5503, Firma Mikrogen, Neuried, Deutschland

#### 2.3.3.1 Reagenzien

Im Reagenziensatz zur Bestimmung des IgMs sind außer den in TAB. 15 und TAB. 17 aufgeführten Reagenzien zusätzlich enthalten (TAB. 18):

Tab. 18: Reagenziensatzinhalt zur Bestimmung des IgMs

2 Stück	Röhrchen mit zehn fortlaufend nummerierten Western-Blot-Teststreifen, beschichtet mit CMV-Antigenen
70 µL	Schwachpositiv-Serumkontrolle IgM (weiße Verschlusskappe)
500 µL	Anti-Human-IgM-Konjugat (hundertfach konzentriert, lila Verschlusskappe)

#### 2.3.3.2 Probenmaterial

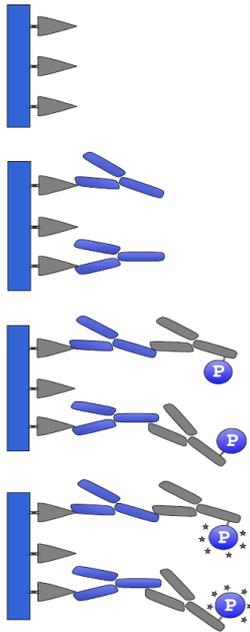
siehe Kap. 2.3.1.2

### 3 METHODEN

#### 3.1 Enzyme linked immunoabsorbent assay (ELISA)

##### 3.1.1 CMV-IgG-ELISA, Medac

###### 3.1.1.1 Testprinzip



- Mit CMV-Antigen (AD169-Lysat) beschichtete Mikrotiterplatte.
- CMV-spezifische Antikörper aus der Patientenprobe binden an das Antigen.
- Das Peroxidase-gekoppelte Anti-Human-IgG bindet an die IgG-Antikörper (P = Peroxidase).
- Inkubation mit TMB-Substrat.
- Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure.
- Die Auswertung erfolgt photometrisch.

Abb. 6: Testprinzip des CMV-IgG-ELISA im Schema (Gebrauchsanweisung CMV-IgG-ELISA PKS Medac, 115-Q-PKS-VPD/300908)

Tab. 19: Eckdaten des CMV-IgG-ELISAs

Messbereich	0,45 - 15 AU/mL
Cut-off	0,55 AU/mL
Grenzbereich	0,45 - 0,65 AU/mL
Angaben des Herstellers zur Sensitivität	100 %
Angaben des Herstellers zur Spezifität	97,1 %

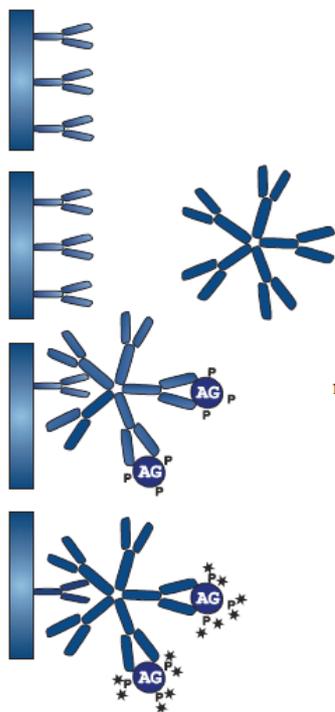
Tab. 20: Interpretation der Ergebnisse des CMV-IgG-ELISAs

negativ	< 0,45 AU/mL
grenzwertig	0,45 - 0,65 AU/mL
positiv	> 0,65 AU/mL

### 3.1.2 CMV-IgM-ELA, Medac

#### 3.1.2.1 Testprinzip

Der CMV-IgM-ELA ist ein  $\mu$ -capture-Assay, der selektiv sämtliche IgM-Moleküle einer Serumprobe mit Hilfe von gegen das IgM-Fc-Fragment gerichteten und an die Festphase gebundenen Antikörper bindet. Durch Zugabe eines definierten enzymmarkierten Antigens erhält der Test seine Spezifität. Sein Vorteil liegt in seiner Unempfindlichkeit gegenüber Rheumafaktoren, die bei konventionellen IgM-ELISA-Tests zu falsch-positiven Ergebnissen führen können.



- Mit Anti-Human-IgM beschichtete Mikrotiterplatte.
- Die IgM-Fraktion aus dem Patientenserum wird auf der Mikrotiterplatte gebunden.
- Die Anti-CMV-IgM-Antikörper binden das Peroxidase-konjugierte CMV-IgM-ELA (Enzyme labelled Antigen).  
(AG = Antigen (AD169), P = Peroxidase)
- Inkubation mit TMB-Substrat.
- Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure.
- Die Auswertung erfolgt photometrisch.

Abb. 7: Testprinzip des CMV-IgM-ELA im Schema (Gebrauchsanweisung CMV-IgM-ELA PKS Medac, 110-PKS-VPD/010708)

Tab. 21: Eckdaten des CMV-IgM-ELAs

OD-Mittelwert der Negativkontrolle	< 0,100
OD-Mittelwert der Positivkontrolle	> 0,800
Cut-off	= OD-Mittelwert der Negativkontrolle + 0,140
Grenzbereich	= Cut-off $\pm$ 10 %
Angaben des Herstellers zur Sensitivität	99,40%
Angaben des Herstellers zur Spezifität	99,68%

**Tab. 22: Interpretation der Ergebnisse des CMV-IgM-ELAs**

<b>negativ</b>	<b>Proben mit OD-Werten unterhalb des Grenzbereichs</b>
<b>grenzwertig</b>	<b>Proben mit OD-Werten innerhalb des Grenzbereichs</b>
<b>positiv</b>	<b>Proben mit OD-Werten oberhalb des Grenzbereichs</b>

## 3.2 Chemoluminescence linked immunoabsorbent assay (CLIA)

### 3.2.1 Liaison CMV IgG, DiaSorin

#### 3.2.1.1 Testprinzip

1. Beschichtung von Magnetpartikeln (Festphase) mit CMV-Antigen (AD169).
2. Verbindung eines Anti-Human-IgG-Antikörpers (Maus, monoklonal) mit einem Isoluminol-(4-Aminophtalhydrazid-)Derivat (Konjugat Antikörper-Isoluminol).
3. Primärreaktion: Bindung der in Kalibratoren, Proben oder Kontrollseren vorhandenen Anti-Human-CMV-Antikörper an die Festphase (AG-AK-Reaktion).
4. Sekundärreaktion: Bindung des Konjugats mit dem schon an die Festphase gebundenen Anti-Human-CMV-IgG.
5. Nach jeder Inkubation Entfernung des ungebundenen Materials in einem Waschzyklus.
6. Indikatorreaktion: Zufügung von Starterreagenzien zur Induktion der Chemolumineszenz-Reaktion.
7. Messung des Lichtsignals (somit Menge an Konjugat Antikörper-Isoluminol) von einem Photoverstärker in relativen Lichteinheiten (RLU, relative light units).
8. Ermittlung der in Kalibratoren, Proben oder Kontrollseren vorhandenen Anti-Human-CMV-IgG-Konzentration anhand der RLU.

Tab. 23: Eckdaten und Interpretation der Testergebnisse des Liaison CMV IgG CLIAs

<b>Messbereich</b>	<b>0 - 22 IE/mL</b>	
<b>Beurteilung</b>	< 0,4 IE/mL	negativ
	0,4 - 0,6 IE/mL	grenzwertig
	> 0,6 IE/mL	positiv
<b>Angaben des Herstellers zur Sensitivität</b>	99,88%	
<b>Angaben des Herstellers zur Spezifität</b>	99,65%	

### 3.2.2 Liaison CMV IgG Avidität, DiaSorin

#### 3.2.2.1 Testprinzip

1. Beschichtung von Magnetpartikeln (Festphase) mit CMV-Antigen (AD169).
2. Verbindung eines Anti-Human-IgG-Antikörpers (Maus, monoklonal) mit einem Isoluminol-(4-Aminophtalhydrazid-)Derivat (Konjugat Antikörper-Isoluminol).
3. Behandlung einer der beiden IgG-Proben eines Doppelansatzes mit Harnstoff (6 M) (Dissoziation niedrig aviden Immunkomplexe), wobei die unbehandelte IgG-Probe als Bezugsprobe fungiert.

Die weiteren Schritte (Primär-, Sekundär- und Indikatorreaktion) erfolgen wie für den Nachweis von IgG beschrieben. Der Aviditätswert errechnet sich aus dem Verhältnis zwischen der mit Harnstoff behandelten Probe und der Bezugsprobe.

Tab. 24: Eckdaten und Interpretation der Ergebnisse des Liaison CMV IgG Avidität CLIA

Messbereich	0 - 1,0	
Beurteilung	≤ 0,2	niedrige Avidität
	0,2 - 0,3	intermediäre Avidität
	> 0,3	hohe Avidität
<b>Angaben des Herstellers zur diagnostischen Übereinstimmung</b>		
- von Proben einer Gruppe, die eine weniger als drei Monate zurückliegende Infektion hatte		<b>100%</b>
- von Proben einer Gruppe, die eine länger als fünf Monate zurückliegende Infektion hatte		<b>92,02%</b>

Bei niedriger Avidität ist eine Primärinfektion, die vor weniger als drei Monaten auftrat, möglich. Eine vergangene Infektion kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, da in seltenen Fällen ein monatelanges Bestehen von niedrig aviden IgG-Antikörpern auftreten kann.

Bei intermediärer Avidität kann die Möglichkeit einer Primärinfektion nicht ausgeschlossen werden. Sie weist aber auf eine inkomplette Reifung der Avidität von IgG bei vergangener Infektion hin.

Ein hoher Aviditätswert schließt die Möglichkeit einer Primärinfektion vor weniger als drei Monaten aus.

### **3.2.3 Liaison CMV IgM, DiaSorin**

#### **3.2.3.1 Testprinzip**

1. Beschichtung von Magnetpartikeln (Festphase) mit CMV-Antigen (AD169) .
2. Verbindung eines Anti-Human-IgM-Antikörpers (Maus, monoklonal) mit einem Isoluminol-(4-Aminophthalhydrazid-)Derivat (Konjugat Antikörper-Isoluminol).
3. Der Immunkomplexbindung vorgeschaltet ist die Verdünnung der Kalibratoren, Proben oder Kontrollseren mit Puffer A zur Vermeidung von vom menschlichen Anti-CMV IgG oder Rheumafaktor verursachten Interferenzen (unspezifische Bindungen).
4. Primärreaktion: Bindung der in den Kalibratoren, Proben oder Kontrollseren vorhandenen Anti-Human-CMV-Antikörper an die Festphase.
5. Sekundärreaktion: Bindung des Konjugats mit dem schon an die Festphase gebundenen Anti-Human-CMV-IgM.
6. Nach jeder Inkubation Entfernung des ungebundenen Materials in einem Waschzyklus.
7. Indikatorreaktion: Zufügung von Starterreagenzien zur Induktion der Chemolumineszenz-Reaktion.
8. Messung des Lichtsignals (somit Menge an Konjugat Antikörper-Isoluminol) von einem Photoverstärker in relativen Lichteinheiten (RLU, relative light units).
9. Ermittlung der in Kalibratoren, Proben oder Kontrollseren vorhandenen Anti-CMV IgM-Konzentration anhand der RLU.

Tab. 25: Eckdaten und Interpretation der Ergebnisse des Liaison CMV IgM CLIAs

Messbereich	0 - 240 AU/mL	
Beurteilung	< 15 AU/mL	negativ
	15 - 30 AU/mL	grenzwertig
	> 30 AU/mL	positiv
Angaben des Herstellers zur Sensitivität	93,94 - 99,77 %	
Angaben des Herstellers zur Spezifität	92,76 - 98,50 %	

### **3.3 Rekombinanter Immunoblot**

#### **3.3.1 recomBlot CMV IgG/IgM Mikrogen**

##### **3.3.1.1 Testprinzip**

Die spezifischen rekombinanten Zytomegalie-Virus-Antigene IE1, p150, CM2, p65, gB1 und gB2 werden für den recomBlot CMV IgG bzw. IgM mittels Expression in E.coli hergestellt (TAB. 26). Die verwendeten gereinigten rekombinanten Antigene werden via SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt und dann elektrophoretisch auf eine Nitrozellulosemembran übertragen (Western Blotting). Zur Blockierung freier Bindungsstellen wird die Membran anschließend mit einer Proteinlösung inkubiert, gewaschen und zu Streifen zugeschnitten. Der Nachweis CMV-spezifischer Antikörper erfolgt durch Inkubation der Nitrozellulose-Streifen mit verdünnter Serum- oder Plasmaprobe, dabei lagern sich die Antikörper an die immobilisierten Antigene auf den Streifen an. Anschließend werden nicht gebundene Antikörper abgewaschen und die Streifen werden in der Sekundärreaktion mit an Meerrettich-Peroxidase gekoppeltem Anti-Human-IgG bzw. Anti-Human-IgM inkubiert. Das Peroxidase-Konjugat katalysiert eine Farbreaktion, durch die die spezifisch gebundenen antiviralen Antikörper nachgewiesen werden. Bei Reaktivität gegen eines der sechs rekombinanten CMV-Proteine bildet sich eine blaue Bande auf dem Streifen. Außerdem ist am oberen Ende der Streifen als Reaktionskontrolle eine Bande mit Anti-Human-Immunglobulin aufgetragen, die bei jedem Serum eine Reaktion zeigen muss.

Tab. 26: Verwendete rekombinante CMV-Antigene

Rekombinantes Antigen	Leserahmen/Protein	Größe des rekombinanten Antigens (kDa)	Proteinfunktion
IE1	UL123/IE1/1	53	Nichtstruktur-Protein, „immediate early“-Protein
p150	UL32/pp150	50	Tegument-Protein
CM2	UL44, UL57/p52 (DBP)	45	Nichtstruktur-Protein
p65	UL83/pp65	31	Tegument-Protein
gB1	UL55/gB	25	Membran-Glykoprotein gB
gB2	UL55/gB	18	Membran-Glykoprotein gB

### 3.3.1.2 Herstellung der Lösungen

Herstellung des gebrauchsfertigen Waschpuffers A:

Der Puffer wird für die Serum- und Konjugatverdünnung sowie für die Waschschriffe benötigt. Er kann bei 2°C bis 8°C vier Wochen gelagert werden. Der gebrauchsfertige Waschpuffer A ist geruchlos und leicht getrübt.

Zuerst wird das Magermilchpulver in Waschpuffer A-Konzentrat vorgelöst und diese Mischung dann mit deionisiertem Wasser auf das Endvolumen aufgefüllt (Verdünnung: 1 + 9). Die benötigten Mengen sind der TAB. 27 zu entnehmen.

Tab. 27: Waschpuffer A pro eingesetzte Teststreifen

Eingesetzte Teststreifen	Magermilchpulver	Waschpuffer A-Konzentrat	Deionisiertes Wasser	Gebrauchsfertiger Waschpuffer A
1	0,1 g	2 mL	18 mL	20 mL
2	0,2 g	4 mL	36 mL	40 mL
5	0,5 g	10 mL	90 mL	100 mL
10	1 g	20 mL	180 mL	200 mL
20	2 g	40 mL	360 mL	400 mL
<b>50</b>	<b>5 g</b>	<b>100 mL</b>	<b>900 mL</b>	<b>1000 mL</b>

Herstellung der Konjugatlösungen:

Die Konjugatlösung ist unmittelbar vor dem Gebrauch herzustellen, eine Lagerung ist nicht möglich. Die Verdünnung des IgG- bzw. IgM-Konjugat-Konzentrats mit gebrauchsfertigem Waschpuffer A beträgt 1 + 100. Die benötigten Mengen sind der TAB. 28 zu entnehmen.

**Tab. 28: Volumina der Anti-Human-IgG- bzw. IgM-Konjugat-Verdünnung**

Eingesetzte Teststreifen	IgG- bzw. IgM-Konjugat-Konzentrat	Gebrauchsfertiger Waschpuffer A
1	20 µL	2 mL
2	40 µL	4 mL
5	100 µL	10 mL
10	200 µL	20 mL
20	400 µL	40 mL

Substratlösung:

Die Substratlösung ist gebrauchsfertig. Sie muss vor Beginn der Färbung auf Raumtemperatur (18°C bis 25°C) gebracht werden.

### **3.3.1.3 Testdurchführung**

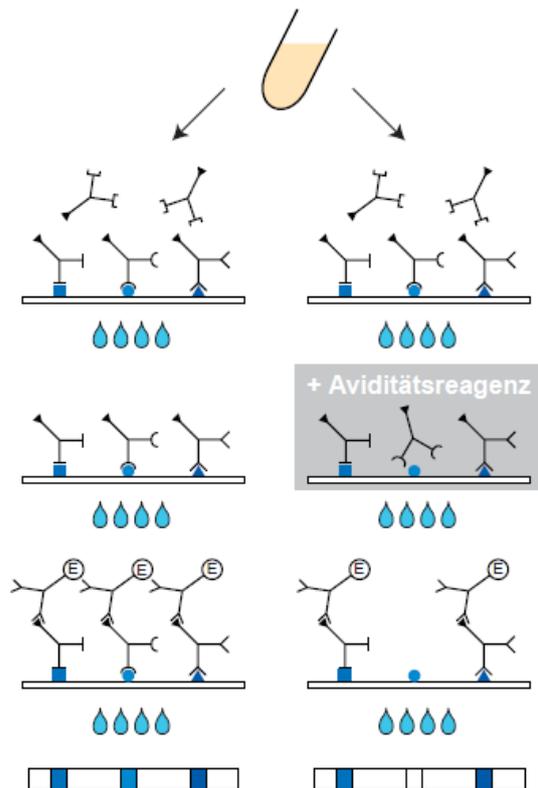
Vor Testbeginn sind alle Bestandteile und Reagenzien für mindestens 30 Minuten auf Raumtemperatur (18°C bis 25°C) zu temperieren. Auch die gesamte Testdurchführung (TAB. 29) erfolgt bei Raumtemperatur.

Während des gesamten Testablaufs werden geeignete Einmalhandschuhe getragen.

Die Inkubationsschalen sind nur einmal zu verwenden. Die Teststreifen müssen sorgfältig mit einer Plastikpinzette gehandhabt werden.

**Tab. 29: Testdurchführung des recomBlots CMV IgG (Avidität) und IgM**

<b>Zusammenfassung der Testdurchführung</b>	
1.	Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.
2.	Vorlage von je 2 mL gebrauchsfertigem Waschpuffer A sowie eines Teststreifens zur vollständigen Benetzung mit Waschpuffer A in der Inkubationsschale.
3.	Einpipettierung von jeweils 20 µL der unverdünnten Probe bzw. Positiv-Kontrolle.
4.	Inkubation der Proben mit abgedeckter Inkubationsschale für eine Stunde auf einem Schüttler.
5.	Nach Abgießen der Lösungen dreimal je 5 Minuten, mit je 2 mL gebrauchsfertigem Waschpuffer A, auf dem Schüttler waschen. Den Ansatz für die Aviditätsbestimmung nach dem 1. Waschvorgang exakt 3 Minuten mit 2 mL des Aviditätsreagenz auf dem Schüttler inkubieren, danach Waschvorgang fortsetzen.
6.	Zugabe von jeweils 2 mL der gebrauchsfertigen Peroxidase-Konjugatlösung.
7.	Inkubation der Proben für 45 Minuten unter leichtem Schütteln.
8.	Waschvorgang auf dem Schüttler erneut dreimal je 5 Minuten, mit je 2 mL des gebrauchsfertigen Waschpuffers A.
9.	Zugabe von jeweils 1,5 mL der Substratlösung und Inkubation für 5 bis 10 Minuten unter leichtem Schütteln unter Beobachtung des Färbeprozesses (ggf. Stoppen der Substratreaktion).
10.	Mindestens dreimal mit deionisiertem Wasser waschen.
11.	Trocknen der Streifen für 2 Stunden zwischen zwei Lagen saugfähigen Papiers und Ablesen des Ergebnisses.

**1. Inkubation:**

Zwei mit CMV-Antigenen beladene Teststreifen werden mit demselben verdünnten Serum oder Plasma für 60 Minuten in separaten Schalen inkubiert.

*1 x waschen*

**2. Inkubation:**

Dem einen Ansatz wird Waschpuffer und dem zweiten Ansatz das gelöste Aviditätsreagenz zugegeben. Es folgt eine 3-minütige Inkubation (niedrig avide Antikörper werden durch das Aviditätsreagenz „abgewaschen“).

*3 x waschen*

**3. Inkubation:**

Beiden Ansätzen wird Peroxidase-konjugierte Anti-Human-Antikörper (IgG-spezifisch) zugegeben. 45 Minuten inkubieren lassen.

*3 x waschen*

**4. Inkubation:**

5 bis 10 Minuten nach Zugabe der Färbelösung entstehen an den mit Antikörpern besetzten Stellen der Teststreifen unlösliche Farbbanden. Durch den unmittelbaren Vergleich der Bandenintensität der parallel angesetzten Teststreifen kann die Avidität der einzelnen Anti-CMV-IgGs bestimmt werden.

**Abb. 8: Testprinzip und Durchführung des rekombinanten Immunoblots im Schema (Gebrauchsinformation Mikrogen recomBlot, GIRBCM012DE.DOC)**

### 3.3.2 recomBlot CMV IgG Avidität, Mikrogen

#### 3.3.2.1 Testprinzip

Mit Hilfe des Aviditätsreagenz ist eine Bestimmung der Avidität von IgG-Antikörpern möglich. Ein wichtiger Aspekt aufgrund der unterschiedlichen Aviditätsreifung der Antikörper ist die Möglichkeit der einzelnen Betrachtung der Avidität der virusspezifischen Antikörper. Für eine weiterführende Diagnostik wird nur die Aviditätsreifung der Antikörper gegen IE1, p150 und CM2 herangezogen. Nur für diese rekombinanten Antigene ist dieser Aviditätstest evaluiert. Bei einer akuten Infektion sind die Antikörper meist niedrig avide, während bei zurückliegender Infektion die Antikörper gegen IE1, p150 und CM2 meist hoch avide sind. Für die Testdurchführung der Aviditätsbestimmung werden je zwei Teststreifen mit der verdünnten Serumprobe inkubiert. In dieser Phase binden die Antikörper an ihre auf den Teststreifen fixierten spezifischen

Antigene. Dann wird jedoch einer der beiden Teststreifen mit der Aviditätslösung gewaschen, durch die niedrig avide Antikörper abdiffundieren, während hoch avide Antikörper an ihre spezifischen Antigene gebunden bleiben. Die weitere Testdurchführung entspricht der der IgG/IgM-Bestimmung. Abschließend lässt sich durch den Vergleich des IgG- und des IgG-Aviditäts-Streifens eine Aussage über die Avidität der Antikörper ermitteln, welche wiederum eine Interpretation des Infektionsstadiums ermöglicht.

### **3.3.2.2 Testdurchführung und Herstellung der Lösungen**

siehe Kap. 3.3.1.2 und Kap. 3.3.1.3

### **3.3.3 Auswertung des recomBlot CMV IgG (Avidität) und IgM**

Bei jeder Testdurchführung muss eine Schwachpositiv-Serumkontrolle mit durchgeführt werden, diese dient zur Abgrenzung der Reaktivität von der Hintergrund-Reaktivität (Cut-off). Das Mitführen der Schwachpositiv-Serumkontrolle dient der Überprüfung der Testbedingungen (Sensitivität). Die Lokalisation der einzelnen Antigenbanden muss mit dem beigefügten Kontrollstreifen übereinstimmen. Die Bande der Reaktions-Kontrolle (unterhalb der Streifenummer) muss in jedem Fall eine deutliche Färbung zeigen, sie dient der Überprüfung der Testdurchführung. Die mit der Schwachpositiv-Serumkontrolle inkubierten Teststreifen dienen als Cut-off und sollten als Bandenmuster die Reaktions-Kontrollbande und die p150-Bande aufzeigen, weitere Banden können zusätzlich erscheinen. Die Bewertung der Intensität aller Banden, sowohl im IgG als auch im IgM, orientiert sich an der p150-Bande der Schwachpositiv-Kontrolle (TAB. 30).

Tab. 30: Graduierung der CMV-IgG/IgM-Reaktivität im rekombinanten Immunoblot

Banden	Intensität
Keine Reaktion	-
Sehr schwache Intensität (geringer als die p150-Bande der Schwachpositiv-Kontrolle)	+/-
Schwache Intensität (entsprechend der p150-Bande der Schwachpositiv-Kontrolle)	+
Gut sichtbare Intensität (stärker als die p150-Bande der Schwachpositiv-Kontrolle)	++
Sehr starke Intensität	+++

### 3.3.4 Testergebnisse und Testinterpretation des recomBlot CMV IgG (Avidität) und IgM

Die Interpretation serologischer Befunde wird vor allem dadurch erschwert, dass in einigen Fällen IgM-Antikörper über Jahre hinweg nachweisbar bleiben (Antikörperpersistenz), während bei Fällen frischer Infektionen manchmal nur sehr geringe oder nicht nachweisbare IgM-Titer auftreten. Für die Beurteilung des CMV-Immunistatus sollten immer die Ergebnisse des IgG- und IgM-Nachweises zusammen betrachtet werden, vor dem Hintergrund der klinischen Daten des Patienten. Die Auswertung der Banden erfolgt nach TAB. 31 und TAB. 32.

Tab. 31: Interpretation des IgG-Nachweises

Auswertung der Banden beim IgG-Nachweis	
- Antikörper gegen p150 in mindestens schwacher Intensität (entspricht +), in der Regel finden sich auch Antikörper gegen weitere Antigene - p150 negativ, aber CM2 in gut sichtbarer Intensität (entspricht ++) sowie mindestens eine weitere Bande in schwacher Intensität (entspricht +)	<b>IgG positiv</b>
- keine CMV-spezifischen Banden - Banden in sehr schwacher Intensität (entspricht +/-) - isolierte p65-Bande in schwacher Intensität, auch zusammen mit weiteren Banden in sehr schwacher Intensität (entspricht +/-)	<b>IgG negativ</b>
- alle anderen Konstellationen	<b>IgG fraglich</b>

Tab. 32: Interpretation des IgM-Nachweises

Auswertung der Banden beim IgM-Nachweis	
- Antikörper gegen p150 mit mindestens schwacher Intensität (entspricht + ) und zusätzlich mindestens eine weitere Bande in schwacher Intensität (entspricht +) - p150 als isolierte Bande in gut sichtbarer Intensität (entspricht ++)	<b>IgM positiv</b>
- keine spezifischen Banden - Banden mit sehr schwacher Intensität (entspricht +/-) - isolierte Bande (außer p150) mit schwacher Intensität (entspricht +), im Fall von p65 auch zusammen mit weiteren Banden in sehr schwacher Intensität (entspricht +/-)	<b>IgM negativ</b>
- alle anderen Konstellationen	<b>IgM fraglich</b>

Beispiele typischer Konstellationen:

- a) recomBlot CMV IgG positiv ohne Bandennachweis gegen gB2 (gB1 kann vorhanden sein) + recomBlot CMV IgM positiv oder negativ
  - ⇒ Verdacht auf CMV-Primärinfektion (weitere Abklärung über Avidität)
  - oder
  - ⇒ Verdacht auf CMV-Infektion, die mindestens sechs bis acht Wochen (Herstellerangaben) zurückliegt (gB2-Non-Responder)
- b) recomBlot CMV IgG positiv ohne Bandennachweis gegen p150 und gB2 + recomBlot CMV IgM positiv
  - ⇒ Verdacht auf CMV-Primärinfektion innerhalb der ersten sechs bis acht Wochen nach Infektion (Herstellerangaben)
- c) recomBlot CMV IgG positiv mit Bandennachweis gegen gB2 (mindestens schwache Intensität) + recomBlot CMV IgM positiv oder bereits negativ
  - ⇒ Verdacht auf CMV-Infektion, die mindestens sechs bis acht Wochen zurückliegt
- d) recomBlot CMV IgG positiv mit isoliertem Bandennachweis gegen p150 (evtl. Reaktivität gegen gB1 und/oder gB2) + recomBlot CMV IgM meist negativ (persistierender Titer gegen p150 möglich)
  - ⇒ Verdacht auf zurückliegende CMV-Infektion (in der Regel länger als sechs Monate)

Zur Interpretation des recomBlots wäre noch anzumerken, dass Antikörper gegen p150 in der Regel bei jeder CMV-Infektion nachweisbar sind (mit Ausnahme einer unmittelbar nach Erstinfektion abgenommenen Probe). Meist sind bei Erstinfektion neben Antikörpern gegen p150 auch Antikörper gegen IE1, CM2 und p65 vorhanden, aber keine Antikörper gegen gB2. Für eine länger zurückliegende Infektion (mehr als sechs Monate) sprechen Bandennachweise gegen p150 und Glykoproteine (gB1 und gB2) ohne sonstige Reaktivitäten im IgG und ein negatives IgM-Ergebnis. Bei Anwesenheit von gB2-Antikörpern kann eine CMV-Infektion während der letzten sechs bis acht Wochen nach Herstellerangaben mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, da diese frühestens nach dieser Zeitspanne synthetisiert werden. Antikörper gegen gB1 können hingegen schon bereits eine Woche nach Serokonversion auftreten. Im Falle, dass nur Antikörper gegen gB1 vorhanden sind, kann es sich somit entweder um eine Erstinfektion mit extrem früher Antikörperbildung gegen gB1 handeln oder um eine zurückliegende Infektion eines gB2-Non-Responders. Die Wahrscheinlichkeit einer negativen Reaktivität gegen gB1 und/oder gB2 bei zurückliegender Infektion besteht zu etwa 20 Prozent (Herstellerangaben). Zur Unterscheidung von einer Primärinfektion kann in einem gB-Non-Responder-Fall die Bestimmung der Avidität einen entscheidenden Beitrag leisten. Eine große Schwierigkeit liegt in der serologischen Diagnostik reaktiver Infektionen, aber eine lange andauernde hohe IgG-Reaktivität gegen p150, gegen gB1 und gB2 sowie gegen CM2, p65 und IE1, bei positivem IgM-Ergebnis, könnten auf eine Reaktivierung hinweisen. Über die Bestimmung der Avidität ist häufig eine zusätzliche Eingrenzung des Infektionszeitpunktes möglich aufgrund der unterschiedlichen Aviditätsreifung der einzelnen Antikörper. Wichtig ist hierbei jedoch, dass dafür nur die Aviditätsreifung der Antikörper gegen IE1, p150 und CM2 betrachtet wird, da die Aviditätsreifung von p65 sehr variabel und daher ungeeignet ist. Die Aviditätsreifung der Antikörper gegen Glykoproteine spielt eine ebenso untergeordnete Rolle. Zur Bewertung der Avidität wird die Intensität der Bandenausprägung des IgG-Streifens und des zugehörigen IgG-Aviditäts-Streifens verglichen. Bei 50-prozentiger Intensitätsabnahme spricht man von

niedriger Avidität, nimmt die Bandenintensität kaum oder gar nicht ab (75 bis 100 Prozent des IgG-Streifens) spricht man von hoher Avidität (Herstellerangaben). Eine CMV-Primärinfektion gilt als sehr wahrscheinlich bei einer kompletten bis starken Intensitätsabnahme von mindestens zwei der drei Antigenbanden IE1, p150 und CM2. Sind hingegen mindestens zwei der drei Antigenbanden hoch averse, so kann man auf eine mindestens sechs bis acht Wochen zurückliegende Infektion schließen (Herstellerangaben). Bei einer Bandenintensität von 50 bis 75 Prozent des IgG-Streifens spricht man von intermediärer Avidität, hier kann keine Aussage über den Infektionszeitpunkt getroffen werden. Es ist wichtig zu beachten, dass die Aviditätsreifung der Antikörper ein fließender Prozess ist, der individuell variabel verlaufen kann. Daher sollte auch die Interpretation der Avidität stets im Rahmen der klinischen Daten und den gesamten Untersuchungsergebnissen erfolgen (TAB. 33).

**Tab. 33: Auswertung und Interpretation der Avidität**

<b>Auswertung und Interpretation der Avidität</b>	
- Komplette bis starke Intensitätsabnahme (um mindestens 50 %) von mindestens zwei der Antigenbanden IE1, p150 und CM2 → sehr wahrscheinlicher Hinweis auf eine frische Infektion	<b>niedrige Avidität</b>
- Bandenintensität von IE1, p150 und CM2 auf dem Aviditätsstreifen zwischen 50 und 75% des Referenzstreifens	<b>intermediäre Avidität</b>
- Keine bzw. geringe Intensitätsabnahme des Aviditätsstreifens (Bandenintensität von 75 -100% des Referenzstreifens) von mindestens zwei der Antigenbanden IE1, p150 und CM2 → sehr wahrscheinlicher Hinweis auf eine zurückliegende Infektion	<b>hohe Avidität</b>
Eine selektive Abnahme der Intensität der Banden p65, gB1 und gB2 ist kein Hinweis auf eine frische Infektion, da die Reifung dieser Antikörper nicht zuverlässig mit dem Infektionsstatus korreliert!	

### 3.3.5 Evaluierung des recomBlot CMV IgG (Avidität) und IgM

Mikrogen gibt für den recomBlot CMV IgG/IgM im Vergleich zu einem kommerziell verfügbaren ELISA folgende Daten an:

Tab. 34: Herstellerangaben zur Sensitivität und Spezifität des recomBlot CMV IgG/IgM

<b>recomBlot CMV IgG</b>	Sensitivität	99,4 %
	Spezifität	98,0 %
<b>recomBlot CMV IgM</b>	Sensitivität	98,3 %
	Spezifität	93,9 %

Zur Evaluierung des recomBlot CMV IgG Avidität macht Mikrogen folgende Angaben:

Tab. 35: Herstellerangaben zur diagnostischen Übereinstimmung des recomBlot CMV IgG Avidität

– Proben einer Gruppe mit einer Infektion, die eine weniger als 14 Wochen zurückliegende Infektion hatte	<b>96,3%</b> (Patienten mit niedriger Avidität)
– Proben einer Gruppe mit einer Infektion, die mindestens 6 bis 8 Wochen zurücklag	<b>98,4%</b> (Patienten mit hoher Avidität)

## **3.4 Grundlagen zur Auswertung**

### **3.4.1 Referenzmethode**

Eine Referenzmethode ist eine analytische Methode, die von relevanten Fachgesellschaften als zuverlässigste Methode anerkannt ist, so dass der mit ihr ermittelte Wert als „wahr“ angesehen wird. Häufig wird der Begriff allerdings fälschlicherweise für die verbreitetste Methode verwendet. Dies ist aber problematisch, da auch verbreitete Methoden falsche Ergebnisse liefern können und daher nicht einfach als „wahr“ angesehen werden dürfen (Sysmex Xtra, 2009).

Der rekombinante Immunoblot wurde von Lazzarotto et al., 2008, als Goldstandard der serologischen CMV-Diagnostik bezeichnet. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird daher der rekombinante Immunoblot als Referenzmethode festgelegt.

### **3.4.2 Bestimmung der Güte eines Tests**

Die Entscheidung bei einer diagnostischen Fragestellung vom Typ „positiv“ versus „negativ“ wird meist anhand bestimmter Grenzwerte, sogenannter „Cut-offs“, oder auch Entscheidungsgrenzen, gefällt. Zur Bestimmung der Güte eines Tests wird dieser dabei verglichen mit einem etablierten Test wie z.B. dem jeweiligen „Goldstandard“, d.h. der vermeintlich besten verfügbaren Methode, oder einer Referenzmethode, d.h. der Methode, die explizit als Standard für den spezifischen Parameter definiert wurde. Der Vergleich lässt sich dabei am besten in einer „Vierfeldertafel“ darstellen (TAB. 36). Bei einem reinen Methodenvergleich lässt sich so die Konkordanz, d.h. die Übereinstimmung zweier Testergebnisse bestimmen. Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass auch das Ergebnis der Vergleichsmethode nicht notwendigerweise korrekt sein muss. Wird dagegen mit einer Referenzmethode verglichen, so ist deren Ergebnis per definitionem korrekt (Sysmex Xtra, 2009).

Tab. 36: Allgemeine Darstellung einer Vierfeldertafel in einer Diagnosestudie

		Referenzmethode (rekombinanter Immunoblot)			
Alternatives Diagnose- verfahren (ELISA / CLIA)			Serologischer Befund (IgG / IgM / Avidität)		
			liegt vor	liegt nicht vor	
	Serologi- scher Befund (IgG / IgM / Avidität)	liegt vor (positives Testergebnis)	richtig positiv a	falsch positiv b	alle Test- Positiven (a+b)
		liegt nicht vor (negatives Testergebnis)	falsch negativ c	richtig negativ d	alle Test- Negativen (c+d)
		alle Erkrankten (a+c)	alle Gesunden (b+d)	alle Untersuchten (N)	

**Sensitivität:** Die Sensitivität gibt an, wie häufig eine positive Probe von einem Test auch als positiv erfasst wird. Bei geringer Sensitivität übersieht der Test viele positive Proben.

Berechnung der Sensitivität =  $a / (a+c)$

**Spezifität:** Die Spezifität gibt an, wie häufig eine negative Probe von einem Test auch als negativ erfasst wird. Eine geringe Spezifität führt zu falsch positiven Resultaten.

Berechnung der Spezifität =  $d / (b+d)$

**Positiver prädiktiver Wert:** Der positive prädiktive Wert gibt an, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte Krankheit bzw. ein definierter Befund tatsächlich vorliegt, wenn ein Test positiv war.

Berechnung der positiven prädiktiven Werts =  $a / (a+b)$

**Negativer prädiktiver Wert:** Der negative prädiktive Wert gibt an, wie wahrscheinlich es ist, dass bei einem negativen Testergebnis auch tatsächlich nicht die gesuchte Krankheit bzw. der definierte Befund vorliegt und ausgeschlossen werden kann (Sysmex Xtra, 2009).

Berechnung des negativen prädiktiven Werts =  $d / (c+d)$

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Studiendesign

In Kooperation des Instituts für Medizinische Virologie des Universitätsklinikums Tübingen (UKT) mit der Universitäts-Frauenklinik sowie der Abteilung Neonatologie des UKT wurde eine prospektive klinische Studie durchgeführt, in die alle Mütter, die in der Frauenklinik des UKT entbanden, mit eingeschlossen wurden, sowie alle von ihnen entbundenen Babies. Die Mütter wurden im näheren Zeitraum des Geburtsvorgangs auf ihren CMV-Serostatus (IgG (ABB. 9), IgM und IgG-Avidität (ABB. 10)) gescreent, unter Verwendung verschiedener Methoden wie IgG/IgM-ELISA von Medac (Deutschland) sowie IgG/IgM-CLIA und IgG-CLIA-Avidität von DiaSorin (Italien).

Als Referenztest bei Vorliegen eines diskordanten CMV-IgG-Befundes diente der rekombinante Immunoblot (Mikrogen, Deutschland). Bei Vorliegen einer grenzwertigen oder positiven IgM-Reaktivität in einem ELISA oder CLIA wurde ebenfalls ein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt. Zusätzlich wurde jede positive IgM-Reaktivität mittels rekombinantem IgG-Aviditäts-Immunoblot geprüft. Auch bei Nachweis eines CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$  wurde jeweils ein rekombinanter IgG-, Aviditäts- und IgM-Immunoblot durchgeführt.

Das EDTA-Nabelschnurblut der neugeborenen Kinder seropositiver Mütter wurde mit CMV-Pool-PCR analysiert und im Falle eines positiven Ergebnisses wurden zur Bestätigung eigens dafür vorbereitete Nabelschnurtrockenblutkarten (Tag 0 postpartal) verwendet. Zeigte die Nabelschnurtrockenblutfilterkarte (Tag 0) ein positives PCR-Ergebnis wurde über die Neonatologie eine Guthrie-Karte (Tag 3 postpartal) angefordert. War diese ebenfalls positiv, galt das Neugeborene als bestätigt kongenital CMV-infiziert. Weiterhin wird im Falle eines infizierten Neugeborenen der klinische sowie virologische Status longitudinal dokumentiert und die weitere Entwicklung des infizierten Babies in neonatologischer Betreuung verfolgt.

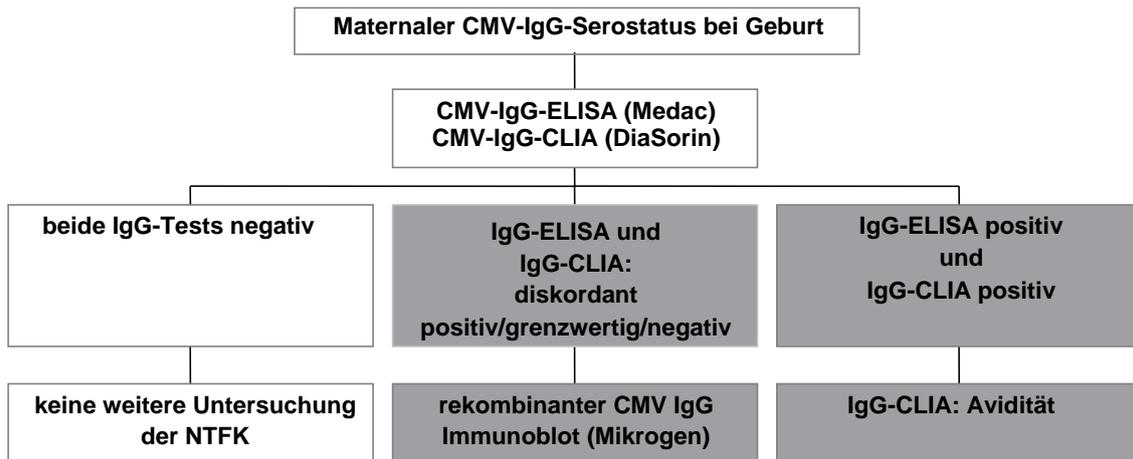
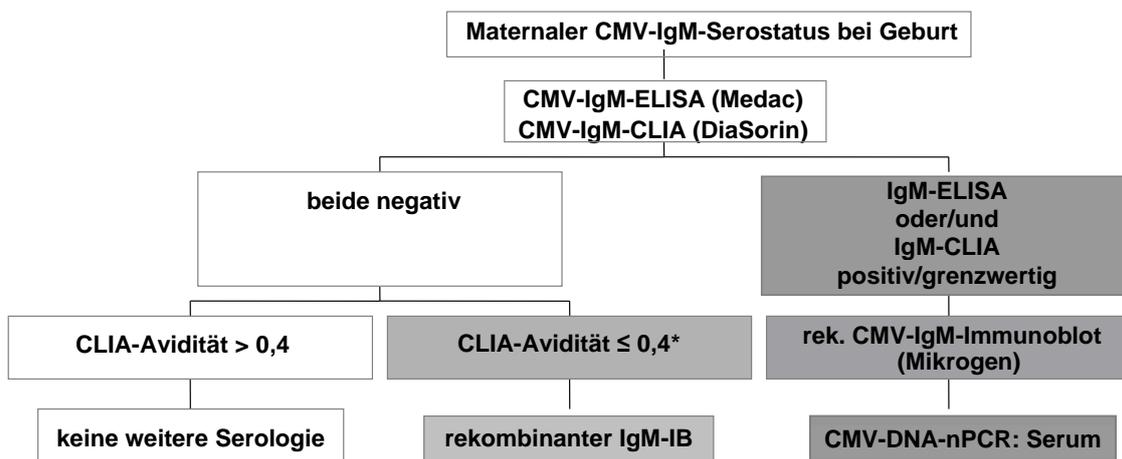


Abb. 9: Studiendesign zur Abklärung des maternalen CMV-IgG-Serostatus bei Geburt in der Beobachtungszeit vom 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008



\* Aufgabe dieser Arbeit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$

Abb. 10: Studiendesign zur Abklärung des maternalen CMV-IgM-Serostatus bei Geburt in der Beobachtungszeit vom 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008

Bei Unklarheiten und Abweichungen, die im Rahmen des Screenings mittels der verwendeten Methoden des ELISAs von Medac und CLIAS von DiaSorin auftraten, wurde zur Abklärung der rekombinante Immunoblot von Mikrogen durchgeführt. Außerdem wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit bei allen CLIA-IgG-Aviditätswerten  $\leq 0,4$  sowohl ein rekombinanter IgM-Immunoblot als auch ein IgG-Aviditäts-Immunoblot durchgeführt, denn die Grenze zwischen nieder- und hoch aviden Indizes erstreckt sich über einen sehr schmalen Korridor ( $> 0,2$  und  $\leq 0,3$ ).

Der Umfang der korrespondierenden Mutter-Kind-Paare wurde auf 5000 festgelegt, der Zeitraum der hier evaluierten Daten erstreckt sich allerdings nur vom 01. Januar 2008 bis zum 31. Dezember 2008 und umfasst 1564 evaluierbare Mutter-Kind-Paare mit 1604 Neugeborenen, darunter 40 Zwillingspaare (ABB. 11).

## 4.2 Maternale Seroprävalenz bei Geburt

Zum Zeitpunkt der Geburt wiesen 815 der 1564 Mütter ein negatives CMV-IgG auf, für die korrespondierenden 837 Neugeborenen, darunter 22 Zwillinge, bestand somit keine Gefahr einer kongenitalen CMV-Infektion (ABB. 11). Dies bedeutet allerdings auch, dass 52,1 Prozent der hier untersuchten Mütter im Falle einer weiteren Schwangerschaft dem Risiko einer CMV-Neuinfektion ausgesetzt sind, und somit auch einem erhöhten Risiko auf kongenitale Übertragung.

Bei 749 der 1564 Mütter ließ sich zum Geburtszeitpunkt ein positives CMV-IgG detektieren, die korrespondierenden 767 Neugeborenen, darunter 18 Zwillinge, hatten somit ein theoretisches Risiko, kongenital CMV-infiziert zu sein. Die CMV-IgG-Seroprävalenz betrug demzufolge bei allen in die Studie eingeschlossenen Müttern 47,9 Prozent.

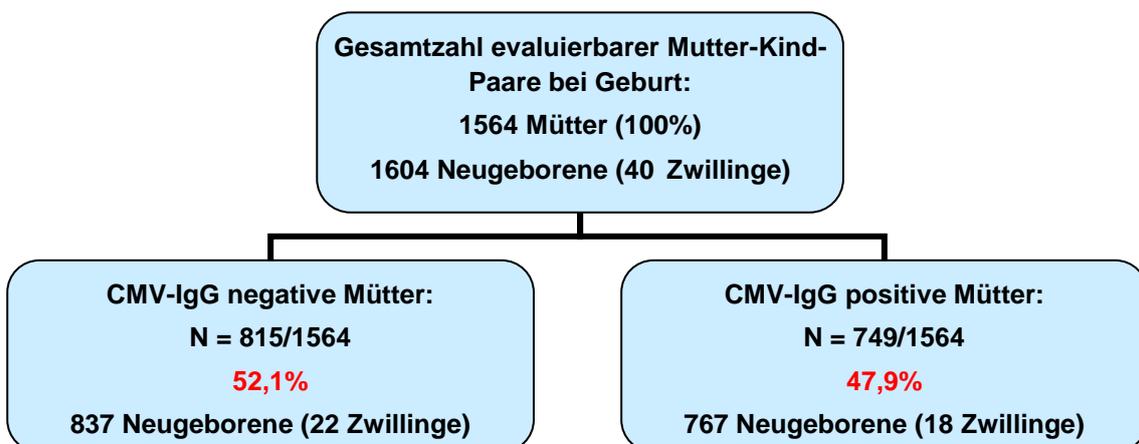


Abb. 11: Mütterliche Seroprävalenz bei Geburt im Beobachtungszeitraum 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008

Die CLIA-Aviditätsindizes aller im CLIA als IgG-positiv ermittelten Frauen (insgesamt 738) verteilen sich über den gesamten möglichen Bereich zwischen 0,01 und 0,99 (ABB. 12). Bei den Müttern, bei denen der IgG-CLIA ein vom rekombinanten IgG-Immuno-Blot als Referenztest abweichendes negatives oder grenzwertiges Ergebnis hervorbrachte, konnte auch der CLIA-Aviditätsindex nicht bestimmt werden. Die Verteilung aller ermittelten CLIA-Aviditätsindizes ähnelt einer leicht zu höheren Aviditätswerten verschobenen Normalverteilung mit einer Häufung der Aviditätswerte zwischen 0,5 und 0,6. Auffällig ist die geringe Anzahl an Werten unter 0,2.

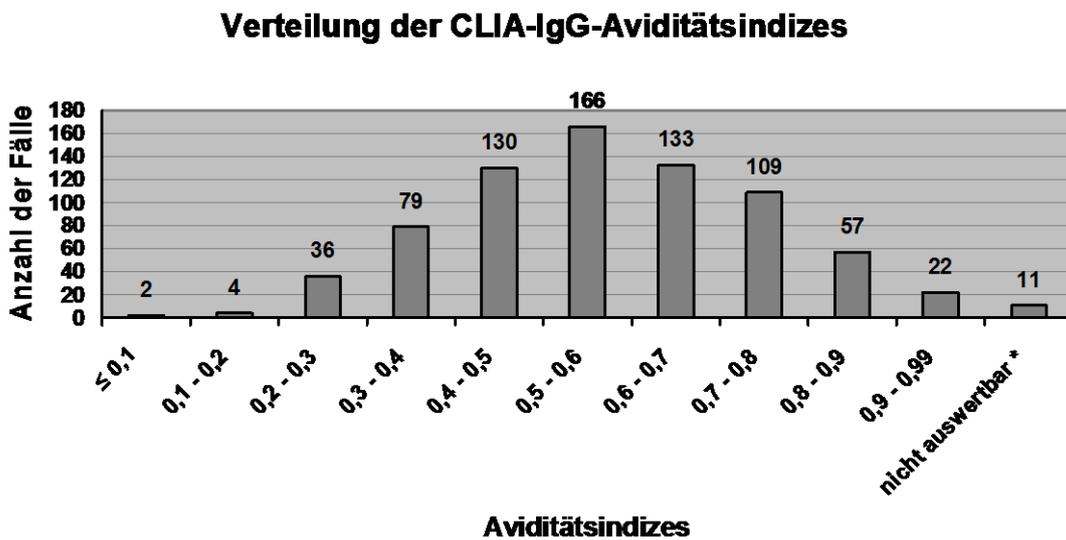


Abb. 12: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes von 738 der 749 IgG-seropositiven Mütter  
 \* Bei diesen elf Müttern konnte aufgrund von grenzwertigen oder negativen CLIA-IgG-Resultaten kein Aviditätsindex ermittelt werden.

### 4.3 Maternale IgG-Seronegativität

Alle 815 IgG-seronegativen Mütter wiesen in den beiden standardmäßig angewandten Tests ELISA und CLIA ein negatives CMV-IgM auf. In 805 Fällen stimmten sowohl IgG- als auch IgM-Status in ELISA und CLIA überein, das bedeutet, in 98,8 Prozent der untersuchten maternalen Seren waren die ermittelten Ergebnisse konkordant. Bei zehn Müttern ergaben sich Abweichungen der beiden Tests für den IgG-Status, davon wurden in sechs Fällen bei negativem IgG-CLIA im ELISA von Medac positive (ein Fall) beziehungsweise grenzwertige (fünf Fälle) IgG-Ergebnisse detektiert. Bei drei Müttern zeigte der CLIA von DiaSorin bei negativem IgG-ELISA ein positives (zwei Fälle) oder grenzwertiges (ein Fall) Ergebnis auf (TAB. 37 und TAB. 38). Ein Fall ergab bei grenzwertigem IgG-ELISA (und bei einer Wiederholung des IgG-ELISAs sogar positiven Ergebnisses) sowie positivem IgG-CLIA ein negatives IgG-Ergebnis im rekombinanten IgG-Immunoblot. Alle zehn in den Screeningtests unklaren Fälle wurden durch den rekombinanten IgG-Immunoblot von Mikrogen überprüft und als negativ verifiziert.

Tab. 37: Konstellationen diskrepanter Fälle mit negativem IgG im rekombinanten Immunoblot

IgG negativ im rek Immunoblot		IgG-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgG-ELISA	negativ	0	1	2	3
	grenzwertig	5	0	1	6
	positiv	1	0	0	1
Summe		6	1	3	10

Tab. 38: Übersicht über Abweichungen für den IgG-Serostatus von seronegativen Müttern im rekombinanten IgG-Immunoblot

Nr	H-Nummer	IgG-ELISA	IgG-CLIA	rek IgG-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1280	negativ	positiv	negativ	∅	∅	∅	+/-	+/-	∅
2	1314	negativ	positiv	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
3	4369	negativ	grenzwertig	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
4	3140	grenzwertig (positiv)	positiv	negativ	∅	+/-	∅	∅	∅	∅
5	720	grenzwertig	negativ	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
6	4560	grenzwertig	negativ	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
7	669	grenzwertig	negativ	negativ	∅	+/-	∅	∅	∅	∅
8	1163	grenzwertig	negativ	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
9	2278	grenzwertig	negativ	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
10	2683	positiv	negativ	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅

In dieser Gruppe wurden alle in den beiden Standard-Screeningtests IgG-ELISA sowie IgG-CLIA durch diskrepante IgG-Ergebnisse auffällige Mütter auf ihre AU-Werte (ELISA) bzw. IE-Werte (CLIA) überprüft. Eine Zusammenstellung dieser Werte zeigt TAB. 39.

Tab. 39: Zusammenstellung ermittelter AU- bzw. IE-Werte bei diskrepanten IgG-Ergebnissen der Screeningtests ELISA und CLIA bei negativem IgG-Ergebnis im rekombinanten IgG-Immunoblot

Nr	H-Nummer	IgG-ELISA		IgG-CLIA	
		Ergebnis	AU-Werte* (AU/mL)	Ergebnis	IE-Werte* (IE/mL)
1	1280	negativ	0,12	positiv	3,0
2	1314	negativ	0,01	positiv	7,3
3	4369	negativ	0,03	grenzwertig	0,52
4	3140	grenzwertig / positiv	0,65 / 0,79	positiv	1,1
5	720	grenzwertig	0,46 / 0,49	negativ	< 0,2
6	4560	grenzwertig	0,51	negativ	< 0,2
7	669	grenzwertig	0,54	negativ	< 0,2
8	1163	grenzwertig	0,61	negativ	< 0,2
9	2278	grenzwertig	0,50	negativ	< 0,2
10	2683	positiv	1,7	negativ	< 0,2

\* Grenzbereich für IgG-ELISA: 0,45 - 0,65 AU/mL; Grenzbereich für IgG-CLIA: 0,4 - 0,6 IE/mL (siehe auch Kap. 3.1.1.1 und Kap. 3.2.1.1 )

Bei Seronegativität der Mütter gab es somit nur in 1,2 Prozent der untersuchten Seren diskrepante Ergebnisse, dies entspricht einer Konkordanz des IgG-ELISAs und des IgG-CLIAs von 98,8 Prozent. Dabei schnitt der IgG-CLIA mit nur vier vom rekombinanten IgG-Immuno- blot abweichenden Ergebnissen besser ab als der IgG-ELISA mit sieben vom IgG-Immuno- blot abweichenden Ergebnissen (ABB. 13).

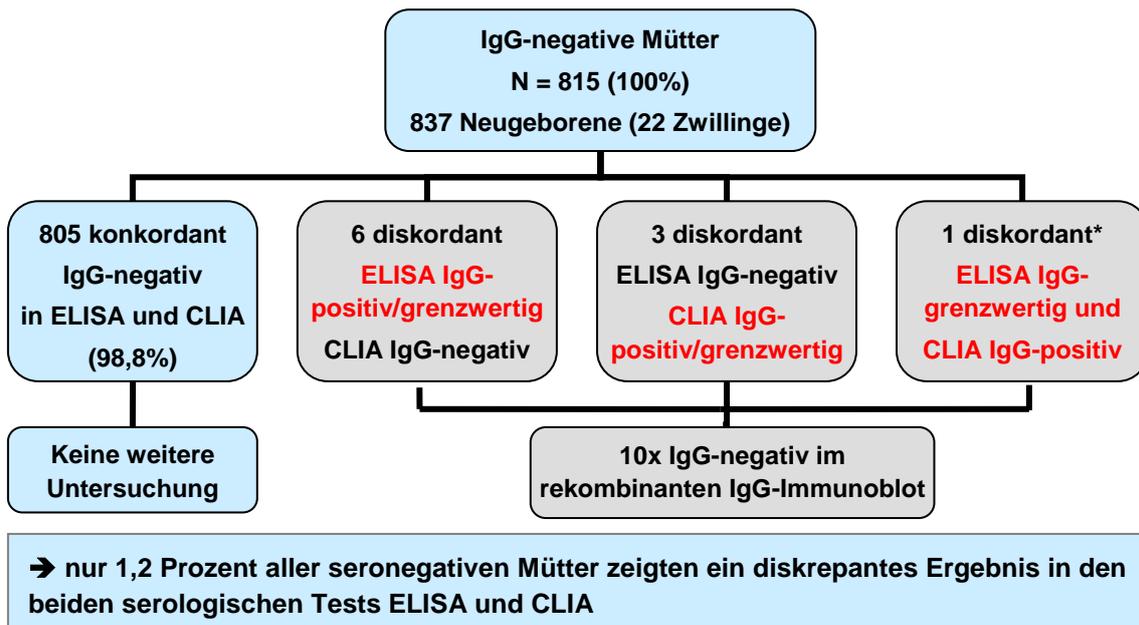


Abb. 13: Übersicht über konkordante und diskrepante Ergebnisse seronegativer Mütter und Verifizierung via rekombinantem IgG-Immuno- blot

\* Sonderfall, siehe Kap. 4.3.1

#### 4.3.1 Sonderfall: Grenzwertiger bzw. positiver IgG-ELISA sowie positiver IgG-CLIA bei negativem IgG im rekombinanten IgG-Immuno- blot

(Fall 4, TAB. 38, TAB. 39, TAB. 40)

Ein besonderer Fall aus der Gruppe diskordant seronegativer Mütter soll hier nochmals gesondert betrachtet werden. Es handelt sich hier um eine Mutter, die zunächst im IgG-ELISA ein grenzwertiges Resultat sowie ein positives IgG-Ergebnis im IgG-CLIA aufwies. Der zur Kontrolle durchgeführte rekombinante IgG-Immuno- blot zeigte hier jedoch ein eindeutig negatives Ergebnis, es war nur

eine Andeutung einer p150-Bande zu erkennen. Bei einer wiederholten Untersuchung der Screeningtests konnte mit einem AU-Wert von 0,79 AU/mL sogar ein positives IgG-Resultat im ELISA detektiert werden. Aufgrund der Besonderheit dieser Befund-Diskrepanz wurden in diesem Fall weitere (im Jahr 2008 zunächst nicht routinemäßig angewendete) serologische Tests durchgeführt, auf diese hier aber nicht näher eingegangen werden soll. Eine Übersicht aller bei diesem Fall retrospektiv durchgeführten Untersuchungsergebnisse ist in folgender Tabelle dargestellt (TAB. 40).

