

Aus dem Department für Diagnostische Labormedizin
der Universität Tübingen

Institut für Medizinische Virologie und
Epidemiologie der Viruskrankheiten

**Antikörperprofile früher CMV Primärinfektionen
in der Schwangerschaft**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des
Doktorgrades der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Bäumel, Elisabeth Albine

2019

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. K. Hamprecht

2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Wolz

Tag der Disputation: 30.09.2019

Meiner lieben Familie

1 INHALTSVERZEICHNIS

1 INHALTSVERZEICHNIS	1
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	5
TABELLENVERZEICHNIS	9
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	13
2 EINLEITUNG	14
2.1 Herpesviren allgemein	14
2.2 Humanes Zytomegalievirus (HHV5)	15
2.3 Epidemiologie der kongenitalen CMV-Infektion (cCMV)	16
2.4 Vertikale Transmission: Mutter-Kind-Übertragungswege.....	18
2.4.1 CMV-Primärinfektion versus CMV-Non-Primärinfektion.....	20
2.5 Klinik der kongenitalen HCMV-Infektion	20
2.6 Diagnostik einer HCMV-Infektion in der Schwangerschaft	23
2.6.1 Maternaler Serostatus.....	23
2.6.2 Fetale CMV-Diagnostik	29
2.6.3 Retrospektive CMV-Diagnostik mit Guthrie-Testkarten.....	30
2.7 Potentielle Therapieoptionen in der Schwangerschaft.....	31
2.7.1 Vakzine	31
2.7.2 HIG-Therapie	32
2.7.3 Postnatale antivirale Therapie.....	36
2.8 Zielsetzung dieser Arbeit	36
3 MATERIAL UND METHODEN.....	38
3.1 Patientendaten.....	38

3.2	Datenerhebung	41
3.3	Auswertung der Daten	42
3.3.1	Pseudonymisierung der Patientendaten	42
3.3.2	Wichtige Parameter der CMV-Diagnostik: Blutentnahme und Analyte 42	
3.3.3	Serologische Testverfahren	44
3.4	Datenverarbeitung und statistische Auswertung.....	46
4	ERGEBNISSE	48
4.1	Erstvorstellung: Vergleich der Immunoassays für CMV IgM, IgG und IgG Avidität des HIG-Studienkollektivs und der Kohorten I und II.....	48
4.1.1	Verteilung und Vergleich der ECLIA und CMIA IgM-Indizes zum Zeitpunkt der EV	49
4.1.2	Verteilung und Vergleich der ECLIA und CMIA IgG-Konzentrationen zum Zeitpunkt der EV.....	56
4.1.3	Verteilung und Vergleich der ECLIA und CMIA IgG-Aviditäten zum Zeitpunkt der EV	63
4.1.4	Erstvorstellung IgG vs. IgG Avidität Vergleich ECLIA vs. CMIA....	70
4.2	Longitudinaler Verlauf der CMV IgM Indices bei Progression einer CMV Primärinfektion.....	71
4.3	Vergleich der ECLIA und CMIA IgG Aviditäten mit der rekombinanten IgG Avidität zum Zeitpunkt der Erstvorstellung.....	74
4.3.1	ECLIA IgG Avidität im Vergleich mit dem rekombinanten IgG Immunblot	79
4.3.2	CMIA IgG Avidität im Vergleich mit dem rekombinanten IgG Immunblot	82
4.4	Rekombinante CMV – Antigene im anti – CMV recomLine Blot	85
4.4.1	CMV-spezifische Reaktivität im recomLine CMV IgM-Immunblot gegen rekombinante Virusantigene IE1, CM2, p150, p65, gB1 und gB2 ...	85

4.4.2	CMV-spezifische Reaktivität im recomLine CMV IgG Test gegen die rekombinanten Virusantigene IE1, CMV2, p150, p65, gB1 und gB2	89
4.4.3	CMV-IgG-Antikörper im recomLine IgG Aviditätstest gegen rekombinante Virusantigene IE1, CM2, p150 und gB2	93
5	DISKUSSION	96
5.1	Primärinfektion oder Nicht-Primärinfektion – diagnostische Marker.....	96
5.1.1	Die Rolle von CMV IgM in der Diagnostik der CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft.....	98
5.1.2	Die Rolle des CMV IgG in der Diagnostik der CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft.....	99
5.1.3	Die Rolle der CMV IgG Avidität in der Diagnostik der CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft.....	100
5.2	Vergleich der CMV-spezifischen Immunoassays ECLIA und CMIA im Kontext der PI.....	101
5.2.1	Vergleich der Immunoassays ECLIA und CMIA bezüglich des CMV IgM	103
5.2.2	Vergleich der Immunoassays ECLIA und CMIA bezüglich des CMV IgG	104
5.2.3	Vergleich der Immunoassays ECLIA und CMIA bezüglich der CMV IgG Avidität.....	105
5.2.4	Vergleich von ECLIA und CMIA bei Betrachtung der CMV IgG Konzentration im Zusammenhang mit der CMV IgG Avidität	106
5.2.5	Vergleich der ELICA und CMIA CMV IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Immunblot.....	106
5.3	Routinemäßiges Screening von Frauen auf HCMV vor bzw. zu Beginn einer Schwangerschaft zur frühen Erkennung einer Primärinfektion	107
6	ZUSAMMENFASSUNG	110
7	LITERATURVERZEICHNIS	113

8 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL.....	123
9 VERÖFFENTLICHUNGEN.....	124
10 DANKSAGUNG.....	125
11 ANHANG	126

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1:</i> aus (Emery und Lazzarotto 2017): Globale CMV-Seroprävalenz und Inzidenz einer kongenitalen CMV-Infektion. Die jeweilige Seroprävalenzrate ist in verschiedenen Farben dargestellt, die cCMV Inzidenz durch Kreise	17
<i>Abbildung 2:</i> Antikörperdynamik einer CMV-Primärinfektion, schematisch (Prince und Lape-Nixon 2014).....	25
<i>Abbildung 3:</i> aus (AWMF S2k-Leitlinie 2014) (Autor Hamprecht, K): Vorgehensweise der Labordiagnostik.....	26
<i>Abbildung 4:</i> aus (Buxmann et al. 2017) Übersicht von Studien zur HIG-Therapie [(Revello et al. 2014), (Nigro et al. 2005), (Nigro et al. 2012a; Nigro et al. 2012b)(Visentin et al. 2012)].....	35
<i>Abbildung 5:</i> Zeitpunkte der BEs geringe Abweichungen bei einzelnen Patientinnen liegen vor	39
<i>Abbildung 6:</i> Aufteilung des gesamten Studienkollektivs.....	41
<i>Abbildung 7:</i> CMV IgG Level (schwarze Linie) und entsprechende IgG Avidität (gepunktete Linie) während einer HIG-Therapie eines repräsentativen Falls. ...	43
<i>Abbildung 8:</i> Verteilung der EV ECLIA CMV IgM Indices des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 N = 33 > cut off „positiv“ N =4 „grenzwertig positiv“ N = 3 negativ (ausgeschlossen)(Kagan et al. 2018).....	50
<i>Abbildung 9 :</i> Verteilung der EV CMIA IgM Indices des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 N =36 > cut off „positiv“ N = 1 „grenzwertig positiv“ N = 3 na.....	50
<i>Abbildung 10:</i> Verteilung der EV ECLIA IgM Indices der Kohorte I N = 52/57 N = 48 > cut off „positiv“ N = 4 „grenzwertig positiv“ N = 3 negativ (ausgeschlossen) N = 2 na	52
<i>Abbildung 11:</i> Verteilung der EV CMIA IgM Indices der Kohorte I N = 54/47 N = 53 > cut off „positiv“ N = 1 „grenzwertig positiv“ N = 3 na	52
<i>Abbildung 12:</i> Verteilung der EV ECLIA IgM Indices der Kohorte II N = 27/33 N = 27 > cut off „positiv“ N = 6 na.....	54

Abbildung 13: Verteilung der EV CMIA IgM Indices der Kohorte II N = 31/33 N = 31 > cut off „positiv“ N = 2 na.....	54
Abbildung 14: Verteilung des EV ECLIA CMV-IgG des HIG-Studienkollektivs N = 39/40 N = 36 > cut off „positiv“ N = 3 „grenzwertig positiv“ N = 1 negativ (ausgeschlossen) (Kagan et al. 2018)	57
Abbildung 15: Verteilung des EV CMIA CMV IgG des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 N = 37 > cut off „positiv“ N = 3 na	57
Abbildung 16: Verteilung des EV ECLIA CMV-IgG Kohorte I N = 56/57 N = 53 > cut off „positiv“ N = 3 „grenzwertig positiv“ N = 1 negativ.....	59
Abbildung 17: Verteilung des EV CMIA CMV-IgG Kohorte I N = 45/57 N = 54 > cut off „positiv“ N = 3 na	59
Abbildung 18: Verteilung des EV ECLIA CMV-IgG Kohorte II N = 28/33 N = 28 > cut off „positiv“ N = 5 na.....	61
Abbildung 19: Verteilung des EV CMIA CMV-IgG Kohorte II N = 33 N = 33 > cut off „positiv“	61
Abbildung 20: Verteilung der EV ECLIA IgG Aviditätsindices des HIG-Studienkollektivs N= 35/40 N = 34 „nieder“ N = 1 „intermediär“ N = 5 na (Kagan et al. 2018)	65
Abbildung 21: Verteilung der EV CMIA IgG Aviditätsindices des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 N = 29 „nieder“ N = 1 „intermediär“ N = 7 „hoch“ N = 3 na	65
Abbildung 22: Verteilung der EV ECLIA IgG Aviditäten Kohorte I N= 52/57 N = 49 „nieder“ N = 2 „intermediär“ N = 1 „hoch“ N = 5 na	67
Abbildung 23: Verteilung der EV CMIA IgG Aviditäten Kohorte I N=53/57 N = 43 „nieder“ N = 2 „intermediär“ N = 8 „hoch“ N = 4 na	67
Abbildung 24: Verteilung der EV ECLIA IgG Aviditäten Kohorte II N = 29/33 N = 29 „nieder“ N = 4 na.....	69
Abbildung 25: Verteilung der EV CMIA IgG Aviditäten Kohorte II N = 33 N = 27 „nieder“ N = 3 „intermediär“ N = 3 „hoch“	69
Abbildung 26: [IgG] vs. IgG Avidität bei EV für ECLIA und CMIA im Vergleich HIG-Studienkollektiv	70

Abbildung 27: [IgG] vs. IgG Avi bei EV für ECLIA und CMIA im Vergleich Kohorte I	70
Abbildung 28: [IgG] vs. IgG Avi bei EV für ECLIA und CMIA im Vergleich Kohorte II	71
Abbildung 29: Verlauf der IgM Indices während einer PI bei einer Patientin aus dem HIG-Studienkollektiv AF 72361176 GA bei EV = 10,429 Wochen ECLIA in blau, CMIA in rot.....	72
Abbildung 30: Verlauf der IgM Indices während einer PI bei einer Patientin aus der Kohorte I AF 72378087 GA bei EV = 12,0 Wochen ECLIA in blau, CMIA in rot	73
Abbildung 31: Verlauf der IgM Indices während einer PI bei einer Patientin aus der Kohorte II AF 72336332 GA bei EV = 21,571 Wochen ECLIA in blau, CMIA in rot.....	73
Abbildung 32: HIG-Studienkollektiv - Verteilungen der Scores der IgM Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot (Kagan et al. 2018)	86
Abbildung 33: Kohorte I - Verteilungen der Scores der IgM Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot.....	87
Abbildung 34: Kohorte II N = 33 - Verteilungen der Scores der IgM Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot.....	88
Abbildung 35: HIG-Studienkollektiv - Verteilungen der Scores der IgG Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot (Kagan et al. 2018)	90
Abbildung 36: Kohorte I N = 57 - Verteilungen der Scores der IgG Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot.....	91
Abbildung 37: Kohorte II N = 33 - Verteilungen der Scores der IgG Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot.....	92

Abbildung 38: HIG-Studienkollektiv - Verteilungen der Scores der IgG Avidität Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/gB2 recomline Blot.....	93
Abbildung 39: Kohorte I - Verteilungen der Scores der IgG Avidität Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/gB2 recomline Blot.....	94
Abbildung 40: Kohorte II - Verteilungen der Scores der IgG Avidität Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/gB2 recomline Blot.....	95

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Geschätzte Prävalenzrate kongenitaler CMV-Infektionen in unterschiedlichen Ländern (modifiziert nach(Kagan et al. 2016)).....	16
Tabelle 2: HCMV-Primärinfektion vs. Nicht-Primärinfektion: Einfluss auf Basis-Laborparameter aus (Hamprecht 2017).....	19
Tabelle 3: Klinische Befunde symptomatisch infizierter Kinder (Rawlinson et al. 2017; Hamprecht und Jahn 2007)	22
Tabelle 4: Inzidenz der Folgeschädigungen (Sequelae) symptomatisch kongenital HCMV-infizierter Kinder im Langzeit-Follow-up [modifiziert nach (Hamprecht und Jahn 2007)].....	23
Tabelle 5: Diagnostische Methoden zum direkten CMV-Nachweis (AWMF S2k-Leitlinie 2014)	24
Tabelle 6: Nachweismethoden CMV-spezifischer Antikörper; PI=Primärinfektion (AWMF S2k-Leitlinie 2014).....	28
Tabelle 7: Interpretation der Ergebnisse der automatisierten Enzymimmunoassays für CMV IgM, IgG und IgG Avidität.....	45
Tabelle 8: Zuordnung der Scores zu Reaktivitäten der Testanalyte gegen spezifische rekombinante CMV-Antigene.....	46
Tabelle 9: HIG-Studienkollektiv IgM Serostatus für N = 37/40 N = 3 na im CMIA.....	49
<i>Tabelle 10:</i> Kohorte I IgM Serostatus für N = 52/57 N = 2 na im ECLIA und N = 3 na im CMIA.....	51
<i>Tabelle 11:</i> Kohorte II IgM Serostatus für N = 25/33 N = 6 na im ECLIA und N = 2 na im CMIA.....	53
Tabelle 12: CMV IgM t-Tests für ECLIA vs. CMIA der HIG-Studienkohorte, der Kohorte I und der Kohorte II.....	55
Tabelle 13: HIG-Studienkollektiv IgG Serostatus für N = 37/40 N = 3 na im CMIA.....	56
Tabelle 14: Kohorte I CMV-IgG Serostatus für N = 54/57 N = 3 na im CMIA..	58