Tab. 40: Übersicht aller durchgeführten Untersuchungen im Fall H3140 (AF 71085247)

Analyt	Methode	Einheit	Ergebnis	Kommentar
CMV rek IgG Immunoblot	IB		negativ	Kein Nachweis einer CMV-spezifischen Reaktivität
CMV-IgM-ELA Medac	ELISA		negativ	
CMV-IgG-ELISA Medac	ELISA		grenzwertig / positiv	Wiederholter Nachweis von CMV IgG im ELISA: 0,65 (grenzwertig) sowie 0,79 (positiv)
CMV (IgG + IgM) Gesamt-Enzygnost	ELISA		negativ	
CMV-IgG-Enzygnost	ELISA		negativ	
CMV-IgG-CMIA	CMIA		positiv	
CMV-IgG quant. CMIA	CMIA	AU/mL	21,7	
CMV-IgG-CLIA	CLIA		positiv	
CMV-IgG quant. CLIA	CLIA	IE/mL	1,1	
CMV-IgG-Avidität-CLIA	CLIA		nicht auswertbar	
CMV-IgM-CLIA	CLIA		negativ	
CMV-IgG-ECLIA	ECLIA	AU/mL	negativ	0,15 (negativ bei < 0,5)
CMV-IgM-ECLIA	ECLIA		negativ	< 0,7 COI

Insgesamt zeigen hier demnach sowohl IgG-ELISA von Medac, IgG-CLIA von DiaSorin sowie der CMV-IgG-CMIA von Abbott falsch positive Resultate bei der Bestimmung des IgG-Serostatus auf. Im rekombinanten IgG-Immunoblot von Mikrogen zeigt sich hingegen keine CMV-spezifische Reaktivität, dies wird unterstützt durch ebenfalls negative IgG-Resultate des CMV-IgG-ECLIAs von Roche und des IgG-Enzygnosts sowie des Gesamt-Enzygnosts (IgG und IgM). In dem skizzierten Fall konnte durch weitere sequentielle Untersuchungen bis ins Jahr 2012 eindrucksvoll demonstriert werden, dass alle diskrepante Befunde über vier Jahre hinweg konstant blieben. Eine schwangerschaftsbedingte Fehlreaktivität sowie Kreuzreaktivitäten mit Parvo-Virus B19 und EBV konnten ausgeschlossen werden.

#### 4.4 Maternale IgG-Seropositivität ohne IgM-Detektion

Bei 749 aller 1564 in der Studie untersuchten Mütter konnte ein positiver IgG-Status festgestellt werden, dies entspricht einer CMV-IgG-Seroprävalenz von 47,9 Prozent. Die Detektion eines positiven CMV-IgGs bedeutete, dass die 767 zugehörigen Neugeborenen (einschließlich 18 Zwillingspaaren) mittels gepoolter nested PCR auf eine kongenitale CMV-Infektion gescreent wurden.

Aus der Gruppe der 749 IgG-seropositiven Mütter konnte bei 107 Frauen ein positiver IgM-Nachweis detektiert werden (drei Frauen davon fraglich), die Majorität von 642 (85,7 Prozent) der Frauen zeigte sich als IgM-negativ (ABB. 14). Bei 619 Müttern mit positivem IgG sowie negativem IgM stimmten die Ergebnisse in den beiden Screeningtests ELISA (Medac) und CLIA (DiaSorin) sowohl für den IgG- als auch für den IgM-Status überein. In 17 Fällen gab es allerdings Abweichungen bei der Bestimmung des IgMs in den beiden Standardtests ELISA und CLIA, diese konnten mittels Durchführung des rekombinanten IgM-Immuno blot als negativ verifiziert werden. Bei sechs Frauen stimmten ELISA und CLIA bei der Bestimmung des IgGs nicht überein, hier wurde via rekombinantes IgG-Immuno blot der positive IgG-Status bestätigt.

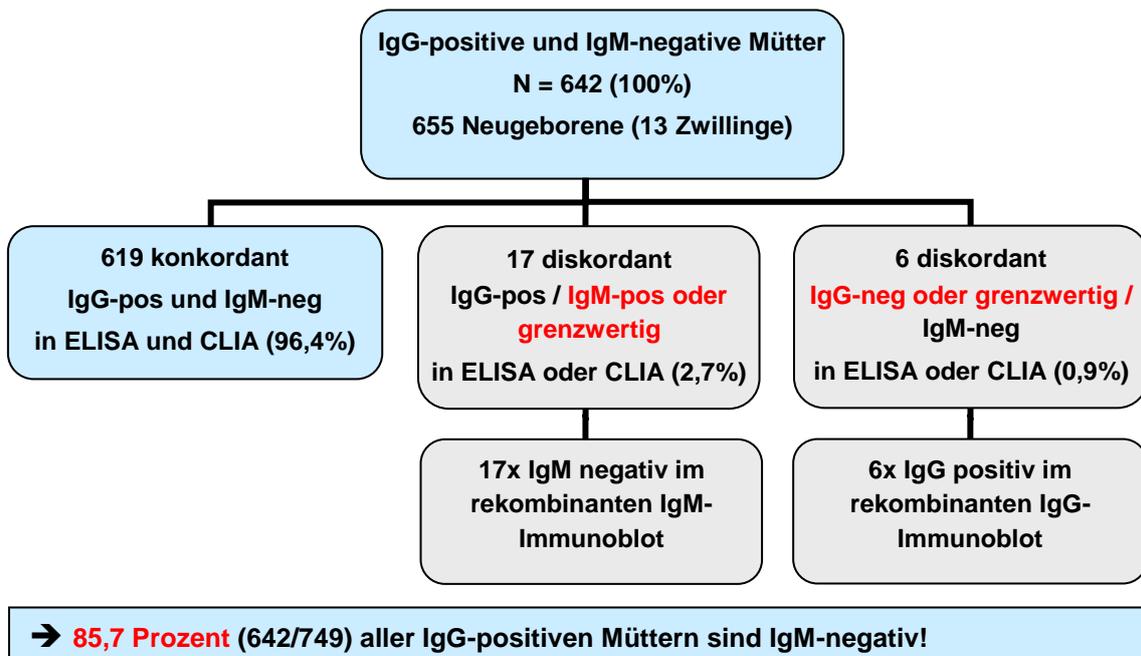


Abb. 14: Seropositive Mütter ohne IgM-Detektion im Beobachtungszeitraum 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008

#### 4.4.1 Konkordant IgG-positive/IgM-negative Mütter

Zu den insgesamt 619 von 642 (96,4 Prozent) IgG-positiven/IgM-negativen Müttern, bei denen ELISA (Medac) und CLIA (DiaSorin) ein übereinstimmendes Ergebnis sowohl für den IgG- als auch für den IgM-Antikörperstatus ergaben, wurden auch fünf Mütter hinzugezählt, die im IgG-CLIA grenzwertig positive Ergebnisse aufzeigten, diese konnten jedoch nach Durchführung des rekombinanten IgG-Immunoblots als positiv verifiziert werden. Von diesen fünf Müttern konnte der CLIA-IgG-Aviditätsindex in vier Fällen aufgrund des grenzwertigen CLIA-IgG-Befunds nicht ausgewertet werden. In einem weiteren Fall ergab der CLIA-Aviditätsindex aus unbekanntem Gründen trotz positivem CLIA-IgG-Resultat keinen Wert. In TAB. 41 sind alle Mütter zusammen gefasst, die einen CLIA-IgG-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  aufzeigten (insgesamt 37 von 619, entsprechend sechs Prozent). Der IgG-Status dieser 37 Mütter war in allen drei Tests (ELISA, CLIA und rekombinanter IgG-Immunoblot) übereinstimmend positiv und wird in der Tabelle aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht aufgeführt.

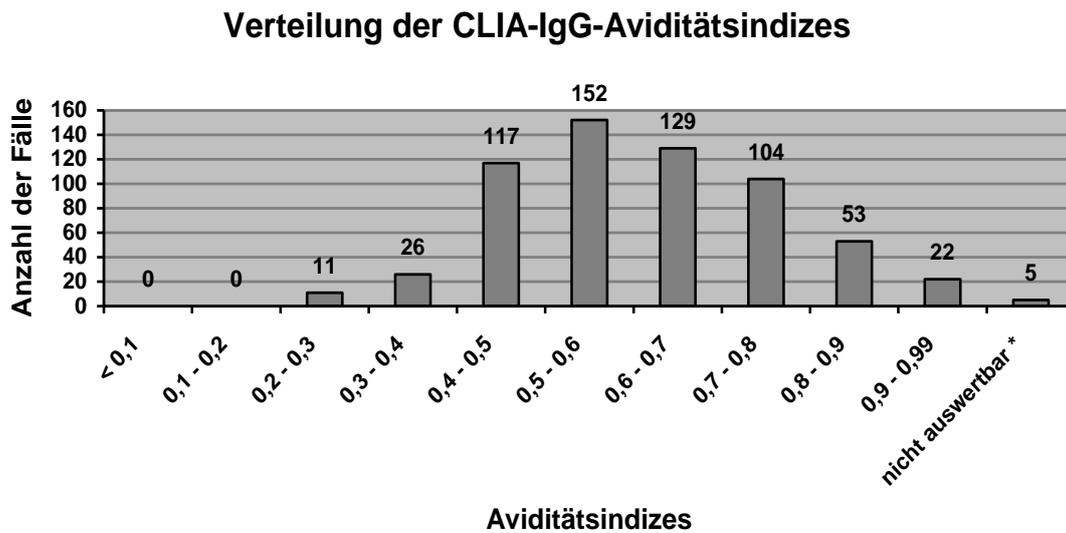
Tab. 41: Übersicht über IgM-Serostatus und Avidität konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter mit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG Aviditäts-Index	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
1	1208	negativ	negativ	negativ	0,21	niedrig
2	3549	negativ	negativ	negativ	0,21	hoch
3	3367	negativ	negativ	negativ	0,22	niedrig
4	2562	negativ	negativ	negativ	0,25	hoch
5	127	negativ	negativ	negativ	0,25	hoch
6	2801	negativ	negativ	negativ	0,28	hoch
7	3528	negativ	negativ	negativ	0,28	hoch
8	4149	negativ	negativ	negativ	0,28	hoch
9	1956	negativ	negativ	negativ	0,29	intermediär
10	83	negativ	negativ	negativ	0,29	hoch
11	792	negativ	negativ	negativ	0,30	hoch

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG Aviditäts-Index	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
12	3979	negativ	negativ	negativ	0,31	hoch
13	1735	negativ	negativ	negativ	0,32	hoch
14	2611	negativ	negativ	negativ	0,32	hoch
15	3128	negativ	negativ	negativ	0,33	hoch
16	2675	negativ	negativ	negativ	0,33	hoch
17	2678	negativ	negativ	negativ	0,35	hoch
18	1801	negativ	negativ	negativ	0,35	intermediär
19	1385	negativ	negativ	negativ	0,35	hoch
20	2245	negativ	negativ	negativ	0,36	hoch
21	2021	negativ	negativ	negativ	0,36	intermediär
22	3419	negativ	negativ	negativ	0,36	hoch
23	1359	negativ	negativ	negativ	0,36	hoch
24	1380	negativ	negativ	negativ	0,37	hoch
25	551	negativ	negativ	negativ	0,37	hoch
26	141	negativ	negativ	negativ	0,37	hoch
27	1185	negativ	negativ	negativ	0,37	hoch
28	1430	negativ	negativ	negativ	0,38	hoch
29	1689	negativ	negativ	negativ	0,38	hoch
30	367	negativ	negativ	negativ	0,38	hoch
31	4091	negativ	negativ	negativ	0,38	hoch
32	2845	negativ	negativ	negativ	0,40	hoch
33	839	negativ	negativ	negativ	0,40	hoch
34	2032	negativ	negativ	negativ	0,40	hoch
35	3178	negativ	negativ	negativ	0,40	hoch
36	3545	negativ	negativ	negativ	0,40	hoch
37	1166	negativ	negativ	negativ	0,40	hoch

#### **4.4.1.1 Vergleich der Avidität konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter**

Zur Auswertung des CMV-IgG-Aviditätsstatus wurde bei 614 der 619 konkordant IgG-positiven und IgM-negativen Mütter der CLIA-IgG-Aviditätsindex ermittelt (in vier Fällen war der Aviditätsindex aufgrund eines grenzwertigen CLIA-IgG-Befunds und in einem Fall aus unbekanntem Grund nicht auswertbar). Bei allen Müttern, die einen CLIA-IgG-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  aufwiesen, wurde ein rekombinanter IgG-Aviditäts-Immunoblot sowie ein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt. Dies war bei 37 der 614 Frauen, deren CLIA-IgG-Aviditätsindex ausgewertet werden konnte, der Fall. Bei den restlichen 577 Frauen ergab sich ein Aviditätsindex  $> 0,4$ . Das bedeutet, dass nur sechs Prozent der konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Mütter einen CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  aufwiesen, während dieser in 94 Prozent der ermittelten Aviditätswerte über 0,4 lag. Bemerkenswert ist, dass der niedrigste Wert des CLIA-IgG-Aviditätsindex in dieser Gruppe der konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Mütter bei 0,21 lag, es gab keinen einzigen Wert, der nach der Definition des Index einer niedrigen Avidität ( $\leq 0,2$ ) entsprochen hätte (wohingegen in der Gruppe der IgM-positiven Mütter einige Werte unter 0,2 lagen). Nur in elf Fällen befand sich der Aviditätsindex im Bereich zwischen 0,2 und 0,3, die Gruppe der Mütter mit Aviditätsindex in der Subklasse zwischen 0,3 und 0,4 war mit 26 Fällen deutlich größer. In den Aviditätsindex-Bereich zwischen 0,4 und 0,5 ließen sich 117 Fälle einordnen, 152 fielen in den Bereich zwischen 0,5 und 0,6, danach sanken die Zahlen der Fälle pro Aviditäts-Subklasse wieder. Die Verteilung ähnelt somit einer Normalverteilung im Sinne einer Gauß'schen Glockenkurve (ABB. 15) mit einem leichten Knick im Übergang des Bereichs zwischen 0,3 und 0,4 zum Bereich zwischen 0,4 und 0,5.



**Abb. 15: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der insgesamt 619 konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Mütter**  
 \* aufgrund grenzwertiger CLIA-IgG-Resultate bzw. in einem Fall aus unbekanntem Grund

Beim Vergleich des CLIA-IgG-Aviditätsindizes mit dem Aviditätstest des rekombinanten IgG-Immunooblots ließen sich im intermediär aviden Bereich (gemäß CLIA-Aviditätsindex) wenige Übereinstimmungen finden. Die elf Mütter, die - nach Definition der Grenzen des CLIA-Aviditätsindizes - einen intermediären Antikörperstatus im CLIA aufwiesen, zeigten im rekombinanten Immuno blot in acht Fällen hoch avide, in einem Fall intermediär avide und in zwei Fällen niedrig avide Antikörper auf. Das bedeutet, dass nur in 9,1 Prozent der Fälle, die einen CLIA-Aviditätsindex im intermediären Bereich aufwiesen, eine Übereinstimmung mit dem rekombinanten IgG-Aviditäts-Immuno blot gegeben war. Mit ansteigendem Aviditätsindex nahm aber auch der Grad der Konkordanz zu. So stimmte der Aviditätsstatus beider Tests im definitionsgemäß bereits hoch aviden Bereich zwischen 0,3 und 0,4 bei 24 von 26 Müttern überein, bei zwei Müttern konnten im rekombinanten IgG-Aviditäts-Immuno blot intermediär avide Antikörper detektiert werden. Dies entspricht einer Konkordanz in diesem Bereich von 92,3 Prozent.

Eine Veranschaulichung der Aufteilung der CLIA-Aviditätswerte in die Kategorien  $\leq 0,4$  und  $> 0,4$  und die zugehörigen Resultate des rekombinanten Aviditäts-Immunooblots zeigt ABB. 16.

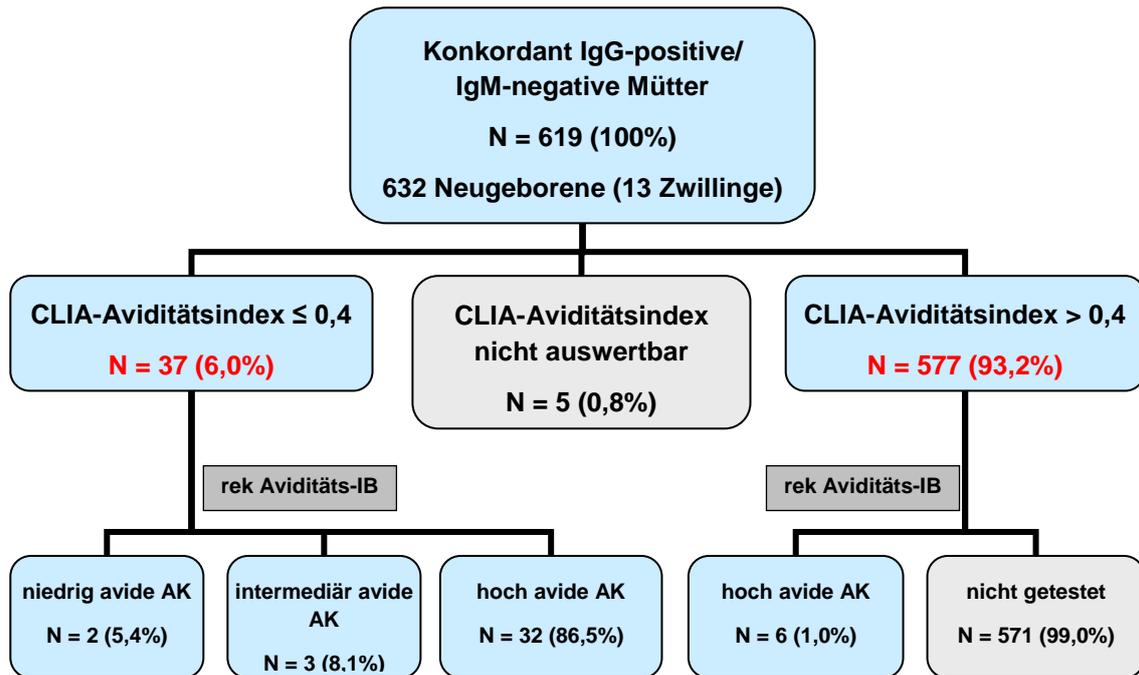


Abb. 16: Veranschaulichung der Verteilung der CLIA-Aviditätsindizes und der zugehörigen Aviditätsresultate des rekombinanten Immunoblots bei konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern

In obiger Darstellung wird deutlich, dass die Anzahl an Resultaten mit niedriger oder intermediärer Avidität im rekombinanten Immunoblot sehr gering ist. Aber auch die Anzahl der Frauen mit Aviditätsindizes  $\leq 0,4$  ist im Vergleich zu höheren Aviditätsindizes ( $> 0,4$ ) sehr klein und entspricht nur 6,0 Prozent der Frauen in dieser Gruppe. Aufgrund der dieser Arbeit zu Grunde liegenden Aufgabenstellung (Überprüfung aller Frauen mit CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$  via rekombinanten IgM- und Aviditäts-Immunoblot) wurde hier eine große Anzahl an Frauen (571) nicht im rekombinanten Immunoblot getestet, da ihr Aviditätsindex außerhalb des zu überprüfenden Bereichs lag.

Eine Betrachtung der Einzelreaktivitäten der rekombinanten IgG- und Aviditäts-Immunoblots sowie auch der Glykoprotein-B-spezifischen IgG-Antikörperreaktivität erfolgt in TAB. 42.

Tab. 42: Vergleich der Avidität konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter im Detail und Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität

Nr	H- Nummer	CLIA-IgG- Aviditäts- Index	rek. IgG- Aviditäts- Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1208	0,21	niedrig	∅	+	++	+	++	+/-
				∅	+/-	+	+/-	+/-	∅
2	3549	0,21	hoch	++	+++	+++	+++	++	++
				++	+++	+++	++	++	+
3	3367	0,22	niedrig	++	+	++	+	++	∅
				++	∅	+	+	++	∅
4	2562	0,25	hoch	+/-	++	∅	+	++	++
				+/-	++	∅	+/-	+	++
5	127	0,25	hoch	∅	++	∅	∅	++	+
				∅	++	∅	∅	++	+
6	2801	0,28	hoch	+	+++	+++	++	+++	∅
				+	++	++	+	+/-	∅
7	3528	0,28	hoch	+	++	+++	+	++	++
				+	+	++	+	+	+
8	4149	0,28	hoch	+++	+++	++	++	++	∅
				+++	+++	+	+	++	∅
9	1956	0,29	intermediär	∅	++	+	∅	++	++
				∅	+	∅	∅	++	+
10	83	0,29	hoch	+	+++	+	+	++	∅
				+	+++	+/-	∅	+	∅
11	792	0,30	hoch	∅	+++	+	++	+++	+++
				∅	+++	+/-	++	+++	+++
12	3979	0,31	hoch	++	++	++	+++	+++	++
				++	++	++	++	++	++
13	1735	0,32	hoch	+	+++	+/-	+/-	++	∅
				+	++	∅	+/-	+	∅
14	2611	0,32	hoch	∅	++	∅	++	+++	+++
				∅	++	∅	+	+++	+++
15	3128	0,33	hoch	++	+++	++	++	+++	+++
				++	+++	+	+	+++	+++
16	2675	0,33	hoch	∅	+++	+	++	++	+++
				∅	+++	+	+	+	++
17	2678	0,35	hoch	++	+++	+/-	+	++	+++
				++	+++	∅	+/-	++	++
18	1801	0,35	intermediär	+/-	++	+	++	++	+
				+/-	+	+/-	+	++	+
19	1385	0,35	hoch	+	+++	+	++	+++	+++
				+	+++	+	++	+++	+++

Nr	H- Nummer	CLIA-IgG Aviditäts- Index	rek. IgG- Aviditäts- Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot/ Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
20	2245	0,36	hoch	∅	++	+	∅	+	+
				∅	++	+	∅	+	+
21	2021	0,36	intermediär	+	++	++	∅	++	+
				+/-	++	+	∅	++	+
22	3419	0,36	hoch	∅	+++	∅	∅	+++	++
				∅	+++	∅	∅	+++	++
23	1359	0,36	hoch	+	++	∅	+	++	++
				∅	++	∅	∅	++	+
24	1380	0,37	hoch	+/-	++	∅	+	++	+++
				+/-	++	∅	+	++	+++
25	551	0,37	hoch	+	+++	∅	∅	+++	+++
				+/-	+++	∅	∅	+++	+++
26	141	0,37	hoch	+	+++	+++	+++	+++	+++
				+	+++	+++	++	+++	+++
27	1185	0,37	hoch	++	++	+	+++	++	+++
				++	++	∅	++	++	++
28	1430	0,38	hoch	+/-	+++	+/-	∅	++	∅
				∅	++	∅	∅	+	∅
29	1689	0,38	hoch	∅	+++	+	∅	++	+++
				∅	+++	+	∅	++	+++
30	367	0,38	hoch	+	+++	∅	+/-	+/-	∅
				+/-	++	∅	∅	∅	∅
31	4091	0,38	hoch	+	++	+	+	+	++
				+	++	+	∅	+	+
32	2845	0,40	hoch	++	+++	+/-	+/-	+++	+++
				++	+++	+/-	∅	+++	+++
33	839	0,40	hoch	+	++	+	+/-	+++	++
				+	++	+	∅	++	+
34	2032	0,40	hoch	++	+++	++	++	+	∅
				++	++	+	+	+	∅
35	3178	0,40	hoch	∅	+++	+/-	∅	+++	+++
				∅	+++	∅	∅	+++	+++
36	3545	0,40	hoch	+	+++	++	∅	+	+
				+	+++	+	∅	+	+
37	1166	0,40	hoch	++	+++	+/-	++	+++	+++
				++	+++	∅	++	+++	+++

*Einzelreaktivitäten des rekombinanten IgG-Immunoblots*

*Einzelreaktivitäten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots*

*Keine bzw. sehr schwache gB2-Reaktivität*

*Sehr starke gB2-Reaktivität*

#### **4.4.1.2 Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern**

Zur Betrachtung der IgG-Antikörperreaktivität gegen Glykoprotein B wurde bei allen 37 Müttern, die mit ihrem Aviditätsindex  $\leq 0,4$  lagen, ein rekombinanter IgG-Immunoblot sowie ein IgG-Aviditäts-Immunoblot durchgeführt (TAB. 42). Von diesen insgesamt 37 IgG-Immunoblots waren nur in acht Fällen keine Antikörper gegen gB2 nachweisbar, in einem weiteren Fall war eine gB2-Bande nur andeutungsweise erkennbar, die anderen 28 IgG-Immunoblots zeigten alle Antikörperbanden sowohl gegen gB1 als auch gegen gB2 (ABB. 17). Bei jedem der neun Immunoblots, in denen keine bzw. nur eine sehr schwach ausgeprägte gB2-Bande nachweisbar war, konnten gB1-Banden nachgewiesen werden. Die hohe Anzahl der Blots mit Glykoprotein-B-spezifischer Antikörperreaktivität lässt darauf schließen, dass in dieser Gruppe konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Mütter kaum CMV-Primärinfektionen zu finden sind. Dies korreliert somit natürlich auch mit der Tatsache, dass die Mütter dieser Gruppe alle IgM-negativ sind und zudem nur in zwei Fällen niedrig avide Antikörper im Immunoblot und gleichzeitig intermediär avide Antikörper im CLIA festgestellt werden konnten (Fall 1 und Fall 3 aus TAB. 42), alle weiteren Fälle zeigten mindestens intermediär oder hoch avide Antikörper, was als Indiz für eine länger zurückliegende Infektion gilt. Eine Korrelation der ermittelten CLIA-Aviditätsindizes und der Abwesenheit Glykoprotein-B-spezifischer Antikörper lässt sich nicht erkennen. Die Spanne der Aviditätsindizes mit nicht nachweisbaren gB2-Antikörpern erstreckt sich von 0,21 bis 0,40, mit einer Häufung bei 0,21 bis 0,32 und dann erst wieder bei 0,38 bis 0,40. Auch bei Betrachtung des Aviditäts-Immunoblots lassen sich keine eindeutigen Tendenzen erkennen, in zwei Fällen tritt gB2-Abwesenheit mit niedrig aviden Antikörpern im Immunoblot auf, in allen weiteren sieben Fällen gemeinsam mit hoch aviden Antikörpern.

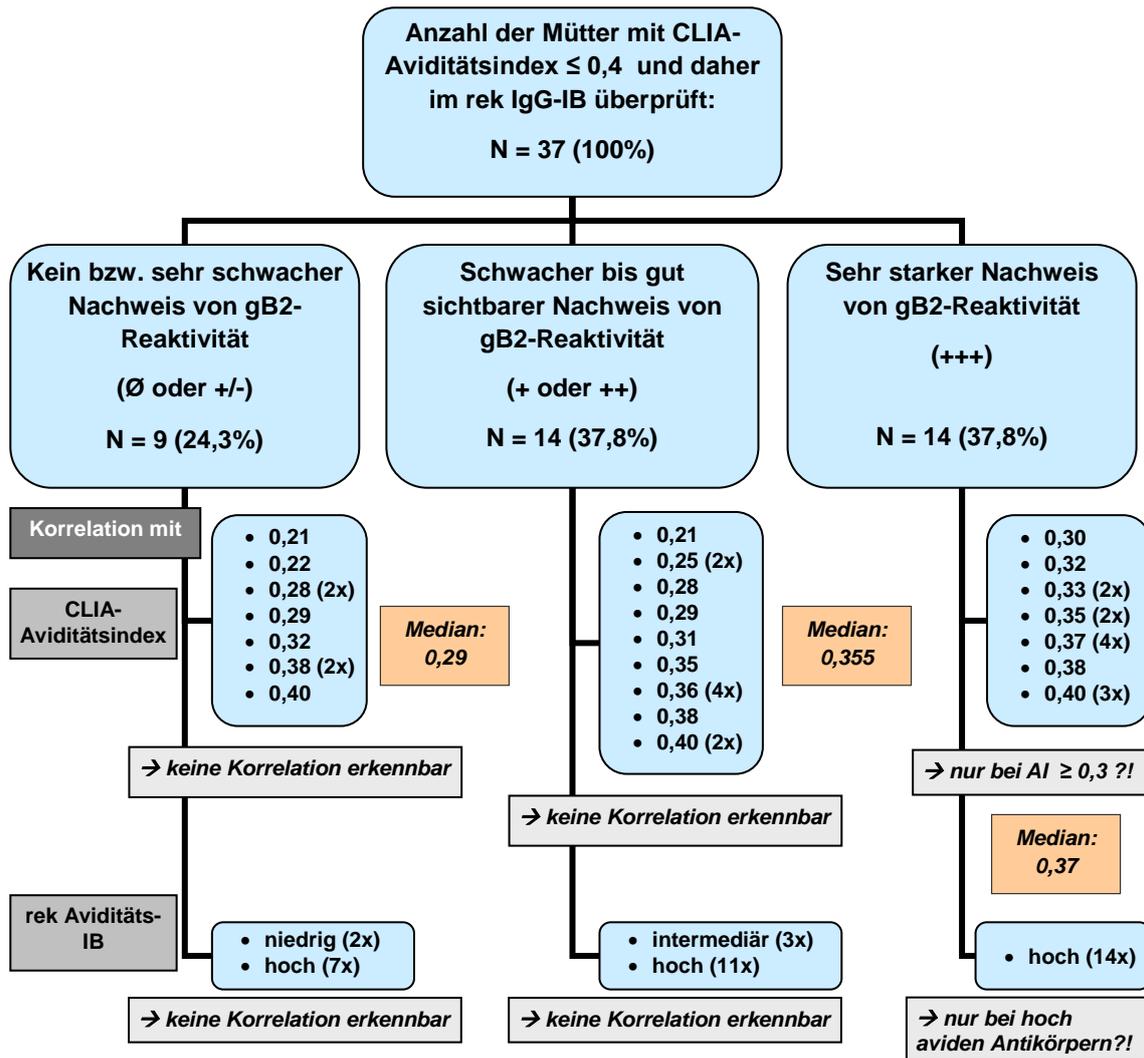


Abb. 17: Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität von konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern und ggf. Korrelation mit Aviditätsresultaten (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot)

Auch wenn hier auf den ersten Blick keine eindeutige Korrelation zwischen fehlender gB2-Reaktivität und Avidität zu erkennen ist, zeigt sich ein Trend zu gleichzeitigem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität („+++“) mit hoher Avidität in sowohl rekombinanten Aviditäts-Immunoblot als auch CLIA-Aviditätsindex (TAB. 43). Außerdem scheinen niedrig averse Antikörper (wenn auch nur im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot) nur gemeinsam mit einer Abwesenheit von gB2-Reaktivität aufzutreten. Der Trend zu einer Korrelation von starker gB2-Reaktivität und hoher Avidität wird durch die Errechnung des Medians der CLIA-Aviditätswerte unterstützt. Dieser liegt bei fehlender bzw.

sehr schwacher gB2-Reaktivität bei einem Aviditätsindex von 0,29 und steigt bei stärkerer gB2-Reaktivität über 0,355 bis zu 0,37 bei sehr starker gB2-Reaktivität an. Das impliziert hohe Avidität korreliert mit starker gB2-Reaktivität. Umgekehrt hingegen findet sich bei fehlender oder sehr schwacher gB2-Reaktivität im rekombinanten IgG-Immunoblot im CLIA-Aviditätsindex in 44,4 Prozent der Fälle eine diskrepante hohe IgG-Avidität (vier von neun Fällen) und im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot sogar in sieben von neun Fällen (77,8 Prozent).

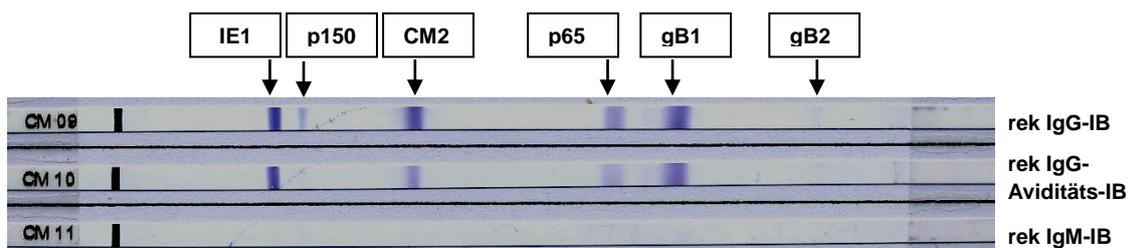
Tab. 43: Korrelation von gB2-IgG-Antikörperreaktivität mit Aviditätsstatus: Trend zu gemeinsamem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität in beiden Aviditäts-Tests bei konkordant IgG-positiven/IgM-negativen Müttern

gB2-IgG-Antikörperreaktivität		Aviditätsstatus via	rekombinanter Aviditäts-Immunoblot		CLIA-Aviditätsindex	
gB2 +++	→	hoch	14/14	100%	14/14	100%
gB2 ++	→	hoch	8/9	88,9%	5/9	55,6%
		intermediär	1/9	11,1%	4/9	44,4%
gB2 +	→	hoch	3/5	60,0%	4/5	80,0%
		intermediär	2/5	40,0%	1/5	20,0%
gB2 Ø oder +/-	→	hoch	7/9	77,8%	4/9	44,4%
		intermediär	0/9	0%	5/9	55,6%
		niedrig	2/9	22,2%	0/9	0%

#### 4.4.1.3 Fragliche Primärinfektion ohne IgM-Nachweis: Einzelfälle

- 1) CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-IgG-Reaktivität / niedrige Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / keine IgM-Reaktivität  
(Fall 3, TAB. 41, TAB. 42)

Die zum Zeitpunkt der Geburt 36-jährige Mutter wies zwar sowohl in ELISA, CLIA als auch im rekombinanten Immunoblot einen negativen IgM-Befund auf, dennoch erfüllte sie Kriterien, die auf eine Primärinfektion hinweisen könnten. Zum einen konnte bei ihr im rekombinanten IgG-Immunoblot keine Antikörperreaktivität gegen gB2 nachgewiesen werden (RECOMBLOT CMV 1). Zum anderen konnten mit einem CLIA-Aviditätsindex von 0,22 intermediär averse Antikörper nachgewiesen werden, während im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot niedrig averse Antikörper detektiert werden konnten.



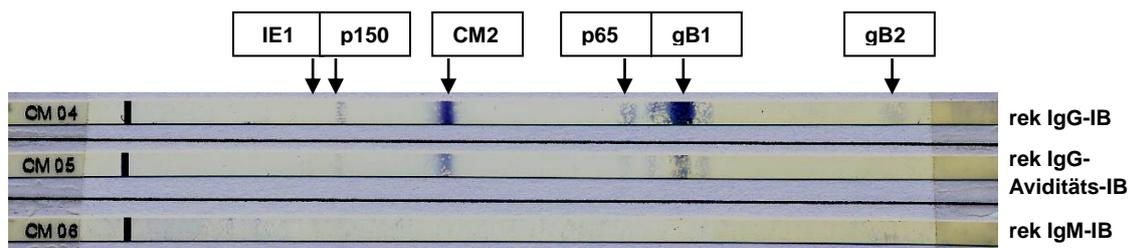
recomBlot CMV 1: H3367, Abnahmedatum 02.09.2008

An diesem rekombinanten IgG-Immunoblot ist vor allem auffällig, dass die p150-Bande hier im Vergleich zu den anderen Banden nur sehr schwach ausgeprägt ist, im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot ist sie sogar gänzlich unsichtbar. Diese Serokonstellation ist sehr selten und am ehesten als ein Hinweis auf ein frühes Stadium der Infektion zu interpretieren. Dafür spricht auch die Tatsache, dass keine gB2-spezifische IgG-Antikörperreaktivität erkennbar ist. Die zur Bewertung der Avidität in Betracht zu ziehenden Banden IE1, p150 und CM2 zeigen im Falle von IE1 nur eine geringe Abschwächung der Bandenintensität, p150 dagegen ist überhaupt nicht mehr sichtbar und auch CM2 zeigt eine Intensitätsabnahme um mindestens 50 Prozent, so dass die Kriterien des Testherstellers für niedrige Avidität (Abnahme von mindestens zwei der drei Banden IE1, p150 und CM2 um mindestens 50 Prozent) als erfüllt betrachtet werden können. Dies könnte eventuell als Indiz für eine akute

Infektion gedeutet werden. Allerdings nicht dazu passend ist der fehlende IgM-Nachweis in allen durchgeführten Tests.

2) CMV-Serostatus bei Geburt: Kaum sichtbare gB2-IgG-Reaktivität / niedrige Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / keine IgM-Reaktivität (Fall 1, TAB. 41, TAB. 42)

Die bei Geburt 38 Jahre alte Mutter wurde zwar IgM-negativ getestet, wies aber mit einem CLIA-Aviditätsindex von 0,21 und niedrig aviden Antikörpern im rekombinanten Aviditäts-ImmunoBlot Indizien für eine primäre CMV-Infektion auf (RECOMBLOT CMV 2). Außerdem konnte bei ihr nur eine sehr schwache gB2-Antikörperreaktivität detektiert werden. Dies und die niedrige Avidität sprechen für eine Primärinfektion.



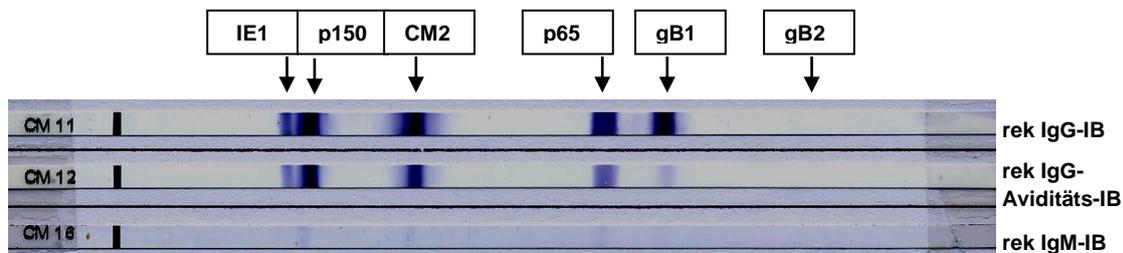
recomBlot CMV 2: H1208, Abnahmedatum 26.03.2008

Bei der Betrachtung des rekombinanten IgG-ImmunoBlots fällt einem zunächst die sehr stark gefärbte gB1-Bande auf. Besonders zu beachten ist die im Vergleich dazu äußerst schwach ausgeprägte p150-Bande. Die gB2-Bande zeigt eine kaum sichtbare Reaktivität. Auf dem Aviditätsstreifen ist eine p150-Reaktivität kaum mehr zu erkennen, und auch die CM2-Bande ist im Vergleich zur IgG-Bande um mindestens 50 Prozent abgeschwächt. Die IE1-Bande kann in diesem Fall nicht ausgewertet werden, da sie weder im IgG- noch im Aviditäts-Blot detektierbar ist. Die Kriterien einer niedrigen Avidität sind somit erfüllt. Im rekombinanten IgM-ImmunoBlot sind keine Antikörperreaktivitäten zu erkennen. Die Gesamtbeurteilung ist hier mit zwei Indizien, die eher für eine Primärinfektion sprechen und der Abwesenheit einer IgM-Reaktivität nicht zweifelsfrei möglich.

#### 4.4.1.4 Sonderfälle von IgG-positiven/IgM-negativen Müttern

- 1) CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / sehr schwache IgM-Reaktivität  
(Fall 6, TAB. 41, TAB. 42)

Bei der 28-jährigen Mutter konnten bei einem CLIA-Aviditätsindex von 0,28 im rekombinanten Aviditäts-Immuno blot hoch avide Antikörper aufgezeigt werden (RECOMBLOT CMV 3). Bei sehr stark ausgeprägten Banden gegen IE1, p150, CM2, p65 und gB1 ließ sich keine Antikörperreaktivität gegen gB2 detektieren. Im rekombinanten IgM-Immuno blot zeigten sich zwar schwache Reaktivitäten, die Kriterien für einen positiven Nachweis wurden jedoch nicht erfüllt.

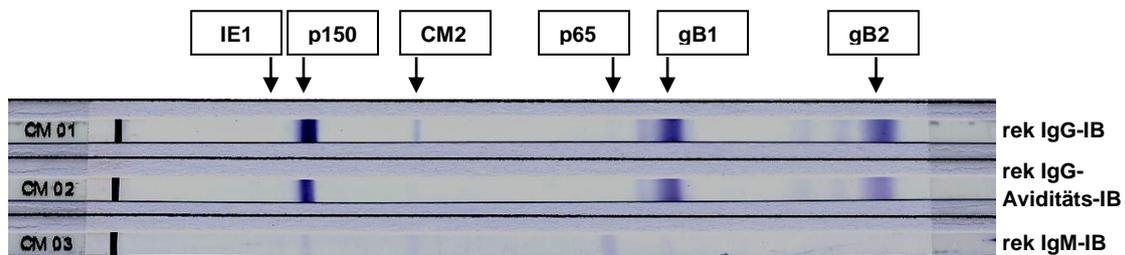


recomBlot CMV 3: H2801, Abnahmedatum 22.07.2008

Die IgG-Reaktivitäten gegen p150, CM2, p65 und gB1 sind im rekombinanten IgG-Immuno blot an Intensität kaum zu übertreffen, was zumeist eher bei länger zurückliegenden Infektionen so zu sehen ist. Nicht dazu ins Bild passend ist hingegen die fehlende gB2-Antikörperreaktivität. Auf dem Aviditätsstreifen ist für alle der drei zu betrachtenden Banden zumindest eine leichte, aber nicht mehr als 25-prozentige, Abnahme der Intensität zu erkennen, was nach Vorgabe des Herstellers für eine hohe Avidität spricht. Damit lässt sich der Blot nicht eindeutig einer akuten oder länger zurückliegenden Infektion zuordnen. Der rekombinante IgM-Immuno blot zeigt sehr schwache Reaktivitäten gegen p150, CM2 und p65. Diese sind jedoch nicht ausreichend intensiv ausgeprägt um als positiv bewertet zu werden. Eine eindeutige Beurteilung dieses Immuno blots ist damit nicht möglich.

2) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / intermediäre Avidität  
 (sowohl rek IB als auch CLIA) / sehr schwache IgM-Reaktivität  
 (Fall 9, TAB. 41, TAB. 42)

Der rekombinante Immunoblot dieser bei Geburt 32-jährigen Mutter ist interessant, da hier im IgM-Blot p150-, CM2- und p65-Reaktivitäten detektiert werden konnten, allerdings alle in zu schwacher Intensität für einen positiven Befund (RECOMBLOT CMV 4). Die Avidität konnte bei einem CLIA-Aviditätsindex von 0,29 (intermediäre Avidität) auch im rekombinanten Immunoblot als intermediär avide interpretiert werden. Im rekombinanten IgG-Immunoblot zeigte sich gB2-spezifische Antikörperreaktivität.



recomBlot CMV 4: H1956, Abnahmedatum 28.05.2008

Im rekombinanten IgG-Immunoblot zeigen sich Reaktivitäten bei p150, gB1 und gB2, die CM2-Bande ist nur schwach ausgeprägt. Beim Vergleich des IgG-Immunoblots mit dem Aviditäts-Immunoblot zeigt sich eine leichte Abschwächung der p150-Bande, die CM2-Bande ist im Aviditäts-Blot nicht mehr erkennbar. Da eine IE1-Bande weder im IgG- noch im Aviditäts-Blot zu sehen ist, kann diese zur Beurteilung der Avidität nicht herangezogen werden. Anhand des p150- und CM2-Musters ist daher von intermediärer Avidität auszugehen. Im rekombinanten IgM-Immunoblot sind in sehr schwacher Intensität Banden bei p150, CM2 und p65 zu sehen, diese entsprechen aber nicht den Kriterien eines positiven Befundes. Insgesamt sprechen hier der (fraglich) negative IgM-Befund sowie die gB2-spezifische IgG-Antikörperreaktivität gegen eine Primärinfektion, die intermediäre Avidität wäre aber ein Indiz für eine noch nicht abgeschlossene Reifung der Anti-CMV-Antikörper.

#### 4.4.2 Diskrepanz IgG-positiv/IgM-negativ Mütter

Die Gruppe der diskrepanz IgG-positiven/IgM-negativen Mütter lässt sich noch weiter unterteilen in eine Gruppe, in der Abweichungen bei der Bestimmung des IgM-Status auftraten, sowie eine Gruppe mit diskrepanz IgG-Serologie.

Die Gruppe der IgG-positiven/diskrepanz-IgM-negativen Mütter (TAB. 45) umfasst insgesamt 17 Mütter, bei denen Abweichungen bei der Bestimmung des IgMs auftraten. Zu dieser Gruppe zählen fünf Frauen, die im IgM-ELISA zwar ein negatives Resultat, im IgM-CLIA aber ein grenzwertig positives Resultat aufzeigten. Zudem wurden sechs weitere Frauen im IgM-CLIA positiv getestet, während der IgM-ELISA ein negatives Ergebnis ergab. Drei Frauen wiesen im IgM-ELISA ein grenzwertig positives sowie im IgM-CLIA ein positives Resultat auf, wurden aber im rekombinanten IgM-Immunoblot als negativ verifiziert. Bei einer Frau stimmten ELISA und CLIA mit jeweils positivem IgM-Ergebnis überein, bei einer weiteren gab es ein übereinstimmend grenzwertig positives IgM-Ergebnis des ELISAs und CLIAs, der rekombinante IgM-Immunoblot zeigte jedoch ein negatives Resultat. Eine Mutter wies ein grenzwertig positives IgM-Ergebnis im ELISA auf bei negativem IgM in CLIA sowie rekombinanten Immunoblot. Die verschiedenen Konstellationen der diskrepanz IgM-Ergebnisse sind in TAB. 44 dargestellt.

Tab. 44: Konstellationen diskrepanz Fälle mit negativem IgM im rekombinanten Immunoblot

IgM negativ im rek Immunoblot		IgM-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgM-ELISA	negativ	0	5	6	11
	grenzwertig	1	1	3	5
	positiv	0	0	1	1
	Summe	1	6	10	17

Dabei schneidet der IgM-ELISA mit elf von 17 richtig negativen IgM-Resultaten (64,7 Prozent) besser ab als der IgM-CLIA mit nur einem von 17 negativen IgM-Resultaten (5,9 Prozent).

Tab. 45: Übersicht über IgM-Serostatus und Avidität IgG-positiver/diskordant-IgM-negativer Mütter

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG Aviditäts-Index	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
1	2791	negativ	grenzwertig	negativ	0,24	hoch
2	1432	grenzwertig	positiv	negativ	0,29	hoch
3	3096	negativ	positiv	negativ	0,30	hoch
4	1892	negativ	grenzwertig	negativ	0,31	kein Material
5	3617 4549	negativ	positiv	negativ	0,34	hoch
6	3168	grenzwertig	positiv	negativ	0,37	hoch
7	3593	negativ	positiv	negativ	0,43	intermediär
8	3733	negativ	positiv	negativ	0,45	hoch
9	4404	grenzwertig	positiv	negativ	0,52	hoch
10	4098	negativ	positiv	negativ	0,54	hoch
11	841	grenzwertig	negativ	negativ	0,55	hoch
12	845	positiv	positiv	negativ	0,57	hoch
13	806	grenzwertig	grenzwertig	negativ	0,57	hoch
14	4526	negativ	grenzwertig	negativ	0,58	hoch
15	2570	negativ	positiv	negativ	0,71	hoch
16	4796	negativ	grenzwertig	negativ	0,72	hoch
17	1870	negativ	grenzwertig	negativ	0,80	hoch

Die diskordant-IgG-positiv/IgM-negativ Gruppe setzte sich homogen aus sechs Frauen zusammen, die jeweils im IgG-ELISA einen positiven Befund bzw. in einem Fall einen grenzwertig positiven Befund sowie im IgG-CLIA einen negativen Befund aufwiesen (TAB. 46). Die Überprüfung via rekombinatem IgG-Immunoblot ergab in fünf Fällen einen positiven IgG-Befund und in einem Fall einen fraglich positiven IgG-Befund. Dieser fraglich positive Blot lässt sich mit seiner deutlich sichtbaren gB1-Bande, aber keinen weiteren sichtbaren Banden, nicht eindeutig als positiv bewerten, da für einen positiven IgG-Befund bei Abwesenheit einer p150-Bande den Kriterien (TAB. 31) zufolge zumindest eine CM2-Bande in gut sichtbarer Intensität nachweisbar sein muss.

Tab. 46: Übersicht über IgG- und IgM-Serostatus diskordant-IgG-positiver/IgM-negativer Mütter

Nr	H-Nummer	IgG-ELISA	IgG-CLIA	rek. IgG-Immunoblot	IgM-ELISA	IgM-CLIA
1	1742	grenzwertig	negativ	fraglich positiv	negativ	negativ
2	1311	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
3	4366	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
4	1281	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
5	1696	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
6	546	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ

Auffällig war hier besonders die im Vergleich zum IgG-ELISA hohe Zahl an falsch negativen IgG-Resultaten des CLIA. Die Konstellationen abweichender IgG-Resultate sind in TAB. 47 dargestellt.

Tab. 47: Konstellationen diskrepanter Fälle mit positivem IgG im rekombinanten Immunoblot

IgG positiv im rek Immunoblot		IgG-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgG-ELISA	negativ	0	0	0	0
	grenzwertig	1*	0	0	1
	positiv	5	0	0	5
Summe		6	0	0	6

\* Fraglich positives Resultat im rekombinanten IgG-Immunoblot bei starker gB1-Bande ohne Nachweis einer p150-Reaktivität

#### 4.4.2.1 Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunoblots IgG-positiver/diskrepanz-IgM-negativer Mütter

Da es in dieser Gruppe zumindest in einem der eingesetzten Standard-Tests IgM-ELISA (Medac) oder IgM-CLIA (DiaSorin) ein grenzwertiges oder gar positives IgM-Resultat detektiert wurde, wurden bei allen 17 Müttern zur Überprüfung des IgM-Status ein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt.

Die CMV-spezifischen Einzelreaktivitäten sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt (TAB. 48).

Tab. 48: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunooblots aller IgG-positiver/diskrepant-IgM-negativer Mütter

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immunooblot <b>negativ</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	2791	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,24	∅	∅	∅	∅	∅	∅
2	1432	<b>grenzwertig</b>	<b>positiv</b>	0,29	∅	∅	+/-	+/-	∅	∅
3	3096	negativ	<b>positiv</b>	0,30	+/-	+/-	∅	+/-	+/-	∅
4	1892	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,31	∅	+/-	+/-	∅	∅	∅
5	4549	negativ	<b>positiv</b>	0,34	∅	+/-	+/-	∅	∅	∅
6	3168	<b>grenzwertig</b>	<b>positiv</b>	0,37	∅	+/-	∅	∅	∅	∅
7	3593	negativ	<b>positiv</b>	0,43	∅	+/-	∅	∅	∅	∅
8	3733	negativ	<b>positiv</b>	0,45	∅	+/-	∅	∅	∅	∅
9	4404	<b>grenzwertig</b>	<b>positiv</b>	0,52	∅	+/-	∅	∅	∅	∅
10	4098	negativ	<b>positiv</b>	0,54	∅	∅	∅	∅	∅	∅
11	841	<b>grenzwertig</b>	negativ	0,55	∅	∅	∅	∅	∅	∅
12	845 (1)	<b>positiv</b>	<b>positiv</b>	0,57	∅	+/-	+	+/-	∅	∅
	845 (2)				∅	∅	+/-	∅	∅	∅
	845 (3)				∅	+/-	+/-	∅	∅	∅
13	806 (1)	<b>grenzwertig</b>	<b>grenzwertig</b>	0,57	∅	+/-	∅	+/-	+/-	∅
	806 (2)				∅	+/-	∅	+	∅	∅
14	4526	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,58	∅	∅	∅	∅	∅	∅
15	2570	negativ	<b>positiv</b>	0,71	∅	∅	∅	∅	+	∅
16	4796	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,72	∅	∅	∅	∅	∅	∅
17	1870	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,80	∅	∅	∅	∅	∅	∅

#### 4.4.2.2 Vergleich der Avidität IgG-positiver/diskrepant-IgM-negativer Mütter

Zum Vergleich der Avidität konnte nur die Gruppe der Mütter herangezogen werden, die bei der Bestimmung des IgM-Status Diskrepanzen aufwies. In der Gruppe der Mütter mit nicht übereinstimmendem IgG-Serostatus konnte (da hier in allen sechs Fällen der IgG-CLIA ein negatives Ergebnis erbrachte) kein CLIA-Aviditätsindex ermittelt werden und auf eine Überprüfung mittels rekombinanten IgG-Aviditäts-Immunoblot wurde verzichtet.

In der Gruppe der IgG-positiven/diskrepant-IgM-negativen Mütter wurde in 16 von 17 Fällen ein rekombinanter IgG-Aviditäts-Immunoblot durchgeführt (d.h. auch in Fällen mit einem CLIA-Aviditätsindex  $> 0,4$ ). Bei einer Mutter mit einem CLIA-Aviditätsindex von 0,31 konnte aufgrund eines Mangels an Serum weder ein IgG- noch ein Aviditäts-Immunoblot durchgeführt werden. Die Spanne der ermittelten CLIA-Aviditätsindizes erstreckt sich in dieser Gruppe von 0,24 bis 0,8 (ABB. 18). Drei der Frauen fallen dabei mit Indizes unter 0,3 in den Bereich intermediärer Avidität.

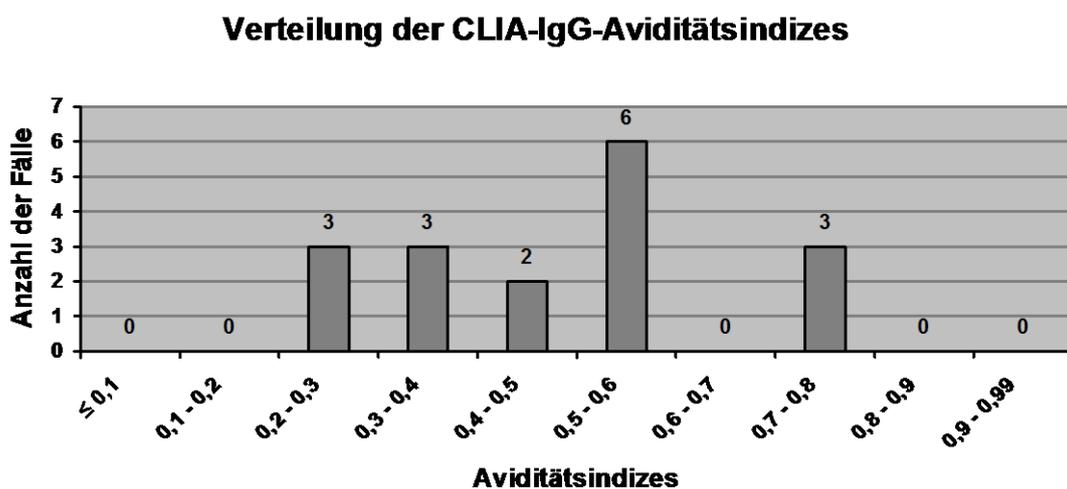


Abb. 18: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der insgesamt 17 konkordant-IgG-positiven/diskrepant-IgM-negativen Mütter

Von 16 durchgeführten Aviditäts-Immunoblots wiesen 15 hoch averse Antikörper auf, in einem Fall wurden intermediär averse Antikörper detektiert (TAB. 49). Dadurch ergibt sich in drei Fällen eine Diskrepanz mit intermediärer Avidität (CLIA) und hoher Avidität (rekombinanter Immunoblot) und in einem Fall eine Diskrepanz mit hoher Avidität (CLIA) und intermediärer Avidität (rekombinanter Immunoblot). Insgesamt weichen die Aviditäts-Ergebnisse somit in 25 Prozent der 16 via beider Aviditätstests geprüften Fälle voneinander ab. In zwölf Fällen stimmen die beiden Aviditätstests mit jeweils hoher Avidität überein (75 Prozent).

Tab. 49: Vergleich der Avidität IgG-positiver/diskrepanz-IgM-negativer Mütter und Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität

Nr	H- Nummer	CLIA-IgG Aviditäts- Index	rek. IgG- Aviditäts- Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot/ Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	2791	0,24	hoch	+	+++	∅	+	++	+
				+	+++	∅	+/-	++	+
2	1432	0,29	hoch	++	+++	++	+++	+++	+++
				++	++	++	++	+++	+++
3	3096	0,30	hoch	+	+++	+	+	++	++
				+	+++	∅	+/-	+	+
4	1892	0,31	zu wenig Material						
5	4549	0,34	hoch	∅	++	++	+	++	+++
				∅	++	++	+	++	+++
6	3168	0,37	hoch	+	+++	+	+	++	++
				+	+++	+	∅	++	++
7	3593	0,43	intermediär	++	+++	++	++	++	++
				+	++	++	+	++	++
8	3733	0,45	hoch	+	+++	++	+	++	++
				+	+++	++	∅	++	++
9	4404	0,52	hoch	++	+++	+	∅	++	++
				++	+++	+	∅	++	++
10	4098	0,54	hoch	∅	++	+	+/-	+++	+++
				∅	++	+/-	∅	+++	+++
11	841	0,55	hoch	∅	++	+	∅	++	+/-
				∅	+	+	∅	++	+/-
12	845	0,57	hoch	+	+++	+	∅	+++	+
				+	+++	+	∅	++	+
13	806	0,57	hoch	+	+++	+/-	+/-	++	+/-
				+	+++	∅	∅	++	∅
14	4526	0,58	hoch	++	+++	+/-	+	++	+++
				++	+++	+/-	∅	+	+
15	2570	0,71	hoch	+	++	+/-	+/-	++	∅
				+	++	∅	∅	+	∅
16	4796	0,72	hoch	++	++	++	+++	+++	+++
				++	++	++	++	+++	+++
17	1870	0,80	hoch	++	+++	+	+++	+++	+++
				++	+++	+	+++	+++	+++

*Einzelreaktivitäten des rekombinanten IgG-Immunoblots*

*Einzelreaktivitäten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots*

*Keine bzw. sehr schwache gB2-Reaktivität*

*Sehr starke gB2-Reaktivität*

**4.4.2.3 Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei IgG-positiven/diskrepant-IgM-negativen Müttern**

Bei den 16 Müttern aus der Gruppe der IgG-positiven/diskrepant-IgM-negativen Mütter, bei denen ein rekombinanter IgG-Immunoblot durchgeführt wurde, konnte in 13 Fällen Antikörperreaktivität gegen gB2 festgestellt werden (TAB. 49). Bei zwei Müttern waren nur sehr schwache gB2-Banden detektierbar. Bei einer Mutter war keine gB2-Reaktivität zu sehen. In sechs Fällen zeigte sich sehr starke gB2-Antikörperreaktivität. Bei alleiniger Betrachtung der Resultate des rekombinanten Immunoblots spricht mit dem häufigen gemeinsamen Auftreten von gB2-Antikörperreaktivität in Kombination mit hoher Avidität sowie IgM-Negativität im Immunoblot alles gegen eine CMV-Primärinfektion. Dennoch sollten die vielen abweichenden positiven bzw. grenzwertig positiven IgM-Resultate, vor allem des CLIAs, nicht außer Acht gelassen werden.

In der Gruppe der diskrepant-IgG-positiven/IgM-negativen Mütter konnte in vier der sechs Fälle keine Antikörperreaktivität gegen gB2 festgestellt werden (TAB. 50), in allen dieser vier IgG-Immunoblots zeigten sich jedoch Banden gegen gB1. Die anderen beiden Mütter in dieser Gruppe wiesen stark ausgeprägte gB2-Banden auf.