Tabelle 15: Kohorte II IgG Serostatus für N = 28/33 N = 5 na im ECLIA	60
Tabelle 16: CMV IgG t-Tests für ECLIA vs. CMIA der HIG-Studienkohorte, der Kohorte I und der Kohorte II.....	62
Tabelle 17: CMV IgG Avidität t-Tests für ECLIA vs. CMIA der HIG-Studienkohorte, der Kohorte I und der Kohorte II	63
Tabelle 18: HIG-Studienkollektiv Aviditätsindizes für N = 34/40 N = 5 na im ECLIA und N = 3 na im CMIA	64
Tabelle 19: Kohorte I Aviditätsindizes für N = 50/57 N = 5 na im ECLIA und N = 4 na im. CMIA.....	66
Tabelle 20: Kohorte II Aviditätsindizes für N = 29/33 N = 4 na im ECLIA.....	68
<i>Tabelle 21:</i> Diskrepante EV-Werte der beiden Patientinnen mit ECLIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 2 (aus Kohorte I) Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high; Aviditätskategorisierung siehe S. 34 Material und Methoden).....	75
<i>Tabelle 22:</i> Diskrepante EV-Werte der Patientinnen aus dem HIG-Studienkollektiv mit CMIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 7 oder ECLIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 1 (letzte Zeile) Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high; Aviditätskategorisierung siehe S. 34 Material und Methoden)	76
<i>Tabelle 23:</i> Diskrepante EV-Werte der Patientinnen aus Kohorte I und II mit CMIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 14 Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high; Aviditätskategorisierung siehe S. 34 Material und Methoden).....	77
Tabelle 24: HIG-Studienkollektiv N = 34/40 N = 5 ECLIA IgG Avi na N = 2 rek IgG Avi na Neunfeldertafel zum Vergleich des Aviditätsstatus zu ECLIA im Bezug zum rekombinanten Aviditätsimmunblot	79

Tabelle 25: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des ECLIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot als Referenz für das HIG-Studienkollektiv N = 34/40	80
Tabelle 26: Kohorte I N = 51/57 N = 5 ECLIA IgG Avi na N = 2 rek IgG Avi na Neunfeldertafel zum Vergleich des Aviditätsstatus zu ECLIA im Bezug zum rekombinanten Aviditätsimmunblot.....	80
Tabelle 27: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des ECLIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot als Referenz für die Kohorte I N = 51/57.....	80
Tabelle 28: Kohorte II N = 29/33 N = 4 ECLIA IgG Avi na Neunfeldertafel zum Vergleich des Aviditätsstatus zu ECLIA im Bezug zum rekombinanten Aviditätsimmunblot.....	81
Tabelle 29: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des ECLIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot als Referenz der Kohorte II N = 29/33.....	81
Tabelle 30: HIG-Studienkollektiv N = 35/40 N = 3 CMIA IgG Avi na N = 2 rek IgG Avi na Neunfeldertafel zum Vergleich der CMIA IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot	82
Tabelle 31: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des CMIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot des HIG-Studienkollektivs N = 35/40	82
Tabelle 32: Kohorte I N = 51/57 N = 4 CMIA IgG Avi na N = 2 rek IgG Avidität na Neunfeldertafel zum Vergleich der CMIA IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot	83
Tabelle 33: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des CMIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot der Kohorte I N = 51/5783	
Tabelle 34: Kohorte II N = 33 Neunfeldertafel zum Vergleich der CMIA IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot.....	83
Tabelle 35: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des CMIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot der Kohorte II N = 33 ...	84
Tabelle 36: <i>Virologische Laborparameter in Abhängigkeit vom CMV-Infektionsstatus [aus (Hamprecht 2017)]</i>	97

Tabelle 37: CMV-Primärinfektion vs. Nicht-Primärinfektion: Einfluss auf die Laborparameter [aus (Hamprecht 2017)].....	98
<i>Tabelle 38: EV-Werte aller Patientinnen Kohorte I N = 57 und Kohorte II N = 33 Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high).....</i>	126
<i>Tabelle 39: EV-Werte aller Patientinnen des HIG-Studienkollektivs N = 40 Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high).....</i>	130

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
AI	Aviditätsindex
CMIA	Chemilumineszens-Mikropartikelimmunoassay
CMV	Zytomegalievirus
c.o.	Cut off
ECLIA	Elektrochemi-Lumineszenz-Immunoassay
EIA	Enzymimmunoassay
EV	Erstvorstellung
GBA	Gemeinsamer Bundesausschuss
IB	Immunblot
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
MW	Mittelwert
na	not available/nicht verfügbar
PI	Primärinfektion
Q1	Quartil 25%
Q3	Quartil 75%
rek	rekombinant
SD	Standard deviation/Standardabweichung
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
UKT	Universitätsklinikum Tübingen
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem

2 EINLEITUNG

2.1 Herpesviren allgemein

Herpesviren sind doppelsträngige DNA-Viren mit einem komplexen Genom, das im Zellkern eines großen Spektrums von Vertebraten repliziert werden kann. Das Genom ist von einem ikosaedrischen Kapsid aus identischen Proteinenuntereinheiten umgeben. Dieses ist weiterhin von einer Lipidhülle umschlossen, welche spezifische virale Glykoproteine enthält. Zwischen der Hüllmembran und dem Kapsid befindet sich das Tegument, in welchem Proteine, Zellbestandteile und RNA transportiert werden können. Der Verlauf einer Infektion unterteilt sich in das Attachement des Virus an die Wirtszelle, die darauffolgende Penetration, den Kerntransport, die Replikation der Virus-DNA, die Proteinbiosynthese, die Hüllbildung am endoplasmatischem Retikulum, das Assembly und das Budding der neuen Viren.

Es gibt acht humanpathogene Spezies der Herpesviren, die in drei Subfamilien unterteilt werden. Allen ist das Phänomen der Latenz zu eigen, die einen Zustand beschreibt, bei dem das Virus in der infizierten Wirtszelle persistiert, es jedoch zu keiner Replikation seiner Erbsubstanz kommt. Das Virus kann bei vorübergehendem Verlust der Immunkompetenz reaktiviert werden und sich vermehren. Dadurch werden bei einer sekundären Infektion Krankheitssymptome erneut manifest. Herpes-simplex- und Varizella-Zoster-Viren als Vertreter der Alpha-Subfamilie infizieren dabei nicht teilungsfähige Nervenzellen und werden daher als neurotrop bezeichnet. Lymphotrope Gamma-Herpesviren infizieren und replizieren sich in lymphoblastoiden Zellen und manifestieren ihre Latenz z. B. in B-Lymphozyten (EBV). Einen sehr breiten Zelltopismus zeigen die Beta-Herpesviren, zu denen neben den HHV-6 und HHV-7 auch das humane Zytomegalievirus (HHV-5) zählt. Das CMV infiziert neben Fibroblasten, Endothelzellen und Makrophagen auch epitheliale Zellen, glatte Muskelzellen und Hepatozyten. Als Ort seiner Latenz gelten myeloische

CD34-positive hämatopoetische Stammzellen, sowie Monozyten und dendritische Zellen (Hamprecht und Jahn 2007; Sinzger und Jahn 1996).