**Tab. 50: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität diskrepant-IgG-positiver/IgM-negativer Mütter**

Nr	H-Nummer	IgG-ELISA	IgG-CLIA	rekombinanter IgG-Immunoblot					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1*	1742	grenzwertig	negativ	∅	∅	∅	∅	++	∅
2	1311 (1)	positiv	negativ	∅	+++	+/-	+	++	+++
	1311 (2)			∅	++	+/-	∅	++	+++
3	4366	positiv	negativ	+/-	++	+	++	+++	+++
4	1281	positiv	negativ	∅	+++	∅	∅	+/-	∅
5	1696	positiv	negativ	∅	++	∅	+	+	∅
6	546	positiv	negativ	+	+++	+/-	+/-	++	∅

Keine bzw. sehr schwache gB2-Reaktivität

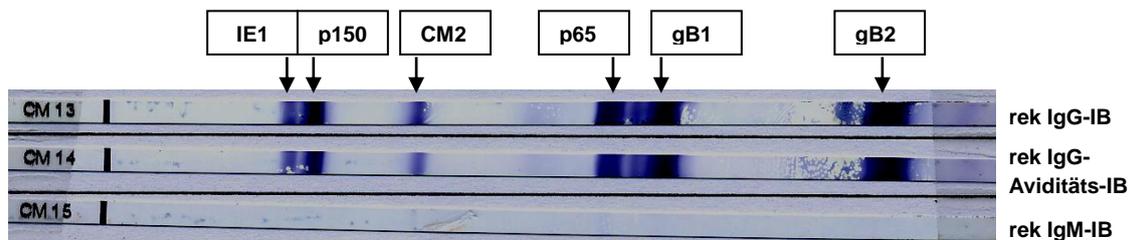
Sehr starke gB2-Reaktivität

\* Fraglich positives Resultat im rekombinanten IgG-Immunoblot bei starker gB1-Bande ohne Nachweis einer p150-Reaktivität

#### 4.4.2.4 Falsch positives IgM-Resultat in ELISA und CLIA

- 1) CMV-Serostatus bei Geburt: Starke gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / Keine IgM-Reaktivität bei grenzwertigem IgM-Befund im ELISA und positivem IgM-Befund im CLIA (Fall 2, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Die zum Zeitpunkt der Geburt 32-jährige Mutter wurde im IgM-ELA grenzwertig positiv und im IgM-CLIA positiv getestet. Die Überprüfung via rekombinantes IgM-Immunoelkt ergab aber einen negativen IgM-Befund (RECOMBLOT CMV 5). Der CLIA-Aviditätsindex zeigte mit einem Wert von 0,29 eine intermediäre Avidität an, im rekombinanten Aviditäts-Immunoelkt erwiesen sich die Antikörper dagegen als hoch avide.



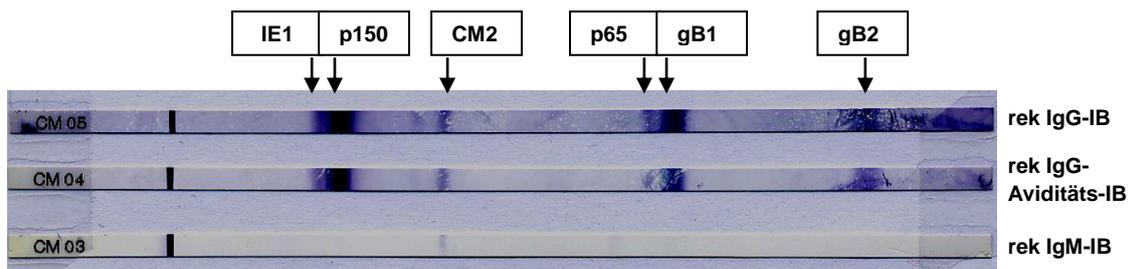
recomBlot CMV 5: H1432, Abnahmedatum 14.04.2008

Der rekombinante IgG-Immunoelkt zeigt hier Antikörperbanden gegen alle getesteten Antigene, dabei sind die p150-, p65-, gB1- und gB2-Banden besonders farbintensiv abgebildet. Die starke Ausprägung der gB2-Bande spricht für eine länger als zwei Monate zurückliegende Infektion (Herstellerangaben). Beim Vergleich des IgG-Streifens und des Aviditäts-Streifens ist kaum ein Unterschied in der Bandenintensität der beiden Streifen zu erkennen, dies indiziert eine hohe Aviditätsreifung der Antikörper und ist damit auch ein Hinweis auf eine länger zurückliegende Infektion. Bei der Betrachtung des rekombinanten IgM-Immunoelkts lassen sich ganz schwach Banden bei CM2 und p65 erkennen, diese genügen aber nicht den Kriterien für einen positiven IgM-Befund. Sieht man einmal von den falsch positiven bzw. grenzwertig positiven IgM-Ergebnissen des CLIAs bzw. ELAs ab, so deutet bei diesem Blot alles darauf hin, dass der Erstkontakt mit CMV schon längere Zeit zurückliegen könnte, allerdings ist eine CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon der Schwangerschaft nicht ganz auszuschließen (intermediäre CLIA-Avidität).

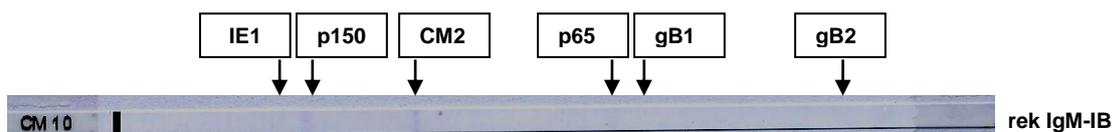
2) CMV-Serostatus bei Geburt: Starke gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität  
 (sowohl rek IB als auch CLIA) / sehr schwache IgM-Reaktivität bei positivem  
 IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 13, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Bei der zum Zeitpunkt der Geburt 26 Jahre alten Mutter wurde in sowohl IgM-ELA als auch IgM-CLIA ein positiver IgM-Befund festgestellt. Aufgrund dieser Tatsache wurde sie wie alle in den Standardtests ELISA und CLIA IgM-positiv getesteten Frauen via rekombinanten IgM-Immunoblot überprüft. Dort ergaben sich wiederholt zwar schwache Reaktivitäten des IgM-Immunoblots, aber nicht stark genug, um als positiv anerkannt zu werden (RECOMBLOT CMV 6, RECOMBLOT CMV 7). Der CLIA-Aviditätsindex lag mit 0,57 im hoch aviden Bereich, der rekombinante Aviditäts-Immunoblot bestätigte dieses Ergebnis.



recomBlot CMV 6: H845, Abnahmedatum 29.02.2008



recomBlot CMV 7: H845, Abnahmedatum 29.02.2008, IgM-Wiederholung

Im rekombinanten IgG-Immunoblot zeigen sich starke Antikörperreaktivitäten bei p150, gB1 und gB2. Der Nachweis der gB2-Bande spricht dabei gegen eine akute CMV-Infektion. Beim Vergleich des IgG- und des Aviditäts-Streifens lassen sich kaum Unterschiede in der Intensität der Bandenausprägung feststellen, somit ist von einer hohen Avidität auszugehen. Im rekombinanten IgM-Immunoblot zeigen sich Reaktivitäten bei CM2 sowie ganz schwach bei p65. In der Wiederholung des IgM-Immunoblots kann man schwach gefärbte Banden bei p150, CM2 und eventuell auch p65 erkennen. Da für einen

positiven IgM-Befund zumindest eine gut sichtbare p150-Bande detektiert werden muss, kann dieser Blot nicht als positiv gewertet werden. Insgesamt zeigt dieser Blot somit alle Anzeichen einer mindestens zwei bis drei Monate zurückliegenden Infektion.

#### 4.5 Maternale IgG-Seropositivität mit IgM-Detektion

Bei den 107 der 749 seropositiven Frauen (14,3 Prozent), bei denen ein positives IgM ermittelt wurde (drei Fälle davon fraglich IgM-positiv), ergab sich im Vergleich zur hohen Konkordanz der IgG-positiven/IgM-negativen Frauen eine sehr hohe Rate an diskrepanten Ergebnissen der Screeningtests (ABB. 19). Nur elf der insgesamt 107 IgM-positiven Frauen zeigten übereinstimmende Ergebnisse in ELISA und CLIA mit sowohl positivem IgG- als auch positivem IgM-Status, dies entspricht einer Konkordanz der eingesetzten Tests bei positivem IgM von 10,3 Prozent. Um vermeintlich falsch positive IgM-Ergebnisse aus ELISA/CLIA ausschließen zu können, wurde jedes positive IgM-Ergebnis via rekombinantem IgM-Immunoblot überprüft. Bei 93 der 107 IgM-seropositiven Frauen ergaben sich entweder Abweichungen in ELISA und CLIA in Bezug auf den IgM-Status (35 Frauen) oder wurde nur aufgrund niedriger CLIA-Aviditätswerte  $\leq 0,4$  bei negativem IgM in ELISA und CLIA ein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt (56 Frauen). In einem Fall wurde trotz übereinstimmend negativer IgM-Ergebnisse in ELISA und CLIA und einem CLIA-Aviditätsindex von 0,54 ein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt, da es hier zu einer Transmission gekommen war. Ein weiterer Fall mit einem Aviditätsindex von 0,69 sowie negativen IgM-Resultaten in ELISA und CLIA wurde versehentlich via IgM-Immunoblot überprüft. Die Interpretation der CLIA-Aviditätswerte erwies sich somit als wichtiger Wegweiser zur Detektion einer potentiellen maternalen CMV-Primärinfektion. Hintergrund für diese Überprüfung via rekombinantem IgM-Immunoblot ist der Zusammenhang von niedriger Avidität gemeinsam mit positivem IgM-Status als mögliche Indikatoren einer akuten Infektion. Bei allen Frauen mit einem CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  wurde zusätzlich ein rekombinanter IgG- sowie ein Aviditäts-Immunoblot durchgeführt. Insgesamt konnte bei 104 Frauen via rekombinantem Immunoblot ein positiver IgM-Status nachgewiesen werden (elf in allen Tests konkordante Fälle sowie 93 Fälle, in denen Abweichungen auftraten, ABB. 19).

Bei drei weiteren Frauen konnte selbst die Durchführung eines rekombinanten IgM-Immunoblots zu keiner eindeutigen Klärung des IgM-Status führen. Bei diesen drei Frauen ergaben sich im Immunoblot Bandenkonstellationen, die

nach Definition des Immunoblots weder als positiv noch als negativ klassifiziert werden können. Sie wurden somit in eine Gruppe fraglich positiver IgM-Resultate eingeordnet.

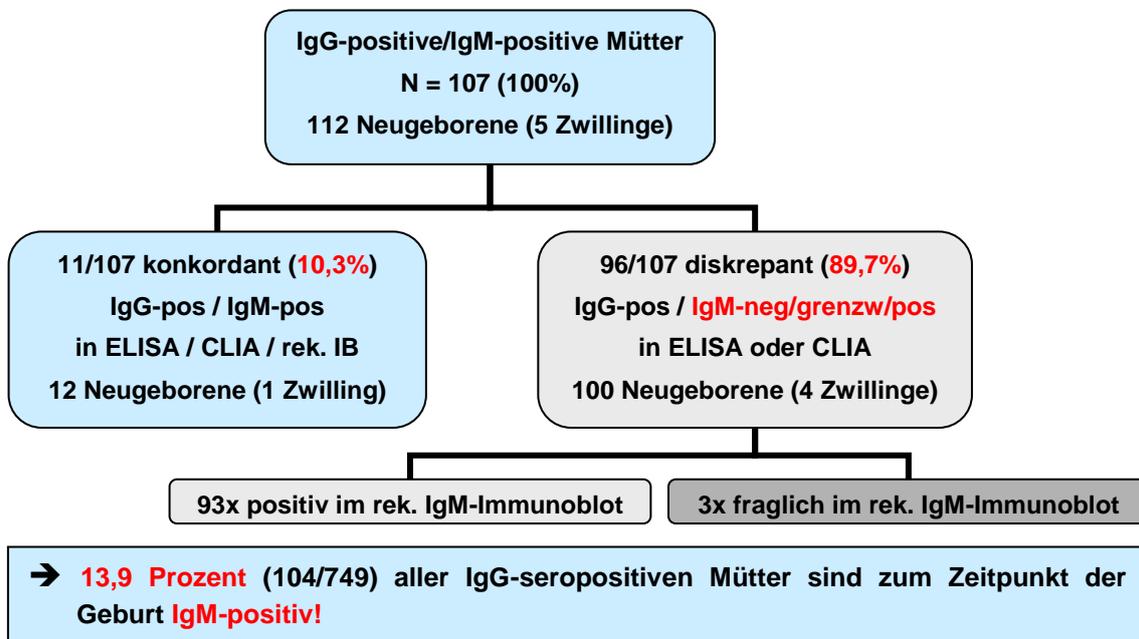


Abb. 19: Seropositive Mütter mit positivem IgM-Serostatus bei Geburt im Beobachtungszeitraum 1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008

#### 4.5.1 Konkordant IgM-positive Mütter

Zur Gruppe der konkordant IgM-positiven Mütter wurden auch zwei Frauen zugeordnet, die im IgM-ELISA nur grenzwertig positiv und im IgM-CLIA positiv waren, außerdem zwei Frauen, die zwar im IgM-ELISA positiv, aber im IgM-CLIA nur grenzwertig positiv waren. Bei einer Frau, die im IgM-ELISA sowie im IgM-CLIA ein positives Ergebnis vorzeigte, konnte die Überprüfung via rekombinatem IgM-Immunoblot aufgrund mangelnden Serums nicht vorgenommen werden.

**4.5.1.1 Vergleich der Avidität konkordant IgM-positiver Mütter**

Zur Ermittlung des CMV-IgG-Aviditätsstatus wurde bei IgM-positiven Müttern die Avidität mittels CLIA und rekombinatem Immunoblot verglichen. Im CLIA reichten die ermittelten Aviditätsindizes von 0,03 bis 0,82, wobei Indizes  $\leq 0,2$  als niedrig avide gewertet wurden, Indizes zwischen 0,2 und 0,3 als intermediär avide und Indizes  $> 0,3$  als hoch avide (TAB. 51). Nur zwei Frauen aus dieser Gruppe wiesen im CLIA niedrig aviden IgG-Antikörper-Status auf, eine weitere intermediär avide und die restlichen acht Frauen wiesen hoch avide Antikörper auf. Im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot wiederum zeigten sich bei zwei Frauen niedrig avide, bei einer Frau intermediär avide und bei sieben Frauen hoch avide Antikörper, eine Frau konnte aufgrund zu geringer Menge an Serum nicht im Immunoblot getestet werden. Eine Konkordanz der Avidität in CLIA und Immunoblot trat in der Mehrzahl der Fälle nur bei den hoch aviden Ergebnissen auf, gerade bei der zur Ermittlung maternaler Primärinfektionen wichtigen niedrigen und intermediären Avidität zeigten die beiden eingesetzten Verfahren zu 50 Prozent Abweichungen (TAB. 51, Nummer 1 bis 4).

Tab. 51: Vergleich der Avidität bei konkordant IgM-positiven Müttern

Nr	H- Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek IgM- Immunoblot	CLIA-IgG Aviditäts- Index	rek. IgG- Aviditäts- Immunoblot
1	1416 1090	positiv	positiv	positiv	0,03	niedrig
2	4770	positiv	positiv	positiv	0,14	hoch
3	2557	positiv	positiv	positiv	0,26	intermediär
4	3134	grenzwertig	positiv	positiv	0,33	niedrig
5	1209	grenzwertig	positiv	positiv	0,35	hoch
6	475	positiv	positiv	positiv	0,42	hoch
7	836	positiv	grenzwertig	positiv	0,43	hoch
8	3116	positiv	positiv	positiv	0,46	hoch
9	1837	positiv	positiv	positiv	0,53	hoch
10	4420	positiv	positiv	zu wenig Material	0,57	zu wenig Material
11	4665	positiv	grenzwertig	positiv	0,82	hoch

Die Verteilung der CLIA-Aviditätsindizes (ABB. 20) zeigt in dieser Gruppe eine Mehrheit der Werte im Bereich zwischen 0,3 und 0,6, in höheren Bereichen findet sich nur ein einziger Wert, aber auch in den niedrigeren (und somit in den zur Detektion von Primärinfektionen relevanten) Bereichen bis 0,3 finden sich nur drei der insgesamt elf ermittelten CLIA-Aviditätswerte. In den Bereich bis 0,4 lassen sich jedoch bereits fünf von insgesamt elf Fällen einordnen. Im Vergleich zu den Gruppen der IgM-negativen Frauen sowie der diskrepant IgM-positiven Frauen scheint hier somit eine höhere Rate an niedrigen und intermediären CLIA-Aviditätswerten vorzuliegen.

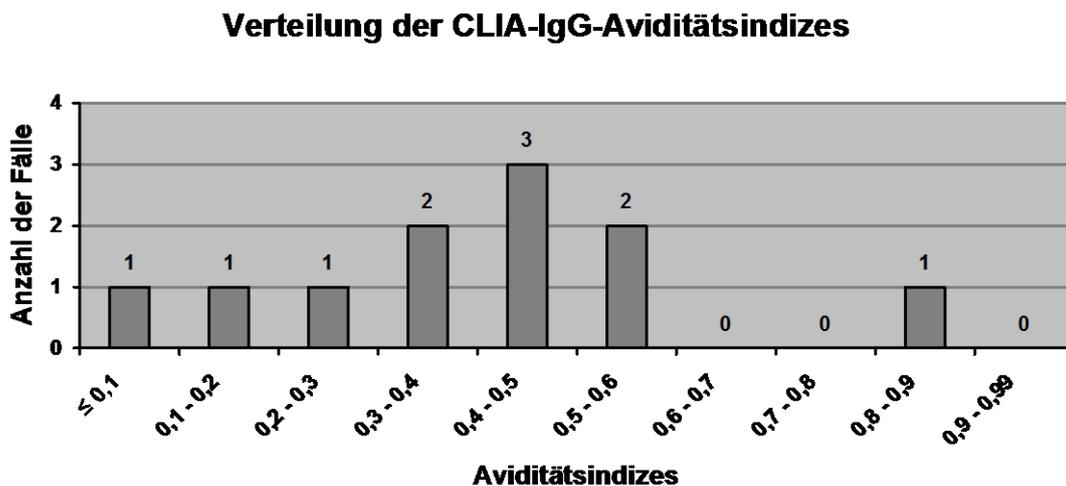


Abb. 20: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der insgesamt elf konkordant IgM-positiven Mütter

Die in dieser Gruppe konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Frauen hohe Anzahl an CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$  bezogen auf die Gesamtzahl (5/11) sowie die zumindest für hohe CLIA-Aviditätsindizes hohe Konkordanz mit dem rekombinanten Aviditäts-Immunoblot soll in ABB. 21 nochmals veranschaulicht werden. Leider zeigen sich gerade in den niedrig und intermediär aviden Bereichen der beiden zur Bestimmung der Avidität eingesetzten Tests häufig Abweichungen.

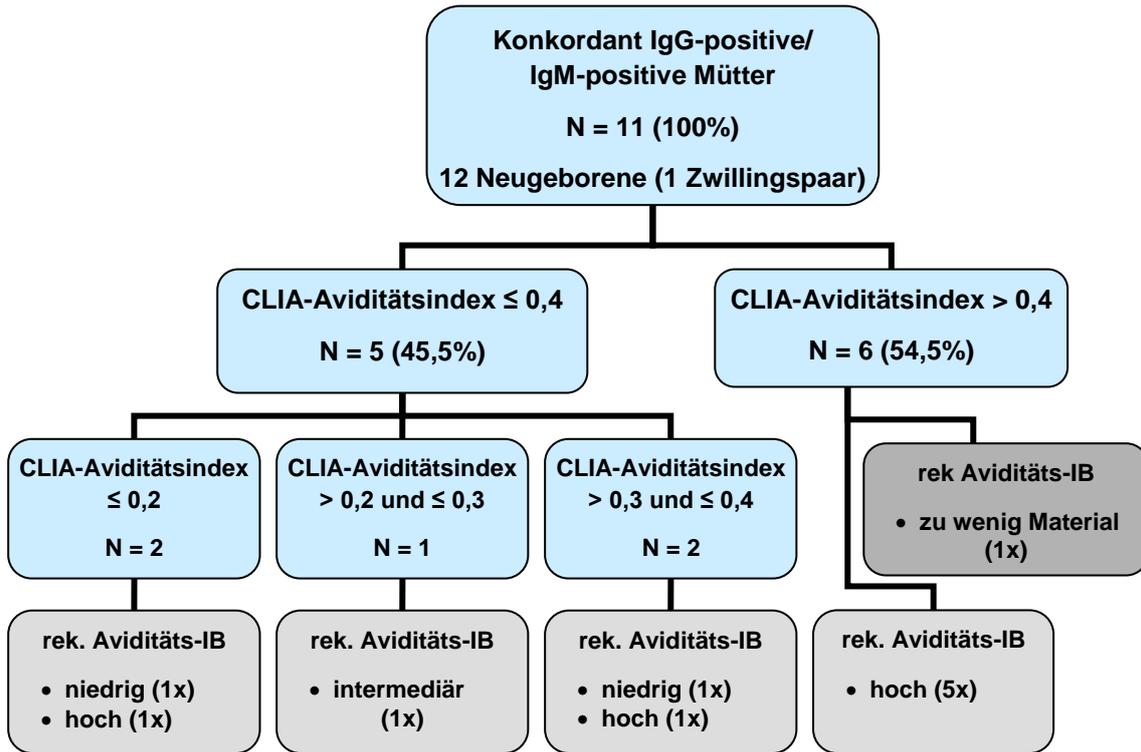


Abb. 21: Veranschaulichung der Verteilung der CLIA-Aviditätsindizes und der zugehörigen Aviditätsresultate des rekombinanten Immunoblots bei konkordant IgG-positiven/IgM-positiven Müttern

#### **4.5.1.2 Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten im rekombinanten IgM-Immuno-Blot konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Mütter**

In dieser Gruppe der konkordant IgM-positiven Mütter zeigten sich in einigen Fällen sehr stark ausgeprägte und damit eindeutige Antikörperbanden in den rekombinanten IgM-Immuno-Blots. Dies ist insofern beachtlich, da die Bandennachweise des IgM-Immuno-Blots im Vergleich zum IgG-Immuno-Blot meist deutlich schwächer ausfallen. Außerdem auffällig in dieser Gruppe ist, dass hier häufig Kombinationen aus mindestens zwei, meist sogar drei oder vier Antikörperreaktivitäten vorliegen. Nur in einem Fall (Fall 5 aus TAB. 52) findet sich eine singuläre p150-Reaktivität, welche bei Singularität definitionsgemäß zumindest gut sichtbar (entspricht „++“) sein muss, dies ist hier gegeben. Bei drei Frauen zeigt sich eine Kombination aus dem Nachweis einer p150-Bande zusammen mit einem CM2-Nachweis (Fall 7, 9 und 11). In allen drei Fällen sind dabei beide Banden in gut sichtbarer Intensität abgebildet (bei Fall 7 ist die CM2-Bande etwas schwächer ausgeprägt). Alle weiteren IgM-Blots zeigen Bandenkonstellationen aus mindestens drei verschiedenen Antikörperreaktivitäten auf, meist in Kombination mit einer starken oder sogar sehr starken p150-Bande. Die hier aufgeführten Fälle entsprechen somit eindeutig den Kriterien eines positiven IgM-Status.

Besondere Beachtung verdienen hier die Fälle 1 und 6, in diesen beiden Fällen war nämlich die Bandenintensität des IgM-Immuno-Blots deutlich stärker (Fall 1) oder zumindest sehr stark (Fall 6) ausgeprägt im Vergleich zum zugehörigen rekombinanten IgG-Immuno-Blot. Dies lässt sich im Fall 1 dadurch erklären, dass es sich hier um eine akute Primärinfektion mit einer erst beginnenden IgG-Antikörperbildung und einer initial starken IgM-Reaktivität handelt. Bei Fall 6 korreliert die IgM-Banden-Intensität mit der Intensität der IgG-Banden sowie mit den im CMV-ELISA ermittelten hohen IgG- bzw. IgM-Titern.

Eine Ausnahme stellt Fall 10 dar, hier konnte mangels Serum kein IgM-Nachweis via rekombinantem Immuno-Blot erbracht werden. Da diese Mutter aber in sowohl IgM-ELA als auch IgM-CLIA einen positiven IgM-Serostatus

aufzeigte, wurde sie ebenfalls in die Liste der konkordant IgM-positiven Frauen aufgenommen.

Tab. 52: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunoblots aller konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Mütter

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immunoblot <b>positiv</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1090 1416	positiv	positiv	0,03	∅	++	+	+	+++	∅
					∅	++	+	+/-	+++	∅
2	4770	positiv	positiv	0,14	+/-	+++	++	+/-	∅	∅
3	2557	positiv	positiv	0,26	∅	+	∅	∅	++	∅
4	3134	grenzwertig	positiv	0,33	∅	++	+/-	+	∅	∅
5	1209	grenzwertig	positiv	0,35	∅	++	∅	∅	∅	∅
6	475	positiv	positiv	0,42	+	+++	+++	++	∅	∅
7	836 (1) 836 (2)	positiv	grenzwertig	0,43	+/-	++	+	∅	∅	∅
					∅	++	+	∅	∅	∅
8	3116	positiv	positiv	0,46	+/-	++	++	+/-	∅	∅
9	1837 (1) 1837 (2)	positiv	positiv	0,53	∅	++	++	∅	∅	∅
					∅	++	++	∅	∅	∅
10	4420	positiv	positiv	0,57	zu wenig Material					
11	4665 (1) 4665 (2) 4665 (3)	positiv	grenzwertig	0,82	∅	++	++	∅	∅	∅
					∅	++	++	∅	∅	∅
					∅	++	+++	+	+/-	∅

Singuläre p150-Reaktivität  
 p150-Reaktivität in alleiniger Kombination mit CM2-Reaktivität

#### **4.5.1.3 Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei konkordant IgG-positiven/IgM-positiven Müttern**

In der Gruppe der konkordant IgM-positiven Mütter konnte der rekombinante IgG-Immunoblot in zehn von elf Fällen durchgeführt werden, in einem Fall stand zur Durchführung eines Immunoblots kein Serum mehr zu Verfügung (TAB. 53). In vier dieser zehn Fälle konnte keine Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität gegen gB2 detektiert werden (Fall 1, 2, 3 und 4). Bei einer der Frauen (Fall 1 der Tabelle) konnten zudem in keinem der beiden Blots, die bei ihr durchgeführt wurden, Antikörper gegen gB1 nachgewiesen werden. Auch in den Fällen 2 und 3 war die gB1-Antikörperreaktivität nur schwach ausgeprägt. Hervorzuheben ist auch Fall 4, hier konnte im rekombinanten IgG-Immunoblot keine Antikörperreaktivität gegen p150 ermittelt werden. Aufgrund der CM2-Bande, die in gut sichtbarer Intensität nachweisbar ist, und weiteren sehr stark ausgeprägten Bandenreaktivitäten ist hier aber die IgG-Seropositivität gesichert. Dieser Fall zählt allerdings zu den sehr seltenen Serokonstellationen. Die IgG-Immunoblots der weiteren sechs Frauen zeigten in der Majorität gB2-Banden in zumindest gut sichtbarer Intensität. Bei allen sechs Frauen, bei denen gB2-Antikörperreaktivität aufgezeigt werden konnte, traten gleichzeitig hoch avide Antikörper in sowohl CLIA als auch rekombinatem Aviditäts-Immunoblot auf. Die vier Frauen, bei denen keine gB2-Antikörperreaktivität nachgewiesen werden konnte, zeigten in allen vier Fällen zumindest in einem der Aviditätstests (CLIA oder rekombinatem Immunoblot) niedrig oder intermediär avide Antikörper. Die Vermutung einer Korrelation des Auftretens niedriger Aviditätsreifung zusammen mit der Abwesenheit von gB2-Antikörperreaktivität läge hier zwar nahe, ist aber aufgrund der zu geringen Fallanzahl nicht ausreichend begründet. Es zeigt sich aber ein Trend zu gemeinsamem Auftreten von starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität. Dieser fragliche Zusammenhang eines korrelierenden Auftretens von gB2-Reaktivität mit bestimmten Stadien der Aviditätsreifung soll in ABB. 22 sowie in TAB. 54 veranschaulicht werden.

Tab. 53: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität konkordant IgG-positiver/IgM-positiver Mütter und Übersicht über die Avidität

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG Aviditäts-Index	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1090	0,03	niedrig	∅	+	+	+	∅	∅
				∅	+/-	+/-	∅	∅	∅
	1416			∅	+	++	+	∅	∅
				∅	+	∅	∅	∅	∅
2	4770	0,14	hoch	+	+++	+	+	+	∅
				+	+++	+	+	+	∅
3	2557	0,26	intermediär	++	++	++	+++	+	∅
				++	+	+	++	+	∅
4	3134	0,33	niedrig	+	∅	++	+++	++	∅
				∅	∅	+	++	+	∅
5	1209	0,35	hoch	++	+++	++	+++	++	+++
				++	++	+	++	+	++
6	475	0,42	hoch	+++	+++	++	+++	+++	++
				+++	+++	+	++	+++	++
7	836 (1)	0,43	hoch	+	++	∅	∅	++	+
				+	++	∅	∅	+	∅
	836 (2)			++	+++	∅	+/-	+++	++
				++	+++	∅	∅	++	+
8	3116	0,46	hoch	+	+++	∅	∅	+++	++
				+	+++	∅	∅	+++	++
9	1837	0,53	hoch	+	+++	+/-	++	+++	+++
				+	+++	∅	+	+++	++
10	4420	0,57	zu wenig Material						
11	4665 (1)	0,82	hoch	+	+++	+++	+	++	++
				+/-	+++	+++	+	++	++
	4665 (2)			+	+++	+++	+++	+++	+++
				+	+++	+++	+++	+++	+++

Einzelreaktivitäten des rekombinanten IgG-Immunoblots
Einzelreaktivitäten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots
Keine bzw. sehr schwache gB2-Reaktivität (bzw. gB1-Reaktivität)
Sehr starke gB2-Reaktivität

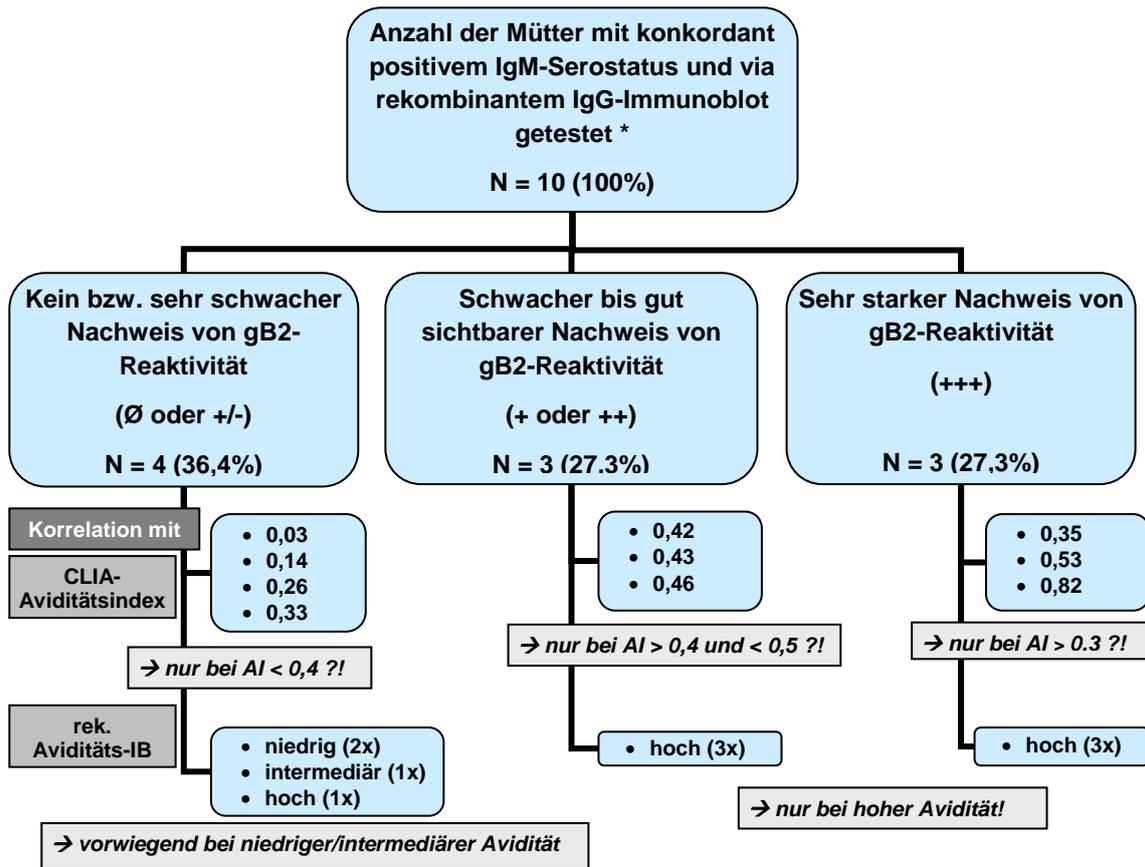


Abb. 22: Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität von konkordant IgM-positiven Müttern und ggf. Korrelation mit Aviditätsresultaten (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot)

\* Bei einer Mutter war nicht genügend Serum für die Durchführung eines rekombinanten IgG-Immunoblots vorhanden

Tab. 54: Korrelation von gB2-IgG-Antikörperreaktivität mit Aviditätsstatus: Trend zu gemeinsamem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität in beiden Aviditäts-Tests

gB2-IgG-Antikörperreaktivität *	Aviditätsstatus via	rekombinanter Aviditäts-Immunoblot		CLIA-Aviditätsindex	
gB2 +++ →	hoch	3/3	(100%)	3/3	(100%)
gB2 ++ →	hoch	3/3	(100%)	3/3	(100%)
gB2 + →		0/0	(0%)	0/0	(0%)
gB2 Ø oder +/- →	hoch	1/4	(25%)	1/4	(25%)
	intermediär	1/4	(25%)	1/4	(25%)
	niedrig	2/4	(50%)	2/4	(50%)

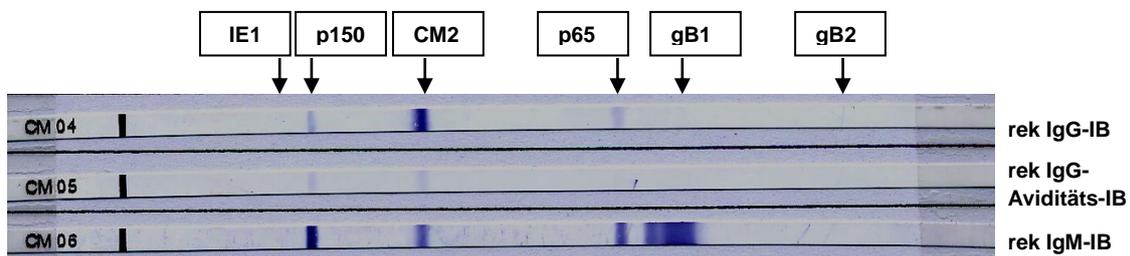
\* In den Fällen, in denen mehr als ein IgG-Immunoblot durchgeführt wurde und es zu Abweichungen bei der Bestimmung der gB2-Reaktivität kam, wurde bei dieser Auswertung die jeweils stärkere gB2-Reaktivität in Betracht gezogen

**4.5.1.4 Nachweis einer CMV-Primärinfektion im letzten Trimenon**

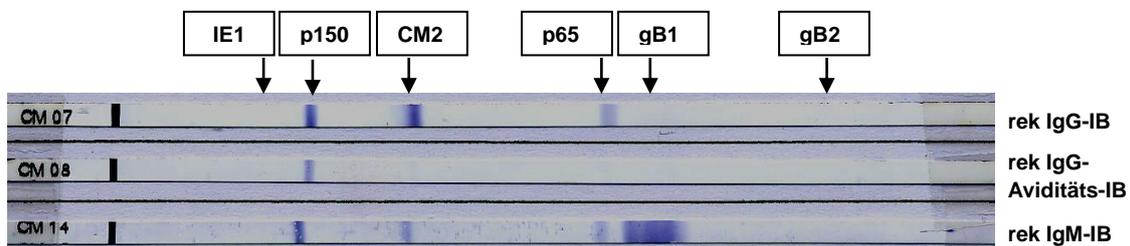
CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-Reaktivität / niedrige Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / breites IgM-Spektrum (IgM > IgG) bei positivem IgM-Nachweis in ELISA und CLIA

(Fall 1, TAB. 51, TAB. 52, TAB. 53)

Die zum Zeitpunkt der Geburt 33-jährige Mutter mit positivem IgM-Resultat in ELISA, CLIA und rekombinantem Immunoblot zeigte zudem einen CLIA-Aviditätsindex von 0,03 sowie niedrig averse Antikörper im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot. Außerdem konnten bei ihr weder gegen gB1 noch gegen gB2 IgG-Antikörper detektiert werden, IgM-Antikörper gegen gB1 waren dagegen vorhanden. Der Fall erwies sich als umso interessanter, da bei dieser Mutter postpartal zwei Blutproben im Abstand von ungefähr drei Wochen entnommen worden waren und man anhand der rekombinanten Immunoblots den Verlauf der Antikörperreaktivität sehr schön erkennen kann (RECOMBLOT CMV 8, RECOMBLOT CMV 9).



recomBlot CMV 8: H1090, Abnahmedatum 17.03.2008 (5 Tage postpartal)



recomBlot CMV 9: H1416, Abnahmedatum 09.04.2008 (28 Tage postpartal)

Die Dynamik der CMV-spezifischen IgG- und IgM-Reaktivitätsmuster im Rahmen einer Primärinfektion lässt sich an diesem Beispiel schön

veranschaulichen: Initial zeigt sich eine starke IgM-Aktivität (vor allem bei p150, aber auch CM2, p65 und gB1), die aber rasch abnimmt. Dagegen nimmt die p150-IgG-Aktivität mit dem zeitlichen Verlauf zu. Die Avidität ist bei beiden Immunoblots niedrig, wobei hierfür nur die Banden gegen die Antikörper IE1, p150 und CM2 in Betracht gezogen werden dürfen. IgG-Antikörper gegen gB1 und gB2 lassen sich nicht detektieren.

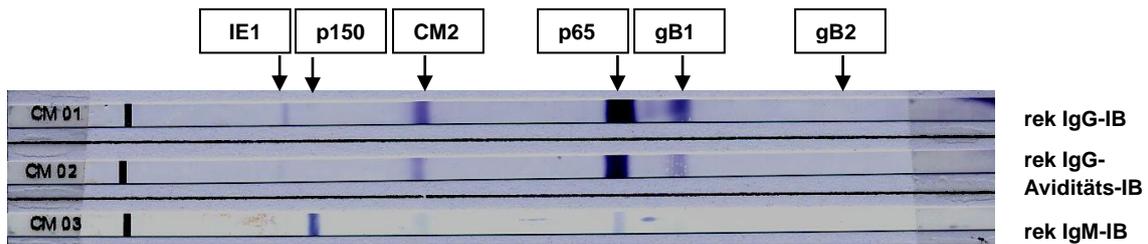
Aufgrund des nahe liegenden Verdachts einer Primärinfektion mit einhergehendem erhöhtem Risiko einer Transmission wurde in diesem Fall zusätzlich mütterliches Serum mittels PCR auf CMV-DNA untersucht, welche allerdings nicht nachgewiesen werden konnte. Auch die nested PCR des Nabelschnurbluts des Kindes sowie die PCR der Guthrie-Trockenblutkarte erwiesen sich als negativ. Trotz der die Transmission begünstigenden Risikokonstellation hatte somit keine kongenitale Übertragung auf das Neugeborene stattgefunden.

#### **4.5.1.5 Ungewöhnliche Serokonstellation einer CMV-Primärinfektion**

CMV-Serostatus bei Geburt: Fehlende p150-IgG-Reaktivität / Keine gB2-Reaktivität / niedrige Avidität (rek IB) versus hohe Avidität (CLIA) / p150 > p65-IgM-Reaktivität bei grenzwertigem IgM-Befund im ELISA und positivem IgM-Befund im CLIA

(Fall 4, TAB. 51, TAB. 52, TAB. 53)

Bei der zum Zeitpunkt der Geburt 30-jährigen Mutter wurde in CLIA und rekombinantem Immunoblot ein positives IgM detektiert, während der ELISA hier nur einen grenzwertig positiven IgM-Nachweis ergab. Abweichungen gab es bezüglich der Avidität, hier lag der CLIA-Aviditätsindex bei 0,33, was bereits einer hohen Aviditätsreifung entspricht, während der rekombinante Aviditäts-Immunoblot eher auf eine niedrige Aviditätsreifung schließen ließ (RECOMBLOT CMV 10). Auch in diesem Fall fand keine Virustransmission auf das Neugeborene statt.



**recomBlot CMV 10: H3134, Abnahmedatum 15.08.2008**

Die Interpretation dieses Blots ist aus mehreren Gründen interessant. Zum einen fehlt auf dem IgG-Streifen die Bande gegen p150 komplett, was nicht sehr häufig vorkommt und für eine unmittelbar nach Erstinfektion abgenommene Blutprobe spricht. Eine gB2-Reaktivität fehlt ebenso. Dafür zeigt sich eine sehr intensive Bande gegen p65, sowie deutliche Banden bei CM2 und gB1 und eine schwache Bande bei IE1. Per definitionem muss bei Abwesenheit einer p150-Bande für IgG-Seropositivität CM2 in gut sichtbarer Intensität sowie mindestens eine weitere schwache Bande vorhanden sein, was hier der Fall ist. Diese Konstellation erschwert jedoch die Interpretation der Aviditätsreifung, da in diesem Fall nur zwei der drei in Betracht zu ziehenden Banden überhaupt auf dem Referenzstreifen vorhanden sind. Die Bande gegen IE1 zeigt eine Intensitätsabnahme um 100 Prozent, da auf dem Aviditätsstreifen keine Bande erkennbar ist, die Bande gegen CM2 zeigt ebenfalls eine deutliche Abschwächung (ca. 50 Prozent). Daher werden hier die Definitionskriterien einer niedrigen Avidität erfüllt. Bei der Betrachtung des IgM-Immunoblots ergibt sich eine gut sichtbare p150-Bande sowie eine weitere Bande in schwacher Intensität bei p65, dies entspricht einem positiven IgM-Nachweis.

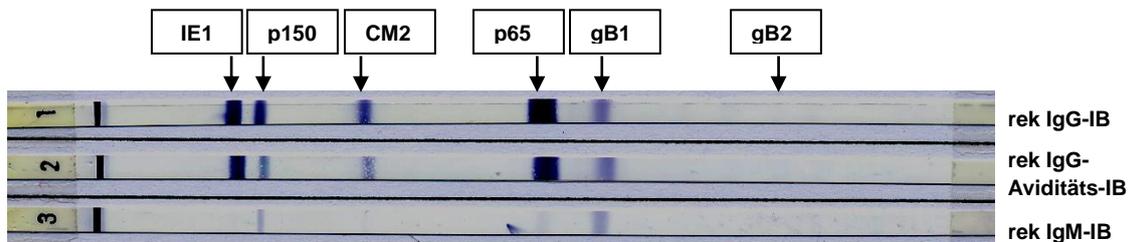
Fazit der Interpretation dieses rekombinanten Immunoblots wäre hier der Verdacht auf eine unmittelbar vor Geburt stattgefundenene CMV-Primärinfektion der Mutter, mit einem gesteigerten Übertragungsrisiko für das Baby. Die Serum-PCR des Neugeborenen war jedoch negativ, es fand keine Transmission statt.

#### 4.5.1.6 Unklarer Serostatus: IgM-Nachweis mit intermediärer Avidität

CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-Reaktivität / intermediäre Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) /  $p150 < gB1$ -IgM-Reaktivität bei positivem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 3, TAB. 51, TAB. 52, TAB. 53)

Diese 33-jährige Mutter von Zwillingen wies zum Zeitpunkt der Geburt ein positives CMV-IgM in ELISA, CLIA sowie rekombinantem Immunoblot auf. Der CLIA-Aviditätstest ergab einen Aviditätsindex von 0,26, was einer intermediären Avidität entspricht. Auch im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot zeigten sich intermediär averse Antikörper (RECOMBLOT CMV 11). Es fand keine Übertragung auf die Zwillinge statt.



recomBlot CMV 11: H2557, Abnahmedatum 01.07.2008

Anhand dieses Immunoblots zeigt sich die Schwierigkeit einer objektiven Einschätzung der Avidität. Betrachtet man die für die Aviditätsreifung eine Rolle spielenden Banden gegen IE1, p150 und CM2, so lässt sich bei IE1 kaum eine Abnahme, bei p150 und CM2 jedoch eine ca. 50- bis 25-prozentige Abnahme der Bandenintensität erkennen, was per definitionem (zwei der drei Banden zeigen eine Abschwächung der Bandenintensität) für eine intermediäre Avidität spricht. In diesem Fall kann somit keine Aussage zum Infektionszeitpunkt getroffen werden. Die Anwesenheit einer gut sichtbaren Bande gegen gB1, aber ohne Nachweis von Antikörpern gegen gB2, wäre hier möglicherweise ein Indiz für eine sechs bis acht Wochen zurückliegende CMV-Infektion bei einem gB2-Nonresponder. Auch die stark ausgeprägten Banden des IgG-Immunoblots deuten eher auf eine zurückliegende Infektion hin. Der positive IgM-Immunoblot mit seiner schwachen p150-Bande in Kombination mit einer deutlichen gB1-

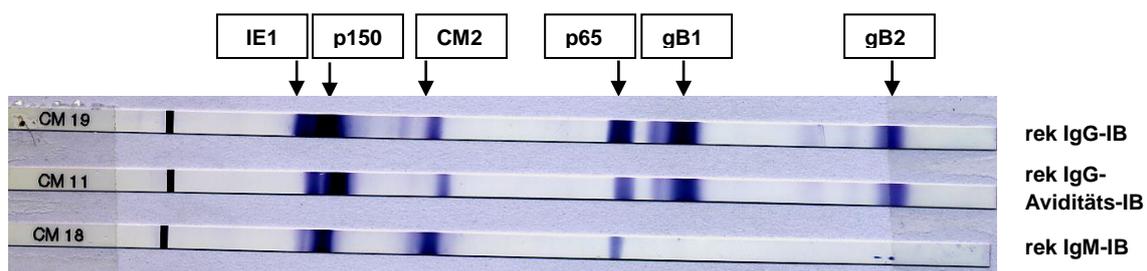
Bande könnte auch auf eine IgM-Reaktivierung während der Schwangerschaft zurückzuführen sein.

**4.5.1.7 Unklarer Serostatus: IgM-Nachweis mit hoher Avidität**

CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-Reaktivität / hohe Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / breites und intensives IgM-Spektrum bei positivem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 6, TAB. 51, TAB. 52, TAB. 53)

Bei der 28-jährigen Mutter war vor allem der IgM-Befund des rekombinanten Immunoblots eindrucklich, auch im ELISA und CLIA ergab sich ein positiver IgM-Nachweis. Der CLIA-Aviditätsindex lag bei 0,42, dies entspricht einer hohen Aviditätsreifung, ebenso zeigten sich im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot hoch avide Antikörper (RECOMBLOT CMV 12). CMV wurde auch hier nicht auf das Kind übertragen.



recomBlot CMV 12: H475, Abnahmedatum 30.01.2008

Bei der Betrachtung aller drei Streifen des Blots beeindruckt die Intensität der Bandenausprägung. Diese korreliert hier mit dem mit 16 AU/mL oberhalb des Messbereichs (Obergrenze 15 AU/mL) liegenden IgG-Titer im ELISA, wogegen der IgG-CLIA mit 3,9 IE/mL einen eher im unteren Messbereich (0,6 bis 22 IE/mL) liegenden Wert ergab. Auch der Titer des IgM-ELAs war mit einem Wert von 0,572 erhöht, während der IgM-CLIA einen Titer von 32,1 AU/mL ergab, welcher nur knapp über der Untergrenze (30 AU/mL) des Positivbereichs lag. Im IgG-Streifen sind Banden gegen alle im rekombinanten Immunoblot getesteten Antikörper vorhanden, inklusive Antikörper gegen gB2, womit man eine Erstinfektion innerhalb der zurückliegenden sechs bis acht Wochen mit

hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen kann. Auch die hohe Aviditätsreifung der Antikörper gegen IE1, p150 und CM2 deutet stark auf eine schon länger zurückliegende Infektion hin. Im Zusammenhang mit dieser Konstellation muss bei der sehr starken Intensität der p150- und CM2-Bande im IgM-Blot sowie deutlicher Sichtbarkeit der IE1- sowie p65-Bande an eine IgM-Persistenz oder eine im Rahmen der Schwangerschaft stattgefundene IgM-Reaktivierung gedacht werden.

#### 4.5.2 Diskordant IgM-positive Mütter

Aus der Gruppe der insgesamt 93 diskordant IgM-positiven Frauen waren 58 Fälle (62,4 Prozent) insofern überraschend, da sich bei ihnen in beiden routinemäßig durchgeführten Screeningtests IgM-ELISA und IgM-CLIA nur negative IgM-Nachweise detektieren ließen. Diese Frauen wurden in 56 der 58 Fälle via rekombinantem IgM-Immunoblot getestet, da sie einen CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  aufwiesen, in den restlichen beiden Fällen mit CLIA-Aviditätsindex  $> 0,4$  wurde der Immunoblot einmal versehentlich sowie einmal aufgrund der Tatsache durchgeführt, dass hier eine Transmission der CMV-Infektion auf das Neugeborene festgestellt wurde. Außer den 58 Frauen, die sowohl im IgM-ELISA als auch im IgM-CLIA negativ waren, gehören weitere 35 Mütter in diese Gruppe diskordant IgM-positiver Mütter, bei denen es Abweichungen des IgM-Ergebnisses in den beiden Standard-Tests IgM-ELA und IgM-CLIA gab (TAB. 55). Der IgM-CLIA schien hierbei meist sensitiver zu sein als der IgM-ELISA mit zumindest 12 positiven sowie 18 grenzwertig positiven Resultaten (insgesamt 30 Fälle) im Vergleich zu nur drei positiven und zwei grenzwertig positiven Ergebnissen (insgesamt fünf Fälle) des IgM-ELAs (ABB. 23).

Tab. 55: Konstellationen diskrepanter Fälle mit positivem IgM im rekombinanten Immunoblot

IgM positiv im rek Immunoblot		IgM-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgM-ELISA	negativ	58	18	12	88
	grenzwertig	2	0	0	2
	positiv	3	0	0	3
	Summe	63	18	12	93

Die Serokonstellationen samt zugehöriger Aviditätsresultate der sehr komplexen Gruppe diskordant IgM-positiver Mütter sollen in ABB. 23 veranschaulicht werden.

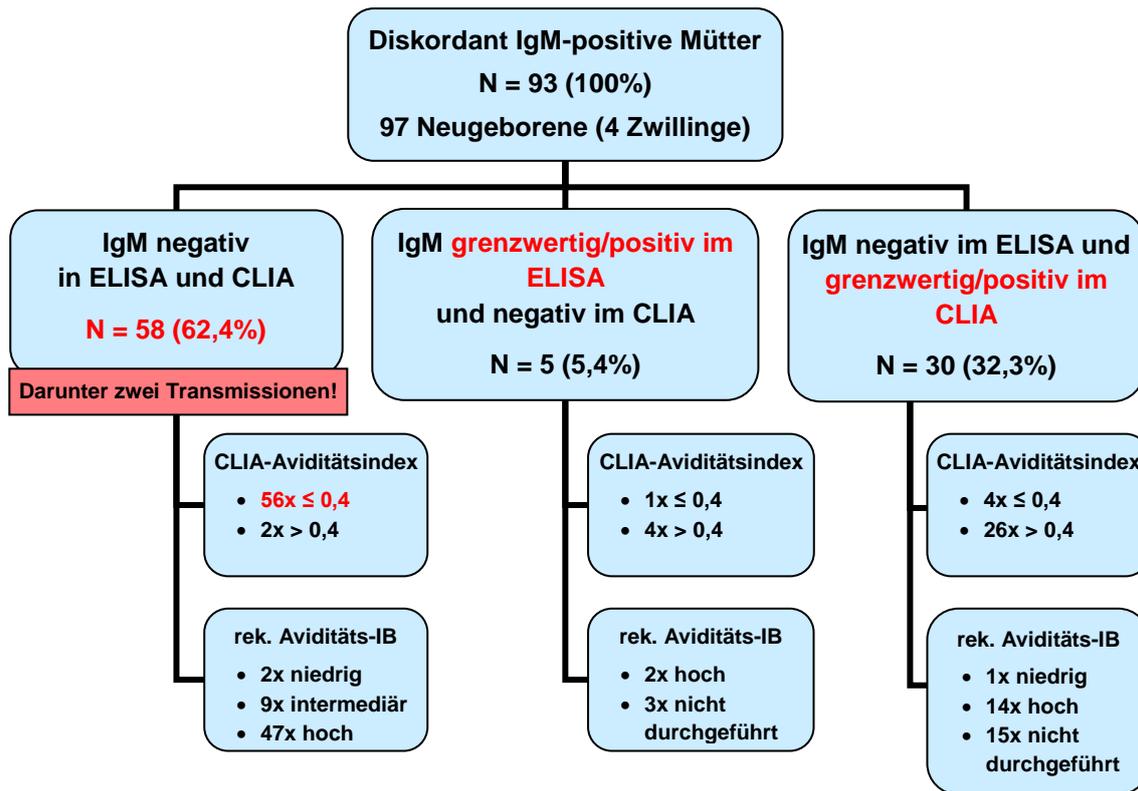


Abb. 23: Serokonstellationen und zugehörige Aviditätsresultate diskordant IgM-positiver Mütter

#### 4.5.2.1 Vergleich der Avidität diskrepanz IgM-positiver Mütter

Die CLIA-Aviditätsindizes in der Gruppe diskrepanz IgM-positiver Mütter wiesen eine große Spannweite auf und erstreckten sich von 0,01 bis 0,87, wobei gerade bei den kritischen unteren Werten zum rekombinanten Aviditäts-Immunoblot erneut große Abweichungen auftraten (TAB. 56 und TAB. 57). Von drei Fällen mit CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,2$  wurde im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot bei keiner Probe ein entsprechendes (d.h. niedrig avides) Ergebnis erzielt, nur in einem Fall konnten intermediär avide Antikörper detektiert werden. Eine Konkordanz der beiden eingesetzten Aviditäts-Tests ist somit bei niedrig aviden Antikörpern nicht gegeben. Von den 21 Proben, die im CLIA einen Aviditätsindex zwischen 0,21 und 0,30 aufzeigten (intermediärer Avidität entsprechend), wurden vier im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot bestätigt, alle anderen Blots wiesen hoch avide Antikörper auf (TAB. 56). Dies entspricht im Bereich intermediärer CLIA-Aviditätsindizes einer Konkordanz der beiden Aviditäts-Tests von nur 19,0 Prozent.

Tab. 56: Vergleich der Avidität diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,30$

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
1	1391	negativ	negativ	positiv	0,01	intermediär
2	1295	negativ	positiv	positiv	0,18	hoch
3	478	negativ	grenzwertig	positiv	0,19	hoch
4	987	negativ	positiv	positiv	0,23	hoch
5	1639	negativ	negativ	positiv	0,23	hoch
6	4907	negativ	negativ	positiv	0,23	hoch
7	1947	negativ	negativ	positiv	0,24	hoch
8	3540	negativ	negativ	positiv	0,24	intermediär
9	1184	negativ	grenzwertig	positiv	0,25	hoch
10	462	negativ	negativ	positiv	0,25	hoch
11	132	negativ	negativ	positiv	0,26	intermediär
12	1707	negativ	negativ	positiv	0,27	hoch
13	2800	negativ	negativ	positiv	0,27	hoch
14	2529	negativ	negativ	positiv	0,28	hoch
15	1389	negativ	negativ	positiv	0,28	hoch
16	1795	negativ	negativ	positiv	0,29	hoch
17	797	negativ	negativ	positiv	0,29	hoch
18	3415	negativ	negativ	positiv	0,30	intermediär
19	342	negativ	negativ	positiv	0,30	hoch
20	28	negativ	negativ	positiv	0,30	hoch
21	3141	negativ	negativ	positiv	0,30	hoch
22	1477	negativ	negativ	positiv	0,30	hoch
23	1156	negativ	negativ	positiv	0,30	hoch
24	1881	negativ	negativ	positiv	0,30	intermediär

In der Gruppe diskreant positiver Frauen mit einem CLIA-Aviditätsindex  $> 0,3$  kam es in zwei Fällen zur vertikalen Übertragung bei pränataler CMV-Infektion (TAB. 57). In dieser Gruppe wurde bis zu einem CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  sowohl ein rekombinanter IgM-Immunoblot als auch ein rekombinanter IgG-Aviditäts-Immunoblot durchgeführt. Die Frauen, die einen CLIA-Aviditätsindex  $> 0,4$  aufwiesen (22 Fälle), wurden aufgrund von Abweichungen des IgM-Nachweises aus ELISA und CLIA via rekombinantem IgM-Immunoblot getestet, in einem Einzelfall versehentlich sowie einmal aufgrund einer festgestellten Transmission. Je nach vorliegendem Befund wurde teilweise auch zusätzlich ein Aviditäts-Immunoblot durchgeführt.

Tab. 57: Vergleich der Avidität diskreant IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex  $> 0,30$

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
25	1448	negativ	grenzwertig	positiv	0,31	hoch
26	1346	negativ	negativ	positiv	0,31	hoch
27	846	negativ	grenzwertig	positiv	0,31	hoch
28	3423	negativ	negativ	positiv	0,31	hoch
29	2667	negativ	negativ	positiv	0,31	intermediär
30	461	negativ	negativ	positiv	0,32	hoch
31	992	negativ	negativ	positiv	0,32	hoch
32	2619	negativ	negativ	positiv	0,32	hoch
33	3152	negativ	positiv	positiv	0,33	hoch
34	1893	negativ	grenzwertig	positiv	0,33	hoch
35	1895	negativ	negativ	positiv	0,33	hoch
36	2046	negativ	negativ	positiv	0,33	hoch
37	1293	negativ	negativ	positiv	0,33	hoch
38	1358	negativ	negativ	positiv	0,33	hoch
39	1093	negativ	negativ	positiv	0,33	niedrig
40	2799	negativ	negativ	positiv	0,34	niedrig
41	2292	negativ	negativ	positiv	0,34	hoch
42	1884	negativ	negativ	positiv	0,34	hoch
43	4912	negativ	grenzwertig	positiv	0,35	niedrig

Nr	H- Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM- Immunoblot	CLIA-IgG- Aviditätsindex	rek. IgG- Aviditäts- Immunoblot
44	473	negativ	negativ	positiv	0,35	hoch
45	195	negativ	negativ	positiv	0,35	hoch
46	1476	negativ	negativ	positiv	0,35	hoch
47	1288	negativ	positiv	positiv	0,36	hoch
48	1150	negativ	positiv	positiv	0,36	hoch
49	3420	negativ	negativ	positiv	0,36	hoch
50	4909	negativ	negativ	positiv	0,36	hoch
51	4775	negativ	negativ	positiv	0,36	hoch
52	2027	negativ	negativ	positiv	0,36	hoch
53	426	negativ	grenzwertig	positiv	0,37	hoch
54	1089	negativ	negativ	positiv	0,37	hoch
55	3167	negativ	negativ	positiv	0,37	hoch
56	2728	negativ	negativ	positiv	0,37	hoch
57	982	negativ	negativ	positiv	0,37	intermediär
58	465	grenzwertig	negativ	positiv	0,38	hoch
59	1189	negativ	grenzwertig	positiv	0,38	hoch
60	822	negativ	negativ	positiv	0,38	hoch
61	102	negativ	negativ	positiv	0,38	hoch
62	1471	negativ	negativ	positiv	0,38	intermediär
63	20	negativ	negativ	positiv	0,38	hoch
64	1278	negativ	positiv	positiv	0,39	hoch
65	2785	negativ	negativ	positiv	0,39	hoch
66	2565	negativ	negativ	positiv	0,39	intermediär
67	1621	negativ	negativ	positiv	0,39	hoch
68	2035	negativ	negativ	positiv	0,40	hoch
69	2535	negativ	negativ	positiv	0,40	hoch
70	1479	negativ	negativ	positiv	0,40	hoch
71	3551	negativ	negativ	positiv	0,40	hoch
72	3282	negativ	positiv	positiv	0,41	*
73	2758	negativ	grenzwertig	positiv	0,42	*
74	1193	positiv	negativ	positiv	0,46	*
75	1770	positiv	negativ	positiv	0,46	*
76	4591	negativ	positiv	positiv	0,48	*

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
77	1203	negativ	positiv	positiv	0,49	*
78	1164	positiv	negativ	positiv	0,50	hoch
79	4719	negativ	positiv	positiv	0,50	*
80	3995	negativ	positiv	positiv	0,51	*
81	2457	negativ	negativ	positiv	0,54	hoch
82	2779	negativ	grenzwertig	positiv	0,56	*
83	3192	negativ	grenzwertig	positiv	0,57	*
84	2919	negativ	positiv	positiv	0,59	*
85	986	negativ	grenzwertig	positiv	0,61	hoch
86	3944	negativ	grenzwertig	positiv	0,65	*
87	2757	negativ	grenzwertig	positiv	0,67	*
88	4710	negativ	negativ	positiv	0,69	hoch
89	2254	grenzwertig	negativ	positiv	0,71	*
90	3932	negativ	grenzwertig	positiv	0,76	*
91	4561	negativ	grenzwertig	positiv	0,82	*
92	4683	negativ	grenzwertig	positiv	0,84	*
93	3983	negativ	grenzwertig	positiv	0,87	*

#### Mütter mit Transmission der CMV-Infektion auf das Neugeborene

\* rek. Aviditäts-Immunoblot wurde aufgrund von CLIA-Aviditätsindex > 0,4 nicht durchgeführt

Bei der Betrachtung der Verteilung der CLIA-Aviditätsindizes (ABB. 24) in dieser Gruppe diskrepanz IgM-positiver Mütter fällt eine Häufung der Werte vor allem im Bereich zwischen 0,3 und 0,4, aber auch im Bereich zwischen 0,2 und 0,3 auf. Insgesamt liegen 68 von 93 ermittelten Aviditätsindizes (73,1 Prozent) im Bereich zwischen 0,2 und 0,4. Im niedrig aviden Bereich bis 0,2 finden sich nur drei der insgesamt 93 ermittelten Werte (3,2 Prozent). Auffällig ist der rapide Abfall der Werte im Bereich ab 0,4. Dies entspricht somit dem Bereich, ab dem gemäß der Aufgabenstellung dieser Arbeit bei unauffälligen Resultaten in den IgM-Standardtests IgM-ELA und IgM-CLIA auf eine zusätzliche Untersuchung via rekombinantem IgM-Immunoblot verzichtet wurde. Insgesamt liegen in dieser Gruppe nur 22 von 93 Frauen mit ihrem CLIA-Aviditätsindex im Bereich > 0,4 (23,7 Prozent).

**Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes**

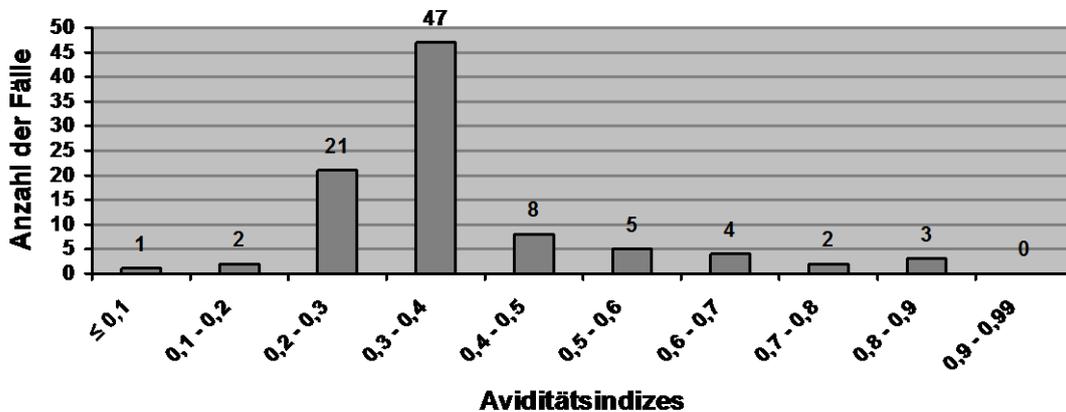


Abb. 24: Verteilung der CLIA-IgG-Aviditätsindizes in der Gruppe der diskrepant IgM-positiven Mütter: 68 von 93 ermittelten CLIA-Aviditätsindizes liegen im Bereich zwischen 0,2 und 0,4 (73,1 Prozent)!

**4.5.2.2 Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunooblots diskrepant IgM-positiver Mütter**

In der Gruppe der diskrepant IgM-positiven Mütter sind die meisten IgM-Immunooblots in der Intensität der Banden im Vergleich zu den IgG-Immunooblots deutlich schwächer ausgeprägt (TAB. 58 und TAB. 59). Bei 26 der 93 getesteten Frauen zeigte sich nur eine solitäre p150-Bande. Diese muss bei solitärem Nachweis definitionsgemäß in mindestens gut sichtbarer Intensität (entspricht „++“) vorliegen. Bei 23 der 26 Frauen mit singulärer p150-Bande zeigte sich eine p150-Bande in gut sichtbarer Intensität, bei drei Frauen konnte eine p150-Bande in sehr starker Intensität detektiert werden. In 23 weiteren Fällen konnte eine p150-Bande in Kombination mit einer p65-Bande detektiert werden. Eine Kombination aus p150-Bande zusammen mit dem Nachweis einer CM2-Bande ergab sich in elf Fällen. Die restlichen IgM-Immunooblots zeigten entweder Kombinationen aus dem Nachweis einer p150-Bande zusammen mit einer weiteren Bande (außer CM2 oder p65) oder Kombinationen aus mehr als zwei Banden (dabei musste jedoch die p150-Bande stets in zumindest schwacher Intensität nachweisbar sein). Insgesamt waren Nachweise von Antikörpern im

IgM-Immunoblot gegen IE1, gB1 und vor allem gB2 (nur zwei Fälle) eher selten. Sehr starke Reaktivitäten („+++“) bei p150 zeigten sich in 14 Fällen. Auffällig dabei war, dass in diesen Fällen mit sehr starker Ausprägung der p150-Bande meist mehrere weitere Banden nachweisbar waren.

Tab. 58: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunoblots aller diskrepant IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,30$  (siehe auch TAB. 56)

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immunoblot <b>positiv</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1391	negativ	negativ	0,01	∅	++	∅	∅	∅	∅
2	1295	negativ	positiv	0,18	∅	+	+	+/-	∅	∅
3	478	negativ	grenzwertig	0,19	+/-	+	+/-	+	∅	∅
4	987	negativ	positiv	0,23	∅	++	∅	+	∅	∅
5	1639	negativ	negativ	0,23	∅	++	∅	∅	+/-	∅
6	4907	negativ	negativ	0,23	∅	++	∅	∅	∅	∅
7	1947	negativ	negativ	0,24	∅	+	+/-	++	∅	∅
8	3540	negativ	negativ	0,24	∅	++	+	∅	∅	∅
9	1184	negativ	grenzwertig	0,25	∅	++	∅	+/-	∅	∅
10	462	negativ	negativ	0,25	∅	++	∅	∅	∅	∅
11	132	negativ	negativ	0,26	∅	++	∅	∅	∅	∅
12	1707	negativ	negativ	0,27	∅	++	∅	∅	∅	∅
13	2800	negativ	negativ	0,27	∅	++	∅	∅	∅	∅
14	2529	negativ	negativ	0,28	∅	+	∅	+	∅	∅
15	1389	negativ	negativ	0,28	∅	++	∅	∅	∅	∅
16	1795	negativ	negativ	0,29	∅	+	+	+/-	++	∅
17	797	negativ	negativ	0,29	∅	+	+	+	∅	∅
18	3415	negativ	negativ	0,30	∅	++	∅	∅	∅	∅
19	342	negativ	negativ	0,30	∅	++	∅	∅	∅	∅
20	28	negativ	negativ	0,30	∅	++	∅	+/-	∅	∅
21	3141	negativ	negativ	0,30	∅	++	∅	∅	∅	∅
22	1477	negativ	negativ	0,30	∅	+	+	+	∅	∅
23	1156	negativ	negativ	0,30	∅	++	∅	+	∅	∅
24	1881	negativ	negativ	0,30	∅	++	∅	+/-	∅	∅

**Singuläre p150-Reaktivität**

**p150-Reaktivität in alleiniger Kombination mit CM2-Reaktivität**

**p150-Reaktivität in alleiniger Kombination mit p65-Reaktivität**

Tab. 59: Intensität der CMV-spezifischen Antigenbanden in den rekombinanten IgM-Immunooblots aller diskrepant IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex > 0,30 (siehe auch TAB. 57)

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immunooblot <b>positiv</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
25	1448	negativ	grenzwertig	0,31	∅	++	∅	+/-	∅	∅
26	1346	negativ	negativ	0,31	∅	+	+	+/-	∅	∅
27	846	negativ	grenzwertig	0,31	+/-	++	+	+++	+/-	∅
28	3423	negativ	negativ	0,31	∅	++	∅	+	∅	∅
29	2667	negativ	negativ	0,31	∅	++	∅	∅	∅	∅
30	461	negativ	negativ	0,32	∅	++	+/-	+/-	∅	∅
31	992	negativ	negativ	0,32	∅	++	+	∅	∅	∅
32	2619	negativ	negativ	0,32	∅	++	+/-	∅	∅	∅
33	3152	negativ	positiv	0,33	∅	+	++	∅	∅	∅
34	1893	negativ	grenzwertig	0,33	∅	++	+/-	+	∅	∅
35	1895	negativ	negativ	0,33	∅	++	∅	∅	∅	∅
36	2046	negativ	negativ	0,33	∅	+	+	+	∅	∅
37	1293	negativ	negativ	0,33	∅	++	∅	∅	∅	∅
38	1358	negativ	negativ	0,33	∅	+++	∅	∅	∅	∅
39	1093	negativ	negativ	0,33	∅	++	∅	∅	∅	∅
40	2799	negativ	negativ	0,34	∅	+	+	+	∅	∅
41	2292	negativ	negativ	0,34	+/-	+++	∅	+	+	∅
42	1884	negativ	negativ	0,34	∅	+++	∅	+/-	∅	∅
43	4912	negativ	grenzwertig	0,35	+/-	+++	+	+/-	∅	+
44	473	negativ	negativ	0,35	∅	+	∅	++	∅	∅
45	195	negativ	negativ	0,35	∅	++	∅	++	+/-	∅
46	1476	negativ	negativ	0,35	∅	+++	∅	+/-	∅	∅
47	1288	negativ	positiv	0,36	∅	++	+/-	+/-	∅	∅
48	1150	negativ	positiv	0,36	∅	+	+	∅	∅	∅
49	3420	negativ	negativ	0,36	+	+++	∅	+	+	∅
50	4909	negativ	negativ	0,36	∅	++	+	∅	+/-	∅
51	4775	negativ	negativ	0,36	∅	++	∅	∅	∅	∅
52	2027	negativ	negativ	0,36	∅	++	∅	∅	∅	∅
53	426	negativ	grenzwertig	0,37	∅	++	∅	+	∅	∅
54	1089	negativ	negativ	0,37	∅	++	∅	+	∅	∅
55	3167	negativ	negativ	0,37	∅	+++	∅	++	∅	∅
56	2728	negativ	negativ	0,37	∅	++	∅	∅	∅	∅

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immunoblot <b>positiv</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
57	982	negativ	negativ	0,37	∅	++	∅	∅	∅	∅
58	465	<b>grenzwertig</b>	negativ	0,38	+	+++	+	++	∅	∅
59	1189	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,38	∅	+++	∅	∅	∅	∅
60	822	negativ	negativ	0,38	∅	+	∅	+	+	∅
61	102	negativ	negativ	0,38	∅	++	∅	+/-	∅	∅
62	1471	negativ	negativ	0,38	∅	+++	+/-	∅	∅	∅
63	20	negativ	negativ	0,38	∅	++	∅	∅	∅	∅
64	1278	negativ	<b>positiv</b>	0,39	∅	++	++	∅	∅	∅
65	2785	negativ	negativ	0,39	∅	+	∅	+	∅	∅
66	2565	negativ	negativ	0,39	∅	++	∅	+	∅	∅
67	1621	negativ	negativ	0,39	∅	+++	∅	+/-	∅	∅
68	2035	negativ	negativ	0,40	∅	++	∅	+	∅	∅
69	2535	negativ	negativ	0,40	∅	+	∅	+	∅	∅
70	1479	negativ	negativ	0,40	∅	++	+	∅	∅	∅
71	3551	negativ	negativ	0,40	∅	++	∅	++	∅	∅
72	3282	negativ	<b>positiv</b>	0,41	∅	+	+	∅	∅	∅
73	2758	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,42	∅	+	+	+	∅	∅
74	1193	<b>positiv</b>	negativ	0,46	∅	+++	∅	∅	∅	∅
75	1770	<b>positiv</b>	negativ	0,46	+	+++	∅	∅	+/-	∅
76	4591	negativ	<b>positiv</b>	0,48	∅	++	∅	∅	∅	∅
77	1203	negativ	<b>positiv</b>	0,49	+	++	++	+/-	∅	∅
78	1164	<b>positiv</b>	negativ	0,50	∅	++	∅	∅	∅	∅
79	4719	negativ	<b>positiv</b>	0,50	∅	++	+	∅	+/-	∅
80	3995	negativ	<b>positiv</b>	0,51	∅	+	∅	+	∅	∅
81	2457	negativ	negativ	0,54	∅	++	∅	∅	∅	∅
82	2779	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,56	∅	+++	+	+	+	∅
83	3192	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,57	∅	+	++	∅	∅	∅
84	2919	negativ	<b>positiv</b>	0,59	∅	++	+/-	∅	∅	∅
85	986	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,61	∅	++	∅	+/-	∅	∅
86	3944	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,65	∅	++	+	∅	+	∅
87	2757	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,67	++	+	∅	∅	∅	∅
88	4710	negativ	negativ	0,69	∅	+	∅	∅	+	∅
89	2254	<b>grenzwertig</b>	negativ	0,71	∅	++	+	+	+	∅
90	3932	negativ	<b>grenzwertig</b>	0,76	∅	++	∅	∅	∅	∅

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immunoblot <b>positiv</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
91	4561	negativ	grenzwertig	0,82	∅	++	∅	∅	++	++
92	4683	negativ	grenzwertig	0,84	∅	+	∅	+	+	∅
93	3983	negativ	grenzwertig	0,87	+	+	++	∅	∅	∅

<i>Singuläre p150-Reaktivität</i>
<i>p150-Reaktivität in alleiniger Kombination mit CM2-Reaktivität</i>
<i>p150-Reaktivität in alleiniger Kombination mit p65-Reaktivität</i>
<i>Mütter mit Transmission der CMV-Infektion auf das Neugeborene</i>

**4.5.2.3 Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität bei diskrepant IgM-positiven Müttern**

Die Auswertung der CMV-Glykoprotein-B-spezifischen IgG-Antikörperreaktivität konnte in der Gruppe der diskrepant IgM-positiven Mütter nur bis zu einem CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  erfolgen, da die Mütter mit höherem Aviditätsindex nur in Ausnahmefällen via rekombinantes IgG-Immunoblot getestet wurden. Die Anzahl der Frauen mit einem CLIA-Aviditätsindex bis einschließlich 0,4, bei denen somit ein IgG-Immunoblot durchgeführt wurde, beträgt 71 (von 93). Bei zehn dieser 71 untersuchten IgG-Immunoblots zeigte sich keine gB2-Antikörperreaktivität, weitere drei wiesen nur sehr schwache gB2-Antikörperbanden auf (TAB. 60). Jeder dieser 13 Blots zeigte jedoch eine gB1-Bande in mindestens schwacher Intensität. Die gB1-Reaktivität scheint aber in Bezug auf den Zeitpunkt der Infektion im Vergleich zur gB2-Reaktivität eine eher untergeordnete Rolle zu spielen. 23 der IgG-Immunoblots wiesen gB2-Banden einer sehr starken Intensität (entspricht „+++“) auf, dies wäre ein Indiz für eine mindestens zwei Monate zurückliegende Infektion (Herstellerangaben). Die meisten dieser Blots mit starker gB2-Reaktivität zeigten auch starke Reaktivitäten der gB1-Antikörper, nur in fünf von 23 Fällen waren diese Banden im Vergleich zur gB2-Bande etwas schwächer ausgeprägt (entsprechend „++“) und in einem Fall zeigte sich eine gB1-Bande nur in gut sichtbarer Intensität (entsprechend „+“).

Tab. 60: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität diskrepanz IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,40$

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1391	0,01	intermediär	+	++	∅	++	+	∅
				∅	++	∅	+	+/-	∅
2	1295	0,18	hoch	++	+++	++	++	+++	+
				++	+++	+	+	++	+/-
3	478	0,19	hoch	++	+++	+++	+++	+	++
				++	++	+++	+	+	∅
4	987	0,23	hoch	+	++	+	++	++	++
				+	++	+	++	++	++
5	1639	0,23	hoch	++	+++	++	++	++	+
				++	+++	+	+	++	+
6	4907	0,23	hoch	+	+++	+	∅	++	∅
				+	+++	+/-	∅	++	∅
7	1947	0,24	hoch	+	+++	+	+++	++	++
				+	+++	+	++	++	++
8	3540	0,24	intermediär	∅	++	+	+	+++	+++
				∅	++	∅	+	+++	+++
9	1184	0,25	hoch	+	+++	++	+	+++	+++
				+	+++	++	+	+++	+++
10	462	0,25	hoch	+	+++	+++	+++	++	+/-
				+	+++	+++	+	+	∅
11	132	0,26	intermediär	∅	+++	∅	++	+	∅
				∅	++	∅	∅	+/-	∅
12	1707	0,27	hoch	+	+++	∅	+/-	++	+
				+	+++	∅	∅	++	+
13	2800	0,27	hoch	+	+++	+++	++	++	∅
				+	+++	+++	+/-	+	∅
14	2529	0,28	hoch	∅	+	∅	∅	+	++
				∅	+	∅	∅	+	++
15	1389	0,28	hoch	+	+++	+	++	++	++
				+	+++	+	++	++	+
16	1795	0,29	hoch	+++	+++	++	+++	+++	+++
				+++	+++	++	++	+++	+++
17	797	0,29	hoch	+	+++	+/-	+/-	++	++
				+	+++	∅	∅	++	+
18	3415	0,30	intermediär	+	++	++	++	++	++
				+/-	+	+	+	++	+
19	342	0,30	hoch	+	+++	+++	+++	++	+
				+	++	+++	++	++	+
20	28	0,30	hoch	++	+++	++	+	+++	+++
				++	+++	++	+	+	+/-
21	3141	0,30	hoch	∅	+++	∅	∅	++	++
				∅	+++	∅	∅	++	∅

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
22	1477	0,30	hoch	++	++	++	+++	+++	+++
				++	++	+	++	+++	+++
23	1156	0,30	hoch	∅	+++	+/-	++	+++	++
				∅	++	∅	+/-	+	+/-
24	1881	0,30	intermediär	++	+++	+++	++	++	∅
				+	++	++	+	+	∅
25	1448	0,31	hoch	∅	++	+	++	++	+++
				∅	++	∅	+	++	+++
26	1346	0,31	hoch	+	+++	++	++	+++	+++
				+	+++	+	+	++	++
27	846	0,31	hoch	+	+++	+++	+++	++	∅
				+	+++	+++	+++	+	∅
28	3423	0,31	hoch	∅	+++	∅	++	++	++
				∅	+++	∅	∅	+	+
29	2667	0,31	intermediär	++	++	+	+	+	++
				++	+	+	∅	∅	++
30	461	0,32	hoch	+	+++	∅	+	+++	+++
				+	+++	∅	+/-	++	+++
31	992	0,32	hoch	+++	+++	+	+	+++	+++
				+++	+++	+	+	+++	+++
32	2619	0,32	hoch	∅	+++	∅	∅	+	+
				∅	+++	+	∅	+	+
33	3152	0,33	hoch	+	+++	+++	∅	++	∅
				+	+++	+++	∅	++	∅
34	1893	0,33	hoch	+++	+++	+++	+++	+	++
				+++	+++	+++	+++	+	++
35	1895	0,33	hoch	++	+++	+	+	++	++
				++	+++	∅	∅	++	++
36	2046	0,33	hoch	++	+++	+	+	+++	+++
				+	+++	+	+/-	+++	+++
37	1293	0,33	hoch	+/-	++	+/-	+	+++	+++
				∅	++	∅	+/-	+++	+++
38	1358	0,33	hoch	+	+++	∅	+/-	++	+
				+	++	∅	∅	++	+
39	1093	0,33	niedrig	++	+	+	++	++	+++
				+	+/-	+/-	+	++	++
40	2799	0,34	niedrig	+	++	+	+	++	++
				∅	+	∅	∅	++	+
41	2292	0,34	hoch	++	+++	++	+	++	+
				++	+++	+	∅	+	+
42	1884	0,34	hoch	∅	+++	++	++	+++	++
				∅	+++	++	+/-	++	++
43	4912	0,35	niedrig	+	++	+++	+++	+++	++
				+/-	+/-	++	++	+	+/-

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immuno- blot	rekombinanter IgG-Immuno- blot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
44	473	0,35	hoch	∅	+++	∅	+	+	+
				∅	+++	∅	+	+	+/-
45	195	0,35	hoch	+++	+++	+	++	+++	++
				+++	+++	+	+	+++	++
46	1476	0,35	hoch	∅	+++	+/-	+	+++	+++
				∅	+++	∅	+	+++	+++
47	1288	0,36	hoch	++	+++	++	++	+	∅
				++	+++	++	+	+	∅
48	1150	0,36	hoch	+	++	++	++	++	+++
				+	++	++	++	++	++
49	3420	0,36	hoch	∅	++	∅	∅	++	++
				∅	++	∅	∅	++	+
50	4909	0,36	hoch	∅	+++	∅	+/-	+	+++
				∅	+++	∅	∅	+/-	++
51	4775	0,36	hoch	+	+++	+/-	+/-	++	+/-
				+	+++	+/-	+/-	++	+/-
52	2027	0,36	hoch	+	+++	++	++	++	+++
				+	+++	+	+	+	++
53	426	0,37	hoch	+/-	+++	+/-	+/-	++	+/-
				+/-	+++	+/-	∅	+	+/-
54	1089	0,37	hoch	++	+++	+++	++	+++	+++
				++	++	++	+	++	++
55	3167	0,37	hoch	∅	++	++	∅	++	+
				∅	++	++	∅	++	+
56	2728	0,37	hoch	+	+++	+	∅	++	++
				+	+++	+/-	∅	++	+
57	982	0,37	intermediär	∅	++	+/-	++	+	++
				∅	+	∅	∅	+/-	+
58	465	0,38	hoch	+	+++	∅	∅	+++	+++
				+	+++	∅	∅	++	+++
59	1189	0,38	hoch	+++	+++	+++	+++	++	+++
				+++	++	+++	++	++	++
60	822	0,38	hoch	++	++	++	++	++	++
				++	++	++	+/-	+	+
61	102	0,38	hoch	++	+++	+	++	+++	+++
				++	+++	+	+	++	+++
62	1471	0,38	intermediär	++	+++	++	+++	+++	+++
				++	++	+	++	++	++
63	20	0,38	hoch	++	+++	∅	+	+	∅
				++	+++	∅	∅	+/-	∅
64	1278	0,39	hoch	+	+++	+/-	++	++	+
				+	+++	+	++	++	+
65	2785	0,39	hoch	++	+++	+	++	+++	+++
				++	+++	+	++	+++	+++

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
66	2565	0,39	intermediär	∅	++	∅	+	+	∅
				∅	+	∅	∅	+/-	∅
67	1621	0,39	hoch	++	+++	++	+++	+++	+
				++	++	++	++	++	∅
68	2035	0,40	hoch	++	+++	∅	++	++	+
				++	+++	∅	+	++	+
69	2535	0,40	hoch	++	+++	+++	+	+++	+++
				++	+++	+++	∅	+++	+++
70	1479	0,40	hoch	+	++	∅	∅	+	++
				+/-	++	∅	∅	+	+
71	3551	0,40	hoch	+/-	+++	∅	∅	+	+
				∅	+++	∅	∅	+	+

<i>Einzelreaktivitäten des rekombinanten IgG-Immunoblots</i>
<i>Einzelreaktivitäten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots</i>
<i>Keine bzw. sehr schwache gB2-Reaktivität</i>
<i>Sehr starke gB2-Reaktivität</i>
<i>Mütter mit Transmission der CMV-Infektion auf das Neugeborene</i>

Interessant ist hier auch der Zusammenhang zwischen gB2-Reaktivität und Avidität, da ausgehend von beiden Qualitäten eine Aussage über den Zeitpunkt der Erstinfektion getroffen werden kann. Bei Betrachtung des Zusammenhangs zwischen gB2-Reaktivität und CLIA-Aviditätsindex lässt sich keine Korrelation feststellen (ABB. 25). Die IgG-Blots, bei denen keine gB2-Reaktivität detektierbar war, verteilen sich gleichmäßig auf den gesamten untersuchten Bereich aller CLIA-Aviditätsindizes einschließlich 0,4. Auch beim Vergleich der gB2-Reaktivität mit dem IgG-Aviditäts-Immunoblot lässt sich kaum eine Korrelation aufzeigen, immerhin sind in vier Fällen ohne Nachweis von gB2-Banden intermediär averse Antikörper nachweisbar, die weiteren neun Fälle ohne gB2-Reaktivität bzw. sehr schwacher gB2-Reaktivität zeigen indessen hoch averse Antikörper. Nur in zwei Fällen scheint das Gesamtbild für die Betrachtung bei fehlender gB2-Reaktivität zusammen zu passen: Fall 1 mit einem Aviditätsindex von 0,01 (niedrig averse), intermediär averse Antikörpern im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot sowie fehlender gB2-Reaktivität und Fall 11 mit intermediär averse Antikörpern sowohl im Immunoblot als auch gemäß CLIA-Aviditätsindex (0,26) im Zusammenhang mit fehlender gB2-Reaktivität (TAB. 60).

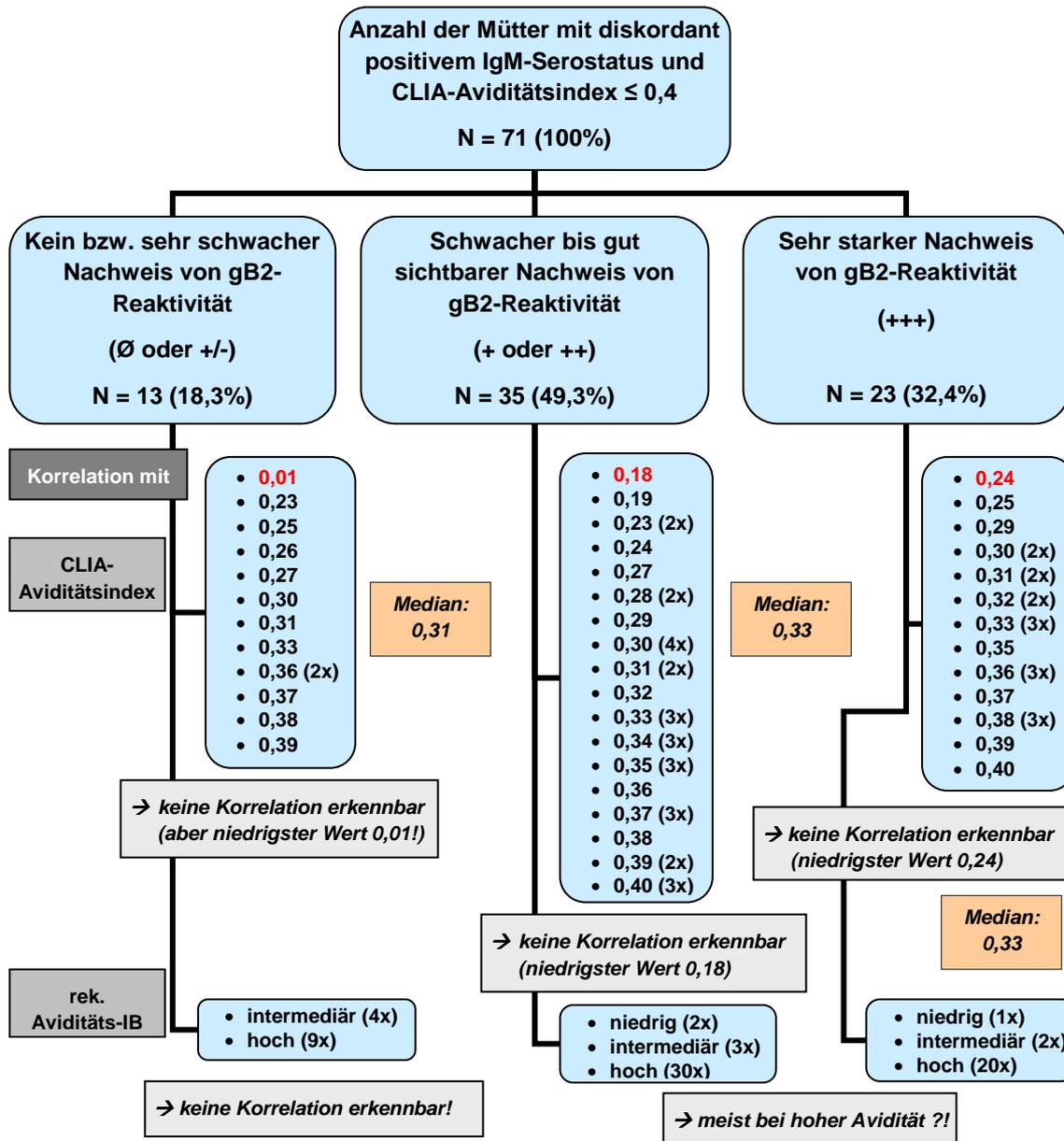


Abb. 25: Glykoprotein-B-spezifische Antikörperreaktivität von diskordant IgM-positiven Müttern und ggf. Korrelation mit Aviditätsresultaten (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot)

In dieser Gruppe diskordant IgM-positiver Frauen ist keine Korrelation im Sinne eines gleichzeitigen Auftretens starker gB2-Reaktivität gemeinsam mit hoher Avidität (beides als Merkmale einer länger zurückliegenden Infektion zu verstehen) zu erkennen. Im Gegenteil, gerade bei intensivem bis sehr starkem Nachweis von gB2-Reaktivität finden sich niedrige und intermediäre Aviditäts-Resultate im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot. Passend zur Annahme, dass

keine bzw. schwache gB2-Reaktivität mit niedriger Avidität einhergehen sollte, wäre zumindest der jeweils niedrigste Wert des CLIA-Aviditätsindizes, der von schwacher zu sehr starker gB2-Reaktivität kontinuierlich anzusteigen scheint (0,01; 0,18; 0,24; ABB. 25). Der Median der CLIA-Aviditätsindizes bezogen auf die Gruppen der gB2-Reaktivität ist hier dagegen wenig aussagekräftig, er liegt bei 0,31 bei Non-gB2-Reaktivität und jeweils bei 0,33 in den Gruppen mit gut sichtbarer sowie sehr starker gB2-Reaktivität. In TAB. 61 sollen die Häufigkeiten, mit denen hohe, intermediäre und niedrige Avidität in beiden Aviditätstests bei bestimmter gB2-Reaktivität auftritt, nochmals dargestellt werden.

Tab. 61: Korrelation von gB2-IgG-Antikörperreaktivität mit Aviditätsstatus: Trend zu gemeinsamem Auftreten von sehr starker gB2-Reaktivität mit hoher Avidität in beiden Aviditäts-Tests?

gB2-IgG-Antikörperreaktivität	Aviditätsstatus via	rekombinanter Aviditäts-Immunoblot		CLIA-Aviditätsindex	
gB2 +++ →	hoch	20/23	(87%)	20/23	(87%)
	intermediär	3/23	(13%)	2/23	(8,7%)
	niedrig	0/23	(0%)	1/23	(4,3%)
gB2 ++ →	hoch	17/22	(77,3%)	13/22	(59,1%)
	intermediär	3/22	(13,6%)	8/22	(36,4%)
	niedrig	2/22	(9,1%)	1/22	(4,5%)
gB2 + →	hoch	13/13	(100%)	9/13	(69,2%)
	intermediär	0/13	(0%)	3/13	(23,1%)
	niedrig	0/13	(0%)	1/13	(7,7%)
gB2 Ø oder +/- →	hoch	8/13	(61,5%)	9/13	(69,2%)
	intermediär	4/13	(30,8%)	4/13	(30,8%)
	niedrig	1/13	(7,7%)	0/13	(0%)

#### **4.5.2.4 CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon: Einfluss der Hyperimmunglobulin-(HIG-)Therapie in der Schwangerschaft**

CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität\* / hohe Avidität\* (sowohl rek IB als auch CLIA) / p150/ p65-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

\* nicht aussagekräftig aufgrund der HIG-Therapie

(Fall 26, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)

Dies ist ein besonders interessanter Fall. Die 33-jährige Schwangere fiel in ihrer sechsten bis zehnten Schwangerschaftswoche mit subfebrilen Temperaturen von bis zu 37,9°C, Pharyngitis, Kopfschmerzen, Bauchschmerzen und Durchfall auf, zur gleichen Zeit litt auch ihr damals vierjähriger Sohn unter Übelkeit und Durchfall. Extern wurde bei ihr dann eine TORCH-Serologie veranlasst. Die Suche verlief erfolgreich, in der zwölften Schwangerschaftswoche konnte bei ihr eine CMV-Primärinfektion diagnostiziert werden. Der Verlauf der Aviditätsmaturation lässt sich in folgender Tabelle darstellen (TAB. 62):

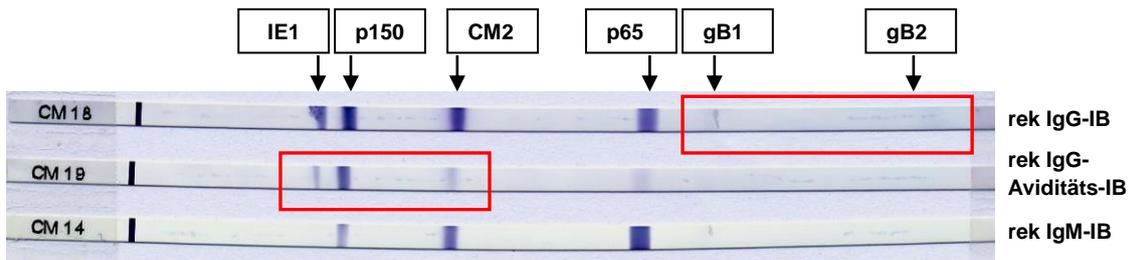
Tab. 62: Aviditätsmaturation einer Mutter mit im Verlauf der Schwangerschaft diagnostizierter CMV-Primärinfektion (Kagan et al., 2011)

Schwangerschafts- woche	Auftrags- nummer	CMV-IgG	CMV-IgM	CMV-CLIA- Aviditätsindex
12.	*	positiv	positiv	0,20 (niedrig)
15.	*	positiv	positiv	0,29 (intermediär)
17.	*	positiv	positiv	0,31 (hoch)
19.	71044516	positiv ELISA: 8,0 AU/mL	negativ in ELISA und CLIA positiv im rek IB (p150/CM2/p65)	CLIA-AI nicht durchgeführt (rek IB: intermediär)
26.	*	positiv	negativ	0,58 (hoch)
30.	*	positiv	negativ	0,86 (hoch)
1. Tag post partum	71067328	positiv ELISA: 22,9 AU/mL CLIA: 9,2 IE/mL	negativ in ELISA und CLIA positiv im rek IB (p150/CM2)	0,31 (hoch) (rek IB: hoch)
5. Tag post partum	71067350	positiv ELISA: 21,5 AU/mL CLIA: 5,0 IE/mL	negativ in ELISA und CLIA	0,23 (intermediär)

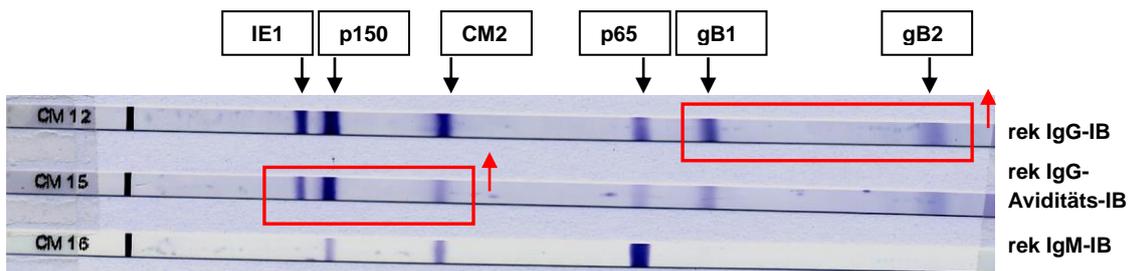
\* Daten übernommen aus dem Labor Enders

In der 17. Schwangerschaftswoche wurde eine Hyperimmunglobulintherapie begonnen. Die Schwangere erhielt daraufhin alle vier Wochen (17., 21., 25., 29., 33. und 37. SSW) das aus humanem Blutplasma hergestellte Hyperimmunglobulin Cytotect® intravenös in einer Dosierung von 200 U/kgKG bis zur 37. Schwangerschaftswoche. Diese Behandlung basiert auf der Studie von Nigro et al., 2005. Bei der 33-jährigen werdenden Mutter traten im gesamten Behandlungszeitraum keine Nebenwirkungen auf.

Anhand der folgend aufgeführten rekombinanten Immunoblots lässt sich die Entwicklung der Antikörper-Reifung veranschaulichen (RECOMBLOT CMV 13, RECOMBLOT CMV 14).



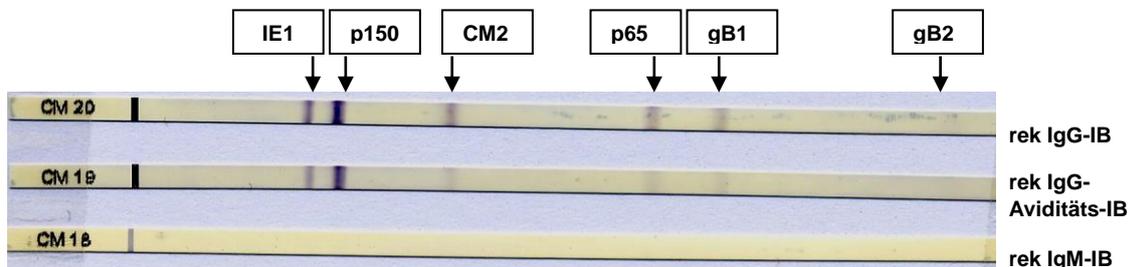
recomBlot CMV 13: Serum, 16. Schwangerschaftswoche (vor intravenöser HIG mit 200U/kgKG)



recomBlot CMV 14: Serum, 21. Schwangerschaftswoche (nach zweimaliger intravenöser HIG-Therapie mit 200 U/kgKG)

Bei der Gegenüberstellung der Immunoblots der 16. und der 21. Schwangerschaftswoche lässt sich im zeitlichen Verlauf einerseits eine leichte Verstärkung der Bandenintensitäten sowohl des IgG-Immunoblots als auch des Aviditäts-Blots, andererseits aber auch eine Abschwächung der CM2-Banden im rekombinanten IgM-Immunoblot erkennen (RECOMBLOT CMV 13 und RECOMBLOT CMV 14). Eine Ausnahme stellt dabei die p65-Bande des IgM-Blots dar, diese scheint im zeitlichen Verlauf sogar noch etwas an Intensität zugenommen zu haben. Sehr schön zu sehen ist hier das verzögerte Auftreten von gB-Reaktivität im rekombinanten IgG- (und auch Aviditäts-)Immunoblot: Im Vergleich zur fast vollständigen Abwesenheit von gB-Antikörpern (eine gB1-Bande ist nur andeutungsweise zu erkennen) in der 16. SSW zeigen sich im wiederholten Immunoblot fünf Wochen später (21. SSW) gut sichtbare Banden sowohl gegen gB1 als auch gegen gB2. Auch bei der Aviditätsreifung lässt sich eine Entwicklung von eindeutig niedrig aviden Antikörpern in der 16. SSW (mindestens 50-prozentige Abschwächung aller drei in Betracht zu ziehenden Banden IE1, p150 und CM2) hin zu intermediär aviden Antikörpern in der 21. SSW erkennen.

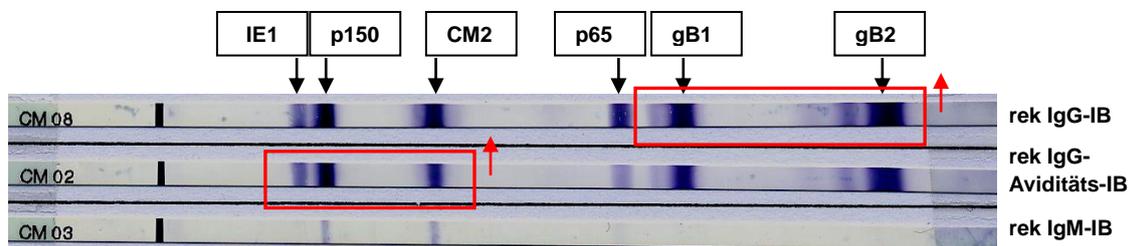
Bei der Untersuchung des Fruchtwassers in der 21. SSW zeigte sich folgender Befund (RECOMBLOT CMV 15).



recomBlot CMV 15: Fruchtwasser, 21. Schwangerschaftswoche, Verdünnung 1:2

Die Bandennachweise des rekombinanten IgG- als auch des Aviditäts-Immunooblots sind hier im Vergleich zu den Immunooblots aus Serum (RECOMBLOT CMV 13 und RECOMBLOT CMV 14) deutlich schwächer in ihrer Intensität. Auffällig ist außerdem, dass hier keine IgM-Reaktivität nachgewiesen werden kann, da dieses aufgrund seiner molekularen Größe nicht in der Lage ist, die Plazenta-Schranke zu passieren.

Zum Zeitpunkt der Geburt wurde die Mutter dann sowohl in ELISA als auch CLIA IgM-negativ getestet. Der kurze Zeit post partum durchgeführte rekombinante IgM-Immuno blot zeigte aber weiterhin persistierende, gut sichtbare Banden bei p150 und CM2 (RECOMBLOT CMV 16).



recomBlot CMV 16: H1346, Abnahmedatum 08.04.2008 (erster Tag post partum)

Der rekombinante IgG-Immuno blot weist hier alle Antikörperbanden in hoher Intensität auf, auch die Banden gegen gB1 und gB2 sind sehr stark ausgeprägt. Bei einer Serum-Abnahme zum Zeitpunkt der Geburt ist eine normale Reifung

CMV-spezifischer Antikörper zwar denkbar, die Banden treten aber hauptsächlich deshalb in einer solch starken Intensität auf, da die Mutter während der bis dahin vergangenen fünf Monate mit Hyperimmunglobulinen therapiert worden war. Dieses polyvalente CMV-spezifische Hyperimmunglobulin enthält Antikörper gegen alle Virusantigene des rekombinanten Immunoblots in hoher Konzentration. Somit kann auch die starke gB2-Bande nicht wie unter normalen Bedingungen interpretiert werden. Auf dem Aviditätsstreifen ist keine Intensitätsabnahme der Banden gegen IE1, p150 oder CM2 erkennbar, da das HIG-Präparat hohe Avidität vermittelt. In diesem speziellen Fall könnte aus der Avidität aufgrund der Hyperimmunglobulintherapie kein Rückschluss auf den ungefähren Zeitpunkt der Primärinfektion gezogen werden, wenn nicht ein pränataler Untersuchungsbefund vorläge (RECOMBLOT CMV 13 und RECOMBLOT CMV 14). Trotzdem würde man nach Ende der Schwangerschaft (und somit auch Beendigung der HIG-Therapie) keinen solch starken Abfall des CLIA-Aviditätsindizes (von 0,86 in der 30. SSW über 0,31 am ersten Tag nach Geburt bis hin zu 0,23 am fünften Tag post partum) erwarten. Es konnte aber auch in vergleichbaren Fällen, in denen eine HIG-Therapie durchgeführt wurde, beobachtet werden, dass nach Beendigung der HIG-Gabe sowohl IgG-Titer als auch die IgG-Avidität wieder reduziert sind. Als Ursache werden erst ganz aktuell (im Jahr 2012) verfügbare Daten über die Pharmakokinetik der HIG-Applikation gesehen. Man ging ursprünglich davon aus, dass die Cytotect® Halbwertszeit im Blut ca. vier Wochen beträgt. Heute jedoch erkennt man bereits eine frühere HIG-Elimination sowie eine Reduktion der IgG-Avidität.

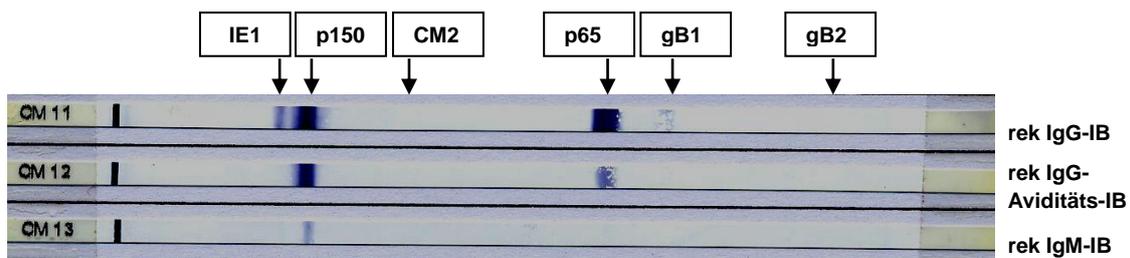
Der rekombinante IgM-Immunoblot nach Geburt zeigt zwei Banden in gut sichtbarer Intensität gegen p150 und CM2, dies entspricht einem positiven IgM-Nachweis. Trotz einer frühen therapeutischen Intervention konnte die Transmission des Zytomegalie-Virus auf das ungeborene Kind nicht verhindert werden. Jedoch ist das Outcome des Neugeborenen positiv zu sehen, es kam asymptomatisch infiziert, mit einem Geburtsgewicht von 3700g und einem APGAR-Score von 9/10/10 zur Welt und zeigte auch im Follow-up keine Symptome einer kongenitalen CMV-Infektion.

**4.5.2.5 Nicht eindeutig terminierbare CMV-Primärinfektion**

CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-IgG-Reaktivität / intermediäre Avidität (rek IB) versus niedrige Avidität (0,01!) im CLIA / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Status in ELISA und CLIA

(Fall 1, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Die 30-jährige Mutter wurde in sowohl ELISA als auch CLIA IgM-negativ getestet, wurde dann aber aufgrund ihres niedrigen CLIA-Aviditätsindizes von 0,01 via rekombinanten IgM-Immunoblot überprüft, in welchem der IgM-Nachweis positiv ausfiel (RECOMBLOT CMV 17). Im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot konnten die niedrig aviden Antikörper nicht bestätigt werden, sie zeigten sich dort intermediär avide. Eine Transmission fand in diesem Fall nicht statt.



recomBlot CMV 17: H1391, Abnahmedatum 08.04.2008

Im rekombinanten IgG-Immunoblot zeigen sich Antikörperbanden gegen IE1, p150, p65 und schwach gegen gB1, die Banden gegen p150 und p65 sind dabei stark ausgeprägt. Auf dem Aviditätsstreifen zeigt sich p150 in derselben Intensität wie die des Referenzstreifens, die IE1-Bande hingegen ist nicht mehr sichtbar. Eine CM2-Bande ist auf keinem der beiden Streifen ersichtlich. Die Beurteilung der Avidität gestaltet sich somit schwierig und es wurde eine intermediäre Aviditätsreifung angenommen. Hervorzuheben ist jedoch, dass keine IgG-Antikörper gegen Glykoprotein B2 nachweisbar sind. Im rekombinanten IgM-Immunoblot ist eine Bande gegen p150 in gut sichtbarer Intensität nachweisbar. Schlussendlich lässt sich bei diesem Befund nicht eindeutig sagen, ob es sich hier um eine akute CMV-Primärinfektion, etwa im zweiten Trimenon, handelt. Aufgrund der schwachen gB1-Reaktivität kann ein

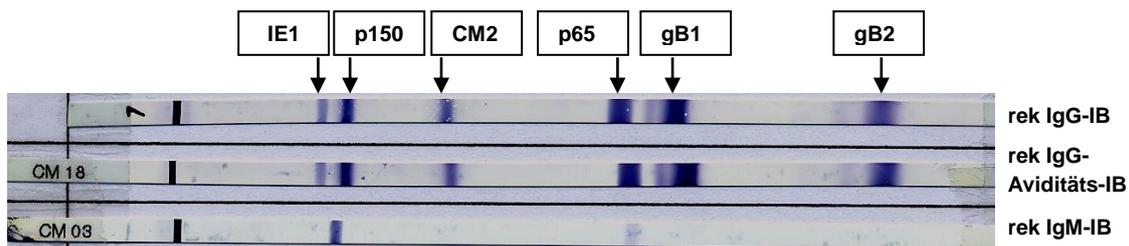
gB-Nonresponder-Status jedoch ausgeschlossen werden. Ohne Aviditäts-Screening wäre dieser fragliche Fall nicht aufgefallen.

#### 4.5.2.6 Unklare Serokonstellation bei diskrepantem IgM-Befund

- 1) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / p150/p65-IgM-Reaktivität (rek IB) bei negativem IgM-Nachweis (ELISA) und positivem IgM-Nachweis (CLIA)

(Fall 4, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Die 22 Jahre alte Mutter zeigte einen negativen IgM-Nachweis im ELISA sowie einen positiven IgM-Nachweis im CLIA, welcher via rekombinantem IgM-Immunoblot bestätigt wurde (RECOMBLOT CMV 18). Der CLIA-Aviditätsindex lag bei 0,23 (intermediär averse Antikörper), während der Aviditäts-Immunoblot hoch averse Antikörper ergab.



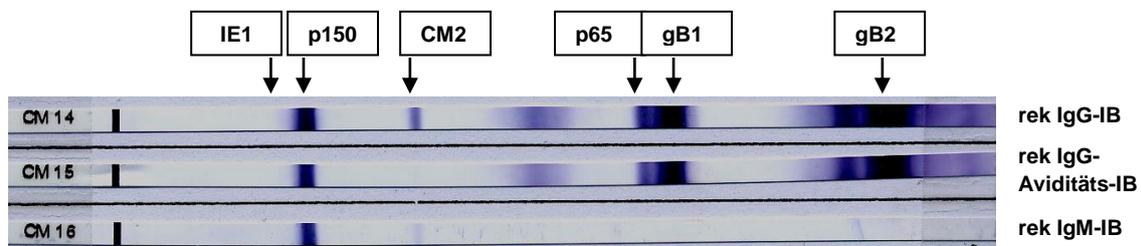
recomBlot CMV 18: H987, Abnahmedatum 12.03.2008

Auf diesem rekombinanten IgG-Immunoblot sind Bandennachweise gegen IE1, p150, CM2, p65, gB1 und gB2 vorhanden, dabei sind vor allem p65 und gB1 sehr stark ausgeprägt. Der Blot zeigt hoch averse Antikörper, da sich auf dem Aviditätsstreifen keine Intensitätsabnahme der Banden gegen IE1, p150 und CM2 erkennen lässt. Dies spricht gegen eine Primärinfektion, auch die intensive Färbung der Banden gegen Glykoprotein B (sowohl gB1 als auch gB2) würde diese These unterstützen. Bei der Betrachtung des IgM-Immunoblots lässt sich eine gut sichtbare p150-Bande sowie eine schwache p65-Bande erkennen. Insgesamt wäre hier eine Reaktivierung einer CMV-Infektion im Rahmen der Schwangerschaft denkbar oder aber eine CMV-Primärinfektion im ersten oder zweiten Trimenon der Schwangerschaft.

2) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / intermediäre Avidität  
 (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei  
 negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 8, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Bei der 22-jährigen Mutter, die in ELISA als auch CLIA IgM-negativ getestet wurde, ergab sich im rekombinanten IgM-Immunoblot ein positiver IgM-Befund (RECOMBLOT CMV 19). Der CLIA-Aviditätsindex verwies mit einem Wert von 0,24 auf eine intermediäre Antikörperreifung, auch im Immunoblot zeigten sich hier intermediär avide Antikörper. Die Schwierigkeit der objektiven Beurteilung des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots lässt sich an diesem Fall wieder sehr schön illustrieren.



recomBlot CMV 19: H3540, Abnahmedatum 16.09.2008

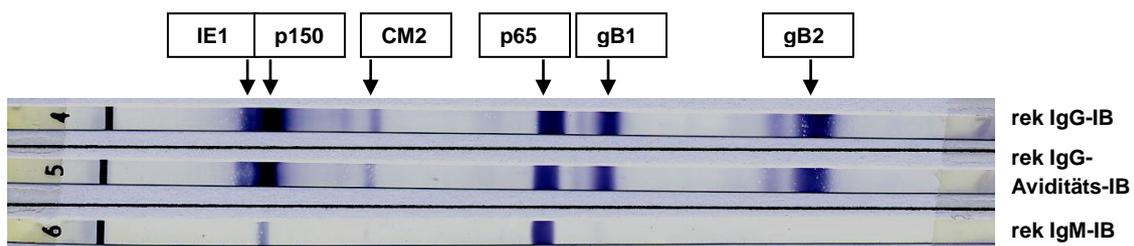
Bei diesem IgG-Immunoblot ist die Intensität der Banden gegen p150 und vor allem gegen gB1 und gB2 beeindruckend. Eine solch starke Färbung (vor allem gegen Glykoprotein B) ist im Rahmen einer Primärinfektion sehr unwahrscheinlich. Zur Beurteilung der Avidität kann man nur die p150-Bande und die CM2-Bande in Betracht ziehen, hier zeigt sich zum einen bei CM2 eine 100-prozentige Intensitätsabnahme und zum anderen eine höchstens 25-prozentige Abschwächung bei p150, die Abgrenzung zwischen niedriger und intermediärer Avidität ist hier dementsprechend schwierig. Aufgrund der kaum zu sehenden Intensitätsminderung der p150-Bande wurde eine intermediäre Avidität angenommen. Auf dem IgM-Streifen ist eine stark ausgeprägte p150-Bande sowie eine sehr schwache CM2-Bande erkennbar. Aufgrund der Anwesenheit des gB2 im IgG-Immunoblot lässt sich eine Infektion während der letzten drei Monate mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen. Die Einordnung der Avidität ist hier schwierig und spielt aufgrund der Unsicherheit in der Entscheidungs-

findung wohl eher eine untergeordnete Rolle. Eine Reaktivierung im Rahmen der Schwangerschaft wäre in diesem Fall denkbar. Hervorzuheben ist, dass die intermediäre Avidität sowie der positive IgM-Befund im rekombinanten Immunoblot bei negativem IgM-Nachweis im ELISA und CLIA ohne Screening nicht aufgefallen wäre.

3) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / p150 < p65-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 7, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Die zum Zeitpunkt der Geburt 28-jährige Mutter wies im rekombinanten IgM-Immunoblot einen positiven Befund auf, während sie zuvor in ELISA und CLIA negativ getestet worden war (RECOMBLOT CMV 20). Der CLIA-Aviditätsindex lag mit 0,24 im intermediären Bereich, wohingegen im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot hoch avide Antikörper nachweisbar waren. Dieser Fall lässt sich auch in die Gruppe derjenigen überraschenden Fälle einordnen, bei denen weder in ELISA noch CLIA IgM-Antikörper detektiert werden konnten, die aber aufgrund ihres niedrigen bzw. intermediären Aviditätsindizes via rekombinatem IgM-Immunoblot überprüft wurden, welcher dann einen positiven IgM-Befund ergab.



recomBlot CMV 20: H1947, Abnahmedatum 28.05.2008

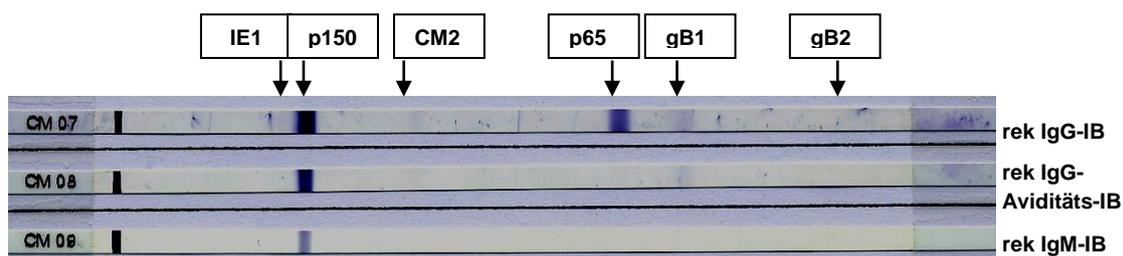
Auf dem rekombinanten IgG-Immunoblot sind alle Banden außer CM2 in sehr starker Intensität sichtbar, darunter auch die gB1- und gB2-Bande. Auf dem Aviditätsstreifen lässt sich im Vergleich zum Referenzstreifen kaum eine Intensitätsabnahme erkennen, es liegt eine hohe Aviditätsreifung vor. Auf dem rekombinanten IgM-Immunoblot zeigt sich eine stark ausgeprägte p65-Bande

zusammen mit einer p150-Bande in gut sichtbarer Intensität, dies entspricht den Kriterien für einen positiven IgM-Nachweis. Vermutlich handelt es sich hier um eine CMV-Reaktivierung im Rahmen der Schwangerschaft.

4) CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-IgG-Reaktivität / intermediäre Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 11, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Die 27-jährige Mutter zeigte zum Zeitpunkt der Geburt in ELISA und CLIA ein negatives IgM-Ergebnis, aufgrund des intermediären CLIA-Aviditätsindizes von 0,26 wurde ein rekombinanter IgM-Immunoblot sowie ein Aviditäts-Immunoblot durchgeführt. Hier zeigten sich ein positiver IgM-Befund sowie intermediär avide Antikörper (RECOMBLOT CMV 21). In diesem Fall korrelieren die Aviditätsergebnisse aus CLIA und rekombinantem Immunoblot.



recomBlot CMV 21: H132, Abnahmedatum 14.01.2008

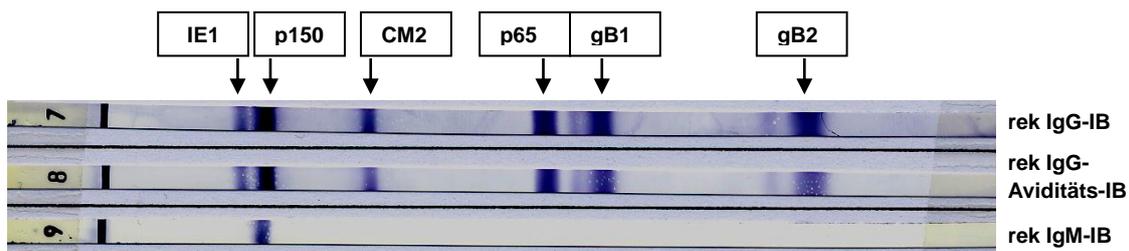
Auf dem IgG-Streifen zeigen sich gut sichtbare p150- und p65-Banden sowie eine sehr schwache gB1- und andeutungsweise eine Bande gegen CM2. Auf dem Aviditätsstreifen zeigt sich die p150-Bande um ca. 25 bis 50 Prozent abgeschwächt. Da weder IE1 noch CM2 in die Auswertung der Avidität miteinbezogen werden können, wurde hier eine intermediäre Aviditätsreifung angenommen. Im rekombinanten IgM-Immunoblot findet sich eine isolierte p150-Bande in gut sichtbarer Intensität („++“), entsprechend den Kriterien eines positiven IgM-Befundes. Fazit der Betrachtung ist ein Verdacht auf eine CMV-Infektion innerhalb der letzten sechs bis acht Wochen aufgrund der fehlenden gB2-Reaktivität (Herstellerangaben) oder auf eine länger zurückliegende CMV-

Infektion eines gB2-Non-Responders (dagegen spricht allerdings der - wenn auch - schwache Nachweis einer gB1-Bande).