2.2 Humanes Zytomegalievirus (HHV5)

Das humane Zytomegalievirus ist ein weltweit verbreitetes Pathogen. Mit 235kbp besitzt es das größte Genom der Herpesviren (Hamprecht und Jahn 2007), insgesamt hat das Viruspartikel eine Größe von etwa 180nm. Morphologisch unterscheidet es sich nicht von den anderen Viren der Herpesfamilie. Die Transmission erfolgt meist durch engen Körperkontakt und Tröpfcheninfektion mittels Körperflüssigkeiten wie Speichel, Urin, Genitalsekret und Muttermilch, über die das Virus ausgeschieden wird. Es kann auch über das Blut beispielsweise bei Organtransplantationen übertragen werden (Hof und Dörries 2009). Von der Mutter auf das Kind gelangt das Virus bei CMV-Primärinfektion über den kongenitalen, bei CMV/HIV-Koinfektion über den perinatalen oder über den postnatalen Weg über die Muttermilch (Hamprecht und Jahn 2007). Die Seroprävalenz in der Bevölkerung ist vom Alter und sozioökonomischen Faktoren abhängig. Während in Ländern der Dritten Welt eine Prävalenz von fast 100% vorliegt, ist diese in Industrieländern mit ca. 60% deutlich niedriger (Staras et al. 2006). In Deutschland zeigen etwa 47% der Bevölkerung einen positiven Antikörpernachweis. Die Durchseuchung von schwangeren Frauen liegt bei 42,3% (Enders et al. 2012).

Bei immunkompetenten Erwachsenen verläuft eine Infektion meist asymptomatisch oder mit unspezifischen grippeartigen Symptomen. Schwangere Frauen weisen in der Mehrheit keine Symptome auf. Bei Patienten mit angeborenem oder erworbenen Immundefekt, Patienten, die nach einer Organtransplantation unter immunsuppressiver Therapie stehen, sowie bei kongenital infizierten Neugeborenen kann es bei einer Infektion zu Komplikationen und zahlreichen Organmanifestationen kommen. Diese zeigen sich besonders in Bezug auf die Lunge mit Risiko einer Pneumonie und das Auge, bei dem es durch eine Retinitis zur Erblindung kommen kann. Weitere

Symptome der symptomatischen kongenitalen CMV-Infektion (cCMV) sind Hepatosplenomegalie, Wachstumsretardierungen und Mikrozephalie. Als Spätfolgen treten sensorineurale Hörschädigungen und mentale Retardierung auf (Rawlinson et al. 2017).

2.3 Epidemiologie der kongenitalen CMV-Infektion (cCMV)

Die Prävalenz des humanen Zytomegalievirus ist sowohl von altersbedingten als auch sozioökonomischen Faktoren abhängig. In den USA zeigen 58,9% der Bevölkerung ab einem Alter von sechs Jahren einen positiven CMV-Nachweis. Mit zunehmendem Alter steigt die Seroprävalenz von 36,3% bei den 6-11 Jährigen auf über 90% in einer Altersklasse ab 80 Jahren. In Ländern der Dritten Welt liegt der HCMV mit einer Prävalenz von bis zu 100% vor, während in Industrieländern im Schnitt 60% der Bevölkerung schon einmal mit dem Virus infiziert waren (Staras et al. 2006). Deutschland zeigt eine Seroprävalenz von 42,3% bei schwangeren Frauen (Enders et al. 2012). Damit befinden wir uns im Bereich der CMV-Niederprävalenzländer (Manicklal et al. 2013), deren Verteilung der Prävalenz kongenitaler CMV-Infektionen gemeinsam mit der von Hochprävalenzländern in Tabelle 1 aufgeführt ist.

Tabelle 1: Geschätzte Prävalenzrate kongenitaler CMV-Infektionen in unterschiedlichen Ländern (modifiziert nach(Kagan et al. 2016))

USA	40.000 Fälle
Indien	250.000 Fälle
Brasilien	35.000 Fälle
Südafrika	18.450/1.000.000 Geburten
Thailand	8457/830.000 Geburten
Hochprävalenzland (>70% CMV IgG+)	1000/100.000 Müttern
Niederprävalenzland (50-70% CMV IgG+)	1000/100.000 Müttern
Tübingen	2/1194 Geburten 2011

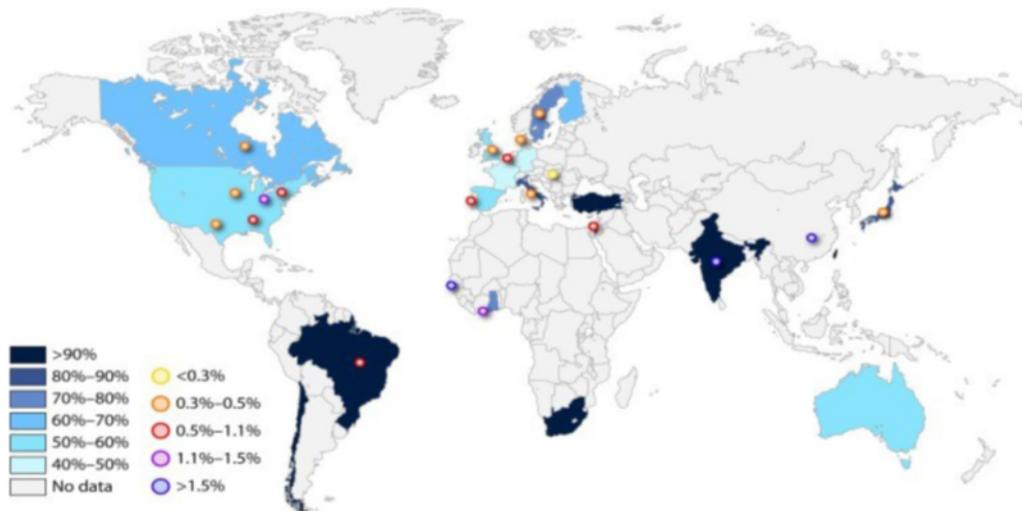


Abbildung 1: aus (Emery und Lazzarotto 2017): Globale CMV-Seroprävalenz und Inzidenz einer kongenitalen CMV-Infektion. Die jeweilige Seroprävalenzrate ist in verschiedenen Farben dargestellt, die cCMV Inzidenz durch Kreise

Die Abbildung zeigt neben der CMV-Seroprävalenz verschiedener Länder auch deren Inzidenz von Neuerkrankungen mit dem Zytomegalievirus. In Deutschland liegt diese bei 0,5 – 1,1 %. Die kongenitale HCMV-Infektion ist die häufigste Ursache angeborener viraler Infektionen in Industrieländern. 0,5-4% der Schwangeren infizieren sich vor bzw. während einer Schwangerschaft erstmalig mit CMV. Die Prävalenz einer kongenitalen CMV-Infektion von Neugeborenen liegt bei 0,4-1,2% (Buxmann et al. 2017). Diese tritt in der Mehrheit nach einer Primärinfektion der Mutter auf, aber auch nach nicht primären maternalen Infektionen. 5-10% der infizierten Neugeborenen sind symptomatisch und zeigen oft mehrere diverse Befunde. Die anderen 90% der konnatal infizierten Kinder weisen bei der Geburt keine Symptome auf. Von ihnen entwickeln 10-15% Spätfolgen in Form von sensorineuralem Hörverlust, der zu verzögerten kognitiven, motorischen und sprachlichen Entwicklungen führt (Buxmann et al. 2017; Hof und Dörries 2009).

2.4 Vertikale Transmission: Mutter-Kind-Übertragungswege

Es gibt zwei Hauptwege der Übertragung des HCMV von der Mutter auf ihr Kind. Die postnatale Transmission über die Muttermilch ist epidemiologisch bedeutender. Fast alle seropositiven Frauen (95%) reaktivieren das Zytomegalievirus während der Laktation. Virale DNA zeigt sich bei Schwangeren, die das Virus übertragen, schon früh nach etwa 3,5 Tagen in der Muttermilch, nach 10 Tagen ist infektiöses Virus nachweisbar. In 37% der Fälle wird das CMV auf das Neugeborene übertragen (Hamprecht et al. 2001). Der Großteil dieser Kinder zeigt keine Symptome. Bei Frühgeburten muss jedoch mit einem Risiko von 10% mit sepsisartigen Symptomen gerechnet werden (Hamprecht und Jahn 2007).

Ein weiterer Weg des Virustransfers ist die maternofetale intrauterine Transmission. Dazu kann es sowohl bei seronegativen Schwangeren nach Primärinfektion, als auch bei bereits präkonzeptionell seropositiven Frauen mit sekundärer Infektion während der Schwangerschaft kommen. Letztere weisen schon mütterliche CMV-Antikörper nach einer früheren Infektion auf, welche den Fetus schützen und den Schweregrad der Folgen einer kongenitalen CMV-Infektion mildern (Fowler et al. 1992). Außerdem übertragen jene Frauen seltener den Virus als solche, die initial seronegativ vor der Schwangerschaft waren (Fowler et al. 2003).

Kommt es zu einer Primärinfektion während der Schwangerschaft, zeigen sich je nach Infektionszeitpunkt der Mutter unterschiedlich hohe Transmissionsraten auf den Fetus. Bei Frauen, die eine CMV-Infektion präkonzeptionell, also etwa zwei Wochen vor der letzten Menstruation erworben haben, liegt das Transmissionsrisiko bei etwa 9% (Revello et al. 2006; Daiminger et al. 2005; Revello et al. 2002). Eine deutlich höhere Transmissionsrate (45%) liegt bei Frauen mit perikonzeptioneller Infektion vor (Daiminger et al. 2005). Erste Symptome des CMV zeigen sich dabei eine Woche bis 5 Wochen nach der letzten Periode. Die Diagnostik der rekurrenten CMV-Infektion der Schwangeren umfasst Serologie (IgM/IgG/IgG Avidität) und PCR aus Blut und Sekreten (Urin, Speichel). Dabei ist bei sekundär Infizierten IgG quantitativ

erhöht, IgG Avidität hoch, IgM Indices nieder und virale DNAämie ggf. feststellbar (siehe Tab. 2) (Hamprecht 2017).

Tabelle 2: HCMV-Primärinfektion vs. Nicht-Primärinfektion: Einfluss auf Basis-Laborparameter aus (Hamprecht 2017)

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

Das Übertragungsrisiko während einer Schwangerschaft liegt bei einer Primärinfektion im ersten Trimester bei 30-42%, im zweiten bei 38-45% und im dritten bei 64-77% (AWMF S2k-Leitlinie 2014). Abhängig vom Infektionszeitpunkt zeigt sich auch das Outcome infizierter Neugeborener in unterschiedlich starker Ausprägung. Bei maternaler Infektion im letzten Drittel der Schwangerschaft zeigen sich 95-100% der infizierten Neugeborenen asymptomatisch, auch im zweiten Trimenon zeigt sich der Großteil ohne Symptome, nur 14% sind symptomatisch. Findet die Infektion der Mutter im ersten Trimenon oder perikonzeptionell statt, liegt das Risiko eines Aborts bei 20% (AWMF S2k-Leitlinie 2014). Etwa ein Viertel der Kinder sind symptomatisch und 50% von diesen haben drei oder mehr Fehlbildungen (Pass et al. 2006; Hui und Wood 2015).

2.4.1 CMV-Primärinfektion versus CMV-Non-Primärinfektion

Die kongenitale Transmission des CMV nach einer Primärinfektion der seronegativen Schwangeren kann für den Fetus schwere Folgen haben. Deshalb wird nach Maßnahmen geforscht, um diese zu verhindern. Jedoch schützt auch die präkonzeptionell erworbene mütterliche Immunität nicht vor einer Übertragung auf das ungeborene Kind. Es wird sogar davon berichtet, dass die höchste Rate kongenitaler CMV-Infektionen in Hochprävalenzländern vorliegt, in denen auch Frauen im gebärfähigen Alter die höchste Prävalenz serologischer Immunität gegen das Virus zeigen. Eine rekurrente Infektion immuner Frauen kann zum einen durch die Reaktivierung der latenten Viruszellen auftreten, zum anderen kann es zu einer Reinfektion mit einem neuen CMV-Virusstamm kommen. Dieser neue Virusstamm kann dann auf den Fetus übertragen werden. Britt hat zur Verdeutlichung der bis dato geltenden Annahme, die erworbene Immunität könne die Transmission des CMV in Schwangeren mit einer nicht primären Infektion limitieren, die Transmissionsraten von primärer und nicht primärer Infektion ausgewertet. Die Transmissionsrate könne bei sekundären Infektionen zwischen 1-40% liegen. Geht man von einer Serokonversionsrate von 3% aus, welche der der nicht immunen Frauen entspricht, dann liegt das Risiko der Transmission bei 40%. Daraus folgert er, dass die erworbene Immunität gegen das CMV überschätzt wird (Britt 2017).

2.5 Klinik der kongenitalen HCMV-Infektion

Es gibt typische sonographische Auffälligkeiten, die den Verdacht auf eine intrauterine CMV-Infektion lenken sollten. Diese können in Zeichen, die das Zentralnervensystem (ZNS) betreffen und extrazerebrale Infektionszeichen unterschieden werden. Die Detektionsrate kongenital infizierter Feten durch Ultraschall liegt bei nur etwa 15% (Guerra et al. 2008). Die Ventrikulomegalie und die Periventrikulitis als eine periventrikuläre Echogenitätserhöhung sind als

zerebrale Zeichen häufig im Ultraschall darstellbar. Nach einer vorangegangenen Enzephalitis zeigen sich die Mikrozephalie und intraventrikuläre Verkalkungen als Spätfolgen. Weiterhin kommt es aufgrund von destruktiven Prozessen im Gehirn zu Folgen im Sinne von periventrikulären Pseudozysten und intraventrikulären Verwachsungen. Bei sonographischer Darstellung solcher schwerwiegenden ZNS-Befunde muss generell mit postnatalen Entwicklungsstörungen des Kindes gerechnet werden (Kagan et al. 2016).