5) *CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (rek IB) versus intermediäre Avidität (CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA*

(Fall 15, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Bei der 36-jährigen Mutter ergab sich zum Zeitpunkt der Geburt ein negatives IgM-Ergebnis in sowohl ELISA als auch CLIA, der CLIA-Aviditätsindex betrug 0,28 und fiel damit noch in den engen Bereich intermediärer Avidität. Bei der Durchführung der rekombinanten IgM- und Aviditäts-Immunooblots zeigten sich ein positiver IgM-Befund sowie hoch avide Antikörper (RECOMBLOT CMV 22).



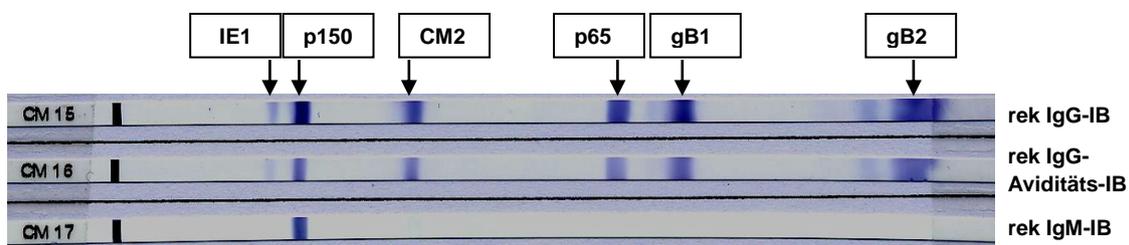
recomBlot CMV 22: H1389, Abnahmedatum 08.04.2008

Im rekombinanten IgG-Immuno blot fanden sich Banden bei allen getesteten Antikörpern in jeweils starker Ausprägung, inklusive Banden gegen gB1 und gB2. Auf dem Aviditätsstreifen kann kaum eine Intensitätsabnahme der IE1-, p150- und CM2-Bande festgestellt werden, es handelt sich daher um hoch avide Antikörper. Im rekombinanten IgM-Immuno blot zeigt sich eine p150-Bande in hoher Intensität, es sind keine weiteren Banden erkennbar. Dies ist dennoch ausreichend für einen positiven IgM-Befund. Die hohe Avidität, die Anwesenheit von gB-Antikörpern sowie die starke Intensität aller Antikörper-Banden im IgG-Immuno blot sprechen für eine länger zurückliegende Infektion, eventuell handelt es sich hier um einen persistierenden IgM-Titer der p150-Bande oder um eine Reaktivierung der CMV-Infektion während der Schwangerschaft.

6) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / intermediäre Avidität  
 (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei  
 negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 18, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

Die zum Zeitpunkt der Geburt 27-jährige Mutter wurde in ELISA sowie CLIA IgM-negativ getestet. Der CLIA-Aviditätsindex betrug bei ihr 0,30, was der oberen Grenze intermediärer Avidität entspricht. Im rekombinanten IgM-Immunoblot zeigte sich ein positiver IgM-Befund (RECOMBLOT CMV 23), im Aviditäts-Immunoblot konnten intermediär avide Antikörper (korrelierend mit dem CLIA-Aviditätsindex) detektiert werden.

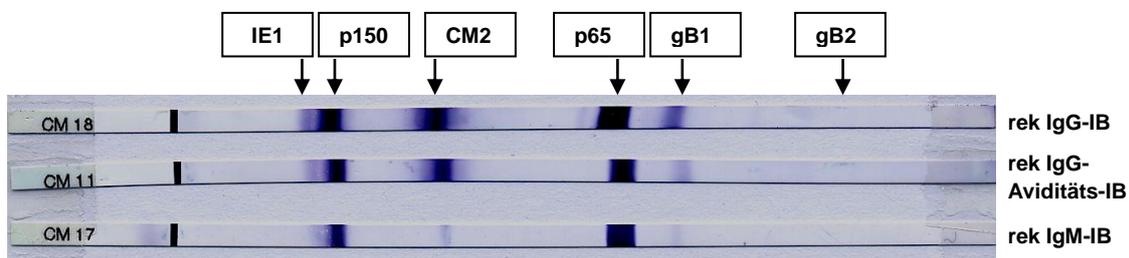


recomBlot CMV 23: H3415, Abnahmedatum 09.09.2008

Auf dem IgG-Streifen zeigen sich Antikörperbanden bei IE1, p150, CM2, p65, gB1 und gB2 in gut sichtbarer Intensität (außer IE1). Auf dem Aviditätsstreifen ist bei allen drei in Betracht zu ziehenden Banden (IE1, p150 und CM2) eine mindestens 25- bis 50-prozentige Intensitätsabnahme erkennbar, dies entspricht einer intermediären Aviditätsreifung. Im rekombinanten IgM-Immunoblot findet sich eine isolierte p150-Bande in hoher Intensität. Da die Antikörperbildung gegen gB2 frühestens nach sechs bis acht Wochen erfolgen kann (Herstellerangaben), wäre eine akute Primärinfektion auszuschließen. Die Avidität spielt hier eine untergeordnete Rolle, da bei intermediärer Aviditätsreifung keine eindeutige Aussage getroffen werden kann. Bei der p150-Bande im IgM-Immunoblot könnte es sich auch um eine IgM-Persistenz handeln.

- 7) CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität  
 (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / breites IgM-Spektrum bei negativem  
 IgM-Nachweis im ELISA und grenzwertigem IgM-Nachweis im CLIA  
 (Fall 27, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)

Bei der 27 Jahre alten Mutter zeigte sich ein negatives IgM-Ergebnis im ELISA sowie ein grenzwertiges IgM-Ergebnis im CLIA. Der rekombinante IgM-Immunoblot ergab einen deutlich positiven IgM-Befund (RECOMBLOT CMV 24). Der CLIA-Aviditätsindex lag bei 0,31, auch im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot zeigten sich hoch avide Antikörper.



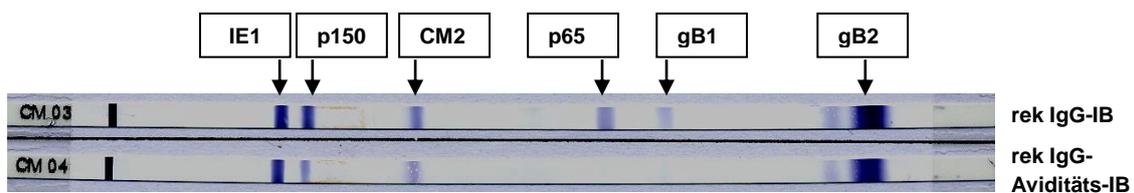
recomBlot CMV 24: H846, Abnahmedatum 29.02.2008

Im rekombinanten IgG-Immunoblot zeigen sich sehr intensiv gefärbte Banden gegen p150, CM2 und p65, außerdem schwache Banden gegen IE1 und gB1. Gegen gB2 zeigt sich keine Bande. Auf dem Aviditätsstreifen lässt sich im Vergleich zum Referenzstreifen kaum eine Intensitätsabschwächung der Banden IE1, p150 und CM2 erkennen, das bedeutet, die Aviditätsreifung ist hoch. Der rekombinante IgM-Immunoblot weist intensive Banden bei p150 und p65 auf, außerdem lassen sich bei IE1, CM2, und gB1 sehr schwache Banden erkennen. Dieser Blot spricht für einen hohen Titer an IgM-Antikörpern. Bezieht man sich zur Beurteilung auf die Abwesenheit des gB2 im IgG-Immunoblot und auf den stark positiven IgM-Immunoblot, würde man eine CMV-Primärinfektion vermuten, die hoch aviden Antikörper passen dazu jedoch nicht ins Bild. Auch die Möglichkeit eines gB2-Non-Responders bei IgM-Persistenz wäre denkbar, das breite IgM-Spektrum würde hier aber dagegen sprechen. Das IgM-Bandenspektrum mit mindestens vier Antigenreaktivitäten könnte darauf hinweisen, dass eine Primärinfektion im ersten oder zu Beginn des zweiten Trimenons stattgefunden hat.

8) CMV-Serostatus bei Geburt: Starke gB2-IgG-Reaktivität / intermediäre Avidität (rek IB) versus hohe Avidität (CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 29, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)

Diese zum Zeitpunkt der Geburt 28 Jahre alte Mutter wies im rekombinanten IgG-Immunoblot eine sehr starke gB2-Reaktivität auf, außerdem zeigten sich intermediär avide Antikörper im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot (RECOMBLOT CMV 25). Der CLIA-Aviditätsindex lag mit 0,31 aber leicht über der Grenze von intermediärer zu hoher Avidität und indizierte hoch avide Antikörper. Trotz eines konkordant negativen IgM-Resultats in ELISA und CLIA wurde aufgrund des Aviditätsindizes von 0,31 ein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt, dieser zeigte sich positiv (RECOMBLOT CMV 26).



recomBlot CMV 25: H2667, Abnahmedatum 08.07.2008



recomBlot CMV 26: H2667, Abnahmedatum 08.07.2008

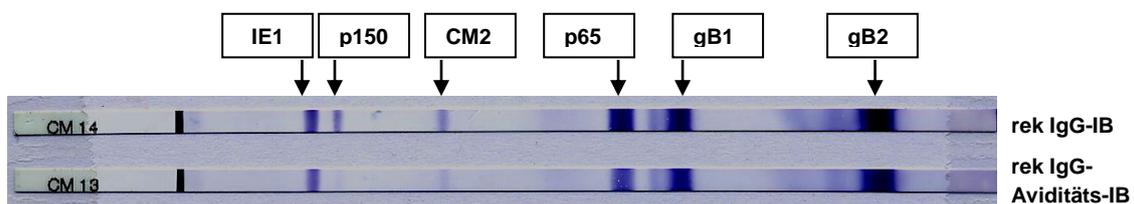
Im rekombinanten IgG-Immunoblot sind Antikörperreaktivitäten bei allen getesteten Antigenen zu erkennen, die gB2-Bande ist davon mit Abstand am stärksten ausgeprägt. Dies spricht für einen ausreichend langen (mindestens zweimonatigen) Zeitraum zwischen Erstinfektion und Zeitpunkt der Blutabnahme (Herstellerangaben). Beim Vergleich des IgG-Blots und des Aviditäts-Blots zeigt sich aber eine deutlich abgeschwächte p150- sowie eine leicht abgeschwächte CM2-Bande, die IE1-Bande zeigt sich nahezu unverändert. Dies ist als intermediäre Avidität zu interpretieren und damit eventuell eher ein Hinweis auf eine noch nicht allzu lange zurückliegende Infektion. Der rekombinante IgM-Immunoblot weist eine gut sichtbare („++“)

solitäre Bande bei p150 auf. Dies entspricht den Kriterien für einen positiven IgM-Status. Da eine akute Primärinfektion bei diesem kräftigen gB2-Nachweis im IgG-Immuno blot ausgeschlossen werden kann, kommen bei der Interpretation des Serostatus nur eine Reaktivierung der CMV-Infektion im Rahmen der Schwangerschaft oder eine IgM-Persistenz in Frage. Die intermediäre Aviditätsreifung muss demnach im Gesamtbild der Interpretation vernachlässigt werden. Dies wird gestützt durch eine solitäre IgM-Reaktivität im rekombinanten IgM-Immuno blot.

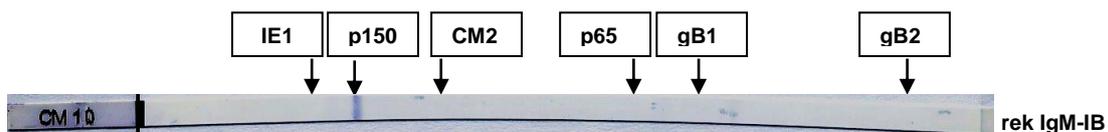
9) CMV-Serostatus bei Geburt: Starke gB2-IgG-Reaktivität / niedrige Avidität (rek IB) versus hohe Avidität (CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

(Fall 39, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)

Die 28 Jahre alte Mutter wies zum Zeitpunkt der Geburt einen CLIA-Aviditätsindex von 0,33 auf, dies entspricht einer hohen Avidität. Im rekombinanten Aviditäts-Immuno blot zeigten sich bei ihr allerdings niedrig avide Antikörper (RECOMBLOT CMV 27). Diesem Indiz einer Primärinfektion entgegengesetzt ist hier aber die sehr intensive Ausprägung der gB2-Bande. Der rekombinante IgM-Immuno blot weist eine singuläre p150-Bande in gut sichtbarer Intensität auf (RECOMBLOT CMV 28). Dies genügt den Kriterien der IgM-Positivität.



recomBlot CMV 27: H1093, Abnahmedatum 17.03.2008

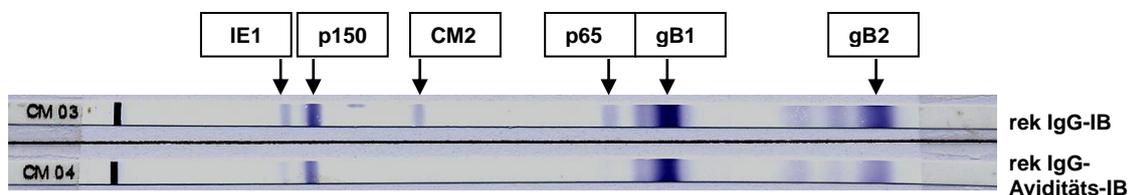


recomBlot CMV 28: H1093, Abnahmedatum 17.03.2008

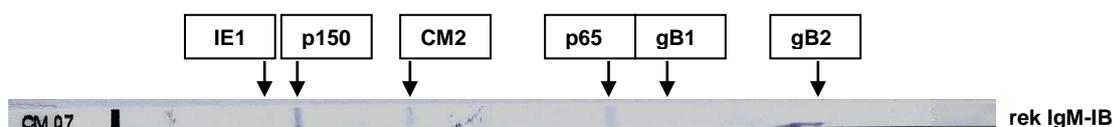
Im rekombinanten IgG-Immuno-Blot zeigen sich bei allen getesteten Antigenen Antikörperbanden, die Banden bei p65, gB1 und gB2 sind dabei sehr stark ausgeprägt, während die p150-Bande relativ schwach ist. Da Antikörper gegen gB2 erst nach sechs bis acht Wochen produziert werden (Herstellerangaben), müsste es sich hier um eine länger zurückliegende Infektion handeln. Dagegen spricht aber die niedrige Avidität im rekombinanten Aviditäts-Immuno-Blot. Die Banden gegen p150 sowie CM2 sind im Aviditätsstreifen gar nicht oder nur sehr schwach erkennbar, und auch die IE1-Bande ist leicht abgeschwächt im Vergleich zum IgG-Streifen. Im rekombinanten IgM-Immuno-Blot zeigt sich eine gut sichtbare Bande („++“) bei p150. Trotz dieses positiven IgM-Nachweises erscheint eine akute Primärinfektion aufgrund der sehr starken gB2-Reaktivität ausgeschlossen. Eine IgM-Persistenz wäre in diesem Fall denkbar.

*10) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / niedrige Avidität (rek IB) versus hohe Avidität (CLIA) / schwache IgM-Reaktivität (p150 > CM2 > p65) bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA  
(Fall 40, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)*

Die 34-jährige Mutter wies sowohl in ELISA als auch CLIA einen negativen IgM-Befund auf, der rekombinante IgM-Immuno-Blot zeigte sich hingegen positiv (RECOMBLOT CMV 30). Der CLIA-Aviditätsindex ergab einen Wert von 0,34, was einer hohen Avidität entspricht, allerdings fanden sich im rekombinanten Aviditäts-Immuno-Blot niedrig avide Antikörper (RECOMBLOT CMV 29).



recomBlot CMV 29: H2799, Abnahmedatum 22.07.2008



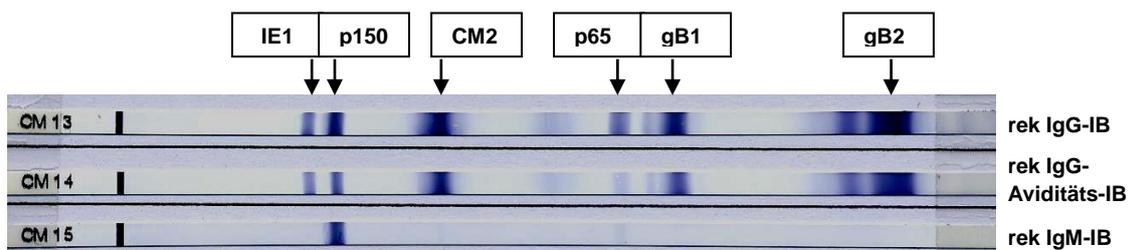
recomBlot CMV 30: H2799, Abnahmedatum 22.07.2008

Hier zeigen sich im rekombinanten IgG-Immunoblot Banden gegen alle getesteten Antigene (IE1, p150, CM2, p65, gB1 und gB2), zum Teil in schwacher, zum Teil in starker Intensität. Auf dem Aviditätsstreifen ist bei mindestens zwei der drei für die Avidität eine Rolle spielenden Banden eine mindestens 50- und für CM2 sogar eine 100-prozentige Intensitätsabnahme erkennbar, dies bedeutet, dass die Aviditätsreifung niedrig ist. Bei der Betrachtung des rekombinanten IgM-Immunoblots findet sich eine p150-Bande, die zumindest der Bandenintensität der Schwachpositiv-Kontrolle entspricht, plus zwei weitere schwache Banden bei CM2 und p65. Dies entspricht den Kriterien für einen positiven IgM-Befund. Insgesamt ergeben sich auch hier wieder Schwierigkeiten bei der Gesamtinterpretation: Der positive IgM-Befund plus niedrige Avidität sprächen für eine Primärinfektion, die Anwesenheit von gB2-Antikörpern schließt dagegen eine Infektion während der letzten sechs bis acht Wochen (Herstellerangaben) mit hoher Wahrscheinlichkeit aus.

11) *CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA*

(Fall 54, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)

Die zum Zeitpunkt der Geburt 40-jährige Mutter wies sowohl im ELISA als auch im CLIA ein negatives IgM-Ergebnis auf. Im rekombinanten IgM-Immunoblot ergab sich hier ein eindeutig positiver IgM-Befund (RECOMBLOT CMV 31). Der CLIA-Aviditätsindex lag bei 0,37, auch im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot zeigten sich hoch avide Antikörper.



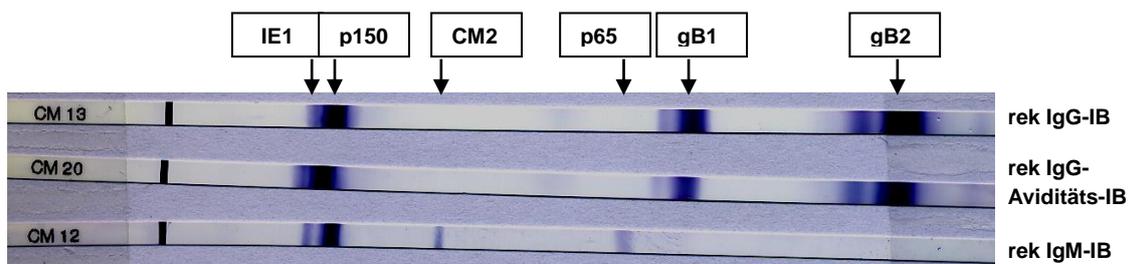
recomBlot CMV 31: H1089, Abnahmedatum 17.03.2008

Im rekombinanten IgG-Immunoblot sind Antikörper gegen alle getesteten Antigene nachweisbar, sehr stark ausgeprägt ist die gB2-Bande, außerdem zeigen die p150-, CM2- und gB1-Banden eine intensive Färbung. Die Beurteilung der Avidität gestaltet sich hier schwierig, eventuell zeigt sich eine geringgradige Intensitätsabschwächung (weniger als 25 Prozent) der p150- und CM2-Bande, wahrscheinlich jedoch nicht ausreichend, um als intermediär beurteilt zu werden. Im rekombinanten IgM-Immunoblot ist eine p150-Bande in sehr starker Intensität zu erkennen, außerdem eine weitere schwache Bande bei p65. Aufgrund der Anwesenheit einer so stark ausgeprägten gB2-Bande im IgG-Immunoblot kann eine Primärinfektion während der letzten zwei Monate höchstwahrscheinlich ausgeschlossen werden (Herstellerangaben), die intensive p150-Reaktivität des rekombinanten IgM-Immunoblots könnte auf eine IgM-Persistenz oder eine Reaktivierung im Rahmen der Schwangerschaft hindeuten.

*12) CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / breites IgM-Spektrum bei grenzwertigem IgM-Befund im ELISA und negativem IgM-Befund im CLIA*

*(Fall 58, TAB. 57, TAB. 59, TAB. 60)*

Die 26 Jahre alte Mutter wies zum Zeitpunkt der Geburt einen grenzwertigen IgM-Befund im ELISA sowie einen negativen IgM-Befund im CLIA auf, im rekombinanten IgM-Immunoblot zeigte sich ein positives Ergebnis (RECOMBLOT CMV 32). Der CLIA-Aviditätsindex lag bei 0,38, der rekombinante Aviditäts-Immunoblot ergab eine hohe Avidität.



recomBlot CMV 32: H465, Abnahmedatum 30.01.2008

Im rekombinanten IgG-Immunoblot zeigen sich Banden in starker Intensität bei p150, gB1 und gB2, die anderen Antikörper (gegen IE1, CM2 und p65) sind nicht nachweisbar. Der Aviditätsstreifen zeigt sich nahezu identisch zum Referenzstreifen, das bedeutet, die Antikörper sind hoch averse. Im rekombinanten IgM-Immunoblot ist eine stark gefärbte Bande bei p150 sichtbar, außerdem finden sich gut sichtbare Banden bei IE1, CM2 und p65, der Blot ist somit eindeutig positiv. Einer akuten Primärinfektion innerhalb der letzten Wochen widerspricht allerdings auch hier wieder die intensive gB2-IgG-Bandenausprägung, es handelt sich also entweder um eine IgM-Persistenz nach früherer CMV-Primärinfektion (im ersten Trimenon) oder um eine Reaktivierung der CMV-Infektion während der Schwangerschaft.

### 4.5.3 Fraglich IgM-positive Mütter

Von den insgesamt 96 Müttern, die eine Diskrepanz der IgM-Resultate in den standardmäßig verwendeten Tests IgM-ELA, IgM-CLIA und dem rekombinanten IgM-Immunoblot aufzeigten, konnte bei 93 Frauen ein studiengemäß gesichert positives IgM-Resultat im Immunoblot festgestellt werden. Bei den restlichen drei Müttern zeigten sich im Immunoblot Bandenkonstellationen, die weder als eindeutig positiv noch als eindeutig negativ beurteilt werden konnten. Von diesen drei Müttern wurden zwei im rekombinanten IgM-Immunoblot getestet, da sich Abweichungen der IgM-Resultate von ELISA und CLIA ergeben hatten (TAB. 63). Dabei zeigte eine der Frauen ein grenzwertig positives IgM-Resultat im CLIA auf sowie ein negatives IgM-Resultat im ELISA. Bei der anderen Mutter konnten ein positives IgM-Ergebnis im ELISA sowie ein grenzwertig positives IgM-Resultat im CLIA ermittelt werden. Die Sero-konstellation dieser Mutter ist besonders brisant, da sie sowohl im CLIA-Aviditätsindex mit 0,14 niedrige Avidität aufwies als auch im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot. Zudem konnte bei ihr eine Transmission von CMV auf das Neugeborene detektiert werden. Bei der dritten Mutter dieser Gruppe wurde der rekombinante IgM-Immunoblot durchgeführt, da sie mit einem CLIA-Aviditätsindex von 0,37 der dieser Arbeit zu Grunde gelegten Aufgabenstellung ( $\leq 0,4$ ) entsprach.

Tab. 63: Konstellationen diskrepanter Fälle mit fraglich positivem IgM im rekombinanten Immunoblot (Definition siehe TAB. 32, Kap. 3.3.4)

IgM fraglich positiv im rek Immunoblot		IgM-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgM-ELISA	negativ	1	1	0	2
	grenzwertig	0	0	0	0
	positiv	0	1	0	1
	Summe	1	2	0	3

#### 4.5.3.1 Vergleich der Avidität fraglich IgM-positiver Mütter

Die Spanne der CLIA-Aviditätsindizes erstreckt sich in dieser Gruppe von 0,14 bis 0,53 (TAB. 64). Eine der Mütter fällt somit mit einem Wert von 0,14 in den Bereich niedrig avider Antikörper, dieses Ergebnis konnte auch mittels des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots verifiziert werden. Die beiden anderen weisen mit Aviditätsindizes von 0,37 und 0,53 hoch avide Antikörper auf. Auf die Durchführung eines rekombinanten IgG-Aviditäts-Immunoblots wurde bei der Mutter mit dem Index von 0,53 verzichtet, bei der anderen Mutter (mit dem AI von 0,37) konnten hoch avide Antikörper im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot detektiert werden. In beiden Fällen, in denen die Avidität sowohl via CLIA als auch via rekombinanten Immunoblot überprüft wurde, ergaben sich somit konkordante Ergebnisse für die Avidität der Antikörper.

Tab. 64: Vergleich der Avidität fraglich IgM-positiver Mütter

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
1	1783	positiv	grenzwertig	fraglich	0,14	niedrig
2	3516	negativ	negativ	fraglich	0,37	hoch
3	2894	negativ	grenzwertig	fraglich	0,53	*

**Mutter mit Transmission der CMV-Infektion auf das Neugeborene**

\* rek. Aviditäts-Immunoblot wurde aufgrund eines CLIA-Aviditätsindizes > 0,4 nicht durchgeführt

#### 4.5.3.2 Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunoblots fraglich IgM-positiver Mütter

Der Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunoblots kommt in dieser Gruppe der fraglich IgM-positiven Mütter natürlich eine besondere Bedeutung zu (TAB. 65). Definitionsgemäß (TAB. 32), gelten Blots als positiv, wenn entweder eine p150-Bande in schwacher Intensität zusammen mit zumindest einer weiteren Bande in schwacher Intensität (entspricht „+“) auftritt, oder bei einem isolierten Bandennachweis für p150 in gut sichtbarer Intensität (entspricht „++“). Negativ gewertet werden jegliche

Banden in sehr schwacher Intensität („+/-“), isolierte Banden (außer p150) in schwacher Intensität („+“) sowie unspezifische Banden. Alle weiteren Konstellationen müssen in die Rubrik „fraglich“ einsortiert werden.

Tab. 65: Intensität der CMV-spezifischen Antigenreaktivität in den rekombinanten IgM-Immunooblots fraglich IgM-positiver Mütter (Definition siehe TAB. 32, Kap. 3.3.4)

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	CLIA-AI	rekombinanter IgM-Immuno blot <b>fraglich</b>					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1783	positiv	grenzwertig	0,14	∅	∅	++	∅	∅	∅
2	3516	negativ	negativ	0,37	++	∅	∅	++	∅	∅
3	2894	negativ	grenzwertig	0,53	∅	+	+/-	∅	∅	∅

**4.5.3.3 Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG-Antikörperreaktivität fraglich IgM-positiver Mütter**

Die Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität beschränkt sich in dieser Gruppe auf zwei der drei Fälle (TAB. 66), da bei der dritten Mutter aufgrund eines CLIA-Aviditätsindizes von 0,53 auf die Durchführung eines rekombinanten IgG- sowie Aviditäts-Immunooblots verzichtet wurde. In den beiden vorliegenden IgG-Immunooblots zeigt sich in einem Fall eine nur schwache gB2-Reaktivität („+“), im anderen Fall zeigen sich stark reaktive gB2-Antikörper („+++“). Auch hier lässt sich ein Trend zu einer Korrelation mit der Aviditätsreifung erkennen: Die schwache gB2-Reaktivität tritt gemeinsam mit niedrig aviden Antikörpern in sowohl rekombinantem Aviditäts-Immuno blot als auch CLIA-Aviditätsindex auf, wohingegen im Falle der starken gB2-Reaktivität hoch avide Antikörper in beiden Aviditäts-Tests nachgewiesen werden können.

Tab. 66: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität fraglich IgM-positiver Mütter mit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,40$

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
1	1783	0,14	niedrig	+	+++	+	+	+	+
				∅	++	∅	∅	+/-	+/-
2	3516	0,37	hoch	+	+++	+	++	+++	+++
				+	+++	+	+	++	++

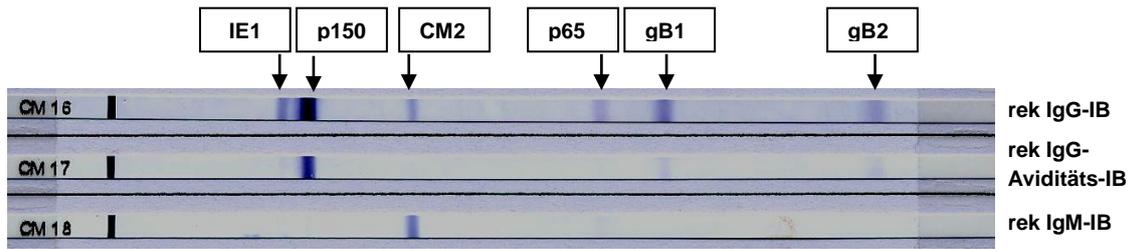
<i>Einzelreaktivitäten des rekombinanten IgG-Immunoblots</i>
<i>Einzelreaktivitäten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots</i>
<i>Sehr starke gB2-Reaktivität</i>

#### 4.5.3.4 Maternale Primärinfektion im dritten Trimenon: Virus transmitterin (T1)

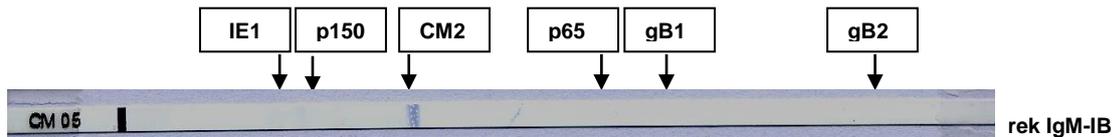
CMV-Serostatus bei Geburt: Schwache gB2-IgG-Reaktivität / niedrige Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre CM2-IgM-Reaktivität bei positivem IgM-Befund im ELISA und grenzwertigem IgM-Befund im CLIA

(Fall 1, TAB. 64, TAB. 65, TAB. 66)

Dieser Fall war besonders interessant aufgrund des als fraglich zu interpretierenden rekombinanten IgM-Immunoblots einer 33-jährigen Mutter, bei der es zur Transmission der CMV-Infektion auf das Ungeborene kam. Auch wenn bei ihr andere Parameter (niedrige Avidität im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot und einem CLIA-Aviditätsindex von 0,14) für eine Primärinfektion sprachen, ließ sich der rekombinante IgM-Immunoblot bei gleichzeitig positivem IgM-ELA-Befund und grenzwertig positivem IgM-CLIA-Befund nicht eindeutig interpretieren. Es zeigten sich zwar sowohl im ersten durchgeführten IgM-Blot als auch in der Wiederholung des Blots gut sichtbare CM2-Banden, aber eine p150-Bande ließ sich nicht detektieren (RECOMBLOT CMV 33, RECOMBLOT CMV 34). Diese Antikörper-Konstellation, ohne den Nachweis einer p150-Bande, ist als fraglich definiert (TAB. 32). Die niedrig aviden Antikörper in beiden Tests sprachen aber für eine maternale Primärinfektion im Übergang zweites/drittes Trimenon.

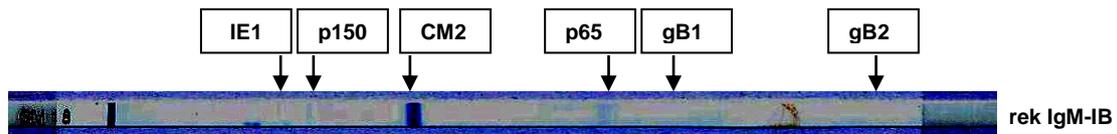


recomBlot CMV 33: H1783, Abnahmedatum 09.05.2008



recomBlot CMV 34: H1783, Abnahmedatum 09.05.2008, IgM-Wiederholung

Im rekombinanten IgG-Immuno-Blot zeigt sich hier eine stark ausgeprägte p150-Bande, außerdem sind alle weiteren Antikörper-Banden zumindest in schwacher Ausprägung sichtbar, Banden gegen gB1 und gB2 eingeschlossen, wobei die gB2-Reaktivität jedoch schwach ist. Bei der Betrachtung des Aviditätsstreifens fällt auf, dass hier im Vergleich zum Referenzstreifen zwei der drei für die Avidität eine Rolle spielenden Banden nicht mehr zu erkennen sind, die IE1- und die CM2-Bande. Die p150-Bande zeigt eine ca. 50-prozentige Intensitätsabnahme, insgesamt entspricht dies den Kriterien einer niedrigen Aviditätsreifung. Im rekombinanten IgM-Immuno-Blot zeigt sich als Einzige die CM2-Bande in gut sichtbarer Intensität. Da aber nach Herstellerangaben der Nachweis einer (zumindest schwachen) p150-Bande für einen positiven IgM-Befund obligat ist, kann dieser Blot nur als fraglich bewertet werden. Über eine isolierte Bande, wie in diesem Fall die CM2-Bande, ohne Nachweis von Antikörpern gegen p150 lässt sich definitionsgemäß keine eindeutige Aussage treffen. Dieser fragliche Nachweis wurde daher wiederholt (RECOMBLOT CMV 34), aber auch der erneute Versuch zeigte dasselbe Ergebnis. Definitiv ist bei dieser Mutter noch eine IgM-Antikörperreaktivität vorhanden, die sich hier aber in einer CM2-Bande äußert, typischerweise wäre eher eine Persistenz der p150-Bande zu erwarten. Aber auch bei digitalen Veränderungen von Helligkeit und Kontrastierung lässt sich höchstens eine Andeutung einer p150-Bande erkennen (RECOMBLOT CMV 35). Außerdem zu erahnen ist eine p65-Bande.



recomBlot CMV 35: H1783, Abnahmedatum 19.05.2008, Variante

Da im rekombinanten IgG-Immuno-Blot bereits eine gB2-Bande nachweisbar war, kann eine Infektion während der letzten sechs bis acht Wochen mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Es ist somit auch nicht zu vermuten, dass sich die IgM-Antikörperreaktivität gerade erst entwickelt und eine p150-Bande im Verlauf erst noch auftreten wird. Es handelt sich also am ehesten um eine Primärinfektion im Übergang zweites/drittes Trimenon der Schwangerschaft mit einer atypischen CM2-Persistenz im rekombinanten IgM-Immuno-Blot. Im Rahmen einer akuten CMV-Primärinfektion wäre in der Regel ein ausgeprägtes IgM-Muster gegen alle Antigene zu beobachten.

#### **4.6 Gesonderte Betrachtung der Mütter mit vertikaler Übertragung der CMV-Infektion auf das Neugeborene**

Von den insgesamt 1564 zum Zeitpunkt der Geburt serologisch untersuchten Mütter im Zeitraum vom 1. Januar bis zum 31. Dezember 2008 konnte in vier Fällen eine Transmission des Zytomegalie-Virus auf das Neugeborene festgestellt werden. Dies entspricht einer Prävalenzrate von 0,256 Prozent bezogen auf die Anzahl der Schwangeren. Bezogen auf die Anzahl der Lebendgeburten (1604) ergibt sich eine Prävalenzrate an kongenital CMV-infizierten Kindern von 0,249 Prozent. Damit liegt diese Rate ungefähr an der unteren Grenze der in bisherigen Studien ermittelten Prävalenz der kongenitalen CMV-Infektion im Bereich zwischen 0,2 und 1,5 Prozent aller Lebendgeburten. Die vier Mütter, bei denen es zu einer vertikalen Infektion der Neugeborenen kam, weisen serologisch unterschiedliche Merkmale auf: Zwei dieser Mütter waren diskordant IgM-positiv, eine konkordant IgG-positiv/IgM-negativ und bei der vierten Mutter konnte der rekombinante IgM-Immunoblot nur als fraglich interpretiert werden (TAB. 67).

Alle vier kongenital CMV-infizierten Kinder waren bei Geburt asymptomatisch und auch im weiteren Follow-up wurde keines von ihnen mit CMV-typischen Folgeschäden wie z.B. sensorineuraler Schwerhörigkeit auffällig.

Tab. 67: Serologie der Mütter kongenital CMV-infizierter Neugeborener zum Zeitpunkt der Geburt

Serum	T1-05/08 <sup>1</sup>	T2-04/08 <sup>2</sup>	T3-06/08 <sup>3</sup>	T4-12/08 <sup>4</sup>
IgM-ELISA	positiv	negativ	negativ	negativ
IgM-CLIA	grenzwertig	negativ	negativ	negativ
rek IgM IB	fraglich nur CM2++ (Wh.: CM2+)	positiv p150+, CM2+, p65+/-	positiv p150++	negativ
CLIA-AI	0,14	0,31	0,54	0,90
rek IgG Aviditäts-IB	niedrige Avidität	hohe Avidität	hohe Avidität	hohe Avidität
rek gB IgG IB	gB1+ / gB2+	gB1+++ / gB2+++	gB1++ / gB2 Ø	gB1++ / gB2++
CMV DNA	negativ	negativ	negativ	negativ
Outcome der Neugeborenen	asymptomatisch	asymptomatisch	asymptomatisch	asymptomatisch
Terminierung der Primärinfektion	3. Trimenon	1. Trimenon	V.a. 1./2. Trimenon	nicht klassifizierbar

<sup>1</sup> T1-05/08: Transmission 1 (Mai 2008)

<sup>2</sup> T2-04/08: Transmission 2 (April 2008)

<sup>3</sup> T3-06/08: Transmission 3 (Juni 2008)

<sup>4</sup> T4-12/08: Transmission 4 (Dezember 2008)

#### 4.6.1 Vergleich der Avidität der Mütter mit CMV-Transmission

Die Spanne der ermittelten CLIA-Aviditätsindizes dieser vier Mütter umfasst den Bereich von 0,14 bis zu 0,90 mit dazwischen liegenden Werten von 0,31 und 0,54 (TAB. 68). Nur eine dieser Mütter wies somit einen Aviditätsindex auf, der niedrige Aviditätsreife der Antikörper indizierte. Bei dieser Mutter konnten auch im rekombinanten Aviditäts-Immuno-Blot niedrig avide Antikörper detektiert werden. Alle drei weiteren Mütter dieser Gruppe wiesen im Aviditäts-Blot hoch avide Antikörper auf. Da der Aviditätsstatus dieser Mütter jedoch erst zum Zeitpunkt der Geburt ermittelt wurde, wäre eine Primärinfektion der Mutter zum Zeitpunkt erstes/zweites Trimenon dennoch denkbar, da eine niedrige Aviditätsreife der Antikörper über einen Zeitraum von 18 bis 20 Wochen angegeben ist. Eine im Rahmen der Schwangerschaft nicht allzu seltene Reaktivierung einer bereits länger bestehenden CMV-Infektion würde ebenso zur Detektion hoch aviden Antikörper passen.

Tab. 68: Übersicht der Mütter mit CMV-Transmission auf das Neugeborene

Nr	H-Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM-Immunoblot	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot
T1	1783	positiv	grenzwertig	fraglich	0,14	niedrig
T2	1346	negativ	negativ	positiv	0,31	hoch
T3	2457	negativ	negativ	positiv	0,54	hoch
T4	4685	negativ	negativ	negativ	0,90	hoch

#### 4.6.2 Betrachtung CMV-spezifischer Einzelreaktivitäten in den rekombinanten IgM-Immunoblots der Frauen mit CMV-Transmission

Nur bei zwei dieser vier Mütter konnte ein eindeutig positives IgM im rekombinanten IgM-Immunoblot detektiert werden (TAB. 69). Beide Mütter wiesen jedoch sowohl im IgM-ELISA als auch im IgM-CLIA negative IgM-Resultate auf. Bei der Mutter, die einen CLIA-Aviditätsindex von 0,57 aufwies, wäre nach Aufgabenstellung dieser Arbeit kein rekombinanter IgM-Immunoblot durchgeführt worden, da sie mit konkordant negativem IgM in ELISA und CLIA sowie einem Aviditätsindex > 0,4 keine Indizien auf eine primäre CMV-Infektion auswies. Aufgrund der bei ihr festgestellten Transmission des Virus auf das Neugeborene wurden bei ihr dennoch rekombinante Immunoblots durchgeführt. Die Mutter, die mit niedrig aviden Antikörpern sowohl in CLIA als auch im rekombinanten Immunoblot Hinweise auf eine akute Infektion lieferte, konnte dagegen trotz eines positiven IgM-Resultats im ELISA und eines grenzwertig positiven IgM-Ergebnisses im CLIA im rekombinanten IgM-Immunoblot nicht eindeutig positiv klassifiziert werden. Die vierte der hier betrachteten Mütter wies mit konkordant negativem IgM in allen durchgeführten Tests (ELISA, CLIA und rekombinantem Immunoblot) sowie einem CLIA-Aviditätsindex von 0,90 und hoch aviden Antikörpern im rekombinanten Aviditäts-Blot sowie gB2-IgG-Reaktivität keine Merkmale einer akuten CMV-Infektion auf.

Tab. 69: Intensität der CMV-spezifischen Antigenreaktivität in den rekombinanten IgM-Immuno- blots der Mütter mit CMV-Transmission

Nr	H- Nummer	IgM-ELISA	IgM-CLIA	rek. IgM- Immunoblot	rekombinanter IgM-Immuno blot					
					IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
T1	1783	positiv	grenzwertig	fraglich	∅	∅	++	∅	∅	∅
T2	1346	negativ	negativ	positiv	∅	+	+	+/-	∅	∅
T3	2457	negativ	negativ	positiv	∅	++	∅	∅	∅	∅
T4	4685	negativ	negativ	negativ	∅	∅	∅	∅	∅	∅

*Singuläre p150-Reaktivität*

#### 4.6.3 Betrachtung CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifischer IgG- Antikörperreaktivität bei Müttern mit CMV-Transmission

Bei diesen vier via rekombinanten IgG-Immuno blot untersuchten Frauen zeigte sich in einem Fall eine Abwesenheit von gB2-Antikörpern (Fall T3, TAB. 70). Diese Mutter zeigte zudem ein recht außergewöhnliches Antikörper-Spektrum für einen IgG-Immuno blot mit einer Kombination aus einer gut sichtbaren p150-Bande gemeinsam mit einer ebenfalls gut sichtbaren gB1-Bande (allerdings trotzdem kombiniert mit hoher Avidität). In einem Fall (T2) konnte eine sehr starke gB2-Antikörperreaktivität detektiert werden (dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass bei dieser Mutter bei frühzeitiger Entdeckung einer primären CMV-Infektion in der 17. Schwangerschaftswoche mit einer Hyperimmunglobulintherapie begonnen wurde). Die Mutter, die niedrig aviden Antikörperstatus sowie einen fraglichen IgM-Nachweis aufwies (T1), zeigte eine schwache gB2-Antikörperreaktivität. Bei der vierten Mutter, bei der weder Avidität noch IgM-Reaktivität festzustellen war (T4), konnte auch durch die Anwesenheit von gB2-Banden in gut sichtbarer Ausprägung bestätigt werden, dass es sich hier zumindest im letzten Trimenon der Schwangerschaft nicht um eine CMV-Primärinfektion handeln konnte. In allen vier Fällen waren Antikörper gegen gB1 nachweisbar.

Tab. 70: Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität der Mütter mit CMV-Transmission

Nr	H-Nummer	CLIA-IgG-Aviditätsindex	rek. IgG-Aviditäts-Immunoblot	rekombinanter IgG-Immunoblot / Avidität					
				IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2
T1	1783	0,14	niedrig	+	+++	+	+	+	+
				∅	++	∅	∅	+/-	+/-
T2	1346	0,31	hoch	+	+++	++	++	+++	+++
				+	+++	+	+	++	++
T3	2457	0,54	hoch	∅	++	∅	+	++	∅
				∅	++	∅	+	++	∅
T4	4685	0,90	hoch	∅	++	+/-	∅	++	++
				∅	++	∅	∅	++	++

Einzelreaktivitäten des rekombinanten IgG-Immunoblots
Einzelreaktivitäten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots
Keine bzw. sehr schwache gB2-Reaktivität
Sehr starke gB2-Reaktivität

**4.6.3.1 Maternale Primärinfektion im dritten Trimenon: Virustransmitterin (T1)**

CMV-Serostatus bei Geburt: Schwache gB2-IgG-Reaktivität / niedrige Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre CM2-IgM-Reaktivität bei positivem IgM-Befund im ELISA und grenzwertigem IgM-Befund im CLIA

(Fall 1, TAB. 67, TAB. 68, TAB. 69, TAB. 70)

siehe Kap. 4.5.3.4

**4.6.3.2 CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon: Einfluss der Hyperimmunglobulin-(HIG-)Therapie in der Schwangerschaft (T2)**

CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität\* / hohe Avidität\* (sowohl rek IB als auch CLIA) / p150/ p65-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund in ELISA und CLIA

\* nicht aussagekräftig aufgrund der HIG-Therapie

(Fall 2, TAB. 67, TAB. 68, TAB. 69, TAB. 70)

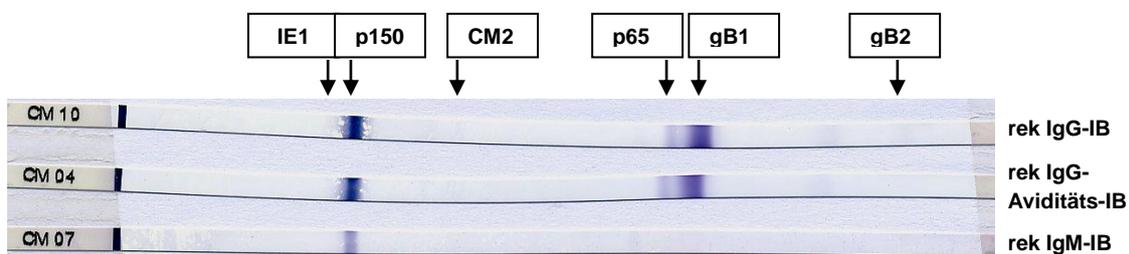
siehe Kap. 4.5.2.4

#### 4.6.3.3 Unklare Serokonstellation mit Verdacht auf Primärinfektion im Übergang erstes/zweites Trimenon (T3)

CMV-Serostatus bei Geburt: Keine gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / singuläre p150-IgM-Reaktivität bei negativem IgM-Befund im ELISA und CLIA

(Fall 3, TAB. 67, TAB. 68, TAB. 69, TAB. 70)

Diese zum Zeitpunkt der Geburt 22-jährige Mutter wäre ohne die Detektion der kongenitalen CMV-Infektion serologisch völlig unauffällig geblieben, da sie mit übereinstimmend negativem IgM in ELISA und CLIA sowie einem CLIA-Aviditätsindex von 0,57 (und damit im hoch aviden Bereich liegend) keine Indizien auf eine akute CMV-Infektion aufwies. Im aufgrund der festgestellten Transmission durchgeführten IgM-Immunoblot zeigte sich dann aber eine gut sichtbare p150-Reaktivität und somit ein positives IgM-Resultat (RECOMBLOT CMV 36). Die hohe Avidität, die der Index von 0,57 anzeigte, konnte mittels rekombinantem Aviditäts-Immunoblot bestätigt werden.



recomBlot CMV 36: H2457, Abnahmedatum 23.06.2008

Auf dem IgG-Streifen zeigen sich intensive Antikörper-Banden bei p150 sowie bei gB1, außerdem eine Bande bei p65. Dieses schmale Spektrum an IgG-Antikörper-Reaktivitäten ist eher selten (meist zeigen sich Kombinationen aus mehreren Banden) und könnte am ehesten für eine Primärinfektion sprechen, da sich bei länger zurückliegender Infektion meist doch ein eher breites Antikörper-Spektrum finden lässt. Auch die Abwesenheit einer gB2-Antikörperreaktivität passt dazu ins Bild. Eine CMV-Primärinfektion während der vergangenen zwei bis drei Monate lässt sich damit nicht mit Sicherheit ausschließen. Bei Betrachtung des Aviditäts-Blots lässt sich hingegen keine

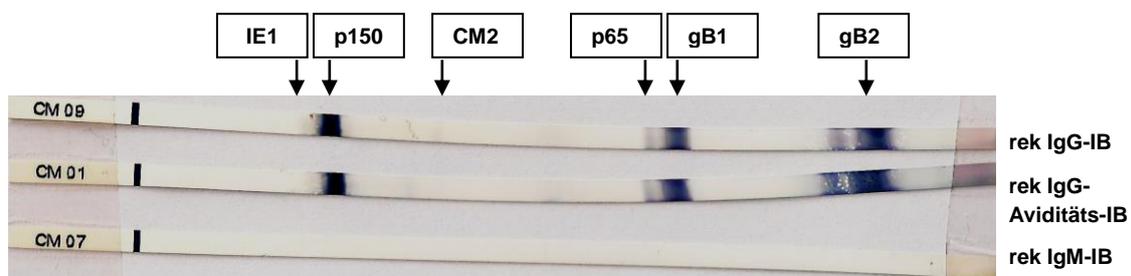
Abschwächung der abgebildeten p150-Bande erkennen, dies spricht somit für eine hohe Aviditätsreifung. Jedoch ist die Beurteilung der Avidität bei nur einer sichtbaren Bande (p150) der drei in die Betrachtung mit einzubeziehenden Banden (IE1, p150 und CM2) schwierig. Der IgM-Immunoblot zeigt eine singuläre, gut sichtbare p150-Bande (entspricht „++“). Somit gelten die Kriterien für einen positiven IgM-Befund als erfüllt. Dieser positive IgM-Befund zusammen mit der Abwesenheit von gB2-Antikörpern spräche somit für eine akute CMV-Infektion, die hoch aviden Antikörper dagegen deuten auf eine länger zurückliegende Infektion hin. Eine eindeutige Gesamtbeurteilung ist somit nicht möglich.

**4.6.3.4 Transmission bei nicht terminierbarer CMV-Primärinfektion (T4)**

CMV-Serostatus bei Geburt: gB2-IgG-Reaktivität / hohe Avidität (sowohl im rek IB als auch im CLIA) / Keine IgM-Reaktivität in rek IB, ELISA und CLIA

(Fall 4, TAB. 67, TAB. 68, TAB. 69, TAB. 70)

Die bei Geburt 36-jährige Mutter bot in allen durchgeführten serologischen Tests keinerlei Anhalt auf eine akute CMV-Infektion. Dennoch wurde ihr Kind kongenital mit CMV infiziert. Alle drei durchgeführten IgM-Tests (ELISA, CLIA sowie rekombinanter Immunoblot) erbrachten negative IgM-Resultate (RECOMBLOT CMV 37). Zudem konnten in beiden Aviditätstests (CLIA und Immunoblot) hoch avide Antikörper ermittelt werden.



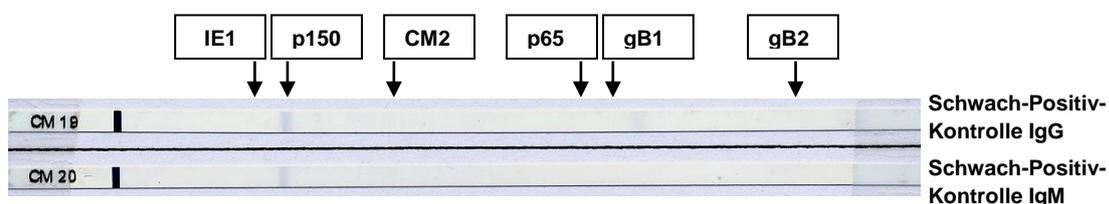
recomBlot CMV 37: H4685, Abnahmedatum 15.12.2008

Bei der Betrachtung des IgG-Streifens zeigen sich stark ausgeprägte Banden bei p150, gB1 und gB2. Diese abgebildeten Banden zeigen sich auch auf dem Aviditätsstreifen in ebenso starker Ausprägung. Die Antikörper zeigen somit eine hohe Avidität auf. Auf dem IgM-Streifen lässt sich keine IgM-Reaktivität erkennen. Die Kombination aus hoher Avidität, der Abwesenheit an IgM-Reaktivität sowie gut sichtbarer gB1- und gB2-Reaktivität im rekombinanten IgG-Immuno blot spricht für eine länger zurückliegende CMV-Infektion, zumindest kann eine Infektion im letzten Trimenon sowie am Ende des zweiten Trimenons aufgrund der starken gB2-Reaktivität ausgeschlossen werden.

### 4.7 Methodenkritische Betrachtung des rekombinanten IgM-Immunoblots

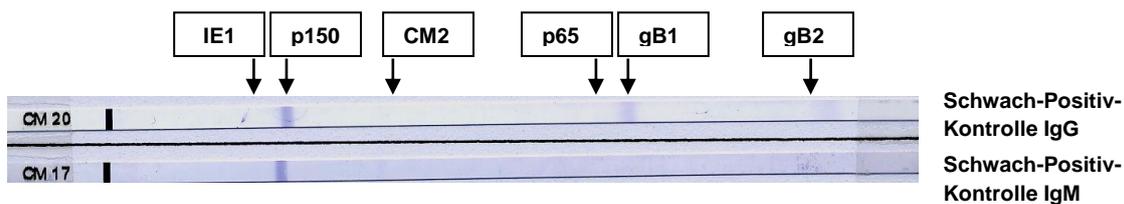
Die zum Teil schon in den vorherigen Kapiteln behandelten Immunoblots mit nicht eindeutig interpretierbaren Bandenkonstellationen sollen in diesem Kapitel noch einmal dargestellt werden. Hier soll nur die Auswertung der IgM-Immunoblots und nicht die Interpretation der Gesamtbefunde im Vordergrund stehen, das bedeutet, Avidität sowie IgG-gB2-Antikörperreaktivität werden zur Auswertung nicht herangezogen. Die hier aufgeführten rekombinanten IgM-Immunoblots sollen die Schwierigkeit einer objektiven Auswertung und der sich daraus ergebenden Interpretation verdeutlichen.

Eine große Schwäche bei der Bewertung des rekombinanten IgM-Immunoblots liegt in der Qualität der Schwach-Positiv-Kontrolle. Diese muss bei jeder Durchführung eines Immunoblots mitgeführt werden und dient zur Abgrenzung der Reaktivität von der Hintergrund-Reaktivität (Cut-off). In jedem Fall sollte bei der Schwach-Positiv-Serumkontrolle eine p150-Bande erscheinen. Die Bewertung der Intensität aller Banden des rekombinanten IgM-Immunoblots soll sich nach Angaben des Herstellers an der Intensität der p150-Bande der Schwach-Positiv-Kontrolle orientieren. Diese entspricht dem Hersteller zufolge einer schwachen Reaktivität („+“). In vielen Fällen aber ist die p150-Bande der Schwach-Positiv-Kontrolle in solch schwacher Farbintensität abgebildet, dass sie für das bloße Auge kaum sichtbar ist (z.B. RECOMBLOT CMV 38). Die Orientierung an solch schwachen Banden führt daher bei der Bewertung des rekombinanten IgM-Immunoblots oftmals zu Schwierigkeiten.



recomBlot CMV 38: Schwach-Positiv-Kontrollen, Durchführung 10.05.2008

Die p150-Bande der oben abgebildeten IgM-Schwach-Positiv-Kontrolle soll nach Angaben des Herstellers einer schwachen Bandenintensität („+“) entsprechen. Bei der Bewertung eines IgG-Immunooblots würde man eine solch schwache, kaum sichtbare Bande hingegen maximal mit einem „+/-“ bewerten. Dies führt zur nächsten Problematik bei der Beurteilung rekombinanter Immunooblots: Ein standardisierter Vergleich der Intensitäts-Zuweisung von IgG- und IgM-Immunooblots ist nicht möglich, da das Niveau der Bandenintensitäts-Ausprägung beim IgG-Immunooblot höher liegt als beim IgM-Immunooblot. Das bedeutet, dass bei der Beurteilung rekombinanter IgM-Immunooblots auch sehr schwach ausgeprägte Banden bedeutend sind und nicht außer Acht gelassen werden dürfen. Trotzdem sollten „Überbewertungen“ vermieden werden. Wie unterschiedlich die Schwach-Positiv-Serumkontrollen ausfallen können, zeigt sich beim Vergleich von RECOMBLOT CMV 38 mit diesem Blot (RECOMBLOT CMV 39).



recomBlot CMV 39: Schwach-Positiv-Kontrollen, Durchführung 24.09.2008

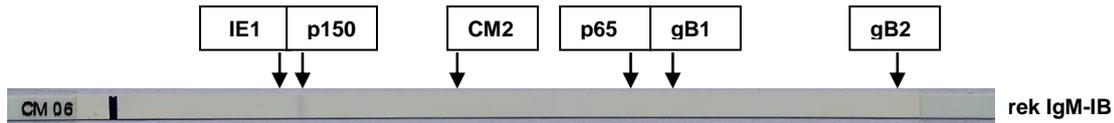
#### 4.7.1 Konkordant IgG-positive/IgM-negative Mütter

Trotz übereinstimmender IgM-Resultate in ELISA und CLIA ergaben sich bei der Interpretation des rekombinanten IgM-Immunooblots in dieser Gruppe in ein paar Fällen Schwierigkeiten. An dieser Stelle sollen ein paar dieser brisanten Fälle nochmals gesondert betrachtet werden.

#### 4.7.1.1 Singuläre p150-IgM-Bande in schwacher Intensität

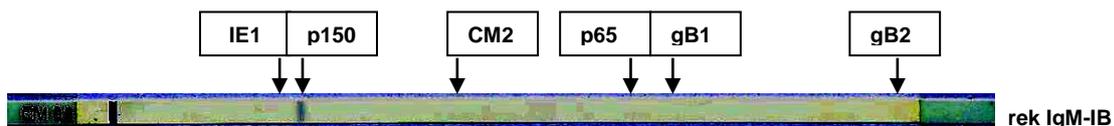
(Fall 5, TAB. 41, TAB. 42)

Der erste hier aufgeführte Fall wies zwar eine p150-Bande im rekombinanten IgM-Immuno-Blot auf, diese war aber nur schwach sichtbar und des Weiteren konnte keine andere Bande nachgewiesen werden (RECOMBLOT CMV 40).



recomBlot CMV 40: H127, Abnahmedatum 14.01.2008

Hier stellt sich nun also die Frage, wie stark die p150-Bande sichtbar sein muss, um als gut sichtbar zu gelten und damit den Kriterien eines positiven IgM-Befundes zu entsprechen? Vergleicht man die Intensität der abgebildeten p150-Bande mit der der mitgeführten Schwachpositiv-Probe, so ist die p150-Bande im Blot dieser getesteten Mutter mit hoher Wahrscheinlichkeit zumindest genauso stark ausgeprägt wie die der Schwachpositiv-Probe, die ja als cut-off dienen sollte. Bei digitaler Veränderungen der Helligkeit und des Kontrasts erscheint die p150-Bande deutlich sichtbar, aber es lassen sich keine anderen Banden nachweisen (RECOMBLOT CMV 41).



recomBlot CMV 41: H127, Abnahmedatum 14.01.2008, Variante

Interpretiert werden kann dieser Blot mit Hilfe von digitalen Hilfsmitteln somit zwar als schwach positiv, aber ohne diese Hilfe muss dieser Blot wahrscheinlich als negativ beurteilt werden. Die gesamte Konstellation mit hoch aviden Antikörpern sowie gB2-Antikörperreaktivität im rekombinanten IgG-Immuno-Blot unterstützt die These, dass es sich hier nicht um eine akute Primärinfektion handelt.