Da der Zytomegalievirus eine hohe Affinität zu Endothelzellen hat, zeigen sich extrazerebrale Manifestationen unspezifisch und teilweise den ganzen Körper des Fetus betreffend. Diese können, falls das Gehirn nicht betroffen ist, unter Umständen bis zur Geburt folgenlos ausheilen. Am häufigsten beobachtet man die intrauterine Wachstumsretardierung, eine Vergrößerung von Leber und Milz und einen hyperechogenen Darm. Zudem treten oft eine verminderte Menge an Fruchtwasser und die Plazentamegalie auf. Solche Befunde deuten vorzugsweise auf eine akute Infektion und eine schwere Plazentafunktionsstörung hin. Eine Plazentafunktionsstörung resultiert daraus, dass die Plazenta infiziertes Zielgewebe ist, welches eine Rolle während der Schwangerschaft spielt. Zum anderen ist sie ein Erregerreservoir. Eine in diesem Sinne signifikant verdickte Plazenta zeigt sich bei Schwangeren mit infizierten Feten. Plazentafunktionsstörungen können aber auch nicht infektiöse Ursachen haben und zu jenen Symptomen führen. (Kagan et al. 2016; Benoist et al. 2008).

Tabelle 3: Klinische Befunde symptomatisch infizierter Kinder (Rawlinson et al. 2017; Hamprecht und Jahn 2007)

Klinik	Häufigkeit (%) [nach (Hamprecht und Jahn 2007)]
Petechien	76
Ikterus	67
Hepatosplenomegalie	60
Mikrozephalie	53
Intrauterine Wachstumsretardierung	50
Retinitis/Optikusatrophie	20
Purpura	13
Krämpfe	7
Thrombozytopenie	
Hepatitis (erhöhte Transaminase oder Bilirubin)	
Zentralnervensystem Erkrankungen <ul style="list-style-type: none"> • Ventrikulomegalie • Intracerebrale Verkalkungen • Periventrikuläre Echogenität • Kortikale oder zerebelläre Malformationen 	

Postnatal zeigt sich die Klinik symptomatisch infizierter Neugeborener in diversen Symptomen. Die klinischen Symptome und die Häufigkeit ihres Auftretens sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Außerdem entwickelt etwa ein Zehntel der bei Geburt asymptomatischen Kinder im Kleinkindalter Folgeschäden wie sensorineurale Hörschädigung (59%), mentale Retardierung (IQ >70: 47%; IQ >50: 36%), psychomotorische Schädigungen (63%) und Zerebralparesen (49%) (vgl. Tab. 4) (Hamprecht und Jahn 2007; Kagan et al. 2016).

Tabelle 4: Inzidenz der Folgeschädigungen (Sequelae) symptomatisch kongenital HCMV-infizierter Kinder im Langzeit-Follow-up [modifiziert nach (Hampracht und Jahn 2007)]

Folgeschäden	Inzidenz (%)
Sensorineurale Hörschädigung	59
Mentale Retardierung	
• IQ > 70	47
• IQ < 50	36
Zerebralparese	49
Krämpfe	11
Psychomotorische Schädigungen	63
Chorioretinitis	13
Weitere Folgen	71

2.6 Diagnostik einer HCMV-Infektion in der Schwangerschaft

2.6.1 Maternaler Serostatus

Da eine CMV-Infektion auch im akuten Stadium bei immunkompetenten Erwachsenen meist asymptomatisch verläuft, wird sie oft von den Schwangeren nicht bemerkt. Bei weniger als 20% der Schwangeren wird von Symptomen berichtet, welche sich dann als nicht spezifisch und mild zeigen wie etwa persistierendes Fieber, Muskelschmerzen und Lymphknotenvergrößerung (Lazzarotto et al. 2008).

Um nach sonographischen Auffälligkeiten während der Schwangerschaft eine Primärinfektion mit dem CMV zu verifizieren, eignen sich daher verschiedene virologische Testverfahren. Die Diagnose der CMV-Primärinfektion in der Schwangerschaft wird vorwiegend serologisch durchgeführt. Für den CMV-DNA-Nachweis wird als Goldstandard die quantitative PCR (Polymerasekettenreaktion) verwendet, die Virusisolierung kommt bei der Diagnostik einer fetalen Infektion bzw. bei infizierten Neugeborenen zum

Einsatz (siehe Tab. 5). Für die serologische Untersuchung der Mutter stehen Ligandenassays (z.B. ECLIA, CMIA), Immunoblots, CMV-IgG-Aviditäts Tests und Neutralisationstests zur Verfügung. Eine sichere Diagnose einer Primärinfektion ergibt sich aus Betrachtung der Ergebnisse mehrerer CMV-spezifische Parameter miteinander.

Tabelle 5: Diagnostische Methoden zum direkten CMV-Nachweis (AWMF S2k-Leitlinie 2014)

Prinzip	Methode	Untersuchungsmaterial
CMV-DNA-Nachweis	Quantitative PCR Angabe: Genomkopien/ml	Leukozyten; EDTA-Blut, Vollblut, Plasma (Bestimmung des Infektionsstatus) Urin, Rachenabstrich/ spülung (Bestimmung der CMV-Ausscheidung, Diagnostik bei Neugeborenen) Fruchtwasser, Nabelschnur- blut (Diagnostik der fetalen Infektion)
CMV-Isolierung	Anzucht in der Zellkultur (humane Vorhautfibroblasten) Kurzzeit-Mikrokultur zum CMV- Antigen-Nachweis mittels Immunfluoreszenz Spezialdiagnostik	Urin, Rachenabstrich/ spülung (Bestimmung der CMV-Ausscheidung; Diagnostik bei Neugeborenen) Fruchtwasser (Diagnostik der fetalen Infektion)

Ligandenassays ermöglichen die Bestimmung und Differenzierung der Ig-Klassen (IgG und IgM). Beide Antikörperklassen zeigen einen spezifischen Verlauf bei einer Primärinfektion. CMV IgM Antikörper werden bei Primärinfektionen initial detektierbar (Basson et al. 1989). Daher liegen sie zu Beginn der humoralen Immunantwort in hohen Konzentrationen vor und

nehmen im weiteren Verlauf einer Infektion ab (Abb. 2). Das IgG ist erst verzögert nachweisbar und steigt auf ein Plateau an (Abb. 2). Mithilfe der Serokonversion des IgG können primäre CMV-Infektionen leicht diagnostiziert werden (Bodeus et al. 1998). Die Serokonversion ist zum Nachweis der CMV-Primärinfektion in der Schwangerschaft der Goldstandard (PCR ist dazu nicht geeignet). Voraussetzung hierfür sind jedoch zwei verfügbare Serumproben. Die erste sollte zu Schwangerschaftsbeginn genommen werden (AWMF S2k-Leitlinie 2014). Daher dient der Nachweis des IgM lediglich als Kennzeichen einer akuten oder frischen Infektion (Lazarotto et al. 2008; Bodeus et al. 1998; Basson et al. 1989). Das IgM wird aber auch bei einer Reaktivierung des Virus nachweisbar. Bei einem positiven Nachweis ist daher im Zusammenhang mit dem IgG-Nachweis auch immer die IgG-Avidität zu begutachten (Munro et al. 2005; Lazarotto et al. 1997; Prince und Lape-Nixon 2014).

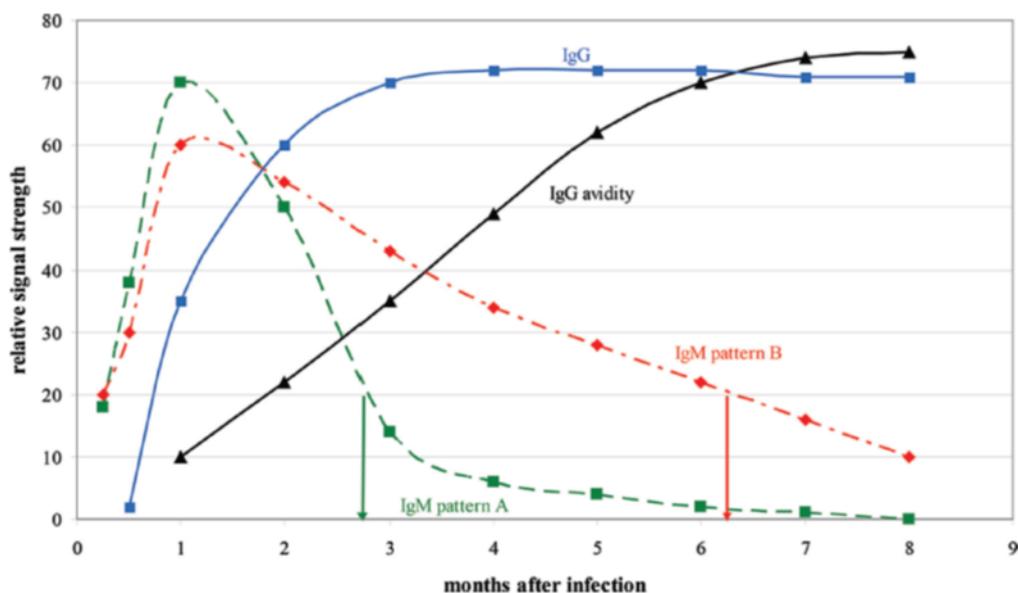


Abbildung 2: Antikörperdynamik einer CMV-Primärinfektion, schematisch (Prince und Lape-Nixon 2014)

Um zwischen primärer und latenter Infektion zu differenzieren, soll der Nachweis der CMV-spezifischen Antikörper im Sinne einer Stufendiagnostik vorgenommen werden (AWMF S2k-Leitlinie 2014).

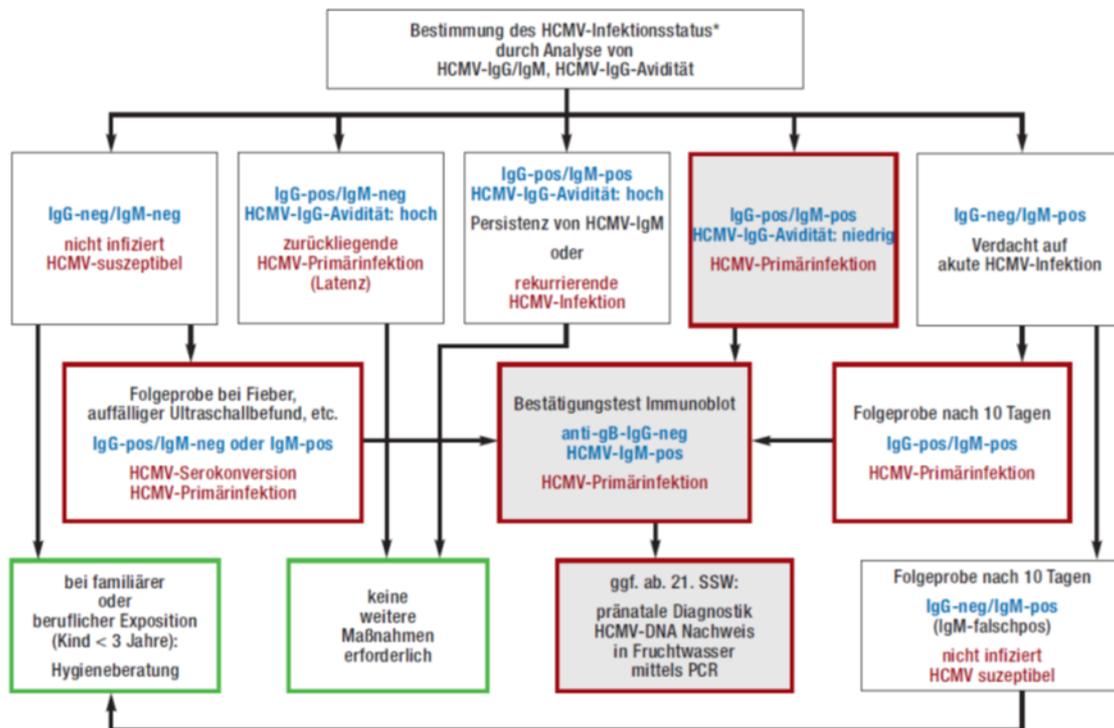


Abbildung 3: aus (AWMF S2k-Leitlinie 2014) (Autor Hamprecht, K): Vorgehensweise der Labordiagnostik

Diese sieht vor, die IgG-Avidität bei jedem positiven CMV-IgM-Nachweis in der Schwangerschaft zu untersuchen. Die Avidität von Antikörpern zeigt die Bindungsstärke eines multivalenten Antikörpers mit einem multivalenten Antigen. IgG Antikörper, die während der Immunantwort einer primären Infektion gebildet werden, haben eine wesentlich niedrigere Avidität als solche, die bei einer nicht-primären Infektion nachweisbar sind. Der Grad der IgG-Avidität spiegelt die Reife der Immunantwort wieder, indem sie langsam und zunehmend steigt (Lazarotto et al. 2008) (Abb. 2). Dies wird unter dem Begriff der Aviditätsmaturation zusammengefasst.

Niedrige bis ansteigende Aviditätsindices zeigen sich bei Immunkompetenten für etwa 16 Wochen post infectionem (Lazarotto et al. 1997; Lazarotto et al. 2008) und sprechen daher für eine frische Infektion. Liegt eine Infektion weit zurück, zeigen alle Patienten hohe Aviditätsindices (Bodeus et al. 1998). Da

das Serum IgG nach abgelaufener Primärinfektion hochavid bleibt, wird es zur Differenzierung zwischen primärer und sekundärer Infektion herangezogen (Buxmann et al. 2017). Lazzarotto et al. schreibt, dass durch die frühe Bestimmung der anti-CMV-Antikörper Avidität alle Frauen identifiziert werden können, die den Virus kongenital übertragen (Lazzarotto et al. 1999).

Eine weitere Methode der Serodiagnostik als Bestätigungstest einer Primärinfektion ist die Erfassung von Antikörperreaktivitäten gegen definierte CMV-Proteine mithilfe eines Immunoblots. Dabei spielt vor allem das virale Glykoprotein B eine Rolle, da neutralisierende Antikörper gegen dieses bei einer frischen Primärinfektion nicht nachweisbar sind. Die Serokonversion zeigt sich erst nach etwa 100 Tagen (Schoppel et al. 1997; Robert Koch Institut; Ratgeber für Ärzte). Ein fehlender Nachweis Glykoprotein- (gB-)spezifischer Antikörper eignet sich daher als Indikator, Schwangere mit einer HCMV-Primärinfektion zu identifizieren (Hamprrecht und Jahn 2007). Jedoch ist anzumerken, dass etwa 15% der HCMV-Infizierten nicht auf das rekombinante gB-Antigen ansprechen, da die Bildung dieser spezifischen Antikörper ausbleibt (Hamprrecht und Jahn 2007). Dieser diagnostische Algorithmus zur Identifizierung einer CMV-Primärinfektion in der Schwangerschaft ist in Abbildung 3 dargestellt. Eine Übersicht der Nachweismethoden CMV-spezifischer Antikörper findet sich in Tabelle 6.