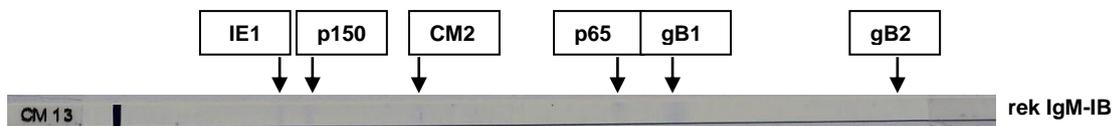
#### 4.7.2 Konkordant IgG-positive/diskordant IgM-negative Mütter

In der Gruppe der konkordant IgG-positiven und diskordant IgM-negativen Mütter war die Interpretation des rekombinanten IgM-Immunoblots in einigen Fällen nicht ganz einfach. Da jedoch bei Abweichungen der eingesetzten Screeningtests ELISA und CLIA der Auswertung des Immunoblots besondere Bedeutung zukam, sollen hier einige kritische Fälle nochmals gesondert dargestellt werden.

##### 4.7.2.1 Breites Spektrum an IgM-Banden, jedoch in sehr schwacher Ausprägung

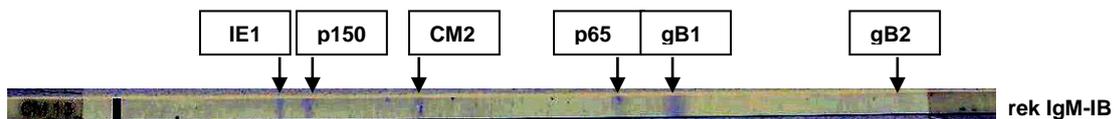
(Fall 3, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Dieser rekombinante IgM-Immunoblot zeigte zwar ein breites Spektrum an IgM-Banden (IE1, p150, CM2, p65 und gB1), diese waren aber so schwach ausgeprägt, dass sie nur erahnt werden konnten (RECOMBLOT CMV 42).



recomBlot CMV 42: H3096, Abnahmedatum 11.08.2008

Mit Hilfe veränderbarer digitaler Kontrast- und Helligkeitseinstellungen können diese etwas deutlicher dargestellt werden. Auf diesem variierten Immunoblot-Streifen lassen sich nun die zuvor nur angedeuteten Banden im Vergleich recht gut erkennen.



recomBlot CMV 43: H3096, Abnahmedatum 11.08.2008, Variante

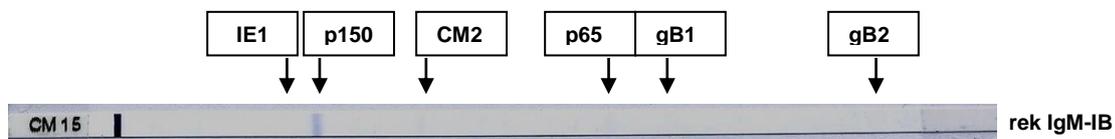
Doch auch hier ergibt sich nun wieder die Schwierigkeit einer eindeutigen Interpretation. Die Breite des nachgewiesenen Spektrums würde zwar eher auf

einen positiven IgM-Befund schließen lassen, doch alle im Originalblot zu erahnenden Banden sind viel zu schwach ausgeprägt, um den Kriterien eines positiven IgM-Befundes zu entsprechen. Dennoch ist es erstaunlich, was durch digitale Veränderungen des Kontrasts und der Helligkeit des eingescannten rekombinanten Immunoblots sichtbar gemacht werden kann.

**4.7.2.2 Singuläre p150-IgM-Bande in schwacher Intensität**

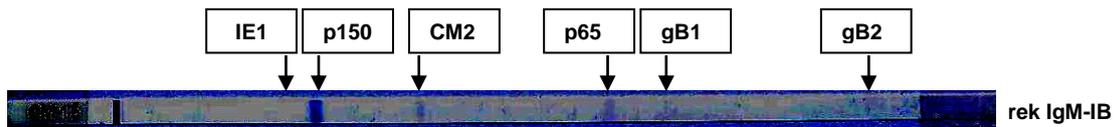
(Fall 6, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Dieser hier aufgeführte Fall zeigt eine p150-Bande in schwacher Intensität (RECOMBLOT CMV 44). Für einen positiven IgM-Befund müssen aber nach Hersteller-Kriterien (TAB. 32) zumindest eine p150-Bande in gut sichtbarer Intensität und keine weiteren Banden oder eine p150-Bande in schwacher Intensität plus eine weitere Bande in zumindest schwacher Intensität nachweisbar sein.



recomBlot CMV 44: H3168, Abnahmedatum 20.08.2008

Zu diskutieren ist nun in diesem Fall, ob die p150-Bande nicht doch sogar in gut sichtbarer Intensität abgebildet ist, denn dann wäre der Befund auch ohne den Nachweis einer weiteren Antikörperbande positiv. Diese These kann durch den Vergleich mit der bei jedem durchgeführten Immunoblot-Durchgang mitgeführten Schwach-Positiv-Kontrolle unterstützt werden, denn die dort nachgewiesene p150-Bande zeigt sich in schwächerer Intensität als die oben abgebildete p150-Bande. Außerdem stellt sich bei der genauen Betrachtung des IgM-Blots die Frage, ob nicht zusätzlich zur p150-Bande weitere Banden erkennbar sind. Da durch das direkt nach Durchführung des Immunoblots erfolgte Einscannen eine digitale Veränderung von Helligkeit und Kontrast des Blots möglich ist, kann dem menschlichen Auge sichtbar gemacht werden, was ihm ohne Digitalisierung verweigert werden würde (RECOMBLOT CMV 45).



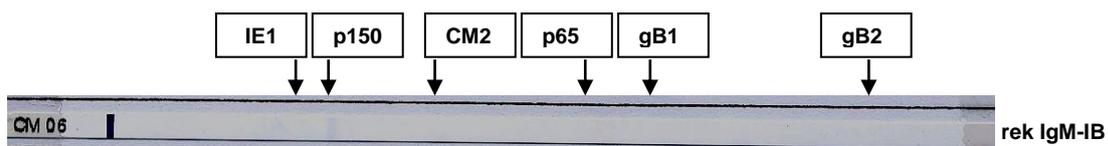
recomBlot CMV 45: H3168, Abnahmedatum 20.08.2008, Variante

Nach Veränderung der Helligkeits- und Kontrasteinstellungen sind nun eine gut sichtbare p150-Bande und zudem weitere zumindest schwach positive Banden bei CM2, p65 und evtl. auch gB1 und gB2 erkennbar. Dies bestätigt die Vermutung, dass im Blut dieser Mutter noch immer IgM-spezifische Antikörper zirkulieren und der Zeitpunkt der Infektion eventuell somit noch nicht allzu lange zurückliegt. Es stellt sich hier also die Frage, ob durch eine alleinige Beurteilung mittels des menschlichen Auges falsch negative Ergebnisse ermittelt werden, oder ob digitale Hilfsmittel zu falsch positiven Ergebnissen führen können.

#### 4.7.2.3 Singuläre p150-IgM-Bande in sehr schwacher Intensität

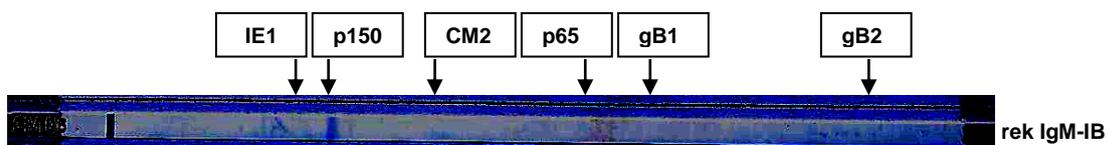
(Fall 7, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Dieser hier aufgeführte rekombinante IgM-Immuno blot zeigte als einzige Bande eine p150-Bande in sehr schwacher Intensität (RECOMBLOT CMV 46).



recomBlot CMV 46: H3593, Abnahmedatum 22.09.2008

Durch digitale Veränderung der Kontrast- und Helligkeitseinstellungen lässt sich diese nur andeutungsweise sichtbare p150-Bande allerdings deutlich besser darstellen (RECOMBLOT CMV 47).



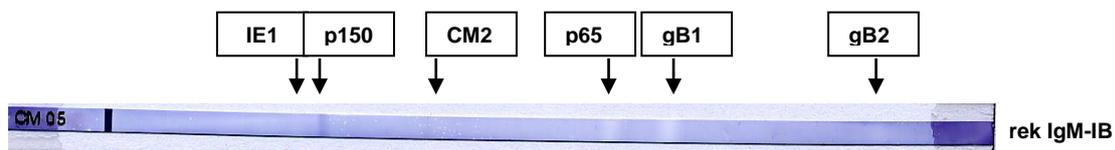
recomBlot CMV 47: H3593, Abnahmedatum 22.09.2008, Variante

Das Gesamtfazit bleibt dennoch schwierig: Durch die Nachbearbeitung scheint die p150-Bande gut sichtbar zu sein, die Frage ist aber, ob die Definition nicht auf das festgelegt ist, was mit dem bloßen Auge zu sehen ist, und in diesem Fall wäre mit bloßem Auge eine p150-Bande höchstens zu erahnen.

**4.7.2.4 Schwache p150-IgM-Bande in Kombination mit „inversen“ Banden bei p65 und gB1**

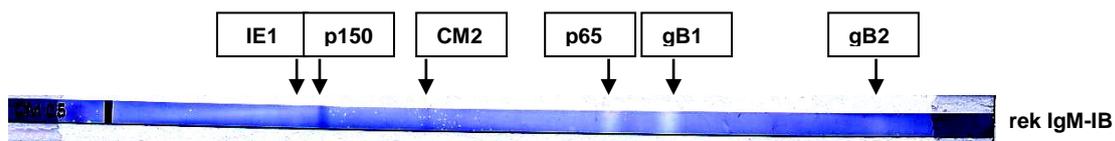
(Fall 8, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Dieser rekombinante IgM-Immunoblot (RECOMBLOT CMV 48) ist insofern interessant, da sich hier neben einer schwach sichtbaren, „normalen“ p150-Bande Antikörperreaktivität gegen p65 und gB1 zeigt, allerdings in Gestalt von „invers“ gefärbten Banden (weiße Banden auf dunklem Hintergrund). Laut Hersteller kann es in wenigen Fällen zu einer Dunkelfärbung des gesamten Nitrozellulosestreifens kommen (zum Beispiel bei Seren von Patienten mit Milcheiweiß-Allergien). Die Auswertung dieser Streifen ist in der Regel nur eingeschränkt möglich und „inverse“ Banden sollten als negativ bewertet werden.



recomBlot CMV 48: H3733, Abnahmedatum 25.09.2008

Durch Modifizierung in Helligkeit und Kontrast lässt sich hier andeutungsweise zusätzlich eine Antikörperreaktivität gegen CM2 nachweisen (RECOMBLOT CMV 49). Diese ist im Gegensatz zu den Banden bei p65 und gB1 normal gefärbt.



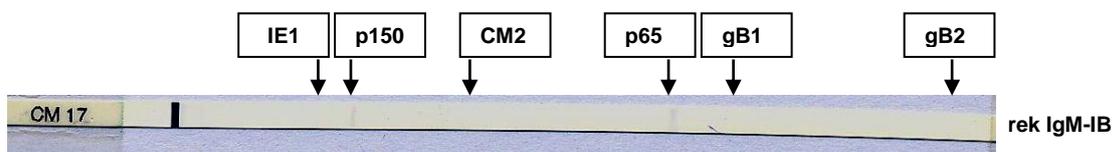
recomBlot CMV 49: H3733, Abnahmedatum 25.09.2008, Variante

Zieht man in Betracht, dass die beiden „inversen“ Banden nicht in die Auswertung miteinbezogen werden sollten, bleibt am Ende weiterhin die Frage, ob die p150-Bande in genügend starker Ausprägung abgebildet ist, um auch ohne den zusätzlichen Nachweis weiterer Banden als positiv zu gelten. Bei Betrachtung des Originalblots scheint dies nicht der Fall zu sein.

#### 4.7.2.5 Schwacher Nachweis von p150- und p65-IgM-Reaktivität

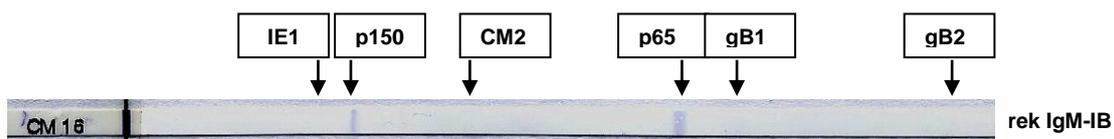
(Fall 13, TAB. 45, TAB. 48, TAB. 49)

Dieser Fall aus der Gruppe der konkordant IgG-positiven/diskordant-IgM-negativen Mütter war nach dem Vorliegen des ersten durchgeführten Immunoblots so fraglich, dass noch ein zweiter Immunoblot erstellt wurde. Im ersten IgM-Blot waren nur zwei sehr schwache Banden bei p150 und p65 zu erahnen (RECOMBLOT CMV 50).



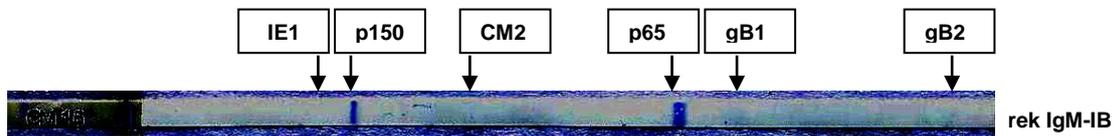
recomBlot CMV 50: H806, Abnahmedatum 22.02.2008

Die Wiederholung des Immunoblots (RECOMBLOT CMV 51) ergab hier eine p150-Bande in sehr schwacher Intensität („+/-“) und außerdem eine p65-Bande in schwacher Intensität („+“), da aber für einen positiven IgM-Nachweis mindestens eine p150 in schwacher Intensität plus eine weitere Bande in schwacher Intensität nachweisbar sein müssen, sind in diesem Fall die Kriterien für einen positiven IgM-Nachweis nicht erfüllt.



recomBlot CMV 51: H806, Abnahmedatum 22.02.2008, Wiederholung

Allerdings kann man auch hier durch eine kleine digitale Spielerei mit Helligkeit und Kontrast die subjektive Interpretation des Immunoblots optimiert werden (RECOMBLOT CMV 52).



recomBlot CMV 52: H806, Abnahmedatum 22.02.2008, Variante

Die Interpretation dieses digital veränderten Blots ergäbe eine p150-Bande in zumindest gut sichtbarer Intensität sowie ein p65-Bande in sehr gut sichtbarer Intensität. Somit wäre dieser Blot als eindeutig positiv zu deklarieren.

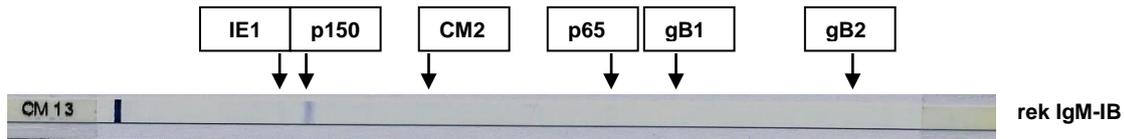
#### 4.7.3 Diskordant IgM-positive Mütter

In der Gruppe der diskordant IgM-positiven Mütter gab es weitere Fälle, in denen die abschließende Bewertung schwierig war. Im Gegensatz zur Gruppe der konkordant positiven Frauen spielte hier der End-Befund des IgM-Immunoblots meist eine noch größere Rolle, da sich im Vorfeld ja häufig Abweichungen des IgM-ELAs und des IgM-CLIAs ergeben hatten und daher der Immunoblot als Referenzmethode diente.

##### 4.7.3.1 Singuläre schwach positive p150-IgM-Reaktivität

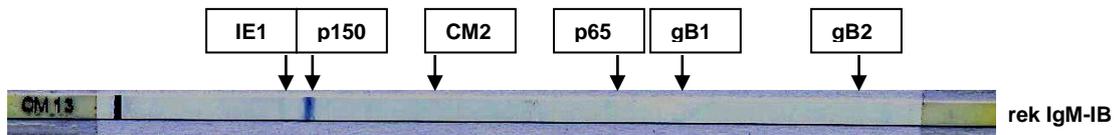
(Fall 1, TAB. 56, TAB. 58, TAB. 60)

In diesem Fall konnte bei niedriger Avidität gemäß CLIA-Aviditätsindex (0,01) sowie intermediär aviden Antikörpern im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot im IgM-Blot nur eine Bande in eher schwacher Intensität bei p150 detektiert werden (RECOMBLOT CMV 53).



recomBlot CMV 53: H1391, Abnahmedatum 08.04.2008

Bei geringer Veränderung der Kontrast- sowie Helligkeitseinstellungen lässt sich diese p150-Bande noch deutlich besser darstellen (RECOMBLOT CMV 54). Weitere Banden, außer p150, zeigen sich hingegen nicht.



recomBlot CMV 54: H1391, Abnahmedatum 08.04.2008, Variante

Dieser Fall wurde trotz der eher schwach ausgeprägten p150-Bande in die Gruppe der diskrepanz IgM-positiven Mütter eingeordnet, da die im Originalblot abgebildete Bande zumindest ebenso stark abgebildet war wie die gleichzeitig durchgeführte Schwachpositiv-Kontrolle, an der es sich zu orientieren gilt. Zudem ist eine geringgradige Ausbleichung des Blots denkbar. Trotzdem zeigt sich auch anhand diesen Blots die Schwierigkeit der objektiven Bewertung des Immunoblots und veranschaulicht den schmalen Grat, auf welchem man sich bei der Entscheidung zwischen IgM-Positivität und IgM-Negativität bewegt.

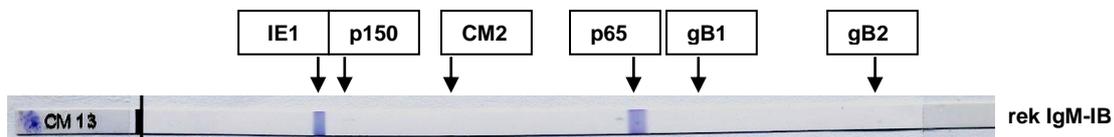
#### 4.7.4 Fraglich IgM-positive Mütter

In dieser Gruppe spielt die genaue Betrachtung der IgM-Blots natürlich eine besondere Rolle. Der erste Fall dieser Gruppe wurde schon umfassend dargestellt (Kap. 4.5.3.4). Die beiden weiteren Fälle mit fraglichem IgM-Befund im rekombinanten Immunoblot sollen hier dargestellt werden.

**4.7.4.1 Intensive IgM-Banden bei IE1 und p65 ohne Nachweis einer p150-Bande**

(Fall 2, TAB. 64, TAB. 65, TAB. 66)

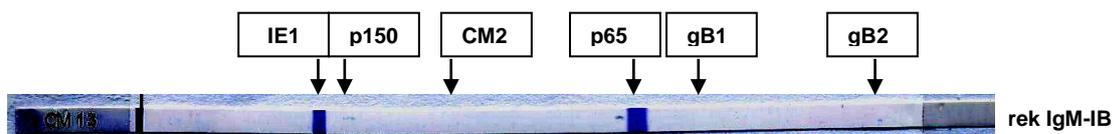
Dieser rekombinante IgM-Immunoblot zeigte intensive Banden gegen IE1 sowie gegen p65 (RECOMBLOT CMV 55). Eine p150-Bande ist nicht zu erkennen. Die Problematik bei der Beurteilung dieses Blots liegt nun darin, dass die Beurteilung nur im Vergleich mit der Schwach-Positiv-Kontrolle möglich ist. Beim ersten Blick auf das Bandenmuster würde man sonst sofort an einen mit dem Nachweis einer intensiven p150-Bande plus einer p65-Bande eindeutig positiven IgM-Befund denken. In diesem Fall ist jedoch tatsächlich die IE1-Bande abgebildet, wohingegen die p150-Bande nicht zu sehen ist.



recomBlot CMV 55: H3516, Abnahmedatum 11.09.2008

Definitionsgemäß ist ein rekombinanter IgM-Immunoblot nur beim Nachweis einer mindestens schwachen p150-Bande („+“) in Kombination mit weiteren schwachen Banden oder beim Nachweis einer intensiven p150-Bande („++“) auch ohne weitere Banden als positiv zu beurteilen. In allen Fällen, in denen zwar CMV-spezifische Banden auftreten, jedoch ohne eine zumindest schwache p150-Bande, muss der Befund als „fraglich“ kategorisiert werden. Dies ist hier der Fall.

Auch bei digitaler Veränderung der Helligkeits- und Kontrasteinstellungen kann bei diesem Blot nur eine Verstärkung der beiden auch mit bloßem Auge gut sichtbaren Banden IE1 und p65 erzielt werden, Anzeichen einer p150-Bande sind weiterhin nicht zu erkennen (RECOMBLOT CMV 56).



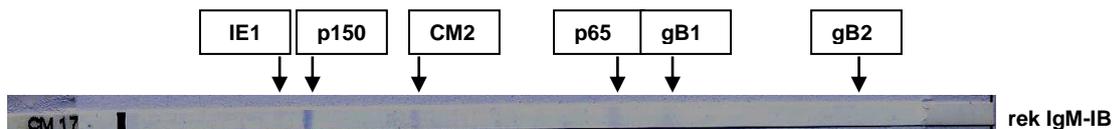
recomBlot CMV 56: H3516, Abnahmedatum 11.09.2008, Variante

Dieser IgM-Immunoblot muss somit also trotz der intensiven Einzelreaktivitäten als fraglich interpretiert werden. Trotz negativem IgM-Befund in sowohl IgM-ELA als auch IgM-CLIA mit hoher Avidität in rekombinantem Aviditäts-Immunoblot und CLIA-Aviditätsindex lassen diese starken Bandenreaktivitäten dennoch Zweifel an der definitionsgemäßen Beurteilung des rekombinanten IgM-Immunoblots offen.

#### 4.7.4.2 Schwach sichtbare IgM-Banden bei p150 und CM2

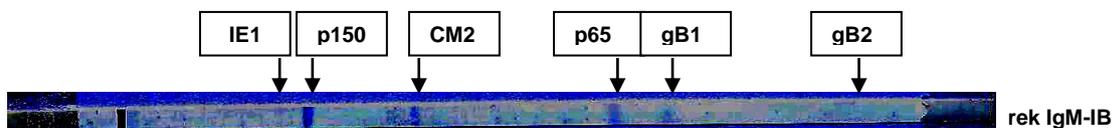
(Fall 3, TAB. 64, TAB. 65)

Bei diesem rekombinanten IgM-Immunoblot lässt sich eine Bande bei p150 in zumindest schwacher Intensität sowie eine Bande bei CM2 in sehr schwacher Intensität detektieren (RECOMBLOT CMV 57). Andeutungsweise sind eventuell auch bei p65 und gB1 zu sehen.



recomBlot CMV 57: H2894, Abnahmedatum 04.08.2008

Verändert man Helligkeits- und Kontrasteinstellungen erhält man folgendes Bild (RECOMBLOT CMV 58):



recomBlot CMV 58: H2894, Abnahmedatum 04.08.2008, Variante

Die p150-Bande ist nun deutlich sichtbar, außerdem lassen sich gut sichtbare Banden bei CM2, p65 und gB1 erkennen. Im Fazit bleibt somit ein fraglich (positiver) IgM-Befund.

## 5 DISKUSSION

Im Rahmen der an der im Institut für Medizinische Virologie des Universitätsklinikums Tübingen (UKT) in Kooperation mit der Universitäts-Frauenklinik und der Abteilung Neonatologie des UKT durchgeführten prospektiven klinischen Studie „Kongenitaler CMV-Infektionen“, in der insgesamt 5000 Mutter-Kind-Paare auf ihren CMV-Serostatus (IgG, IgM und IgG-Avidität) evaluiert werden sollen, werden folgende Studienziele verfolgt:

- Erhebung prospektiver Daten zur Inzidenz kongenitaler CMV-Infektionen bei Geburt
- Vergleichende Evaluierung maternaler Serodiagnostik zum Zeitpunkt der Geburt
- Transmissionsrate der kongenitalen CMV-Infektion während des letzten Schwangerschaftstrimenons
- Möglichkeiten und Grenzen der Differenzierung von CMV-Primärinfektionen und Rekurrenz.

Aufgrund eines Indexfalles einer CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon der Schwangerschaft mit unauffälliger CMV-Serologie via ELISA und CLIA, bei gleichzeitigem Nachweis von  $> 10^6$  Viruskopien CMV-DNA im Fruchtwasser, wurde am Institut für Medizinische Virologie eine klinisch-virologische Studie zur Evaluierung verschiedener CMV-Serodiagnostik-Methoden initiiert.

Allgemein lässt sich folgende Schlussfolgerung aus den während des Jahres 2008 gesammelten Daten der Tübinger Kongenital-Studie ziehen: Kein einziger der eingesetzten serologischen Tests wäre als alleinige Diagnostik geeignet. Nur in der Zusammenschau der verschiedenen Tests und unter Einbezug klinischer sowie weiterer diagnostischer Methoden wie zum Beispiel der PCR lässt sich eine Aussage über den Status der CMV-Infektion treffen.

## 5.1 Screeningmethode - Vergleich ELISA und CLIA mit dem rekombinanten Immunoblot als Referenz

Aufgrund der Tatsache, dass die kongenitale CMV-Infektion weltweit die häufigste kongenitale Infektion darstellt, welche in bis zu zehn Prozent schwere ZNS-Schädigungen verursachen kann, wird die Einführung eines CMV-Screening-Programms zu Beginn oder, noch besser, vor einer Schwangerschaft gefordert. Gail Demmler-Harrison, Pädiaterin am Texas Children's Hospital und Expertin für CMV-Infektionen, fasste ihre Forderungen in zwei Schritten zusammen: "A logical first step for public health action towards awareness, prevention and treatment is to screen all newborns for congenital CMV infection at birth. A second logical step for public health action towards awareness, prevention and treatment is to mandate routine prenatal screening of all pregnant women for the presence of CMV IgG antibody." (Demmler-Harrison, 2009). Auch in Deutschland wird über entsprechende Maßnahmen diskutiert.

Die Diagnostik der CMV-Primärinfektion und die Differenzierung von einer CMV-Reaktivierung kann durch abweichende IgM-Befunde verschiedener kommerzieller Testsysteme erschwert werden. In der vorliegenden Studie konnte außerdem eine hohe Rate an abweichenden Ergebnissen von halbautomatisierten Standardtests wie z.B. dem ELISA (Medac) und dem CLIA (DiaSorin) festgestellt werden. Der CLIA erwies sich dabei nicht nur als sensitiver als der ELISA (bei der Bestimmung des IgM-Serostatus), sondern bietet mit der Bestimmung eines Aviditätsindizes darüber hinaus ein sehr wertvolles Instrument für die zeitliche Terminierung einer CMV-Infektion. In unserer Studie (unter Verwendung der Daten vom 1. Januar 2008 bis zum 31. Dezember 2008) konnte gezeigt werden, dass in überraschend vielen Fällen weder der IgM-ELISA noch der IgM-CLIA sensitiv genug waren, einen positiven IgM-Antikörperstatus zu detektieren (58 Fälle), dagegen erbrachte die Überprüfung von Fällen mit einem Aviditätsindex  $\leq 0,4$  via rekombinantem IgM-Immunoblot eine große Anzahl an IgM-positiven Resultaten hervor, die ohne das Instrument „CLIA-Aviditätsindex“ unerkannt geblieben wären (56 Fälle).

### 5.1.1 Analytische Wertigkeit des IgG/IgM-ELISA im Teilkollektiv abweichender Testresultate

Zur Bestimmung der Güte des ELISA für die Diagnostik CMV-spezifischer IgG- und IgM-Antikörper kann nur ein Bruchteil der insgesamt 1564 via IgG- und IgM-ELISA getesteten Mütter herangezogen werden, da die Durchführung einer Referenzmethode (dem rekombinanten IgG- und IgM-Immunoblot) dazu eine notwendige Voraussetzung darstellt.

#### 5.1.1.1 IgG-ELISA

Bei der Bestimmung des IgG-Serostatus wurde ein rekombinanter IgG-Immunoblot nur durchgeführt, wenn es zu Abweichungen des IgG-ELISA und des IgG-CLIA kam, des Weiteren bei allen Frauen, bei denen der Aviditätsstatus überprüft wurde. Insgesamt wurde in 177 Fällen ein rekombinanter IgG-Immunoblot durchgeführt. Nur für diese 177 Fälle kann die analytische Wertigkeit des IgG-ELISA bestimmt werden. Die Ergebnisse des IgG-ELISA im Vergleich zum rekombinanten IgG-Immunoblot sind in nachfolgender Neunfeldertafel (TAB. 71) dargestellt.

Tab. 71: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgG-ELISA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgG-Immunoblot

IgG-Serostatus		rek. IgG-Immunoblot			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
IgG-ELISA	positiv	156	0	1	157
	grenzwertig	0	1	6	7
	negativ	0	0	13	13
Summe		156	1	20	177

Daraus ließen sich unter Zugrundelegung des rekombinanten IgG-Immuno- blots als Referenztest folgende Werte errechnen (TAB. 72):

Tab. 72: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgG-ELISA\*

CMV-Kongenital-Studie			Herstellerangaben	
<b>Sensitivität</b>	= 156/156	= 1	100%	100%
<b>Spezifität</b>	= 13/20	= 0,65	65%	97,1%
<b>positiver prädiktiver Wert</b>	= 156/157	= 0,9936	99,36%	97,1%
<b>negativer prädiktiver Wert</b>	= 13/13	= 1	100%	100%

\* Grenzwertige Resultate wurden in den Berechnungen nicht berücksichtigt

Der IgG-ELISA konnte somit ausgezeichnete Ergebnisse erzielen bezüglich der Sensitivität, des positiven sowie negativen prädiktiven Werts. Bei der Spezifität weist der IgG-ELISA dagegen mit nur 65 Prozent Mängel auf, die im Wesentlichen bedingt sind durch grenzwertige IgG-Ergebnisse.

#### 5.1.1.2 IgM-ELISA

Zur Bestimmung der analytischen Performance des IgM-ELAs können 164 Fälle herangezogen werden. Die Durchführung eines rekombinanten IgM-Immuno- blots wurde in Fällen, bei denen Abweichungen des IgM-ELAs und des IgM- CLIA auftraten, sowie in allen Fällen, bei denen ein CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  detektiert wurde, vollzogen. Des Weiteren via rekombinanten IgM-Immuno- blot überprüft wurden Fälle mit positivem IgM-Resultat in beiden Tests sowie Mütter mit Transmission. Insgesamt wurde bei 164 Müttern ein rekombinanter IgM- Immunoblot durchgeführt. Die IgM-Befunde des ELISAs im Vergleich zum rekombinanten IgM-Immuno- blot sind in nachfolgender Tabelle dargestellt (TAB. 73).

Tab. 73: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgM-ELA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgM-Immunoblot

IgM-Serostatus		rek. IgM-Immunoblot			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
IgM-ELA	positiv	11	1	1	13
	grenzwertig	4	0	5	9
	negativ	88	2	52	142
Summe		103	3	58	164

Daraus ließen sich unter Zugrundelegung des rekombinanten IgM-Immunoblots als Referenztest folgende Werte errechnen (TAB. 74):

Tab. 74: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgM-ELISA\*

CMV-Kongenital-Studie				Herstellerangaben
<b>Sensitivität</b>	= 11/103	= 0,1068	10,68%	99,40%
<b>Spezifität</b>	= 52/58	= 0,8966	89,66%	99,68%
<b>positiver prädiktiver Wert</b>	= 11/13	= 0,8462	84,62%	99,40%
<b>negativer prädiktiver Wert</b>	= 52/142	= 0,3662	36,62%	99,68%

\* Grenzwertige Resultate wurden in den Berechnungen nicht berücksichtigt

Besonders auffällig sind hier die schlechten Resultate des IgM-ELAs bezüglich der Sensitivität sowie des negativen prädiktiven Werts. Nur rund elf Prozent aller positiven IgM-Befunde konnten via IgM-ELA detektiert werden. Des Weiteren bedeutet ein negatives IgM-Resultat im IgM-ELA nur in 36,6 Prozent der Fälle, dass die getestete Person auch tatsächlich keine CMV-IgM-Antikörper aufzuweisen hat. Dagegen zeigt der IgM-ELA hinsichtlich der Spezifität und auch des positiven prädiktiven Werts gute Resultate: In 89,6 Prozent der getesteten Fälle wurde ein negativer IgM-Status mittels IgM-ELA auch via rekombinantem IgM-Immunoblot negativ detektiert. Der positive prädiktive Wert besagt hier, dass 84,6 Prozent der Mütter, die ein positives IgM-Resultat im IgM-ELA aufzeigten, auch tatsächlich IgM-Antikörper im Serum aufwiesen.

Insgesamt scheint der ELISA besser zur Bestimmung des IgG-Serostatus geeignet zu sein als zur Detektion von CMV-IgM-Antikörpern, da der IgG-ELISA deutlich zuverlässigere Resultate liefern konnte als der IgM-ELA.

### 5.1.2 Analytische Wertigkeit des IgG/IgM-CLIA sowie des CLIA-Aviditätsindizes im Teilkollektiv abweichender Testresultate

Auch für die Auswertung des CLIA können nur diejenigen Fälle herangezogen werden, bei denen ein rekombinanter Immunoblot als Referenz durchgeführt wurde. Dies war in 177 Fällen bei der Bestimmung des IgG-Serostatus der Fall sowie in 164 Fällen bei der Bestimmung des IgM-Serostatus. Hinzu kommt beim CLIA noch eine weitere Kategorie, der CLIA-Aviditätsindex. Dieser konnte in 146 Fällen via rekombinantes Aviditäts-Immunoblot überprüft werden. Dabei wird ein Zahlenwert mit einer visuellen Auswertung der Antigenreaktivität verglichen. Die Grenzen des Aviditätsindizes im Intervall von 0 bis 1 sind festgelegt auf:

- 0 bis 0,2: niedrige Avidität
- > 0,2 bis 0,3: intermediäre Avidität
- > 0,3 bis 1: hohe Avidität.

#### 5.1.2.1 IgG-CLIA

Bei der Bestimmung des IgG-Serostatus konnten für den IgG-CLIA im Vergleich zum rekombinanten IgG-Immunoblot folgende Daten ermittelt werden (TAB. 75):

Tab. 75: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgG-CLIA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgG-Immunoblot

IgG-Serostatus		rek. IgG-Immunoblot			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
IgG-CLIA	positiv	146	0	3	149
	grenzwertig	5	0	1	6
	negativ	5	1	16	22
Summe		156	1	20	177

Daraus ließen sich unter Zugrundelegung des rekombinanten IgG-Immunooblots als Referenztest folgende Werte errechnen (TAB. 76):

Tab. 76: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgG-CLIA\*

CMV-Kongenital-Studie				Herstellerangaben
<b>Sensitivität</b>	= 146/156	= 0,9359	93,59%	99,88%
<b>Spezifität</b>	= 16/20	= 0,8	80%	99,65%
<b>positiver prädiktiver Wert</b>	= 146/149	= 0,9799	97,99%	k.A.
<b>negativer prädiktiver Wert</b>	= 16/22	= 0,7273	72,73%	k.A.

\* Grenzwertige Resultate wurden in den Berechnungen nicht berücksichtigt

Der IgG-CLIA erzielte somit gute Ergebnisse hinsichtlich der Sensitivität (93,59 Prozent) und des positiven prädiktiven Werts (97,99 Prozent), im direkten Vergleich schnitt dabei aber der IgG-ELISA noch besser ab. Dafür erwies sich der IgG-CLIA mit einer Spezifität von 80 Prozent im Vergleich zum IgG-ELISA zuverlässiger bei der Ermittlung richtig negativer IgG-Resultate.

### 5.1.2.2 IgM-CLIA

Die Bestimmung der Güte des IgM-CLIA konnte wie auch für den IgM-ELA nur in den Fällen durchgeführt werden, in denen auch ein Befund des rekombinanten IgM-Immunooblots vorlag. Dies war bei 164 Müttern der Fall. Folgende Daten ließen sich dabei ermitteln (TAB. 77):

Tab. 77: Neunfeldertafel zum Vergleich des IgM-CLIA bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter IgM-Immuno blot

IgM-Serostatus		rek. IgM-Immuno blot			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
IgM-CLIA	positiv	20	0	10	30
	grenzwertig	20	2	6	28
	negativ	63	1	42	106
Summe		103	3	58	164

Daraus ließen sich unter Zugrundelegung des rekombinanten IgM-Immunooblots als Referenztest folgende Werte errechnen (TAB. 78):

Tab. 78: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert des IgM-CLIA\*

CMV-Kongenital-Studie				Herstellerangaben
<b>Sensitivität</b>	= 20/103	= 0,1942	19,42%	97,3%
<b>Spezifität</b>	= 42/58	= 0,7241	72,41%	98,5%
<b>positiver prädiktiver Wert</b>	= 20/30	= 0,6667	66,67%	k.A.
<b>negativer prädiktiver Wert</b>	= 42/106	= 0,3962	39,62%	k.A.

\* Grenzwertige Resultate wurden in den Berechnungen nicht berücksichtigt

Die Ergebnisse, die sich mittels des IgM-CLIAS erzielen ließen, waren auch hier (ähnlich wie die des IgM-ELAs) in keiner Weise befriedigend. Einzig beim Ausschluss falsch positiver Befunde erzielte der IgM-CLIA mit einer Spezifität von 72,4 Prozent ein noch respektables Ergebnis. Dagegen konnten positive Befunde via IgM-CLIA nur in 19,4 Prozent der Fälle detektiert werden. Ein negatives Resultat im IgM-CLIA bestätigte sich nur in 39,6 Prozent der Fälle. Immerhin 66,7 Prozent aller positiven IgM-CLIA-Resultate erwiesen sich auch im IgM-Immuno blot als positiv.

### 5.1.2.3 CLIA-Aviditätsindex

Die CLIA-Aviditätsindizes der 146 Mütter, bei denen ein rekombinanter Aviditäts-Immuno blot durchgeführt wurde, verteilen sich über das Intervall von 0,01 bis 0,90. Dies ist in ABB. 26 veranschaulicht:

### Verteilung von CLIA-IgG-Aviditätswerten

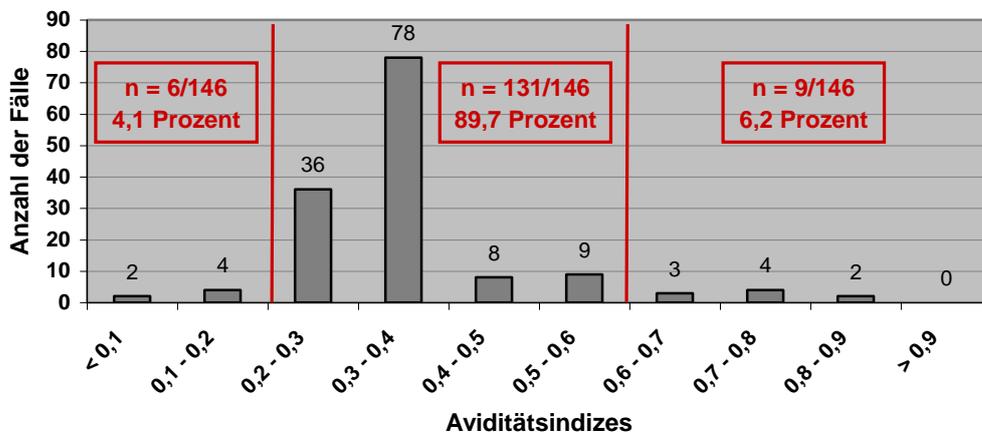


Abb. 26: Verteilung aller ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes, bei denen auch ein rekombinanter Aviditäts-Immunoblot durchgeführt wurde (insgesamt 146)

Bei Betrachtung von ABB. 26 fällt besonders die sehr große Anzahl an Werten im Bereich zwischen 0,3 und 0,4 auf (78 Fälle). Auch im Bereich zwischen 0,2 und 0,3 findet sich mit 36 Fällen eine große Anzahl der insgesamt 146 Fälle. Insgesamt liegen 114 von 146 via rekombinantem Aviditäts-Immunoblot überprüften Fällen im Bereich zwischen 0,2 und 0,4, dies entspricht 78,1 Prozent. Im erweiterten Bereich zwischen 0,2 und 0,6 liegen sogar 131 von 146 Fällen, dies entspricht 89,7 Prozent. Beim Vergleich der CLIA-Aviditätsindizes mit den Resultaten des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots ergeben sich jedoch viele Abweichungen der beiden Tests. Diese sollen in TAB. 79 veranschaulicht werden.

Tab. 79: Neunfeldertafel zum Vergleich des CLIA-Aviditätsindizes bezogen auf die Referenzmethode rekombinanter Aviditäts-Immunoblot

Aviditäts-Status		rek. Aviditäts-Immunoblot			Summe
		niedrig	intermediär	hoch	
CLIA-Aviditätsindex	niedrig	2	1	3	6
	intermediär	2	6	28	36
	hoch	4	7	93	104
Summe		8	14	124	146

Bei Betrachtung der Neunfeldertafel (TAB. 79) wird deutlich, dass CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immuno blot gerade in den niedrigen und intermediär aviden Bereichen häufig nicht übereinstimmen. Dagegen zeigt sich im Bereich hoher Avidität eine bessere (wenn gleich auch nicht gute) Konkordanz. Auch wenn die Auswertung rekombinanter Aviditäts-Immuno blots nicht immer einfach und fehlerfrei ist (siehe Kap. 5.2.2), wurde auch hier der rekombinante Immuno blot als Referenzmethode festgelegt. Für den CLIA-Aviditätsindex ergeben sich somit im Vergleich zum rekombinanten Aviditäts-Immuno blot als Referenzmethode folgende Werte für Sensitivität und positiven prädiktiven Wert (TAB. 80). Die Ermittlung von Spezifität und negativem prädiktivem Wert ist in diesem Fall (Matrix mit drei Variablen) nicht möglich, da es sich hier ja nicht um eine Richtig/Falsch-Klassifikation handelt, sondern um eine Ermittlung kontinuierlicher Werte, die anhand bestimmter Definitionen (siehe TAB. 24 in Kap. 3.2.2.1 sowie TAB. 33 in Kap. 3.3.4) in drei verschiedene Bereiche eingeteilt werden (niedrige, intermediäre und hohe Avidität).

Tab. 80: Sensitivität und positive prädiktive Werte des CLIA-Aviditätsindex im Vergleich zum rekombinanten Aviditäts-Immuno blot

CMV-Kongenital-Studie				
<b>Sensitivität</b>	<b>niedrige Avidität</b>	<b>= 2/8</b>	<b>= 0,25</b>	<b>25%</b>
	<b>intermediäre Avidität</b>	<b>= 6/14</b>	<b>= 0,4286</b>	<b>42,86%</b>
	<b>hohe Avidität</b>	<b>= 93/124</b>	<b>= 0,75</b>	<b>75%</b>
<b>positiver prädiktiver Wert</b>	<b>niedrige Avidität</b>	<b>= 2/6</b>	<b>= 0,3333</b>	<b>33,33%</b>
	<b>intermediäre Avidität</b>	<b>= 6/36</b>	<b>= 0,1667</b>	<b>16,67%</b>
	<b>hohe Avidität</b>	<b>= 93/104</b>	<b>= 0,8942</b>	<b>89,42%</b>

Insgesamt korrelieren 101 Fälle (2+6+93, siehe TAB. 79) von 146 mittels beider Aviditäts-Tests überprüfter Fälle miteinander, dies entspricht 69,2 Prozent. Die Majorität der korrelierenden Resultate liegt dabei eindeutig im hoch aviden Bereich (93 Fälle).

### 5.1.3 Vergleich von ELISA und CLIA im Gesamtkollektiv CMV-seronegativer Mütter

Bei den insgesamt 815 Müttern, bei denen keine CMV-spezifischen Antikörper festgestellt werden konnten, gab es eine sehr große Anzahl (805) an konkordant in ELISA und CLIA IgG-negativ getesteten Fällen. Nur bei zehn Frauen gab es abweichende Resultate für den IgG-Serostatus, welcher im rekombinanten IgG-Immunoblot als negativ verifiziert werden konnte. In TAB. 81 sind die Konstellationen für seronegative Mütter aufgezeigt.

Tab. 81: Serokonstellationen aller CMV-seronegativen Mütter (grenzwertige oder positive Fälle wurden im rekombinanten IgG-Immunoblot als negativ verifiziert)

CMV-IgG-negative Mütter		IgG-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgG-ELISA	negativ	805*	1**	2**	808
	grenzwertig	5**	0	1**	6
	positiv	1**	0	0	1
Summe		811	1	3	815

\* I.d.R. keine weitere Abklärung mittels rekombinanten IgG-Immunoblot (siehe ABB. 13)

\*\* Rekombinanter IgG-Immunoblot negativ

Hier wird deutlich, dass der IgG-CLIA bezogen auf den Referenztest (rekombinanter IgG-Immunoblot) mit nur drei falsch positiven sowie einem falsch grenzwertigem IgG-Befund etwas besser abschneidet als der IgG-ELISA mit sechs falsch grenzwertigen sowie einem falsch positiven IgG-Resultat. Insgesamt zeigen beide Testsysteme aber eine hohe Konkordanz bei der Ermittlung IgG-negativer Befunde. In der Annahme, dass bei Konkordanz der beiden IgG-Tests der „wahre“ Befund ermittelt wurde, wurde bei 795 dieser 805 konkordant IgG-negativen Fälle auf eine Überprüfung via rekombinanten IgG-Immunoblot verzichtet. Alle zehn Fälle, die zum Teil aufgrund einer ursprünglich falschen Auswertung und zum Teil versehentlich im rekombinanten IgG-Immunoblot überprüft wurden, zeigten im Immunoblot negative IgG-Resultate. Es zeigt sich somit eine sehr hohe Übereinstimmung des IgG-ELISAs und des IgG-CLIAS bei der Bestimmung seronegativer Resultate (805 von 815 Müttern). Dies entspricht einer Konkordanz von 98,8 Prozent.

#### 5.1.4 Vergleich von ELISA und CLIA im Gesamtkollektiv CMV-IgG-seropositiver Mütter mit negativem IgM-Nachweis

Insgesamt 642 der untersuchten 1564 Frauen erwiesen sich CMV-IgG-positiv sowie IgM-negativ. Bei 619 dieser 642 Frauen stimmten ELISA und CLIA sowohl für den IgG- als auch für den IgM-Serostatus überein, wobei fünf Frauen im CLIA grenzwertig positive IgG-Resultate aufzeigten, welche via rekombinantes IgG-Immunoblot als positiv verifiziert wurden (diese fünf Frauen wurden trotz der grenzwertigen IgG-CLIA-Resultate in die Gruppe konkordant IgG-positiver/IgM-negativer Frauen eingeordnet). In sechs Fällen der 642 IgG-positiven/IgM-negativen Frauen kam es zu Abweichungen bei der Ermittlung des IgG-Serostatus (hier erwies sich der IgG-CLIA in allen sechs Fällen als falsch negativ), in 17 Fällen ergaben sich Abweichungen bei der Ermittlung des IgM-Serostatus. Die IgG-Serokonstellationen dieser 642 Frauen sind in TAB. 82 aufgezeigt. In TAB. 83 sind die IgM-Serokonstellationen aller 642 IgG-positiven/IgM-negativen Frauen dargestellt.

Tab. 82: IgG-Serokonstellationen aller CMV-IgG-positiven und IgM-negativen Mütter\*

CMV-IgG-positive Mütter bei negativem IgM		IgG-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgG-ELISA	negativ	0	0	0	0
	grenzwertig	1***	0	0	1
	positiv	5**	5**	631*	641
Summe		6	5	631	642

\* I.d.R. keine weitere Abklärung mittels rekombinantes IgG-Immunoblot (außer bei CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$ ) (siehe ABB. 14)

\*\* Fälle mit grenzwertigem oder in einem der beiden Tests negativem IgG-Befund wurden im rekombinantes IgG-Immunoblot als IgG-positiv (zehn Fälle) verifiziert

\*\*\* Dieser Fall konnte auch im rekombinantes IgG-Immunoblot nur als fraglich positiv klassifiziert werden

In dieser Tabelle (TAB. 82) wird deutlich, dass der IgG-CLIA bei der Bestimmung positiver IgG-Resultate mit elf falsch negativen (sechs Fälle) bzw. falsch grenzwertigen (fünf Fälle) Ergebnissen schlechter abschneidet als der IgG-ELISA mit nur einem grenzwertigen Resultat (welches auch im

rekombinanten IgG-Immuno blot als grenzwertig bestätigt wurde). In 631 von 642 IgG-positiven/IgM-negativen Resultaten stimmten aber die IgG-Resultate beider Testsysteme überein. Dies entspricht einer Konkordanz bei der Bestimmung des IgG-Serostatus in dieser Gruppe von 98,3 Prozent.

Tab. 83: IgM-Serokonstellationen aller CMV-IgG-positiven und IgM-negativen Mütter\*

CMV-IgM-negative Mütter bei positivem IgG		IgM-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgM-ELISA	negativ	625*	5**	6**	636
	grenzwertig	1**	1**	3**	5
	positiv	0	0	1**	1
Summe		626	6	10	642

\* I.d.R. keine weitere Überprüfung mittels rekombinatem IgM-Immuno blot (außer bei CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$ ) (siehe ABB. 14)

\*\* Fälle mit grenzwertigem oder in einem der Tests positivem IgM-Befund wurden im rekombinanten IgM-Immuno blot als IgM-negativ (insgesamt 17 Fälle) verifiziert

Auch bei der Bestimmung negativer IgM-Resultate schneidet der ELISA mit 636 von 642 richtig bestimmten negativen IgM-Resultaten besser ab als der CLIA mit nur 626 korrekt bestimmten IgM-Resultaten (99,1 Prozent respektive 97,5 Prozent). Diese Aussage basiert auf der Annahme, dass konkordant negative IgM-Ergebnisse in ELISA und CLIA tatsächlich negativ waren, ohne dass diese mittels rekombinatem IgM-Immuno blot verifiziert wurden (mit Ausnahme derer, die einen CLIA-Aviditätsindex von  $\leq 0,4$  aufwiesen). Der IgM-ELA zeigte fünf falsch grenzwertige sowie ein falsch positives IgM-Ergebnis auf, der IgM-CLIA hingegen sechs falsch grenzwertige sowie zehn falsch positive IgM-Resultate. In 625 dieser 642 IgG-positiven/IgM-negativen Fälle stimmten IgM-ELA und IgM-CLIA bei der Detektion negativer IgM-Befunde überein, dies entspricht einer Konkordanz von 97,4 Prozent.

Betrachtet man alle Mütter, welche einen IgG-positiven Serostatus aufwiesen, unabhängig vom IgM-Serostatus, so erhält man ein Kollektiv von 749 Müttern. Bei der Bestimmung des IgG-Serostatus zeigt sich hier eine hohe Konkordanz der beiden Screeningtests ELISA und CLIA (TAB. 84).

Tab. 84: Serokonstellationen aller IgG-seropositiven Mütter (unabhängig vom IgM-Serostatus)

CMV-IgG-positive Mütter (unabhängig vom IgM-Serostatus)		IgG-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgG-ELISA	negativ	0	0	0	0
	grenzwertig	1 <sup>***</sup>	0	0	1
	positiv	5 <sup>**</sup>	5 <sup>**</sup>	738 <sup>*</sup>	748
Summe		6	5	738	749

\* I.d.R. keine weitere Abklärung mittels rekombinatem IgG-Immunoblot (außer bei CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$ ) (siehe Abb. 14)

\*\* Fälle mit grenzwertigem oder in einem der beiden Tests negativem IgG-Befund wurden im rekombinanten IgG-Immunoblot als IgG-positiv (zehn Fälle) verifiziert

\*\*\* Dieser Fall konnte auch im rekombinanten IgG-Immunoblot nur als fraglich positiv klassifiziert werden

In 738 Fällen konnte sowohl via IgG-ELISA als auch via IgG-CLIA ein positives IgG-Resultat ermittelt werden. Dies entspricht einer Konkordanz von 98,5 Prozent. Nur in insgesamt elf Fällen ergaben sich Abweichungen der beiden Tests im Vergleich zum Resultat des rekombinanten IgG-Immunoblots. Zehn dieser Abweichungen kamen durch falsch positive (fünf Fälle) sowie falsch grenzwertige (ebenfalls fünf Fälle) Resultate des IgG-CLIA zustande. Der Befund, der ein grenzwertiges IgG-Resultat im ELISA sowie ein negatives IgG-Resultat im CLIA aufwies, konnte bei einer außergewöhnlichen Bandenkonstellation des rekombinanten IgG-Immunoblots weder als positiv noch als negativ interpretiert werden und wurde daher als fraglich kategorisiert. Dies wäre somit als Bestätigung des IgG-ELISAs zu werten.

### 5.1.5 Vergleich von ELISA und CLIA im Gesamtkollektiv CMV-IgG-seropositiver Mütter mit positivem IgM-Nachweis im rekombinanten IgM-Immunoblot

Die Gruppe der IgG- und IgM-positiven Frauen hat sich zum Kernstück dieser Arbeit herauskristallisiert. Dies ist hauptsächlich durch die hohe Anzahl von positiven IgM-Resultaten im IgM-Immunoblot zu erklären, die nur aufgrund der Aufgabenstellung dieser Arbeit (Überprüfung von Müttern mit einem CLIA-

Aviditätsindex  $\leq 0,4$  via rekombinatem IgM-Immunoblot) detektiert werden konnten. Im Vergleich zum vorgegebenen Referenztest des rekombinanten Immunoblots zeigten sowohl ELISA als auch CLIA Schwächen in der Detektion positiver IgM-Resultate. Der IgM-Immunoblot konnte eine große Anzahl an Frauen, welche in ELISA und CLIA keine IgM-Reaktivität zeigten, durch den Nachweis von Antikörper-Einzelreaktivitäten mit verschiedenen CMV-spezifischen Antigenen herausfiltern. Nur in wenigen Fällen stimmten alle drei IgM-Tests überein (sechs Fälle). Zur Gruppe konkordant IgM-positiver Mütter wurden aber zusätzlich zwei Mütter mit grenzwertigem IgM-Resultat im ELISA sowie positivem IgM im CLIA gezählt, sowie zwei Mütter, die positive Ergebnisse in IgM-ELA bei grenzwertigen Befunden im IgM-CLIA aufwiesen. Eine Mutter mit konkordant positiven IgM-Befunden in sowohl ELISA als auch CLIA konnte mangels Serum nicht via rekombinatem IgM-Immunoblot überprüft werden, hier wurde ein richtig positiver Befund des IgM-ELAs und IgM-CLIAS angenommen. Die verschiedenen Serokonstellationen sind in TAB. 85 aufgeführt. Die drei Fälle, bei denen der IgM-Immunoblot ein fragliches Resultat ergab, wurden in dieser Tabelle nicht berücksichtigt.

Tab. 85: Serokonstellationen aller CMV-IgG-positiven und im rekombinanten IgM-Immunoblot IgM-positiv getesteten Mütter\*

CMV-IgG-positiv und im rek IB IgM-positiv		IgM-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgM-ELISA	negativ	58	18	12	88
	grenzwertig	2	0	2	4
	positiv	3	2	7**	12
Summe		63	20	21	104

\* Fälle mit abweichenden Resultaten sowie Fälle mit CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$  (93 Fälle) sowie zehn der elf konkordant IgM-positiven Fälle wurden im rekombinanten IgM-Immunoblot als positiv verifiziert (siehe ABB. 19)

\*\* Einer dieser sieben Fälle wurde bei konkordant positiven IgM-Resultaten in ELISA und CLIA nicht via rekombinatem IgM-Immunoblot überprüft

Alle Fälle mit einem positiven IgM-Resultat im rekombinanten IgM-Immunoblot (Referenztest) zeigten übereinstimmend positive IgG-Ergebnisse in ELISA und CLIA sowie - falls eine Überprüfung vorgenommen wurde - auch im rekombinanten IgG-Immunoblot. Dadurch wird deutlich, dass ELISA und CLIA bei der Bestimmung des IgG-Serostatus sehr gut übereinstimmende Ergebnisse liefern, bei der Bestimmung des IgM-Serostatus jedoch häufig voneinander abweichen bzw. falsch negative Befunde ergeben. In 58 Fällen stimmten IgM-ELA und IgM-CLIA mit einem negativen IgM-Befund überein, der rekombinante IgM-Immunoblot lieferte hier jedoch ein positives Ergebnis. Der IgM-CLIA scheint hier dem IgM-ELA bei der Detektion positiver IgM-Befunde etwas überlegen zu sein, in immerhin 21 von 104 IgM-positiven Fällen ergab der IgM-CLIA ein positives Ergebnis, in 20 weiteren Fällen ein grenzwertiges IgM-Ergebnis. Der IgM-ELA konnte nur in zwölf Fällen einen positiven IgM-Antikörperstatus aufdecken, in vier Fällen ergab sich ein grenzwertiger IgM-Befund. Nur in sechs Fällen stimmten die beiden Testsysteme ELISA und CLIA mit der Referenzmethode, dem rekombinanten IgM-Immunoblot, mit einem positiven IgM-Befund überein. Ein Fall wurde bei konkordant IgM-positiven Ergebnissen in ELISA und CLIA ohne Überprüfung via rekombinantem IgM-Immunoblot zu dieser Gruppe konkordant positiver IgM-Resultate hinzugezählt. Dies entspricht einer Konkordanz von nur 6,7 Prozent (7/104). Das bedeutet, dass der IgM-ELA in 88 Fällen (84,6 Prozent) ein falsch negatives sowie in vier Fällen (3,8 Prozent) ein falsch grenzwertiges IgM-Resultat detektierte. Der IgM-CLIA ermittelte in 63 von 104 IgM-positiven Fällen (60,6 Prozent) ein falsch negatives sowie in 20 Fällen (19,2 Prozent) ein falsch grenzwertiges IgM-Resultat. Diese Ergebnisse lassen Zweifel an der Güte beider IgM-Testsysteme im Vergleich zum Referenztest (rekombinanter IgM-Immunoblot) aufkommen.

Zur Betrachtung des IgM-Serostatus aller IgM-negativen Mütter, unabhängig vom CMV-IgG-Serostatus, können 1457 Frauen herangezogen werden. Diese Zahl ergibt sich aus der Differenz von insgesamt 1564 in die Studie eingeschlossenen Müttern und den 104 IgM-positiven sowie drei fraglich IgM-positiven Frauen. Eine Zusammenstellung der IgM-Serokonstellationen dieser IgM-negativen Frauen zeigt TAB. 86.

Tab. 86: Serokonstellationen aller IgM-seronegativen Mütter (unabhängig vom IgG-Serostatus)

CMV-IgM-negative Mütter (unabhängig vom IgG-Serostatus)		IgM-CLIA			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
IgM-ELISA	negativ	1440*	5**	6**	1451
	grenzwertig	1**	1**	3**	5
	positiv	0	0	1**	1
Summe		1441	6	10	1457

\* I.d.R. keine weitere Überprüfung mittels rekombinatem IgM-Immunoblot (außer bei CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$ )

\*\* Fälle mit grenzwertigem oder in einem der Tests positivem IgM-Befund wurden im rekombinanten IgM-Immunoblot als IgM-negativ (17 Fälle) verifiziert

Bei insgesamt 1440 aller 1457 IgM-negativen Mütter (unter der Annahme, dass konkordant IgM-negative Resultate in beiden Screening-Tests „wahre“ negative IgM-Befunde darstellen) wurden sowohl im IgM-ELA als auch im IgM-CLIA übereinstimmend negative Resultate für den IgM-Serostatus detektiert. Dies entspricht einer Konkordanz von 98,8 Prozent. Der IgM-CLIA zeigte dabei mit sechs falsch grenzwertigen sowie zehn falsch positiven IgM-Resultaten mehr Abweichungen im Vergleich zur Referenzmethode als der IgM-ELA mit nur fünf falsch grenzwertigen sowie einem falsch positiven IgM-Befund.

#### 5.1.6 Sonderfall: Stabile und reproduzierbare diskrepante IgG-Serokonstellation bei Seronegativität im rekombinanten IgG-Immunoblot

Dieser Fall soll hier nochmals gesondert dargestellt werden (siehe Kap. 4.3.1). Bei dieser Mutter konnten über einen Zeitraum von zwei Schwangerschaften hinweg durchgehend stabile und reproduzierbare diskrepante IgG-Ergebnisse festgestellt werden. Der rekombinante IgG-Immunoblot (welcher in dieser Studie als Referenzmethode diente) erwies sich als IgG-negativ. Bei positiven IgG-Resultaten im IgG-ELISA von Medac, im IgG-CLIA von DiaSorin sowie im IgG-CMIA von Abbott ist somit von Fehlreaktivitäten dieser drei Testsysteme auszugehen. Jedes Ergebnis konnte durch wiederholte Durchführung des

jeweiligen Tests bestätigt werden. Im Gegensatz dazu scheinen hier der CMV- (IgG und IgM)-Gesamt-Enzygnost, der CMV-IgG-Enzygnost (Siemens/Dade Behring) sowie der HCMV-IgG-ECLIA (Roche Diagnostics) verlässlichere Ergebnisse zu liefern, denn sie stimmten mit der Referenzmethode, dem rekombinanten IgG-Immunoblot, überein. Weitere serologische Diagnostik erfolgte zu einem späteren Zeitpunkt, als die Patientin nicht schwanger war. Die oben beschriebene Befundkonstellation erwies sich als stabil und konnte auch noch fünf Jahre später so bestätigt werden.

### **5.1.7 Fazit**

Die im Rahmen der Tübinger Kongenital-Studie im Laufe des Jahres 2008 ermittelten Daten zu Sensitivität und Spezifität sowie positivem und negativem prädiktivem Wert stimmen somit nur bedingt mit den Herstellerangaben überein. So ergaben sich z.B. für den IgG-ELISA gute Übereinstimmungen bezüglich der Sensitivität, dem positiven sowie negativen prädiktiven Wert. Eine Ausnahme stellt hier die Spezifität dar, mit im Rahmen der Studie ermittelten 65 Prozent liegt diese deutlich unter den vom Hersteller angegebenen 97,1 Prozent. Der IgG-CLIA liegt sowohl hinsichtlich der Sensitivität (93,59 Prozent versus 99,9 Prozent) als auch der Spezifität (80 Prozent versus 99,65 Prozent) unter den vom Hersteller gemachten Angaben. Angaben über den positiven bzw. negativen prädiktiven Wert wurden von DiaSorin nicht gemacht. Eine Zusammenfassung dieser Werte zeigt TAB. 87.

Tab. 87: Zusammenfassung der ermittelten Werte für Sensitivität, Spezifität, positiven sowie negativen prädiktiven Wert bei der IgG-Serodiagnostik unter Berücksichtigung des rekombinanten Immunoblots als Referenztest (siehe TAB. 71, TAB. 72, TAB. 75 und TAB. 76)

CMV-Kongenital-Studie					Hersteller- angaben
ELISA (Medac)	IgG	Sensitivität	(=156/156)	100%	100%
		Spezifität	(=7/20)	65%	97,1%
		pos. prädiktiver Wert	(=156/159)	99,36%	97,1%
		neg. prädiktiver Wert	(=7/7)	100%	100%
CLIA (DiaSorin)	IgG	Sensitivität	(=146/156)	93,59%	99,9
		Spezifität	(=16/20)	80%	99,65
		pos. prädiktiver Wert	(=146/149)	97,77%	k.A.
		neg. prädiktiver Wert	(=16/22)	72,73%	k.A.

Geradezu erschreckend sehen die ermittelten Zahlen bei Betrachtung der Testergebnisse für den IgM-Serostatus aus (TAB. 88). So konnte für den IgM-ELA nur eine Sensitivität von 10,68 Prozent ermittelt werden im Vergleich zu einer von Medac angegebenen Sensitivität von 99,40 Prozent. Auch der negative prädiktive Wert schnitt mit 36,62 Prozent im Vergleich zu 99,68 Prozent (Herstellerangaben) schlecht ab. Bessere Ergebnisse ließen sich bei der Spezifität (89,66 Prozent versus 99,68 Prozent) sowie dem positiven prädiktiven Wert (84,62 Prozent versus 99,40 Prozent) erzielen. Der IgM-CLIA zeigte eine etwas höhere Sensitivität als der IgM-ELA, lag jedoch mit 19,42 Prozent weit unter den vom Hersteller angegebenen 97,3 Prozent. Die Spezifität des IgM-CLIA lag bei den im Rahmen der Studie getesteten Frauen bei 72,41 Prozent (Herstellerangaben 98,5 Prozent). DiaSorin machte keine Angaben hinsichtlich des positiven bzw. negativen prädiktiven Werts. In TAB. 88 sind diese Werte in einer Zusammenfassung dargestellt.

Tab. 88: Zusammenfassung der ermittelten Werte für Sensitivität, Spezifität, positiven sowie negativen prädiktiven Wert bei der IgM-Serodiagnostik unter Berücksichtigung des rekombinanten Immunoblots als Referenztest (siehe TAB. 73, TAB. 74, TAB. 77 und TAB. 78)

CMV-Kongenital-Studie					Hersteller- angaben
ELISA (Medac)	IgM	Sensitivität	(=11/103)	<b>10,68%</b>	99,40%
		Spezifität	(=52/58)	89,66%	99,68%
		pos. prädiktiver Wert	(=11/13)	84,62%	99,40%
		neg. prädiktiver Wert	(=52/142)	<b>36,62%</b>	99,68%
CLIA (DiaSorin)	IgM	Sensitivität	(=20/103)	<b>19,42%</b>	97,3
		Spezifität	(=42/58)	72,41%	98,5
		pos. prädiktiver Wert	(=20/30)	66,67%	k.A.
		neg. prädiktiver Wert	(=42/106)	<b>39,62%</b>	k.A.

Insgesamt lässt sich sagen, dass sowohl der ELISA von Medac als auch der CLIA von DiaSorin in der Diagnostik von CMV-IgG-Antikörpern jeweils gute Ergebnisse erzielen. Auch bei der Ermittlung negativer IgM-Resultate zeigten beide eingesetzten Tests jeweils eine hohe Anzahl korrekt ermittelter Ergebnisse. Bei der Detektion von positiven IgM-Ergebnissen schnitt der CLIA zwar noch etwas besser ab als der ELISA, insgesamt zeigt sich aber, dass der IgM-ELISA in Bezug auf den rekombinanten IgM-Immunoblot als Referenztest in 89,3 Prozent der Fälle falsch negative (88/103) bzw. grenzwertige (4/103) Ergebnisse erbrachte und der IgM-CLIA in 80,6 Prozent (63/103 falsch negative sowie 20/103 falsch grenzwertige IgM-Resultate). Diese Zahlen zeigen deutlich, dass für eine IgM-Testung beide Tests unzureichend sind. Hervorzuheben ist, dass dies nur unter der Prämisse des rekombinanten Immunoblots als Referenztest gilt. Die Unzuverlässigkeit von kommerziell erhältlichen Kits für eine Bestimmung des IgM-Serostatus ist schon seit längerem bekannt und wird von Lazzarotto et al., 1997a, mit einer Sensitivität zwischen 30 und 88 Prozent sowie einer Übereinstimmung verschiedener kommerziell verfügbarer Kits zwischen 56 und 75 Prozent angegeben. Darüber hinaus ist selbst der Nachweis von IgM-Antikörpern kein eindeutiger Indikator einer CMV-Primärinfektion, da Reaktivierungen bzw. Reinfektionen während der

Schwangerschaft nicht gerade selten auftreten (Lazzarotto et al., 1997a). Außerdem nicht ungewöhnlich ist eine IgM-Persistenz für einen Zeitraum von ca. sechs bis neun Monaten nach der Akutphase einer CMV-Infektion (Stagno et al., 1986). Aufgrund all dieser Unsicherheiten bei der Bestimmung des IgMs sowie der häufigen Fehlinterpretationen aufgrund der Variabilität der IgM-Immunantwort scheint der Trend in der Serologie eher zur Aviditätsbestimmung zu gehen, da diese ein verlässlicheres Instrument in der Diagnostik einer Primärinfektion darzustellen scheint (Grangeot-Keros et al., 1997, Lazzarotto et al., 1997b, Eggers et al., 2000, Macé et al., 2004, Lazzarotto et al., 2008).

## 5.2 Rekombinanter Immunoblot - Goldstandard oder „Lotterie“?

Der rekombinante Immunoblot von Mikrogen mit der Ermittlung von Einzelreaktivitäten der Antikörper gegen IE1, p150, CM2, p65, gB1 und gB2 wurde in dieser Studie als Goldstandard eingesetzt. Er spielte die Rolle des „Zünglein an der Waage“ wenn es zu Abweichungen der Screeningtests ELISA und CLIA bei der Ermittlung des IgG- oder IgM-Antikörperstatus kam, sowie bei der Überprüfung aller Seren, die im CLIA einen Aviditätsindex  $\leq 0,4$  aufwiesen, und brachte eine überraschend große Anzahl an IgM-positiven Resultaten ans Tageslicht. Gerade bei der Ermittlung von IgM-Ergebnissen gab der rekombinante IgM-Immunoblot aber auch sehr häufig Anlass zu Diskussionen.

### 5.2.1 Rekombinanter IgG-Immunoblot

Der rekombinante IgG-Immunoblot wurde zur Ermittlung des „wahren“ IgG-Serostatus in insgesamt 21 Fällen eingesetzt, in denen ELISA und CLIA diskrepante IgG-Ergebnisse ergeben hatten. In zehn dieser Fälle erbrachte der rekombinante IgG-Immunoblot ein negatives Ergebnis, in zehn Fällen ein positives Ergebnis, ein Fall blieb selbst nach Überprüfung durch den Immunoblot fraglich. Diese geringe Anzahl an insgesamt (von 1564 getesteten Frauen) zu überprüfenden Fällen (entspricht 1,3 Prozent) bei der Ermittlung des IgG-Serostatus spricht hier für die gute diagnostische Leistung der Screeningtests.

In der nachfolgenden Tabelle (TAB. 89) sind die AU-(ELISA)- bzw. IE-(CLIA)-Werte der zehn Fälle aufgelistet, in denen der rekombinante IgG-Immunoblot ein negatives Ergebnis erbrachte, ELISA oder CLIA aber positive oder grenzwertige Resultate aufwiesen.

Tab. 89: AU- bzw. IE-Werte positiver oder grenzwertiger IgG-ELISA- oder IgG-CLIA-Ergebnisse bei negativem IgG-Serostatus im rekombinanten IgG-Immunoblot (zehn abweichende IgG-Resultate von insgesamt 21 via rekombinantem IgG-Immunoblot überprüften Fällen)

H-Nummer	IgG-ELISA		IgG-CLIA		IgG-Immunoblot
	Ergebnis	AU-Werte (AU/mL)	Ergebnis	IE-Werte (IE/mL)	Ergebnis
1280	negativ	0,12	positiv	3,0	negativ
1314	negativ	0,01	positiv	7,3	negativ
4369	negativ	0,03	grenzwertig	0,52	negativ
3140	grenzwertig (positiv)	0,65 (0,79)	positiv	1,1	negativ
720	grenzwertig	0,46 (0,49)	negativ	< 0,2	negativ
4560	grenzwertig	0,51	negativ	< 0,2	negativ
669	grenzwertig	0,54	negativ	< 0,2	negativ
1163	grenzwertig	0,61	negativ	< 0,2	negativ
2278	grenzwertig	0,50	negativ	< 0,2	negativ
2683	positiv	1,70	negativ	< 0,2	negativ

Bei der Überprüfung der in den Screeningtests IgG-ELISA und IgG-CLIA abweichenden Fälle ergab sich insgesamt in 20 Fällen ein eindeutiges Ergebnis mit entweder klar nachweisbaren Banden (d.h. einem positiven Resultat) oder eindeutig negativen Immunoblot-Streifen ohne jegliche Reaktivität. Nur ein Fall zeigte als einzigen Bandennachweis eine gB1-Bande in gut sichtbarer Intensität („+“) ohne den Nachweis einer p150-Bande, dieser musste somit in die Kategorie „fraglich“ eingeordnet werden (siehe TAB. 46 und TAB. 47, Kap. 4.4.2).

### 5.2.2 Rekombinanter IgG-Aviditäts-Immunoblot

Im Gegensatz zur recht eindeutigen Bestimmung des IgG-Resultates treten bei der Bestimmung des Aviditätsstatus bereits Fragen auf. Abgelesen und in die Betrachtung miteinbezogen werden nur Antikörperbanden gegen IE1, p150 und CM2, weitere möglicherweise sichtbare Banden gegen p65, gB1 und gB2 werden für die Bestimmung der Avidität nicht berücksichtigt. Anhand jener drei Banden wird im Vergleich mit dem IgG-Streifen die Avidität bestimmt. Hier treten die ersten Schwierigkeiten auf: Liegt nun eine Abschwächung um ca.

50 Prozent vor, oder ist die Bande noch in 75-prozentiger Ausprägung zu sehen? Die präzise Beurteilung mit bloßem Auge ist in vielen Fällen schwierig. Außerdem dürfte die Erfahrung des Betrachters mit Immunoblots eine wichtige Rolle spielen, da sich für die Einteilung in niedrige, intermediäre und hohe Avidität ein Gespür entwickeln muss. Dennoch scheint das menschliche Auge mindestens genauso gut zu funktionieren wie eine densitometrische Auswertung. Eine weitere Schwierigkeit besteht in der Gewichtung der drei in Betracht zu ziehenden Banden bei unterschiedlich starker Abnahme der auf dem Aviditätsstreifen abgebildeten Banden. Zählt die p150-Bande mehr als die IE1- oder die CM2-Bande, wie ist die Avidität einzuordnen, wenn alle drei Banden unterschiedliche Grade an Abschwächungen aufzeigen? Häufig ist auch eine der drei Banden sowohl auf dem IgG- als auch auf dem Aviditätsstreifen gar nicht zu sehen, wie ist die Avidität in diesem Fall zu beurteilen? Trotz all dieser Schwierigkeiten in der Bewertung der Aviditätsstreifen lässt sich sagen, dass in der Majorität der Fälle (124 von 146, das entspricht 84,9 Prozent) eindeutig hochavide Antikörper detektiert werden konnten und die vorhin erwähnten Schwierigkeiten nur einen kleinen Teil der untersuchten Aviditäts-Immunoblots betrafen. Diese Minderheit, in denen die Beurteilung eher schwierig war, umfasst alle Blots, die niedrige und intermediär avide Antikörper aufwiesen. Insgesamt war dies nur bei 22 der 146 untersuchten Aviditäts-Immunoblots (15,1 Prozent) der Fall (TAB. 90). Der Grad der Abstufung zwischen den einzelnen Kategorien ist dabei sehr schmal.

Tab. 90: Übersicht der Resultate aller im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot untersuchten Fälle

rekombinanter Aviditäts-Immunoblot	niedrig	intermediär	hoch	Summe
IgG+ IgM- konkordant	2	3	38	43
IgG+ IgM- diskordant	0	1	15	16
IgG+ IgM+ konkordant	2	1	7	10
IgG+ IgM+ diskordant	3	9	63	75
IgG+ IgM fraglich	1	0	1	2
Summe	8	14	124	146

Die Verteilung der Aviditätsergebnisse (bezogen auf die in Kategorien eingeteilten Mütter) soll in ABB. 27 und ABB. 28 veranschaulicht werden.

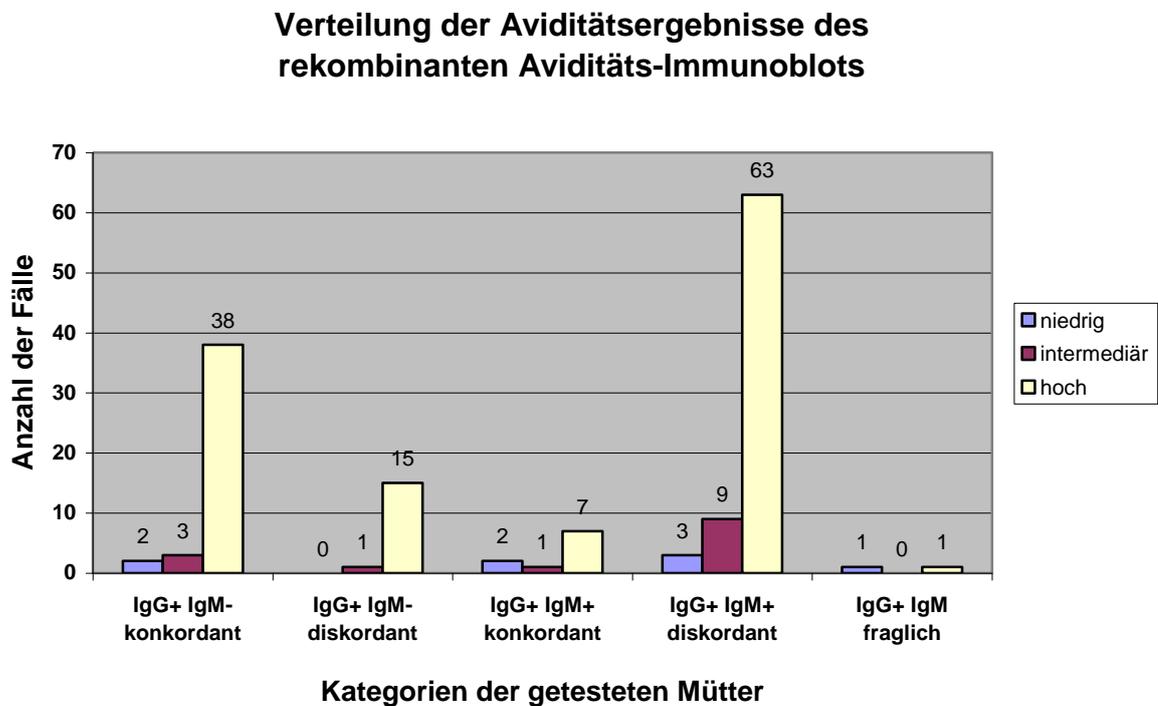


Abb. 27: Verteilung der Aviditätsergebnisse des rekombinanten Aviditäts-Immunoblots in den einzelnen Serostatus-Kategorien der getesteten Mütter (vgl. TAB. 90)

### Verteilung aller im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot ermittelten Aviditätsergebnisse

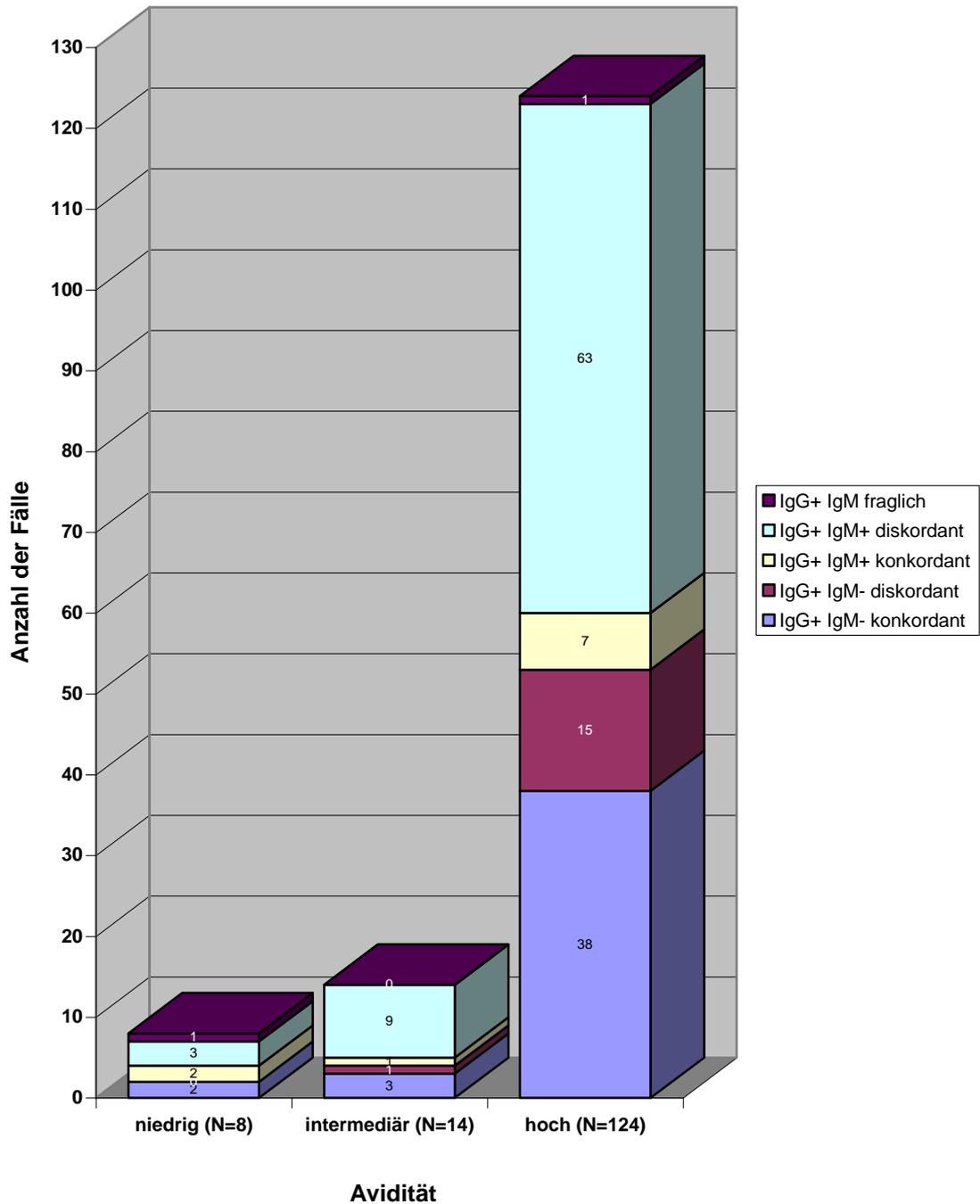


Abb. 28: Verteilung aller im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot ermittelten Aviditätsergebnisse (vgl. TAB. 90)

### 5.2.3 Rekombinanter IgM-Immunoblot

Die Beurteilung der rekombinanten IgM-Immunoblots gestaltete sich häufig am schwierigsten. Obwohl die Definitionen des Herstellers recht eindeutig sind, bleibt es dem Auge des Betrachters überlassen, zu entscheiden, ob eine Bande zum Beispiel nun gut sichtbar („++“) oder nur schwach sichtbar („+“) ist. Zusätzlich Verwirrung stiftet zudem in manchen Fällen die Schwach-Positiv-Kontrolle. Die hier in der Regel als einzige Bande auftretende p150-Bande ist dabei in manchen Fällen so schwach ausgeprägt, dass sie kaum zu sehen ist. Diese soll aber als Cut-off dienen und könnte so dazu verleiten, auch sehr schwach sichtbare Banden als positiv zu bewerten. Des Weiteren problematisch sind Vergleiche von Bandenstärken der IgG-Streifen mit denen von IgM-Streifen. Die Banden der IgG-Nachweise sind in der Regel sehr viel stärker ausgeprägt und liegen meist in Kombination mit weiteren Banden vor, während beim IgM-Immunoblot die Beurteilung häufig nur von der p150-Bande abhängt. Schätzt man hier die Intensität falsch ein, so kann es schnell zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen kommen. Eine weitere Schwachstelle ist der Graubereich der als fraglich zu interpretierenden Blots. Auch bei einem Nachweis einer CM2-Bande beispielsweise in starker Ausprägung kann der Blot ohne den Nachweis einer p150-Bande nicht als positiv klassifiziert werden. In der Gesamtbetrachtung der weiteren Parameter dieses bestimmten Falles (4.5.3.4) wäre es aber nur allzu wahrscheinlich, dass dies als Zeichen einer Primärinfektion zu werten ist, und somit als positives IgM-Resultat gewertet werden sollte.

Eine weiteres Problem zeigt sich bei der Aufbewahrung der Blot-Streifen. Selbst bei Vermeidung von Sonneneinstrahlung und geschützten Lichtverhältnissen scheint es im Laufe der Zeit zur Verblässung der Blots zu kommen. Daher sollte von einer Betrachtung und vor allem natürlich einer Auswertung zu einem späteren Zeitpunkt abgesehen werden, da sich hier Fehler einschleichen können. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden alle durchgeführten rekombinanten Immunoblots zur Reduktion dieser Fehlerquelle kurz nach ihrer Fertigstellung eingescannt. Sie sind somit jederzeit elektronisch abrufbar.

Dadurch konnten die Blots im Stadium kurz nach Fertigstellung konserviert werden.

Trotz dieser Schwierigkeiten bei der Beurteilung der rekombinanten IgM-Immunoblots bietet dieser natürlich mit der Darstellung von Einzelreaktivitäten ein sehr differenziertes und im Vergleich zu anderen Tests kaum für Kreuzreaktivitäten anfälliges Instrument für die Detektion CMV-spezifischer IgM-Antikörper. Dies wird durch die hohe Anzahl an negativen IgM-Ergebnissen sowohl des IgM-ELAs als auch des IgM-CLIAs, welche bei Überprüfung via Immunoblot zum Teil sehr eindeutige Einzelreaktivitäten aufwiesen, zusätzlich bestätigt. Allerdings war der Auslöser für die Detektion solcher (oft überraschender) IgM-positiver Ergebnisse meist der CLIA-Aviditätsindex, da sehr viele im rekombinanten IgM-Immunoblot positiven Befunde bei konkordant negativen IgM-Resultaten des ELAs und CLIAs nur aufgrund der dieser Studie zugrunde gelegten Aufgabenstellung (Überprüfung aller Seren via rekombinantes IgG-, Aviditäts- und IgM-Immunoblot, welche einen CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  aufzeigten) gefunden werden konnten. Dies war bei 56 von insgesamt 103 im rekombinanten IgM-Immunoblot positiven Müttern der Fall (54,4 Prozent). Diskrepanzen der beiden Standard-Screeningtests ELISA und CLIA bei der Bestimmung des IgM-Serostatus traten insgesamt in 54 Fällen auf, was bei einer Gesamtzahl von 1564 im Zeitraum des Jahres 2008 untersuchten Müttern einem Anteil von 3,5 Prozent entspricht. Bei 15 Frauen, die entweder in ELISA oder CLIA ein positives oder grenzwertiges IgM-Resultat aufwiesen, konnten im rekombinanten IgM-Immunoblot keine CMV-spezifischen Banden nachgewiesen werden (siehe auch TAB. 44, TAB. 45 und TAB. 48 in Kap. 4.4.2). In TAB. 91 sind diese 15 Frauen mit den bei ihnen ermittelten OD-Werten des IgM-ELAs bzw. AU-Werten des IgM-CLIAs aufgelistet. Zusätzlich mit in diese Tabelle aufgenommen wurden zwei Frauen, die zwar in ELISA und CLIA konkordante (in einem Fall grenzwertige, im anderen Fall positive) Ergebnisse aufwiesen, bei denen aber im IgM-Immunoblot keine eindeutig IgM-positiven Bandenkonstellationen detektiert werden konnten. Bei 39 der 54 Frauen mit diskrepanten IgM-Resultaten konnten hingegen CMV-spezifische IgM-Antikörper im Immunoblot nachgewiesen werden (siehe auch TAB. 55, ABB. 23,

TAB. 56, TAB. 57, TAB. 58 und TAB. 59 in Kap. 4.5.2). Bei vier dieser 39 Frauen wurden positive IgM-Resultate in rekombinantem IgM-Immunoblot und einem weiteren Test (IgM-ELISA oder IgM-CLIA) ermittelt, im dritten Test (IgM-ELISA oder IGM-CLIA) wurden jedoch nur grenzwertige IgM-Resultate ermittelt. Dennoch wurden sie in die Kategorie konkordant IgM-positiver Frauen eingeordnet (siehe TAB. 51 und TAB. 52 in Kap. 4.5.1).

Tab. 91: OD- bzw. AU-Werte positiver oder grenzwertiger IgM-ELA- bzw. IgM-CLIA-Ergebnisse bei negativem IgM-Serostatus im rekombinanten IgM-Immunoblot

H-Nummer	IgM-ELA		IgM-CLIA		IgM-Immunoblot
	Ergebnis	OD-Werte (AU/mL)	Ergebnis	AU-Werte (AU/mL)	Ergebnis
2791	negativ	0,08	grenzwertig	19,0	negativ
1892	negativ	0,11	grenzwertig	28,1	negativ
4526	negativ	0,04	grenzwertig	17,5	negativ
4796	negativ	0,11	grenzwertig	24,2	negativ
1870	negativ	0,14	grenzwertig	16,3	negativ
3096	negativ	0,12	positiv	33,4	negativ
3593	negativ	0,10	positiv	37,7	negativ
3733	negativ	0,10	positiv	53,7	negativ
4098	negativ	0,15	positiv	55,8	negativ
2570	negativ	0,10	positiv	30,1	negativ
(3617)*	(negativ)	(0,15)	(grenzwertig)	(22,9)	(negativ)
4549	negativ	0,11	positiv	39,7	negativ
841	grenzwertig	0,21	negativ	8,5	negativ
806	grenzwertig	0,20	grenzwertig	26,2	negativ
1432	grenzwertig	0,20	positiv	59,9	negativ
3168	grenzwertig	0,17	positiv	63,2	negativ
4404	grenzwertig	0,20	positiv	64,9	negativ
845	positiv	0,25	positiv	70,7	negativ

\* Diese Blutentnahme fand nicht zum Zeitpunkt der Geburt, sondern im Verlauf der Schwangerschaft statt, daher wurden diese Resultate bei der Auswertung nicht berücksichtigt

#### **5.2.4 Fazit**

Trotz der hier aufgezeigten möglichen Schwachstellen des Immunoblots bleibt er aufgrund des Nachweises von Einzelreaktivitäten eines der sichersten Instrumente in der Serodiagnostik. Bei Anwendung und Auswertung eines geübten und mit Immunoblots vertrauten Virologen sollten falsch negative oder positive Resultate in der Regel vermieden werden können. Trotzdem kann der Immunoblot aufgrund seiner doch recht aufwändigen Durchführung wohl kaum als Routine-Screeningtest in der Diagnostik von CMV-Infektionen eingesetzt werden, sondern wird auch in Zukunft nur in klinisch auffälligen und evtl. fraglichen Fällen zur Überprüfung zur Anwendung kommen.

### 5.3 CLIA-Aviditätsindex - Schlüssel zur Detektion von CMV-Primärinfektionen?

Dem CLIA-Aviditätsindex kam in dieser Arbeit eine sehr große Bedeutung zu. Anhand der zu Beginn der Untersuchung festgelegten Aufgabenstellung (Untersuchung aller Proben mit einem CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  via rekombinantem IgM-Immunoblot) konnte in vielen Fällen (56) ein positives IgM-Ergebnis gefunden werden, welches ohne den Aviditätsindex nicht entdeckt worden wäre. Da bei den Müttern, die einen Aviditätsindex  $> 0,4$  aufwiesen, nur stichprobenartig oder in besonderen Fällen wie z.B. bei CMV-Infektion des Neugeborenen der IgM-Status via rekombinantem IgM-Immunoblot überprüft wurde, stellt sich natürlich die Frage, ob auch bei Aviditätsindizes  $> 0,4$  eine solch hohe Anzahl an positiven IgM-Resultaten entdeckt worden wäre. Hier liegt also eine Schwachstelle dieser Arbeit, da nicht mit Sicherheit gesagt werden kann, dass die hohe Anzahl an IgM-Reaktivität im Immunoblot tatsächlich mit einem niedrigen Aviditätsindex korreliert, da eine Untersuchung der Fälle mit höheren Aviditätsindizes unterlassen wurde. Leider konnten die niedrigen Aviditätswerte im CLIA in den seltensten Fällen im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot bestätigt werden, so dass hier die Frage offen bleibt, welcher der beiden Tests hier eher das „wahre“ Ergebnis bringt. Auch die engen Grenzen des Aviditätsindex für die Bereiche „niedrige Avidität“ ( $\leq 0,2$ ), „intermediäre Avidität“ ( $0,2 < x \leq 0,3$ ) und „hohe Avidität“ ( $> 0,3$ ) werfen Zweifel auf. Denn auch im erweiterten überprüften Bereich zwischen 0,3 bis einschließlich 0,4 konnten sogar noch deutlich mehr positive IgM-Resultate detektiert werden (47) als im Bereich bis einschließlich 0,3 (24). Hierzu muss man allerdings die Verteilung des CLIA-Aviditätsindizes in die Überlegungen mit einbeziehen, da dieser im Bereich zwischen 0,3 und 0,4 mit 79 Fällen insgesamt nahezu doppelt so viele Fälle umfasst als der Bereich bis 0,3 mit insgesamt 42 Fällen. Diese Verteilung aller via CLIA-Aviditätsindex überprüften Proben ist in TAB. 92 dargestellt.

Tab. 92: Verteilung aller ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes

CLIA-Aviditäts-index	< 0,1	0,1 - 0,2	0,2 - 0,3	0,3 - 0,4	0,4 - 0,5	0,5 - 0,6	0,6 - 0,7	0,7 - 0,8	0,8 - 0,9	> 0,9	Summe
IgG+ IgM-konkordant	0	0	11	26	117	152	129	104	53	22	614
IgG+ IgM-diskordant	0	0	3	3	2	6	0	3	0	0	17
IgG+ IgM+ konkordant	1	1	1	2	3	2	0	0	1	0	11
IgG+ IgM+ diskordant	1	2	21	47	8	5	4	2	3	0	93
IgG+ IgM fraglich	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	3
<b>Summe</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>36</b>	<b>79</b>	<b>130</b>	<b>166</b>	<b>133</b>	<b>109</b>	<b>57</b>	<b>22</b>	<b>738</b>
Kumulativ	2	6	42	121	251	417	550	659	716	738	

Die in obiger Tabelle aufgelisteten Daten sollen hier nochmals als Diagramm veranschaulicht werden (ABB. 29):

Verteilung aller ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes

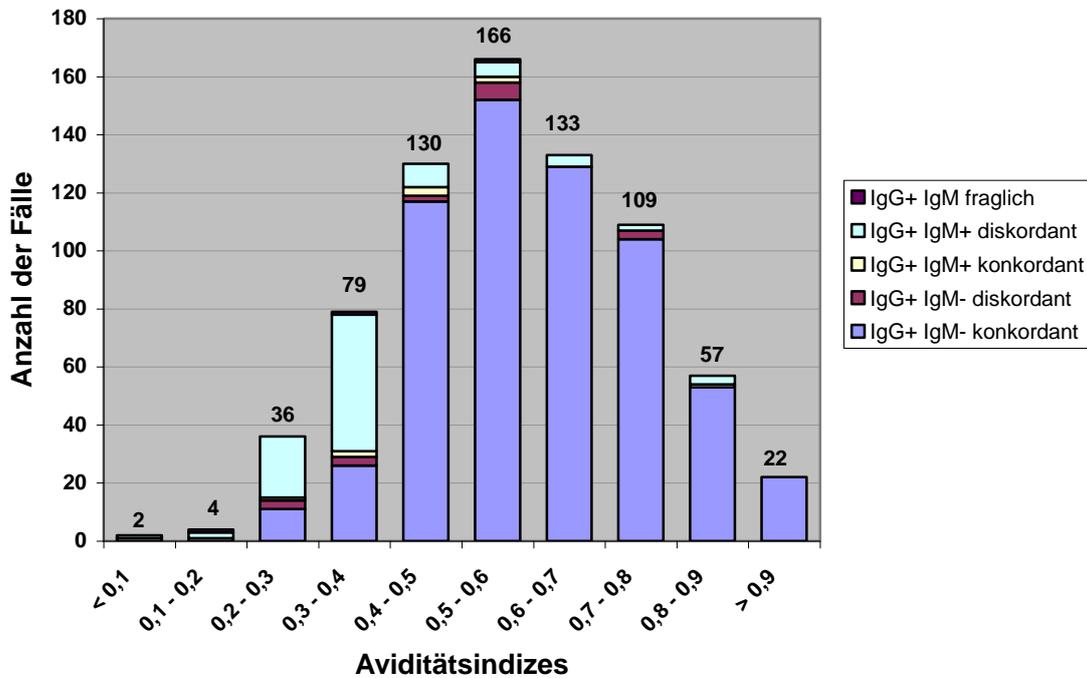


Abb. 29: Verteilung aller 738 ermittelten CLIA-IgG-Aviditätsindizes aufgeteilt nach Serostatus-Kategorien

Anhand des Diagramms lässt sich veranschaulichen, dass erstaunlich viele Fälle mit Aviditätsindizes zwischen 0,2 und 0,3 sowie zwischen 0,3 und 0,4 zur Kategorie der IgG-positiven/diskordant IgM-positiven Frauen gehören. Wie oben bereits erwähnt, wäre aber auch eine weit höhere Anzahl an positiven IgM-Resultaten bei Frauen mit höheren Aviditätsindizes ( $> 0,4$ ) denkbar, wenn diese im rekombinanten IgM-Immunoblot überprüft worden wären.

#### **5.4 CMV-Glykoprotein-B-(gB-)spezifische IgG-Antikörperreaktivität als sicherer Indikator einer zurückliegenden Infektion?**

Die Betrachtung Glykoprotein-B-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität spielt insofern eine sehr wichtige Rolle in der Diagnostik von CMV-Infektionen, da bei Anwesenheit von gB2-Antikörpern eine Infektion während der zurückliegenden sechs bis acht Wochen mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann. Beim Nachweis von gB2-Antikörpern können jedoch kaum weitere Rückschlüsse auf das Stadium der Infektion gezogen werden, außer dass diese länger als die besagten sechs bis acht Wochen zurückliegen muss. Zur Bestimmung von CMV-Primärinfektionen kann die gB2-IgG-Antikörperreaktivität einen wichtigen Beitrag leisten, routinemäßig eingesetzt werden als Standard-Screeningtest kann sie jedoch nicht, da nur im rekombinanten IgG-Immunoblot der Nachweis von Einzelreaktivitäten, um den es sich hier handelt, möglich ist. Der rekombinante Immunoblot wäre aber als Routine-Screeningtest zu aufwändig und zu teuer. Außerdem muss bedacht werden, dass nicht alle IgG-positiven Probanden im Verlauf einer CMV-Infektion Antikörper gegen gB2 bilden. Die gB2-Responder-Rate beträgt laut einer Studie von Rothe nur 82 Prozent (Rothe et al., 2000).

Insgesamt wurden im Rahmen dieser Studie 177 rekombinante IgG-Immunoblots durchgeführt. 20 dieser IgG-Immunoblots zeigten ein insgesamt negatives IgG-Ergebnis auf, so dass eine Betrachtung der gB2-Reaktivität hier irrelevant ist. In den 157 positiven via rekombinanten IgG-Immunoblot untersuchten Fällen konnte bei 33 Proben keine gB2-Antikörperreaktivität nachgewiesen werden sowie eine nur sehr schwache Reaktivität bei sechs Proben. Dies entspricht einer Abwesenheit an gB2-Antikörpern von 24,8 Prozent aller IgG-seropositiven Seren (Proben mit sehr schwacher Reaktivität mit eingerechnet). In der Theorie wäre nun damit zu rechnen, dass bei Proben, die keine gB2-Reaktivität zeigen, gehäuft eine niedrige Antikörperreifung (niedrige Avidität) zu finden wäre. Dies konnte hier allerdings nicht gezeigt werden. Nur in vier Fällen der 39 Proben ohne bzw. mit sehr schwacher gB2-Reaktivität konnten im rekombinanten Aviditäts-Immunoblot niedrig avide

Antikörper nachgewiesen werden, in fünf Fällen intermediär averse Antikörper, und bei 24 Proben trat gB2-Abwesenheit gemeinsam mit hoher Avidität im rekombinanten Aviditäts-Immunoelot auf (TAB. 93). Sechs weitere Fälle mit gB2-Abwesenheit wurden nur im IgG-Immunoelot aufgrund von Abweichungen im IgG-Serostatus überprüft ohne eine Testung der Avidität. Des Weiteren lässt sich auch mit den CLIA-Aviditätswerten keine Korrelation erkennen. Drei der 39 Proben ohne gB2-spezifischer Antikörperreaktivität weisen einen niedrigen CLIA-Aviditätsindex auf, elf einen intermediären und 19 einen hohen Aviditätsindex. Auch hier wurden sechs Proben (übereinstimmend mit oben genannten im Aviditäts-Immunoelot nicht getesteten Proben) nicht via CLIA-Aviditätsindex überprüft.

Tab. 93: Übersicht der auf gB2-spezifische IgG-Antikörperreaktivität untersuchten Fälle

Insgesamt im rekombinanten IgG-Immunoelot positiv getestete Fälle		157	
davon ohne Nachweis von gB2-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität		33 Ø	39
		6 +/-	
Auftreten von Proben mit Abwesenheit von gB2-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität im		rekombinanten Aviditäts-Immunoelot	CLIA-Aviditäts-index
in Kombination mit	niedriger Avidität	4	3
	intermediärer Avidität	5	11
	hoher Avidität	24	19
nicht getestete Proben		6*	6*

\* Bei diesen sechs weder via CLIA-Aviditätsindex noch via rekombinanten Aviditäts-Immunoelot getesteten Müttern traten bei der Bestimmung des IgG-Serostatus im CLIA negative oder grenzwertige IgG-Ergebnisse auf. Der CLIA-Aviditätsindex konnte somit nicht bestimmt werden. Auf die Durchführung eines rekombinanten Aviditäts-Immunoelots wurde verzichtet.

Von den insgesamt 157 IgG-positiven via rekombinanten IgG-Immunoelot getesteten Proben zeigten 54 eine sehr starke gB2-Antikörperreaktivität (entsprechend „+++“) auf. Von diesen 54 stark gB2-reaktiven Proben wiesen 49 im rekombinanten Aviditäts-Immunoelot eine hohe Avidität auf, nur eine Probe niedrige sowie zwei Proben intermediäre Avidität. Zwei Proben wurden nicht via

rekombinanten Aviditäts-Immunoblot getestet. Eine Übersicht der gB2-Reaktivitäten und eventuelle Zusammenhänge zur Avidität ist in ABB. 30 dargestellt.

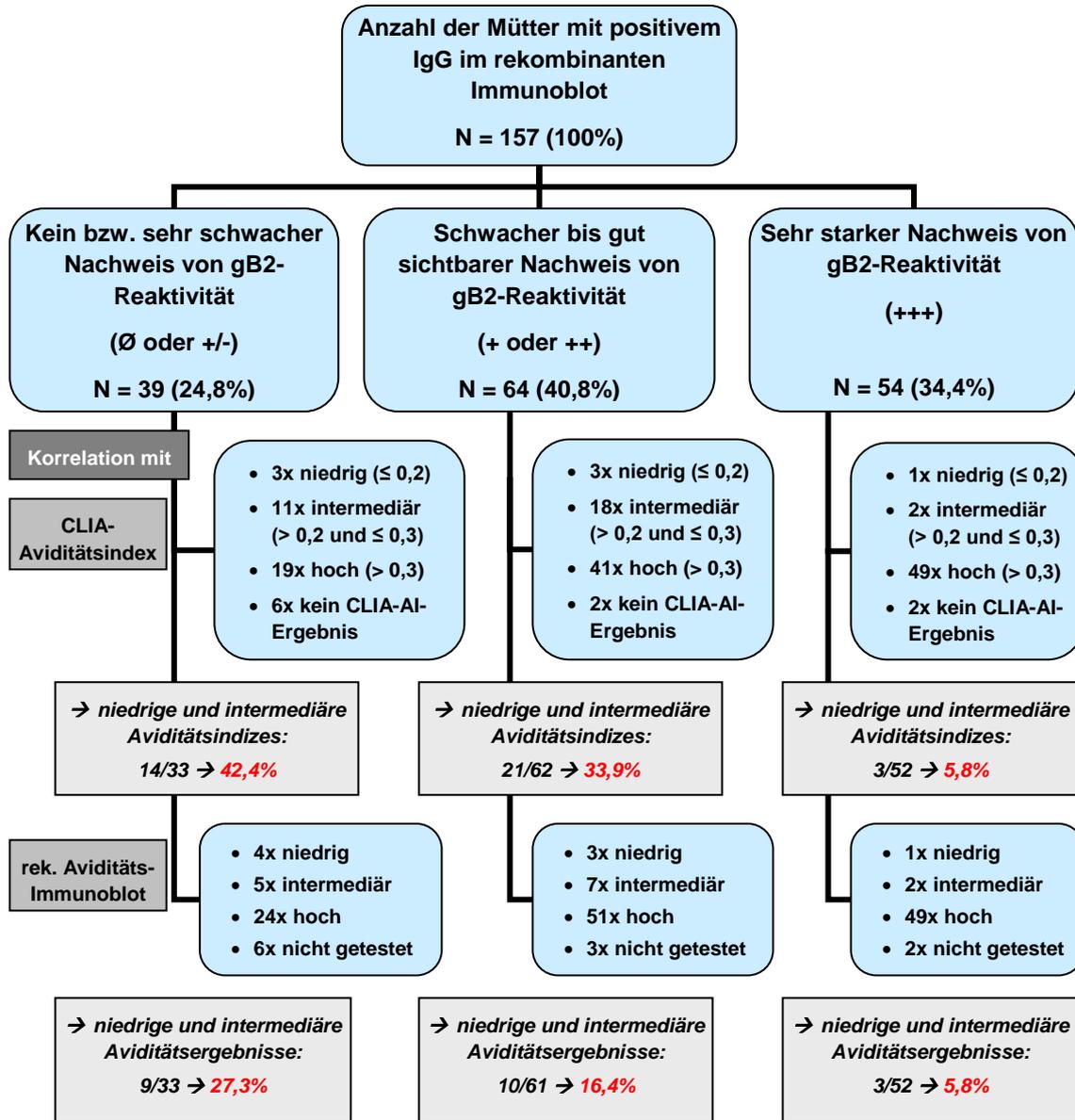


Abb. 30: Verteilung gB2-spezifischer IgG-Antikörperreaktivität und ggf. Korrelation mit Aviditätsergebnissen (CLIA-Aviditätsindex und rekombinanter Aviditäts-Immunoblot) aller 157 im rekombinanten IgG-Immunoblot positiver Mütter

Auch wenn auf den ersten Blick keine Korrelation der Stärke der gB2-Reaktivität mit Aviditätsergebnissen erkennbar war, so zeigt sich in ABB. 30 doch ein gewisser Trend zu vermehrtem gemeinsamen Auftreten von niedriger und intermediärer Avidität in Verbindung mit gB2-Abwesenheit (42,4 Prozent der CLIA-Aviditätsindizes sowie 27,3 Prozent der Aviditäts-Immunoblots) sowie gemeinsamem Auftreten von hoher Avidität mit sehr starker gB2-Reaktivität (hier weisen nur 5,8 Prozent sowohl der CLIA-Aviditätsindizes als auch der Aviditäts-Immunoblots niedrig oder intermediär averse Antikörper auf).

## **5.5 Transmissionen - bei Primärinfektionen oder auch bei Reaktivierungen?**

Von den vier Fällen, in denen eine kongenitale CMV-Infektion des Kindes festgestellt werden konnte, kann nur in einem Fall sicher von einer CMV-Primärinfektion im ersten Trimenon ausgegangen werden (4.5.2.4). Doch auch bei zwei weiteren Mütter mit kongenitaler CMV-Transmission sind Primärinfektionen im Verlauf der Schwangerschaft sehr wahrscheinlich, davon eine im Übergang erstes/zweites Trimenon sowie eine im dritten Trimenon. Die vierte Mutter dieser Gruppe hingegen ist serologisch in keiner Weise auffällig für eine Primärinfektion, bei ihr wäre eher an eine Reaktivierung bzw. möglicherweise an eine CMV-Sekundärinfektion zu denken. Jedoch wäre im Rahmen dieser beiden denkbaren Möglichkeiten eher auch ein evtl. positives IgM-Resultat zu erwarten. Übertragungen von CMV auf das Kind im Rahmen von Sekundärinfektionen bzw. Reaktivierungen sind eher selten und werden in der Literatur mit einem Übertragungsrisiko von 1 bis 2,2 Prozent angegeben (Fowler et al., 1992; Kenneson und Cannon, 2007).

Zu berücksichtigen ist außerdem, dass bei einer Übertragung im späteren Verlauf einer Schwangerschaft (drittes Trimenon) meist weniger Schäden beim Kind hervorgerufen werden als bei einer Infektion zu Beginn einer Schwangerschaft. Dies ist mit der Vollendung der neuronalen Entwicklung des Kindes ungefähr in der 26. Schwangerschaftswoche begründet (Cunningham et al., 2005). Eine israelische Studie von Gindes et al., 2008, mit Müttern, bei denen eine Primärinfektion nach der 25. Schwangerschaftswoche nachgewiesen werden konnte, zeigte zwar eine Transmissionsrate von 75 Prozent. Trotzdem wurden bei keinem der betroffenen Neugeborenen gesundheitliche Schäden festgestellt. Symptomatische kongenitale CMV-Infektionen scheinen meist bei einer Transmission in der ersten Schwangerschaftshälfte aufzutreten (Stagno et al., 1986, Ahlfors et al., 1983, Liesnard et al., 2000, Daiminger et al., 2005). Die Schwierigkeit, den Effekt des Gestationszeitpunktes auf das Outcome einer kongenitalen CMV-Infektion zu untersuchen, liegt aber weiterhin in der diagnostischen Beschränkung, den genauen Beginn einer maternalen Infektion zu terminieren. So kann ein positives IgM-Ergebnis in der 28. Schwanger-

schaftswoche eine Infektion im ersten, zweiten oder gar dritten Trimenon indizieren. Als sicher terminierbare Primärinfektion gilt daher nur der genaue Zeitpunkt einer IgG-Serokonversion oder eine Infektion mit klinischer Symptomatik (Gindes et al., 2008). Um eine IgG-Serokonversion jedoch diagnostizieren zu können, wären während der Schwangerschaft ungefähr alle vier Wochen serologische Tests notwendig. Dies ist als Standard leider nicht durchführbar.

Bei der Detektion kongenitaler CMV-Infektionen im dritten Trimenon spielt der Ultraschall aufgrund der späten Infektion eine eher untergeordnete Rolle, da sich sonografische Auffälligkeiten des Fetus dynamisch über einen Zeitraum von mehreren Wochen entwickeln. Des Weiteren sind im Ultraschall nur ca. 20 Prozent der kongenitalen CMV-Infektionen zu erkennen. Interessanterweise scheint die Transmissionsrate mit zunehmendem Gestationsalter zuzunehmen (Revello und Gerna, 2004, Daiminger et al., 2005, Bodeus et al., 1999). Diese im Verlauf der Schwangerschaft steigende Transmissionsrate ist auch für kongenitale Infektionen beim Röteln-Virus, dem Varizella-Zoster-Virus sowie bei *Toxoplasma gondii* bekannt und kann durch den erhöhten plazentaren Blutfluss begründet werden. Im Gegensatz zu den meist milden Effekten einer Übertragung zum Ende einer Schwangerschaft ist die Ausprägung kongenitaler Infektionen zu Beginn einer Schwangerschaft bzw. perikonzeptionell bei zwar niedrigerer Transmissionsrate meist sehr viel ernster mit Fehlbildungen während der Organogenese (Revello und Gerna, 2004, Daiminger et al. 2005). Aufgrund dieser doch meist milden Verläufe bei später Übertragung sollte auf zwar weiterführende (jedoch Risiken bergende) Diagnostik wie z.B. Amniozentese verzichtet werden. Der Nutzen einer Hyperimmunglobulingabe bei Infektion während des dritten Trimenons ist noch nicht vollständig gesichert (Gindes et al., 2008), jedoch ist ein Trend zur Reduktion symptomatischer Infektionen erkennbar (Buxmann et al., 2011).

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Auswertung der an der im Institut für Medizinische Virologie des Universitätsklinikums Tübingen in Kooperation mit der Pränatalmedizin der Universitäts-Frauenklinik und der Abteilung Neonatologie des UKT durchgeführten prospektiven klinischen Studie „Kongenitaler CMV-Infektionen“ im Zeitraum vom 1. Januar bis zum 31. Dezember 2008 ergibt folgende serologische und epidemiologische Eckdaten:

Die Studie umfasste im Zeitraum des Jahres 2008 insgesamt 1564 Mütter zusammen mit ihren 1604 Neugeborenen (insgesamt 40 Zwillingspaare).

Knapp über die Hälfte (52,1 Prozent) der untersuchten Mütter waren CMV-seronegativ (815/1564 Mütter).

Die maternale CMV-IgG-Seroprävalenz lag bei 47,9 Prozent (749/1564 Mütter).

Von diesen 749 CMV-IgG-positiven Müttern waren 642 Mütter IgM-negativ, dies entspricht 85,7 Prozent. Einen sicher positiven IgM-Serostatus in Relation zum Referenztest, dem rekombinanten IgM-Immunoblot, wiesen 104 der 749 IgG-seropositiven Frauen auf (13,9 Prozent). Bei drei Frauen ergab sich ein fraglich positiver IgM-Serostatus (0,4 Prozent).

Nur 1,5 Prozent aller IgG-seropositiven Mütter (11/749 Mütter) wiesen zum Zeitpunkt der Geburt konkordant positive IgM-Ergebnisse in ELISA, CLIA und rekombinatem Immunoblot auf. Dagegen konnten bei 93 der 749 IgG-seropositiven Mütter bei diskrepanten bzw. häufig sogar negativen Ergebnissen in IgM-ELISA und IgM-CLIA aufgrund eines niedrigen CLIA-Aviditätsindizes positive IgM-Antikörper-Nachweise im rekombinanten IgM-Immunoblot detektiert werden (12,4 Prozent).

Erstaunlicherweise wiesen 58 von insgesamt 93 diskrepant IgM-positiven Müttern in sowohl IgM-ELISA als auch IgM-CLIA negative IgM-Resultate auf und wurden meist nur aufgrund eines CLIA-Aviditätsindizes  $\leq 0,4$  via rekombinatem IgM-Immunoblot überprüft (62,4 Prozent). Dieser konnte im

Gegensatz zu ELISA und CLIA IgM-Antikörper nachweisen. Bei den restlichen 35 der diskrepanz IgM-positiven Müttern lagen positive bzw. grenzwertige IgM-Resultate in zumindest einem der beiden Standard-Screeningtests (IgM-ELA oder IgM-CLIA) vor (37,6 Prozent).

Weder IgM-ELA noch IgM-CLIA zeigten sich sensitiv genug, um auch nur annähernd zufriedenstellend IgM-Antikörper bei Schwangeren bzw. zum Zeitpunkt der Geburt zu detektieren und konnten mit einer Sensitivität von 10,7 Prozent (IgM-ELA) respektive 19,4 Prozent (IgM-CLIA) im Vergleich zum rekombinanten IgM-Immunoblot nicht für einen Einsatz als Standard-Screeningmethode überzeugen.

Als wichtiger Wegweiser im Hinblick auf die Detektion positiver IgM-Resultate und damit auch als Indiz einer CMV-Primärinfektion erwies sich der CLIA-Aviditätsindex. Von insgesamt 738 im CLIA ermittelten Aviditätsindizes lagen 121 Werte im Bereich bis zu 0,4 und wurden aufgrund der dieser Studie zugrunde liegenden Aufgabenstellung via rekombinantes IgM-Immunoblot überprüft (16,4 Prozent). Bei 76 dieser 121 Frauen mit CLIA-Aviditätsindex  $\leq 0,4$  konnten IgM-Antikörper im rekombinanten Immunoblot detektiert werden (62,8 Prozent).

Keines der hier untersuchten serologischen Instrumente könnte als alleinige Screeningmethode sinnvoll eingesetzt werden. Nur in der Zusammenschau der verschiedenen Methoden und unter weiterer Berücksichtigung der Klinik sowie weiterführender Diagnostik wie z.B. der PCR können CMV-Primärinfektionen frühzeitig entdeckt werden. Der rekombinante Immunoblot erweist sich dabei mit der Möglichkeit, einzelne CMV-spezifische Antigene zu detektieren, als ein sehr wichtiges Instrument. Sein Nachteil liegt dabei aber in der aufwändigen und zeitintensiven Durchführung. Er kann somit nicht als Standard-Screeningmethode eingesetzt werden.

Aufgrund der hohen Diskrepanz bei der Untersuchung des IgM-Serostatus sowie der Avidität (CLIA-Aviditätsindex versus rekombinanter Aviditäts-

Immunoblot) ist eine standardisierte pränatale CMV-Diagnose weiterhin schwierig.

Die Inzidenz kongenitaler CMV-Infektionen lag im Jahr 2008 bei vier kongenital CMV-infizierten Kindern von insgesamt 1604 Neugeborenen bei 0,25 Prozent. Jedes dieser vier Kinder kam asymptomatisch infiziert zur Welt und blieb auch im weiteren Follow-up symptomlos.

Nur bei zwei der vier Mütter, bei denen CMV während der Schwangerschaft auf das ungeborene Kind übertragen wurde, konnte der Zeitpunkt der Primärinfektion genauer terminiert werden. Eine Mutter infizierte sich während des ersten Trimenons mit CMV. Die Fruchtwasseruntersuchung wies hier eine hohe CMV-Viruslast auf. Diese Mutter wurde im Zeitraum zwischen der 17. und 37. Schwangerschaftswoche im Off-Label-Use mit CMV-Hyperimmunglobulin therapiert. Die zweite Mutter mit terminierbarer CMV-Primärinfektion infizierte sich in ihrem dritten Trimenon. Bei ihr wurde keine HIG-Therapie durchgeführt.

Trotz der (im Rahmen dieser am Universitätsklinikum Tübingen durchgeführten Studie) mit 0,25 Prozent ermittelten niedrigen Inzidenzrate einer kongenitalen CMV-Infektion bleibt CMV weltweit die häufigste Ursache kongenitaler Infektionen und kann unter Umständen zu schweren neurologischen Schäden beziehungsweise gar zum Tod des infizierten Kindes führen. Daher bleibt eine Verbesserung des pränatalen CMV-Screenings Schwangerer sowie eine Weiterentwicklung bereits vorhandener serologischer Methoden wünschenswert.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

1. **Adler SP. (1985)**  
The molecular epidemiology of cytomegalovirus transmission among children attending a day care center. *J Infect Dis.* 152(4):760-768
2. **Adler SP. (2005)**  
Congenital cytomegalovirus screening. *Pediatr Infect Dis J.* 24(12):1105-1106
3. **Adler SP, Finney JW, Manganello AM, Best AM. (2004)**  
Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus among pregnant women. *J Pediatr.* 145(4):485-491
4. **Ahlfors K, Forsgren M, Ivarsson SA, Harris S, Svanberg L (1983)**  
Congenital cytomegalovirus infection: on the relation between type and time of maternal infection and infant's symptoms. *Scand J Infect Dis.* 15(2):129-138
5. **Alcami A, Koszinowski UH. (2000)**  
Viral mechanisms of immune evasion. *Immunol Today* 21(9):447-455
6. **Alford CA, Stagno S, Pass RF, Britt WJ. (1990)**  
Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis.* 12(Suppl 7):745-753
7. **Ärzte-Zeitung online (09.09.2009)**  
Off-Label-Use.  
[http://www.aerztezeitung.de/politik\\_gesellschaft/gp\\_specials/abc\\_gesundheitswesen/article/564719/off-label-use.html?sh=3&h=321350992](http://www.aerztezeitung.de/politik_gesellschaft/gp_specials/abc_gesundheitswesen/article/564719/off-label-use.html?sh=3&h=321350992)  
(besucht am 16.05.2013)
8. **Biotest Pressemitteilung zum 58. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) (11.11.2010)**  
Aktuelles zur Diagnostik und Prävention der konnatalen CMV-Infektion.  
[http://icon.work.conquest-cms.net/img/ejbfile/Pressemitteilung\\_DGGG\\_051110.pdf?id=17448](http://icon.work.conquest-cms.net/img/ejbfile/Pressemitteilung_DGGG_051110.pdf?id=17448)  
(besucht am 16.05.2013)
9. **Bissinger AL, Sinzger C, Kaiserling E, Jahn G. (2002)**  
Human cytomegalovirus as a direct pathogen: correlation of multiorgan involvement and cell distribution with clinical and pathological findings in a case of congenital inclusion disease. *J Med Virol.* 67(2):200-206

- 10. Bodéus M, Hubinont C, Bernard P, Bouckaert A, Thomas K, Goubau P. (1999)**  
Prenatal diagnosis of human cytomegalovirus by culture and polymerase chain reaction: 98 pregnancies leading to congenital infection.  
*Prenat Diagn.* 19(4):314-317
- 11. Bodéus M, Hubinont C, Goubau P (1999)**  
Increased risk of cytomegalovirus transmission in utero during late gestation. *Obstet Gynecol.* 93(5 Pt 1):658-660
- 12. Boppana SB, Fowler KB, Pass RF, Rivera LB, Bradford RD, Lakeman FD, Britt WJ. (2005)**  
Congenital cytomegalovirus infection: association between virus burden in infancy and hearing loss. *J Pediatr.* 146(6):817-823
- 13. Boppana SB, Fowler KB, Vaid Y, Hedlund G, Stagno S, Britt WJ, Pass RF. (1997)**  
Neuroradiographic findings in the newborn period and long-term outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection.  
*Pediatrics.* 99(3):409-414
- 14. Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. (1992)**  
Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. *Pediatr Infect Dis J.* 11(2):93-99
- 15. Buxmann H, Stackelberg OM, Schlößer RL, Enders G, Gonser M, Meyer-Wittkopf M., Hamprecht K, Enders M. (2012)**  
Use of cytomegalovirus hyperimmunoglobulin for prevention of congenital cytomegalovirus disease: A retrospective analysis.  
*J Perinat Med.* 40(4):439-446
- 16. Cannon MJ, Davis KF. (2005)**  
Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic.  
*BMC Public Health.* 5:70
- 17. Chee MS, Bankier AT, Beck S, Bohni R, Brown CM, Cerny R, Horsnell T, Hutchison CA 3<sup>rd</sup>, Kouzarides T, Martignetti JA, Preddie E, Satchwell SC, Tomlinson P, Weston KM, Barrell BG. (1990)**  
Analysis of the protein-coding content of the sequence of human cytomegalovirus strain AD169. *Curr Top Microbiol Immunol.* 154:125-169
- 18. Collinet P, Subtil D, Houfflin-Debarge V, Kacet N, Dewilde A, Puech F. (2004)**  
Routine CMV screening during pregnancy.  
*Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 114(1):3-11

19. **Conboy TJ, Pass RF, Stagno S, Alford CA, Myers GJ, Britt WJ, McCollister FP, Summers MN, McFarland CE, Boll TJ. (1987)**  
Early clinical manifestations and intellectual outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection.  
J Pediatr. 111(3):343-348
20. **Craig JM, Macauley JC, Weller TH, Wirth P. (1957)**  
Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease.  
Proc Soc Exp Biol Med. 94(1):4-12
21. **Crino JP. (1999)**  
Ultrasound and fetal diagnosis of perinatal infection.  
Clin Obstet Gynecol. 42(1):71-80
22. **Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap LC, Wenstrom KD (2005)**  
Williams obstetrics 22nd edition, New York: McGraw-Hill. p39-120
23. **Daiminger A, Bäder U, Enders G. (2005)**  
Pre-and periconceptional primary cytomegalovirus infection: risk of vertical transmission and congenital disease. BJOG. 112(2):166-172
24. **Davis LE, Tweed GV, Chin TD, Miller GL. (1971)**  
Interuterine diagnosis of cytomegalovirus infection: viral recovery from amniocentesis fluid. Am J Obstet Gynecol. 109(8):1217-1219
25. **Demmler-Harrison GJ. (2009)**  
Congenital cytomegalovirus: Public health action towards awareness, prevention, and treatment. J Clin Virol. 46 Suppl 4:S1-S5
26. **Dolan A, Cunningham C, Hector RD, Hassan-Walker AF, Lee L, Addison C, Dargan DJ, McGeoch DJ, Gatherer D, Emery VC, Griffiths PD, Sinzger C, McSharry BP, Wilkinson GW, Davison AJ. (2004)**  
Genetic content of wild-type human cytomegalovirus.  
J Gen Virol. 85:1301-1312
27. **Eggers M, Bäder U, Enders G. (2000)**  
Combination of microneutralization and avidity assays: improved diagnosis of recent primary human cytomegalovirus infection in single serum sample of second trimester pregnancy. J Med Virol. 60(3):324-330
28. **Eggers M, Radsak K, Enders G, Reschke M. (2001)**  
Use of recombinant glycoprotein antigens gB and gH for diagnosis of primary human cytomegalovirus infection during pregnancy.  
J Med Virol. 63(2):135-142

- 29. Emery VC, Cope AV, Bowen EF, Gor D, Griffiths PD. (1999)**  
The dynamics of human cytomegalovirus replication in vivo.  
J Exp Med. 190(2):177-182
- 30. Enders G, Bäder U, Lindemann L, Schalasta G, Daiminger A. (2001)**  
Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in 189 pregnancies with known outcome. Prenat Diagn. 21(5):362-377
- 31. Fowler KB, Boppana SB. (2006)**  
Congenital cytomegalovirus (CMV) infection and hearing deficit.  
J Clin Virol. 35(2):226-231
- 32. Fowler KB, Stagno S, Pass RF. (1993)**  
Maternal age and congenital cytomegalovirus infection: screening of two diverse newborn populations, 1980-1990. J Infect Dis. 168(3):552-556
- 33. Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. (1992)**  
The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. N Engl J Med. 326(10):663-667
- 34. Gaytant MA, Galama JM, Semmekrot BA, Melchers WJ, Sporken JM, Oosterbaan HP, van Dop PA, Huisman A, Merkus HM, Steegers EA. (2005)**  
The incidence of congenital cytomegalovirus infections in The Netherlands. J Med Virol. 76(1):71-75
- 35. Gindes L, Teperberg-Oikawa M, Sherman D, Pardo J, Rahav G (2008)**  
Congenital cytomegalovirus infection following primary maternal infection in the third trimester. BJOG. 115(7):830-835
- 36. Goodpasture EW, Talbot FB. (1921)**  
Concerning the nature of 'protozoan-like' cells in certain lesions of infancy.  
Am J Dis Child. 21:415-425
- 37. Grangeot-Keros L, Mayaux MJ, Lebon P, Freymuth F, Eugene G, Stricker R, Dussaix E. (1997)**  
Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women.  
J Infect Dis. 175(4):944-946
- 38. Griffiths PD, Walter S. (2005)**  
Cytomegalovirus. Curr Opin Infect Dis. 18(3):241-245
- 39. Hamprecht K, Jahn G. (2009)**  
Menschliches Zytomegalievirus. In: Mikrobiologische Diagnostik, Herausgeber: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P. Thieme Verlag Stuttgart, 2. Auflage, Seite 765

40. **Hamprecht K, Jahn G. (2007)**  
Humanes Cytomegalovirus und kongenitale Infektion.  
Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz  
50(11):1379-1392
41. **Hamprecht K, Maschmann J, Vochem M, Dietz K, Speer CP, Jahn G. (2001)**  
Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *Lancet*. 357(9255):513-518
42. **Hutto C, Little EA, Ricks R, Lee JD, Pass RF. (1986)**  
Isolation of cytomegalovirus from toys and hands in a day care center.  
*J Infect Dis*. 154(3):527-530
43. **Jackson L. (1920)**  
An intracellular protozoan parasite of the ducts of the salivary glands of the guinea-pig. *J Infect Dis*. 26:347-350
44. **Jahn G, Pohl W, Plachter B, Hintzenstern J. (1988)**  
Congenital cytomegalovirus infection with fatal outcome.  
*Dtsch Med Wochenschr*. 113(11):424-427
45. **Jesionek A, Kiolemenoglou B. (1904)**  
Über einen Befund von protozoen-artigen Gebilden eines hereditär-  
luetischen Fötus. *Münch Med Wschr*. 51:1905-1907
46. **Joseph SA, Beliveau C, Muecke CJ, Rahme E, Soto JC, Flowerdew G, Johnston L, Langille D, Gyorkos TW. (2005)**  
Risk factors for cytomegalovirus seropositivity in a population of day care educators in Montréal, Canada. *Occup Med (Lond)*. 55(7):564-567
47. **Kagan KO, Mylonas I, Enders M, Wallwiener D, Friese K, Jahn G, Hamprecht K. (2011)**  
Intrauterine Zytomegalievirusinfektion: Neues zur Pränataldiagnostik und Hyperimmunglobulinbehandlung. *Der Gynäkologe*. 44:601-609
48. **Keithley EM. (2005)**  
Animal models of inner ear CMV infection.  
ARO Midwinter Meeting abstracts; Abstract 1430.  
[http://www.aro.org/archives/2005/2005\\_1430.html](http://www.aro.org/archives/2005/2005_1430.html)  
(besucht am 20.05.2013)
49. **Kenneson A, Cannon MJ. (2007)**  
Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol*. 17(4):253-276

- 50. Lanari M, Lazzarotto T, Venturi V, Papa I, Gabrielli L, Guerra B, Landini MP, Faldella G. (2006)**  
Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns.  
*Pediatrics*. 117(1):e76-83
- 51. Larke RP, Wheatley E, Saigal S, Chernesky MA. (1980)**  
Congenital cytomegalovirus infection in an urban Canadian community.  
*J Infect Dis*. 142(5):647-653
- 52. Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, Gabrielli L, Landini MP. (2008)**  
New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection.  
*J Clin Virol*. 41(3):192-197
- 53. Lazzarotto T, Brojanac S, Maine GT, Landini MP. (1997a)**  
Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new western blot, conventional western blot, and nine commercially available assays.  
*Clin Diagn Lab Immunol*. 4(4):483-486
- 54. Lazzarotto T, Guerra B, Spezzacatena P, Varani S, Gabrielli L, Pradelli P, Rumpianesi F, Banzi C, Bovicelli L, Landini MP. (1998)**  
Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection.  
*J Clin Microbiol*. 36(12):3540-3544
- 55. Lazzarotto T, Spezzacatena P, Pradelli P, Abate DA, Varani S, Landini MP. (1997b)**  
Avidity of immunoglobulin G directed against human cytomegalovirus during primary and secondary infections in immunocompetent and immunocompromised subjects.  
*Clin Diagn Lab Immunol*. 4(4):469-473
- 56. Liesnard C, Donner C, Brancart F, Gosselin F, Delforge ML, Rodesch F. (2000)**  
Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: prospective study of 237 pregnancies at risk.  
*Obstet Gynecol*. 95(6 Pt 1):881-888
- 57. Lipitz S, Yagel S, Shalev E, Achiron R, Mashiach S, Schiff E. (1997)**  
Prenatal diagnosis of fetal primary cytomegalovirus infection.  
*Obstet Gynecol*. 89(5 Pt 1):763-767
- 58. Macé M, Sissoeff L, Rudent A, Grangeot-Keros L. (2004)**  
A serological testing algorithm for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women.  
*Prenat Diagn*. 24(11):861-863
- 59. Meier J, Lienicke U, Tschirch E, Krüger DH, Wauer RR, Prösch S. (2005)**  
Human cytomegalovirus reactivation during lactation and mother-to-child transmission in preterm infants.  
*J Clin Microbiol*. 43(3):1318-1324

- 60. Momburg F, Hengel H. (2002)**  
Corking the bottleneck: the transporter associated with antigen processing as a target for immune subversion by viruses.  
Curr Top Microbiol Immunol. 269:57-74
- 61. Mosca F, Pugini L, Barbi M, Binda S. (2001)**  
Transmission of cytomegalovirus. Lancet. 357(9270):1800
- 62. Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM, Congenital Cytomegalovirus Collaborating Group. (2005)**  
Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. N Engl J Med. 353(13):1350-1362
- 63. Nigro G, La Torre R, Anceschi MM, Mazzocco M, Cosmi EV. (1999)**  
Hyperimmunoglobulin therapy for a twin fetus with cytomegalovirus infection and growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 180(5):1222-1226
- 64. Pass RF. (2005)**  
Congenital cytomegalovirus infection and hearing loss.  
Herpes. 12(2):50-55
- 65. Pass RF, Hutto SC, Reynolds DW, Polhill RB. (1984)**  
Increased frequency of cytomegalovirus infection in children in group day care. Pediatrics. 74(1):121-126
- 66. Peckham CS, Chin KS, Coleman JC, Henderson K, Hurley R, Preece PM. (1983)**  
Cytomegalovirus infection in pregnancy: preliminary findings from a prospective study. Lancet. 1(8338):1352-1355
- 67. Plotkin SA. (1999)**  
Vaccination against cytomegalovirus, the changeling demon.  
Pediatr Infect Dis J. 18(4):313-325
- 68. Prichard MN, Penfold ME, Duke GM, Spaete RR, Kemble GW. (2001)**  
A review of genetic differences between limited and extensively passaged human cytomegalovirus strains. Rev Med Virol. 11(3):191-200
- 69. Razonable RR, Emery VC; 11th Annual Meeting of the IHMF (International Herpes Management Forum). (2004)**  
Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27-29 February 2004. Herpes 11(3):77-86
- 70. Reddehase MJ. (2000)**  
The immunogenicity of human and murine cytomegaloviruses.  
Curr Opin Immunol. 12(6):738

- 71. Revello MG, Baldanti F, Furione M, Sarasini A, Percivalle E, Zavattoni M, Gerna G. (1995)**  
Polymerase chain reaction for prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* 47(4):462-466
- 72. Revello MG, Gerna G. (2002)**  
Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev.* 15(4):680-715
- 73. Revello MG, Gerna G. (2004)**  
Pathogenesis and prenatal diagnosis of human cytomegalovirus infection. *J Clin Virol.* 29(2):71-83
- 74. Revello MG, Gorini G, Gerna G. (2004)**  
Clinical evaluation of a chemiluminescence immunoassay for determination of immunoglobulin G avidity to human cytomegalovirus. *Clin Diagn Lab Immunol.* 11(4):801-805
- 75. Revello MG, Sarasini A, Zavattoni M, Baldanti F, Gerna G. (1998)**  
Improved prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection by a modified nested polymerase chain reaction. *J Med Virol.* 56(1):99-103
- 76. Revello MG, Zavattoni M, Furione M, Fabbri E, Gerna G. (2006)**  
Preconceptional primary human cytomegalovirus infection and risk of congenital infection. *J Infect Dis.* 193(6):783-787
- 77. Revello MG, Zavattoni M, Furione M, Lilleri D, Gorini G, Gerna G. (2002)**  
Diagnosis and outcome of preconceptional and periconceptional primary human cytomegalovirus infections. *J Infect Dis.* 186(4):553-557
- 78. Ribbert H. (1904)**  
Über protozoenartige Zellen in der Niere eines syphilitischen Neugeborenen und in der Parotis von Kindern. *Zentralbl allg Pathol.* 15:945-948
- 79. Ross SA, Boppana SB. (2005)**  
Congenital cytomegalovirus infection: outcome and diagnosis. *Semin Pediatr Infect Dis.* 16(1):44-49
- 80. Rothe M, Hamprecht K, Lang D, Vornhagen R, Hinderer W, Sonneborn HH, Plachter B, Jahn G. (2000)**  
Diagnostic differentiation of primary versus secondary/recurrent infection of human cytomegalovirus by using a recombinant gB ELISA. *Biotest Bulletin* 6:147-158

- 81. Rothe M, Pepperl-Klindworth S, Lang D, Vornhagen R, Hinderer W, Weise K, Sonneborn HH, Plachter B. (2001)**  
An antigen fragment encompassing the AD2 domains of glycoprotein B from two different strains is sufficient for differentiation of primary vs. recurrent human cytomegalovirus infection by ELISA.  
J Med Virol. 65(4):719-729
- 82. Rowe WP, Hartley JW, Waterman S, Turner HC, Huebner RJ. (1956)**  
Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids.  
Proc Soc Exp Biol Med. 92(2):418-424
- 83. Ruellan-Eugene G, Barjot P, Campet M, Vabret A, Herlicoviez M, Muller G, Levy G, Guillois B, Freymuth F. (1996)**  
Evaluation of virological procedures to detect fetal human cytomegalovirus infection: avidity of IgG antibodies, virus detection in amniotic fluid and maternal serum. J Med Virol. 50(1):9-15
- 84. Schleiss MR, McVoy MA. (2004)**  
Overview of congenitally and perinatally acquired cytomegalovirus infections: recent advances in antiviral therapy.  
Expert Rev Anti Infect Ther. 2(3):389-403
- 85. Schlesinger Y, Reich D, Eidelman AI, Schimmel MS, Hassanin J, Miron D. (2005)**  
Congenital cytomegalovirus infection in Israel: screening in different subpopulations. Isr Med Assoc J. 7(4):237-240
- 86. Schmitz H, von Deimling U, Flehmig B. (1980)**  
Detection of IgM antibodies to cytomegalovirus (CMV) using an enzyme-labelled antigen (ELA). J Gen Virol. 50(1):59-68
- 87. Scholz H. (2000)**  
Häufigkeit der konnatalen Zytomegalie in der Bundesrepublik Deutschland. Monatsschr Kinderheilkd. 148(10):887-890
- 88. Schoppel K, Kropff B, Schmidt C, Vornhagen R, Mach M. (1997)**  
The humoral immune response against human cytomegalovirus is characterized by a delayed synthesis of glycoprotein-specific antibodies.  
J Infect Dis. 175(3):533-544
- 89. Seifert G, Oehme J. (1957)**  
Pathologie und Klinik der Cytomegalie. Leipzig: Georg Thieme 1-120
- 90. Smith MG. (1956)**  
Propagation in tissue cultures of a cytopathogenic virus from human salivary gland virus (SGV) disease. Proc Soc Exp Biol Med. 92(2):424-430

- 91. Stagno S, Cloud GA. (1994)**  
Working parents: the impact of day care and breast-feeding on cytomegalovirus infections in offspring.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 91(7):2384-2389
- 92. Stagno S, Pass RF, Cloud G, Britt WJ, Henderson RE, Walton PD, Veren DA, Page F, Alford CA. (1986)**  
Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. JAMA. 256(14):1904-1908
- 93. Staras SA, Dollard SC, Radford KW, Flanders WD, Pass RF, Cannon MJ. (2006)**  
Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. Clin Infect Dis. 43(9):1143-1151
- 94. Strangert K, Carlström G, Jeansson S, Nord CE. (1976)**  
Infections in preschool children in group day care.  
Acta Paediatr Scand. 65(4):455-463
- 95. Stratton KR, Durch JS, Lawrence RS, Institute of Medicine (U.S.). Committee to Study Priorities for Vaccine Development. (2000)**  
Vaccines for the 21<sup>st</sup> century: a tool for decisionmaking.  
Washington DC: National Academy Press
- 96. Sysmex Deutschland GmbH (2009)**  
Eine Einführung zur Wahrheit und Aussagekraft diagnostischer Messwerte. Sysmex Xtra 2/2009:1-8  
[http://www.sysmex.de/files/articles/Xtra\\_13\\_Statistik.pdf](http://www.sysmex.de/files/articles/Xtra_13_Statistik.pdf)  
(besucht am 20.05.2013)
- 97. Tietze A. (1905)**  
Ein Protozoenbefund in einer erkrankten Parotis.  
Mitt Grenzgeb Med Chir. 14:303-310
- 98. Vornhagen R, Hinderer W, Sonneborn HH, Bein G, Matter L, The TH, Jahn G, Plachter B. (1995)**  
The DNA-binding protein pUL57 of human cytomegalovirus is a major target antigen for the immunoglobulin M antibody response during acute infection. J Clin Microbiol. 33(7):1927-1930
- 99. Vornhagen R, Plachter B, Hinderer W, The TH, Van Zanten J, Matter L, Schmidt CA, Sonneborn HH, Jahn G. (1994)**  
Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens.  
J Clin Microbiol. 32(4):981-986

**100. Weller TH, Hanshaw JB. (1962)**

Virologic and clinical observations on cytomegalic inclusion disease.  
N Engl J Med. 266:1233-1244

**101. Williamson WD, Desmond MM, LaFevers N, Taber LH, Catlin FI, Weaver TG. (1982)**

Symptomatic congenital cytomegalovirus. Disorders of language, learning, and hearing. Am J Dis Child. 136(10):902-905

## 8 DANKSAGUNG

Ich möchte mich bei all denjenigen bedanken, die mich bei der Fertigstellung meiner Promotionsarbeit mit sachkundigem Rat, praktischen Tipps im Labor oder auch durch Trost und Aufmunterung bei Rückschlägen unterstützt haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt natürlich Herrn Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Hamprecht für die Überlassung des Themas und die hervorragende Betreuung. Ohne seine Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung und Fertigstellung sowie die stets motivierenden Worte und seine Geduld wäre diese Arbeit nie zustande gekommen.

Herzlich danken möchte ich auch Herrn Professor Dr. med. Gerhard Jahn, Direktor des Instituts für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten der Universitätsklinik Tübingen, für die Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten.

Des Weiteren danke ich allen Mitarbeitern der CMV-Arbeitsgruppe, vor allem Frau Dr. rer. nat. Katharina Göhring für nette Gespräche und aufmunternde Worte und Frau Andrea Baumeister sowie Frau Elfriede Mikeler für die Hilfe und Unterstützung im Labor. Ein ganz besonderer Dank gilt auch Frau Irene Haag für die Pflege und Verwaltung der Daten und der eingescannten Immunoblots.

Danken möchte ich außerdem allen Mitarbeitern der Universitäts-Frauenklinik im Bereich Geburtshilfe, die für diese Studie bei den Müttern und Kindern Blut entnommen haben, sowie allen Müttern, die sich zur Teilnahme an dieser Studie bereit erklärten.

Meiner Familie und meinen Freunden bin ich sehr dankbar für ihr Verständnis und ihre Unterstützung, vor allem danke ich auch meinem Freund Jan, der oft meine Launen ertragen musste.

Ein ganz besonders herzliches Dankeschön gilt meinen Eltern, die mich mein ganzes Leben lang in allen meinen Taten und Vorhaben liebevoll unterstützt haben und immer für mich da waren.

## 9 CURRICULUM VITAE

### PERSÖNLICHE DATEN

---

Name	Simone Katrin Müller
Geburtsdatum und -ort	24. August 1982 in Böblingen
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

### SCHULE UND STUDIUM

---

09/1993 - 06/2002	Schönbuch-Gymnasium Holzgerlingen, Abitur 2002 (Note 1,4)
09/2002 - 06/2003	10-monatiger „Work and Travel“-Aufenthalt in Australien und Neuseeland
10/2003 - 02/2005	Studium der internationalen Volkswirtschaftslehre an der Eberhard Karls Universität Tübingen
04/2005 - 11/2011	Studium der Humanmedizin an der Eberhard Karls Universität Tübingen
03/2007	Erste Ärztliche Prüfung (Note „gut“)
02/2009 - 07/2009	Auslandsstudium und Famulatur an der Universidad Miguel Hernández in Elche/Spanien im Rahmen eines Erasmus-Austauschprogramms
11/2011	Zweite Ärztliche Prüfung (Note „gut“)

### PRAKTISCHES JAHR

---

08/2010 - 12/2010	Innere Medizin, Medizinische Universitätsklinik in Tübingen
12/2010 - 02/2011	Chirurgie, Fremantle Hospital, University of Western Australia, Australien
02/2011 - 04/2011	Chirurgie, Tygerberg Academic Hospital, University of Stellenbosch, Südafrika
04/2011 - 07/2011	Wahlfach Anästhesie an der Universitätsklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin Tübingen

## BERUFLICHER WERDEGANG

---

Seit 04/2012                      Assistenzärztin an der Universitätsklinik für  
Anästhesiologie und Intensivmedizin in Tübingen

## FORSCHUNG

---

Seit 01/2008 Evaluation verschiedener CMV-spezifischer serodiagnostischer Methoden im Rahmen einer prospektiv klinisch angelegten Studie zur kongenitalen CMV-Infektion mit dem Schwerpunkt der Differenzierung maternaler CMV-Primärinfektion und reaktiverter Sekundärinfektion schwangerer Frauen (Prof. Dr. Hamprecht)

### Kongressbeiträge

10/2008                      Vorstellung der Dissertation auf dem jährlichen Meeting des Arbeitskreises für Virologie auf Schloss Zeilitzheim, Deutschland

04/2010                      K Hamprecht, S Müller, H Abele, K-O Kagan, S Jürgens, K Paukovic, D Wallwiener, C Poets, R Goelz, G Jahn  
Mother-infant-pair screening for CMV infection at birth in Germany  
4<sup>th</sup> European Congress of Virology, Como Lake, Italy

09/2010                      K Hamprecht, H Abele, R Goelz, S C Knoblauch, S Müller, K Göhring, D Wallwiener, C Poets, G Jahn  
Tuebingen congenital CMV study: combined mother-infant-pair screening at birth  
3<sup>rd</sup> Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, France

05/2011                      K Hamprecht, H Abele, R Goelz, S C Knoblauch, S Müller, K Göhring, D Wallwiener, C Poets, G Jahn  
Tuebingen cCMV study: first epidemiological and diagnostic results  
13<sup>th</sup> International CMV / BetaHerpesvirus Workshop, Nürnberg, Germany

03/2013                      K Hamprecht, A Dietrich, S Müller, K-O Kagan, H Abele, M Hoopmann, D Wallwiener, G Jahn  
Role of isolated recombinant pp150 IgM reactivity in primary and latent cytomegalovirus infection in pregnancy and at birth  
23. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie (GfV), Kiel, Deutschland

### Publikation in Vorbereitung

2014                              K Hamprecht, S Müller et al.  
Pitfalls in recombinant CMV pp150 IgM reactivity in diagnosis of latent and primary CMV infection













































# 11 AD KAP. 4.4: MATERNALE IgG-SEROPOSITIVITÄT OHNE IGM-DETEKTION

TAB. 96: CMV-KONGENITALSTUDIE: KONKORDANT IgG-POSITIVE/IgM-NEGATIVE MÜTTER

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot								Blot-Registerblatt		
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1		gB2	
1	71067060	1208	26.03.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,21	pos	neg	niedrig avide AK	∅	+	++	+	++	+/-		45-2008
													∅	+/-	+	+/-	+/-	∅			
													∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅		
2	71085500	3549	16.09.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,21	pos	neg	hochavide AK	++	+++	+++	+++	++	++		74-2008
													++	+++	+++	++	++	+			
													∅	+/-	∅	∅	+/-	∅			
3	71085460	3367	02.09.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,22	pos	neg	niedrig avide AK	++	+	++	+	++	∅		70-2008
													++	∅	+	+	++	∅			
													∅	∅	∅	∅	∅	∅			
4	71080821	2562	01.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,25	pos	neg	hochavide AK	+/-	++	∅	+	++	++		56-2008
													+/-	++	∅	+/-	+	++			
													∅	∅	∅	∅	∅	∅			
5	71077351	127	14.01.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,25	pos	neg	hochavide AK	∅	++	∅	∅	++	+		71-2008
													∅	++	∅	∅	++	+			
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅			
6	71086444	2801	22.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,28	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+++	++	+++	∅		63-2008
													+	+++	+++	+	+/-	∅			
													∅	+/-	+/-	+/-	∅	∅			
7	71087134	3528	16.09.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,28	pos	neg	hochavide AK	+	++	+++	+	++	++		74-2008
													+	+	++	+	+	+			
													∅	∅	∅	∅	∅	∅			
8	71072011	4149	29.10.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,28	pos	neg	hochavide AK	+++	+++	++	++	++	∅		07-2010
													+++	+++	+	+	++	∅			
													∅	+/-	+/-	∅	∅	∅			
9	71078065	1956	28.05.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,29	pos	neg	intermediär avide AK	∅	++	+	∅	++	++		59-2008
													∅	+	∅	∅	++	+			
													∅	+/-	+/-	+/-	∅	∅			
10	71086879	83	07.01.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,29	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+	+	++	∅		71-2008
													+	+++	+/-	∅	+	∅			
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅			

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot						Blot-Registerblatt			
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2		p65	gB1	gB2
11	71071292	792	22.02.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	neg	hochavide AK	∅	+++	+	++	+++	+++	40-2008
														∅	+++	+/-	++	+++	+++	
														∅	+/-	∅	∅	∅	∅	
12	71076476	3979	17.10.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,31	pos	neg	hochavide AK	++	++	++	+++	+++	++	27-2008
														++	++	++	++	++	++	
														∅	∅	∅	+	+/-	∅	
13	71078375	1735	06.05.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,32	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+/-	+/-	++	∅	47-2008
														+	++	∅	+/-	+	∅	
														∅	∅	+/-	+	+	∅	
14	71081962	2611	03.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,32	pos	neg	hochavide AK	∅	++	∅	++	+++	+++	57-2008
														∅	++	∅	+	+++	+++	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	
15	71085223	3128	13.08.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	neg	hochavide AK	++	+++	++	++	+++	+++	67-2008
														++	+++	+	+	+++	+++	
														∅	+/-	∅	+/-	+/-	∅	
16	71086075	2675	08.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	neg	hochavide AK	∅	+++	+	++	++	+++	57-2008
														∅	+++	+	+	+	++	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	
17	71080860	2678	08.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,35	pos	neg	hochavide AK	++	+++	+/-	+	++	+++	56-2008
														++	+++	∅	+/-	++	++	
														∅	+/-	∅	∅	∅	∅	
18	71078192	1801	13.05.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,35	pos	neg	intermediär avide AK	+/-	++	+	++	++	+	49-2008
														+/-	+	+/-	+	++	+	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	
19	71067360	1385	08.04.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,35	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+	++	+++	+++	47-2008
														+	+++	+	++	+++	+++	
														∅	+/-	∅	+/-	∅	∅	

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot						Blot-Registerblatt			
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2		p65	gB1	gB2
20	71071412	2245	06.06.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	neg	hochavide AK	∅	++	+	∅	+	+	58-2008
														∅	++	+	∅	+	+	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	
21	71080773	2021	02.06.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	neg	intermediär avide AK	+	++	++	∅	++	+	60-2008
														+/-	++	+	∅	++	+	
														∅	∅	∅	+	∅	∅	
22	71087034	3419	09.09.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	neg	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	+++	++	72-2008

Mutter-ID		IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot											
AF	H-Nr			Abnahmedatum	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
													∅	+++	∅	∅	+++	++		
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅	80-2008	
23	71067108	1359	07.04.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	neg	hochavide AK	+	++	∅	+	++	++	49-2008
													∅	++	∅	∅	++	+		
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅	82-2008	
24	71067356	1380	08.04.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	neg	hochavide AK	+/-	++	∅	+	++	+++	47-2008
													+/-	++	∅	+	++	+++		
													∅	∅	∅	+/-	∅	∅	82-2008	
25	71086733	551	06.02.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	neg	hochavide AK	+	+++	∅	∅	+++	+++	07-2010
													+/-	+++	∅	∅	+++	+++		
													∅	∅	∅	∅	∅	∅		
26	71077360	141	14.01.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+++	+++	+++	+++	75-2008
													+	+++	+++	++	+++	+++		
													+	+/-	∅	+/-	∅	∅	82-2008	
27	71067287	1185	21.03.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	neg	hochavide AK	++	++	+	+++	++	+++	49-2008
													++	++	∅	++	++	++		
													∅	+	∅	∅	∅	∅	82-2008	
28	71067421	1430	14.04.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	neg	hochavide AK	+/-	+++	+/-	∅	++	∅	51-2008
													∅	++	∅	∅	+	∅		
													∅	∅	∅	∅	∅	∅	82-2008	
29	71078345	1689	29.04.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	neg	hochavide AK	∅	+++	+	∅	++	+++	49-2008
													∅	+++	+	∅	++	+++		
													∅	∅	∅	∅	∅	∅	81-2008	
30	71077449	367	23.01.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	neg	hochavide AK	+	+++	∅	+/-	+/-	∅	78-2008
													+/-	++	∅	∅	∅	∅		
													∅	∅	+	∅	∅	∅	82-2008	
31	71081125	4091	24.10.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	neg (Blot fehlt)	hochavide AK	+	++	+	+	+	++	29-2008
													+	++	+	∅	+	+		
32	71085053	2845	29.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,40	pos	neg	hochavide AK	++	+++	+/-	+/-	+++	+++	09-2010
													++	+++	+/-	∅	+++	+++		
													∅	+/-	∅	+/-	+/-	∅	80-2008	
													∅	∅	∅	∅	∅	∅		
33	71071369	839	29.02.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	0,40	pos	neg	hochavide AK	+	++	+	+/-	+++	++	41-2008
													+	++	+	∅	++	+		
													∅	∅	∅	∅	∅	∅	80-2008	

Mutter-ID		IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot						
-----------	--	-----------	-----------	-------	--	------	--	--	--------------------------	--	--	--	--	--	--

















































	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot									
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt
60 5	71083319		15.12.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
60 6	71085344		22.08.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
60 7	71083131		09.12.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
60 8	71071169		13.02.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
60 9	71086211		18.06.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
61 0	71086374		14.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
61 1	71072089		03.11.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
61 2	71083302		10.12.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
61 3	71083298		10.12.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	> 0,95										
61 4	71071310		26.02.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	>0,95										
61 5	71067289		21.03.2008	pos	neg	pos	neg	pos	neg	nicht auswertbar										
61 6	71081771	3275	26.08.2008	pos	neg	pos	neg	grenzw	neg	nicht auswertbar	pos			∅	+	∅	∅	++	+	76-2008
61 7	71072216	4370	17.11.2008	pos	neg	pos	neg	grenzw	neg	nicht auswertbar	pos			∅	++	∅	∅	∅	∅	30-2008
61 8	71012944	664	15.02.2008	pos	neg	pos	neg	grenzw	neg	nicht auswertbar	pos			∅	++	∅	+/-	++	+	09-2010
61 9	71086906	109	10.01.2008	pos	neg	pos	neg	grenzw	neg	nicht auswertbar	pos			∅	+	∅	+	+	∅	71-2008

**TAB. 97: CMV-KONGENITALSTUDIE: KONKORDANT IGG-POSITIVE/DISKORDANT IGM-NEGATIVE MÜTTER**

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot							Blot-Registerblatt		
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65		gB1	gB2
1	71086439	2791	17.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	grenzw	0,24	pos	neg	hochavide AK	+	+++	∅	+	++	+	64-2008
													+	+++	∅	+/-	++	+		
													∅	∅	∅	∅	∅	∅		
2	71067423	1432	14.04.2008	pos	neg	pos	grenzw	pos	pos	0,29	pos	neg	hochavide AK	++	+++	++	+++	+++	+++	52-2008
													++	++	++	++	+++	+++		
													∅	∅	+/-	+/-	∅	∅		
3	71085212	3096	11.08.2008	pos	neg	pos	neg	pos	pos	0,30	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+	+	++	++	68-2008
													+	+++	∅	+/-	+	+		
													+/-	+/-	∅	+/-	+/-	∅		
4	71078126	1892	23.05.2008	pos	neg	pos	neg	pos	grenzw	0,31	kein Material	neg	kein Material	∅	+/-	+/-	∅	∅	∅	67-2008
5	71072423	3617	18.09.2008	pos	((pos))	pos	neg	pos	pos	0,34	pos	pos (irrelevant)	hochavide AK	+/-	++	++	++	+++	+++	21-2008
		∅	++		++									+	++	++				
		∅	+		+									∅	∅	∅				
		4549	01.12.2008 (zum Zeitpunkt der Geburt)		neg						neg		∅	++	++	+	++	+++	32-2008	
													∅	++	++	+	++	+++		
													∅	+/-	+/-	∅	∅	∅		
6	71085326	3168	20.08.2008	pos	neg	pos	grenzw	pos	pos	0,37	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+	+	++	++	66-2008
													+	+++	+	∅	++	++		
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅		
7	71087223	3593	22.09.2008	pos	neg	pos	neg	pos	pos	0,43	pos	neg	intermediär avide AK	++	+++	++	++	++	++	2012
														+	++	++	+	++	++	
														∅	+/-	∅	∅	∅	∅	
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅	78-2008	
8	71087266	3733	25.09.2008	pos	neg	pos	neg	pos	pos	0,45	pos	neg	hochavide AK	+	+++	++	+	++	++	2012
													+	+++	++	∅	++	++		
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅	78-2008	
9	71072401	4404	21.11.2008	pos	neg	pos	grenzw	pos	pos	0,52	pos	neg	hochavide AK	++	+++	+	∅	++	++	29-2010
														++	+++	+	∅	++	++	
														∅	+/-	∅	∅	∅	∅	
													∅	+/-	∅	∅	∅	∅	31-2008	
10	71081151	4098	24.10.2008	pos	neg	pos	neg	pos	pos	0,54	pos	neg	hochavide AK	∅	++	+	+/-	+++	+++	2012
													∅	++	+/-	∅	+++	+++		

Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot										
AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
																		29-2008		
																		30-2008		
11	71071371	841	29.02.2008	pos	neg	pos	grenzw	pos	neg	0,55	pos	neg	hochavide AK	∅	++	+	∅	++	+/-	04-2008
														∅	+	+	∅	++	+/-	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	

Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot										
AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
12	71071375	845	29.02.2008	pos	neg	pos	pos	pos	pos	0,57	pos	neg	hochavide AK	+	+++	+	∅	+++	+	03-2008
														+	+++	+	∅	++	+	
														∅	+/-	+	+/-	∅	∅	37-2008
														+	+++	+	∅	+	++	
∅	∅	+/-	∅	∅	∅	68-2008														
∅	+/-	+/-	∅	∅	∅															
13	71071306	806	22.02.2008	pos	neg	pos	grenzw	pos	grenzw	0,57	pos	neg	hochavide AK	+	++	+/-	+/-	++	∅	2008
														+/-	++	∅	∅	+	∅	
														∅	+/-	∅	+/-	+/-	∅	41-2009
														+	+++	+/-	+/-	++	+/-	
∅	+++	∅	∅	++	∅															
∅	+/-	∅	+	∅	∅	2012														
++	+++	+/-	+	++	+++															
∅	∅	∅	∅	∅	∅	31-2008														
++	+++	+/-	∅	+	+															
15	71086063	2570	01.07.2008	pos	neg	pos	neg	pos	pos	0,71	pos	neg	hochavide AK	+	++	+/-	+/-	++	∅	2012
														+	++	∅	∅	+	∅	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	54-2008
16	71083447	4796	29.12.2008	pos	neg	pos	neg	pos	grenzw	0,72	pos	neg	hochavide AK	++	++	++	+++	+++	+++	2012
														++	++	++	++	+++	+++	
														∅	∅	∅	∅	∅	∅	2008
17	71078227	1870	21.05.2008	pos	neg	pos	neg	pos	grenzw	0,80	pos	neg	hochavide AK	++	+++	+	+++	+++	+++	2012
														++	+++	+	+++	+++	+++	





Mutter-ID				ELISA				CLIA			rekombinanter Immunoblot									
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
	1090	17.03.2008											∅	+	++	+	∅	∅	67-2008	
													∅	+/-	+/-	∅	∅	∅		
													∅	++	+	+	+++	∅		
2	71083431	4770	23.12.2008	pos	pos	pos	pos	pos	0,14	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+	+	+	∅	02-2009	
													+	+++	+	+	+	∅		
													+/-	+++	++	+/-	∅	∅		
3	71080816	2557	01.07.2008	pos	pos	pos	pos	pos	0,26	pos	pos	intermediär avide AK	++	++	++	+++	+	∅	53-2008	
													++	+	+	++	+	∅		
													∅	+	∅	∅	++	∅		
4	71085241	3134	15.08.2008	pos	pos	pos	grenzw	pos	pos	0,33	pos	pos	niedrig avide AK	+	∅	++	+++	++	∅	67-2008
													∅	∅	+	++	+	∅		
													∅	++	+/-	+	∅	∅		

Mutter-ID				ELISA				CLIA			rekombinanter Immunoblot									
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
5	71067061	1209	26.03.2008	pos	pos	pos	grenzw	pos	pos	0,35	pos	pos	hochavide AK	++	+++	++	+++	++	+++	45-2008
													++	++	+	++	+	++		
													∅	++	∅	∅	∅	∅		
6	71071036	475	30.01.2008	pos	pos	pos	pos	pos	pos	0,42	pos	pos	hochavide AK	+++	+++	++	+++	+++	++	2010
													+++	+++	+	++	+++	++		
													+	+++	+++	++	∅	∅		
7	71071366	836	29.02.2008	pos	pos	pos	pos	pos	grenzw	0,43	pos	pos	hochavide AK	+	++	∅	∅	++	+	2010
													+	++	∅	∅	+	∅		
													+/-	++	+	∅	∅	∅		
													++	+++	∅	+/-	+++	++	41-2009	
													++	+++	∅	∅	++	+		
													∅	++	+	∅	∅	∅		
8	71085234	3116	13.08.2008	pos	pos	pos	pos	pos	pos	0,46	pos	pos	hochavide AK	+	+++	∅	∅	+++	++	26-2011
													+	+++	∅	∅	+++	++		
													+/-	++	++	+/-	∅	∅		
													+	+++	+/-	++	+++	+++	61-2008	
													+	+++	∅	+	+++	++		
													∅	++	++	∅	∅	∅		
9	71078210	1837	19.05.2008	pos	pos	pos	pos	pos	pos	0,53	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+/-	++	+++	+++	45-2008
													+	+++	∅	+	+++	++		
													∅	++	++	∅	∅	∅		

Mutter-ID				ELISA				CLIA			rekombinanter Immunoblot									
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
													∅	++	++	∅	∅	∅	53-2008	
10	71072453	4420	24.11.2008	pos	pos	pos	pos	pos	pos	0,57	zu wenig Material	zu wenig Material	zu wenig Material							
11	71083303	4665	10.12.2008	pos	pos	pos	pos	pos	grenzw	0,82	pos	pos	hochavide AK	∅	++	++	∅	∅	∅	16-2008
														+	+++	+++	+	++	++	19-2008
														+/-	+++	+++	+	++	++	34-2008
														∅	++	++	∅	∅	∅	41-2009
														+	+++	+++	+++	+++	+++	
+	+++	+++	+++	+++	+++															
													∅	++	+++	+	+/-	∅		

TAB. 100: CMV-KONGENITALSTUDIE: DISKORDANT IGM-POSITIVE MÜTTER

Mutter-ID				ELISA				CLIA			rekombinanter Immunoblot									
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
1	71067366	1391	08.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,01	pos	pos	intermediär avide AK	+	++	∅	++	+	∅	48-2008
														∅	++	∅	+	+/-	∅	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
2	71067100	1295	31.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,18	pos	pos	hochavide AK	++	+++	++	++	+++	+	38-2008
														++	+++	+	+	++	+/-	
														∅	+	+	+/-	∅	∅	
3	71071028	478	30.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,19	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+++	+++	+	++	77-2008
														++	++	+++	+	+	∅	
														+/-	+	+/-	+	∅	∅	
4	71067124	987	12.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,23	pos	pos	hochavide AK	+	++	+	++	++	++	40-2008

Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot						Blot-Registerblatt				
AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2		p65	gB1	gB2	
5	71078322	1639	23.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,23	pos	pos	hochavide AK	+	++	+	++	++	++	
														∅	++	∅	+	∅	∅	
														++	+++	++	++	++	+	
														++	+++	+	+	++	+	
														∅	++	∅	∅	+/-	∅	
6	71083481	4907	30.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,23	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+	∅	++	∅	
														+	+++	+/-	∅	++	∅	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
														+	+++	+	+++	++	++	
7	71078056	1947	28.05.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,24	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+	+++	++	++	
														+	+++	+	+++	++	++	
														∅	+	+/-	++	∅	∅	
8	71087147	3540	16.09.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,24	pos	pos	intermediär avide AK	∅	++	+	+	+++	+++	
														∅	++	∅	+	+++	+++	
														∅	++	+	∅	∅	∅	
9	71067286	1184	21.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,25	pos	pos	hochavide AK	+	+++	++	+	+++	+++	
														+	+++	++	+	+++	+++	
														∅	++	∅	+/-	∅	∅	
10	71071020	462	30.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,25	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+++	+++	++	+/-	
														+	+++	+++	+	+	∅	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
11	71077356	132	14.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,26	pos	pos	intermediär avide AK	∅	+++	∅	++	+	∅	
														∅	++	∅	∅	+/-	∅	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
12	71078361	1707	29.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,27	pos	pos	hochavide AK	+	+++	∅	+/-	++	+	
														+	+++	∅	∅	++	+	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	

Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot						Blot-Registerblatt				
AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2		p65	gB1	gB2	
13	71086443	2800	22.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,27	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+++	++	++	∅	
														+	+++	+++	+/-	+	∅	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
14	71086043	2529	30.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,28	pos	pos	hochavide AK	∅	+	∅	∅	+	++	

Mutter-ID				ELISA				CLIA			rekombinanter Immunoblot									
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	
15	71067364	1389	08.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,28	pos	pos	hochavide AK	∅	+	∅	∅	+	++	61-2008
														∅	+	∅	+	∅	∅	
														+	+++	+	++	++	++	
16	71078498	1795	13.05.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,29	pos	pos	hochavide AK	+++	+++	++	+++	+++	+++	62-2008
														+++	+++	++	++	+++	+++	
														∅	+	+	+/-	++	∅	
17	71071297	797	22.02.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,29	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+/-	+/-	++	++	41-2008
														+	+++	∅	∅	++	+	
														∅	+	+	+	∅	∅	
18	71087030	3415	09.09.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	intermediär avide AK	+	++	++	++	++	++	72-2008
														+/-	+	+	+	++	+	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
19	71077377	342	21.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+++	+++	++	+	77-2008
														+	++	+++	++	++	+	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
20	71086851	28	02.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	hochavide AK	++	+++	++	+	+++	+++	54-2008
														++	+++	++	+	+	+/-	
														∅	++	∅	+/-	∅	∅	
21	71085248	3141	15.08.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	++	++	66-2008
														∅	+++	∅	∅	++	∅	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
22	71067480	1477	15.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	hochavide AK	++	++	++	+++	+++	+++	51-2008
														++	++	+	++	+++	+++	
														∅	+	+	+	∅	∅	
23	71067264	1156	19.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	+/-	++	+++	++	38-2008
														∅	++	∅	+/-	+	+/-	
														∅	++	∅	+	∅	∅	
24	71078048	1881	21.05.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,30	pos	pos	intermediär avide AK	++	+++	+++	++	++	∅	59-2008
														+	++	++	+	+	∅	
														∅	++	∅	+/-	∅	∅	
25	71067439	1448	14.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,31	pos	pos	hochavide AK	∅	++	+	++	++	+++	48-2008
														∅	++	∅	+	++	+++	
														∅	++	∅	+/-	∅	∅	

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot							Blot-Registerblatt		
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65		gB1	gB2
26	71067350	1346	08.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,31	pos	pos	hochavide AK	+	+++	++	++	+++	+++	40-2008
														+	+++	+	+	++	++	
														∅	+	+	+/-	∅	∅	
27	71071376	846	29.02.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,31	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+++	+++	++	∅	39-2008
														+	+++	+++	+++	+	∅	
														+/-	++	+	+++	+/-	∅	
28	71087038	3423	09.09.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,31	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	++	++	++	73-2008
														∅	+++	∅	∅	+	+	
														∅	++	∅	+	∅	∅	
29	71086068	2667	08.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,31	pos	pos	intermediär avide AK	++	++	+	+	+	++	57-2008
														++	+	+	∅	∅	++	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
30	71071019	461	30.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,32	pos	pos	hochavide AK	+	+++	∅	+	+++	+++	78-2008
														+	+++	∅	+/-	++	+++	
														∅	++	+/-	+/-	∅	∅	
31	71071176	992	12.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,32	pos	pos	hochavide AK	+++	+++	+	+	+++	+++	42-2008
														+++	+++	+	+	+++	+++	
														∅	++	+	∅	∅	∅	
32	71081970	2619	03.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,32	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	+	+	57-2008
														∅	+++	+	∅	+	+	
														∅	++	+/-	∅	∅	∅	
33	71085240	3152	13.08.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,33	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+++	∅	++	∅	70-2008
														+	+++	+++	∅	++	∅	
														∅	+	++	∅	∅	∅	
34	71078127	1893	23.05.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,33	pos	pos	hochavide AK	+++	+++	+++	+++	+	++	59-2008
														+++	+++	+++	+++	+	++	
														∅	++	+/-	+	∅	∅	
35	71078129	1895	23.05.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+	+	++	++	60-2008
														++	+++	∅	∅	++	++	
														∅	++	∅	∅	∅	∅	
36	71080785	2046	03.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+	+	+++	+++	69-2008
														+	+++	+	+/-	+++	+++	
														∅	+	+	+	∅	∅	
37	71067098	1293	31.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	pos	hochavide AK	+/-	++	+/-	+	+++	+++	44-2008
														∅	++	∅	+/-	+++	+++	

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot							Blot-Registerblatt		
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65		gB1	gB2
38	71067107	1358	07.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	pos	hochavide AK	∅	++	∅	∅	∅	∅	82-2008
														+	+++	∅	+/-	++	+	49-2008
														+	++	∅	∅	++	+	82-2008
39	71067130	1093	17.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,33	pos	pos	niedrig avide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	82-2008
														++	+	+	++	++	+++	39-2008
														+	+/-	+/-	+	++	++	82-2008
40	71086442	2799	22.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,34	pos	pos	niedrig avide AK	∅	++	∅	∅	∅	∅	82-2008
														+	++	+	+	++	++	65-2008
														∅	+	∅	∅	++	+	69-2008
41	71080961	2292	12.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,34	pos	pos	hochavide AK	∅	+	+	+	∅	∅	65-2008
														++	+++	++	+	++	+	81-2008
														++	+++	+	∅	+	+	81-2008
42	71078051	1884	21.05.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,34	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	++	++	+++	++	60-2008
														∅	+++	++	+/-	++	++	81-2008
														∅	+++	∅	+/-	∅	∅	81-2008
43	71083486	4912	30.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,35	pos	pos	niedrig avide AK	+	++	+++	+++	+++	++	05-2009
														+/-	+/-	++	++	+	+/-	05-2009
														+/-	+++	+	+/-	∅	+	05-2009
44	71071032	473	30.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,35	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	+	+	+	78-2008
														∅	+++	∅	+	+	+/-	78-2008
														∅	+	∅	++	∅	∅	82-2008
45	71077372	195	16.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,35	pos	pos	hochavide AK	+++	+++	+	++	+++	++	78-2008
														+++	+++	+	+	+++	++	82-2008
														∅	++	∅	++	+/-	∅	82-2008
46	71067479	1476	15.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,35	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	+/-	+	+++	+++	51-2008
														∅	+++	∅	+	+++	+++	82-2008
														∅	+++	∅	+/-	∅	∅	82-2008
47	71067050	1288	31.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,36	pos	pos	hochavide AK	++	+++	++	++	+	∅	38-2008
														++	+++	++	+	+	∅	38-2008
														∅	++	+/-	+/-	∅	∅	38-2008
48	71067258	1150	19.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,36	pos	pos	hochavide AK	+	++	++	++	++	+++	39-2008
														+	++	++	++	++	++	39-2008
														∅	+	+	∅	∅	∅	39-2008
49	71087035	3420	09.09.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	pos	hochavide AK	∅	++	∅	∅	++	++	73-2008

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot									
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt
50	71083483	4909	30.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	pos	hochavide AK	∅	++	∅	∅	++	+	
														+	+++	∅	+	+	∅	80-2008
														∅	+++	∅	∅	+/-	+	+++
51	71083433	4775	29.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	pos	hochavide AK (Blot abgerissen)	∅	+++	∅	∅	+/-	++	
														∅	+++	∅	∅	+/-	++	
														∅	+++	∅	∅	+/-	++	+/-
52	71078244	2027	03.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,36	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
53	71077461	426	24.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,37	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
54	71067138	1089	17.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
55	71085325	3167	20.08.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
56	71086373	2728	14.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
57	71071171	982	12.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	pos	intermediär avide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
58	71071023	465	30.01.2008	pos	pos	pos	grenzw	pos	neg	0,38	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
59	71067291	1189	21.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,38	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
60	71071322	822	26.02.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	pos	hochavide AK	∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	
														∅	+++	∅	∅	∅	∅	

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot							Blot-Registerblatt		
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65		gB1	gB2
61	71086905	102	10.01.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+	++	+++	+++	72-2008
														++	+++	+	+	++	+++	
														Ø	++	Ø	+/-	Ø	Ø	
62	71067474	1471	15.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	pos	intermediär avide AK	++	+++	++	+++	+++	+++	51-2008
														++	++	+	++	++	++	
														Ø	+++	+/-	Ø	Ø	Ø	
63	71084829	20	07.01.2009	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,38	pos	pos	hochavide AK	++	+++	Ø	+	+	Ø	xx-2008
														++	+++	Ø	Ø	+/-	Ø	
														Ø	++	Ø	Ø	Ø	Ø	
64	71067040	1278	28.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,39	pos	pos	hochavide AK	+	+++	+/-	++	++	+	41-2008
														+	+++	+	++	++	+	
														Ø	++	++	Ø	Ø	Ø	
65	71086433	2785	17.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,39	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+	++	+++	+++	65-2008
														++	+++	+	++	+++	+++	
														Ø	+	Ø	+	Ø	Ø	
66	71080855	2565	01.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,39	pos	pos	intermediär avide AK	Ø	++	Ø	+	+	Ø	57-2008
														Ø	+	Ø	Ø	+/-	Ø	
														Ø	++	Ø	+	Ø	Ø	
67	71078304	1621	23.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,39	pos	pos	hochavide AK	++	+++	++	+++	+++	+	51-2008
														++	++	++	++	++	Ø	
														Ø	+++	Ø	+/-	Ø	Ø	
68	71078252	2035	03.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,40	pos	pos	hochavide AK	++	+++	Ø	++	++	+	65-2008
														++	+++	Ø	+	++	+	
														Ø	++	Ø	+	Ø	Ø	
69	71086055	2535	30.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,40	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+++	+	+++	+++	57-2008
														++	+++	+++	Ø	+++	+++	
														Ø	+	Ø	+	Ø	Ø	
70	71067482	1479	15.04.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,40	pos	pos	hochavide AK	+	++	Ø	Ø	+	++	47-2008
														+/-	++	Ø	Ø	+	+	
														Ø	++	+	Ø	Ø	Ø	
71	71087166	3551	16.09.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,40	pos	pos	hochavide AK	+	+++	Ø	Ø	+	+	73-2008
														Ø	+++	Ø	Ø	+	+	
														Ø	++	Ø	++	Ø	Ø	
72	71085422	3282	26.08.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,41		pos		Ø	+	+	Ø	Ø	Ø	70-2008
73	71086500	2758	16.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,42		pos		Ø	+	+	+	Ø	Ø	55-2008

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot							Blot-Registerblatt			
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65		gB1	gB2	
74	71067031	1193	26.03.2008	pos	pos	pos	pos	pos	neg	0,46		pos		∅	+++	∅	∅	∅	∅	∅	43-2008
75	71078389	1770	09.05.2008	pos	pos	pos	pos	pos	neg	0,46		pos		+	+++	∅	∅	+/-	∅	∅	61-2008
76	71083124	4591	05.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,48		pos		∅	++	∅	∅	∅	∅	∅	2008
77	71067052	1203	26.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,49		pos		+	++	++	+/-	∅	∅	∅	43-2008
78	71067270	1164	19.03.2008	pos	pos	pos	pos	pos	neg	0,50	pos	pos	hochavide AK	∅	++	+/-	+/-	+/-	∅	∅	04-2008
														∅	++	+/-	∅	+/-	∅		
79	71083246	4719	17.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,50		pos		∅	++	+	∅	+/-	∅	∅	2008
80	71081164	3995	20.10.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,51		pos		∅	+	∅	+	∅	∅	∅	27-2008
81	71086361	2457	23.06.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,54	pos	pos	hochavide AK	∅	++	∅	+	++	∅	32-2008	
														∅	++	∅	+	++	∅		
82	71086461	2779	17.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,56		pos		∅	+++	+	+	+	∅	∅	61-2008
83	71085345	3192	22.08.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,57		pos		∅	+	++	∅	∅	∅	∅	69-2008
84	71085206	2919	06.08.2008	pos	pos	pos	neg	pos	pos	0,59		pos		∅	++	+/-	∅	∅	∅	∅	68-2008

	Mutter-ID			IgG final	IgM final	ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot							Blot-Registerblatt			
	AF	H-Nr	Abnahmedatum			IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65		gB1	gB2	
85	71071175	986	12.03.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,61	pos	pos	hochavide AK	+++	+++	+++	+++	+/-	∅	39-2008	
														+++	+++	++	+++	∅	∅		
86	71081001	3944	14.10.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,65		pos		∅	++	+	∅	+	∅	∅	27-2008
87	71086499	2757	16.07.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,67		pos		++	+	∅	∅	∅	∅	∅	55-2008
88	71083336	4710	17.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	neg	0,69	pos	pos	hochavide AK	++	+++	+	+/-	+++	+++	07-2010	
														+	+++	∅	∅	+++	+++		
89	71080936	2254	06.06.2008	pos	pos	pos	grenzw	pos	neg	0,71		pos		∅	++	+	+	+	∅	∅	59-2008
90	71081091	3932	14.10.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,76		pos		∅	++	∅	∅	∅	∅	∅	27-2008
91	71072435	4561	01.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,82		pos		∅	++	∅	∅	++	++	∅	31-2008
92	71083279	4683	15.12.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,84		pos		∅	+	∅	+	+	∅	∅	34-2008
93	71076480	3983	17.10.2008	pos	pos	pos	neg	pos	grenzw	0,87		pos		+	+	++	∅	∅	∅	∅	27-2008

**TAB. 101: CMV-KONGENITALSTUDIE: FRAGLICH IgM-POSITIVE MÜTTER**

Mutter-ID				ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot								Blot-Registerblatt			
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2		
1	71067112	1783	09.05.2008	pos	fraglich pos	pos	pos	pos	grenzw	0,14	pos	fraglich pos	niedrig avide AK	∅	∅	+	∅	∅	∅	69-2008
														+	+++	+	+	+	+	64-2008
														∅	++	∅	∅	+/-	+/-	
∅	∅	++	∅	∅	∅															
2	71087127	3516	11.09.2008	pos	fraglich pos	pos	neg	pos	neg	0,37	pos	fraglich pos	hochavide AK	+	+++	+	++	+++	+++	73-2008
														+	+++	+	+	++	++	80-2008
														++	∅	∅	++	∅	∅	
∅	+	+/-	∅	∅	∅															
3	71085067	2894	04.08.2008	pos	fraglich pos	pos	neg	pos	grenzw	0,53		fraglich pos		∅	+	+/-	∅	∅	∅	68-2008

### 13 AD KAP. 4.6: GESONDERTER BETRACHTUNG DER MÜTTER MIT VERTIKALER ÜBERTRAGUNG DER CMV-INFEKTION AUF DAS NEUGEBORENE

**TAB. 102: CMV-KONGENITALSTUDIE: SEROKONSTELLATIONEN ALLER VIER MÜTTER MIT KONGENITALER CMV-INFEKTION DER NEUGEBORENEN**

Mutter-ID				ELISA		CLIA			rekombinanter Immunoblot								Kind-ID								
AF	H-Nr	Abnahmedatum	IgG final	IgM final	IgG	IgM	IgG	IgM	Avidität	IgG	IgM	Avidität	IE1	p150	CM2	p65	gB1	gB2	Blot-Registerblatt	AF	TK-Nr.	H-Nr	IE-PCR	Mut.sp.	
1	71067112	1783	09.05.2008	pos	fraglich pos	pos	pos	pos	grenzw	0,14	pos	fraglich pos	niedrig avide AK	∅	∅	+	∅	∅	∅	69-2008	71078182	2168	2065	pos	
														+	+++	+	+	+	+	64-2008					
														∅	++	∅	∅	+/-	+/-						