Tabelle 6: Nachweismethoden CMV-spezifischer Antikörper; PI=Primärinfektion (AWMF S2k-Leitlinie 2014)

Methode	Anmerkung
Ligandenassays (z.B. CMIA, ECLIA)	Bestimmung und Differenzierung der Ig-Klassen (IgG, IgM) in Serum oder Plasma Einfache Durchführung, kommerziell verfügbar, teilweise automatisiert
Immuno/Westernblot	Bestimmung und Differenzierung der Ig-Klassen (IgG, IgM) in Serum oder Plasma Bestimmung von IgG-Reaktivitäten gegen definierte CMV-Proteine (anti-gB-IgG bei frischer CMV-PI nicht nachweisbar) Einfache Durchführung, kommerziell verfügbar Spezialdiagnostik
CMV-IgG-Avidität (ELISA, Immunoblot)	Differenzierung zwischen CMV-PI und CMV-Latenz/CMV-Rekurrenz Stufendiagnostik bei IgM-Nachweis in Schwangerschaft
Neutralisationstest	Funktioneller Antikörpertest: Differenzierung zwischen CMV-PI und CMV-Latenz/CMV-Rekurrenz PI: innerhalb von 3-4 Wochen Nachweis neutralisierender Antikörper in Epithelzellkultur; innerhalb von 3-4 Monaten in Fibroblastenzellkultur Spezialdiagnostik

2.6.2 Fetale CMV-Diagnostik

Zur Abklärung von Risikoschwangerschaften trägt eine differenzierte Pränataldiagnostik bei. Diese kann im Sinne von Ultraschall und invasiven Maßnahmen unternommen werden. Eine Ultraschalluntersuchung ist nicht invasiv und zeigt für CMV typische Auffälligkeiten, jedoch hat sie nur eine geringe Sensitivität. Nur etwa 5% der infizierten Kinder werden hierbei identifiziert (Ville 1998). Die Amniozentese ist eine gängige invasive Methode. Dabei wird unter Ultraschallkontrolle eine Probe des Fruchtwassers genommen (Lazzarotto et al. 2008). Dieses wird mittels Zellkultur und PCR auf CMV getestet, wobei die PCR eine höhere Sensitivität aufweist (Benoist et al. 2013). Falsch-negative Ergebnisse sind nicht selten, die meisten Fälle zeigen sich bei zu früh durchgeführter Amniozentese (Lazzarotto et al. 2008). Dabei muss genügend Zeit seit dem maternalen Infektionszeitpunkt vergangen sein. Der Zytomegalievirus repliziert langsam, weshalb etwa sieben Wochen ab der Infektion der Mutter abgewartet werden müssen. Dann werden ausreichende Mengen des Virus über den fetalen Urin ausgeschieden, die im Fruchtwasser detektiert werden können (Lazzarotto et al. 2008; Meyer-Wittkopf et al. 2009; Revello und Gerna 2002). Um zu gewährleisten, dass die Urinausscheidung des Feten für den Virusnachweis ausreicht, sollte bis zur 20. Schwangerschaftswoche mit der Durchführung der Amniozentese abgewartet werden (Benoist et al. 2013). Eine 2017 von Enders et al. durchgeführte Studie regt jedoch zur erneuten Reevaluation eines optimalen Zeitpunktes der Amniozentese an. Verglichen wurden Ergebnisse von Amniozentesen, die bei einem GA (Wochen) $\geq 17+0 \leq 19+6$ durchgeführt wurden mit denen, die ab einem GA (Wochen) $> 20+0$ durchgeführt wurden. Wenn in beiden Fällen mindesten ein Intervall von acht Wochen seit der maternalen Infektion eingehalten wird, zeigen sich zu beiden Zeitpunkten Sensitivitäten von über 90%. Die Durchführung invasiver Pränataldiagnostik kann also bei Frauen mit prä- / perikonzeptioneller oder früher Primärinfektion im ersten Trimester annäherungsweise ab 17. Schwangerschaftswoche durchgeführt werden, solange das Intervall von 8 Wochen eingehalten wird. Jedoch muss diese Option in weiteren Studien untersucht werden, da in dieser Studie die Zahl der Fälle

mit intrauteriner Transmission und einer vor der 20. Schwangerschaftswoche durchgeführten Amniozentese limitiert war (Enders et al. 2017).

Postpartal erfolgt die Diagnose einer kongenitalen CMV-Infektion durch Virusisolierung und/oder PCR aus Urin und Speichel. Eine Kurzzeitvirokultur über Nacht ist möglich (Hamprecht und Jahn 2007; AWMF S2k-Leitlinie 2014). Es hat sich gezeigt, dass solche Untersuchungen innerhalb der ersten 10 Tage nach der Geburt durchgeführt werden sollten (Hamprecht und Jahn 2007), da bereits ab diesem Zeitpunkt bei den Kindern Virus nachgewiesen werden kann, welches über die Muttermilch übertragen wird (Hamprecht et al. 2001). Ein serologischer Nachweis ist nicht indiziert, da bei Neugeborenen in 80% der Fälle keine CMV-IgM-Antikörper nachweisbar sind, vorhandene IgG-Antikörper sind Leihititer der Mutter und daher ohne Aussagewert. Die Quantifizierung der viralen DNAämie hingegen gewinnt zunehmend an Bedeutung. Symptomatisch infizierte Kinder zeigen bei der Geburt eine höhere Viruslast im Blut, als solche, die ein geringes Risiko für die Entwicklung einer sensorineuralen Hörstörung haben (Hamprecht und Jahn 2007; Cannon et al. 2011).

2.6.3 Retrospektive CMV-Diagnostik mit Guthrie-Testkarten

Des Weiteren gibt es die Möglichkeit des retrospektiven CMV-Nachweises aus Trockenblut-Filterkarten. Diese sogenannten Guthrie-Testkarten enthalten auf Filterkarten aufgetragenes und getrocknetes Fersenkapillarblut von Neugeborenen, welches kurz nach der Geburt entnommen wird. Die Analyse des Trockenbluts erlangt insofern eine Einschränkung, dass Guthrie-Testkarten nur für drei Monate nach der Geburt gelagert werden dürfen, bevor sie nach einem GBA-Beschluss vom 21.12.2004 als Restblutproben vernichtet werden müssen (AWMF S2k-Leitlinie 2014). Dadurch ist es leider oft nicht möglich bei Kindern mit einer Hörstörung im Kleinkindalter retrospektiv das Vorliegen einer kongenitalen HCMV-Infektion zu untersuchen und therapeutische Maßnahmen im Sinne eines Hörgerätes oder der Einleitung einer antiviralen Therapie anzuwenden. In Deutschland müssen Restblutproben, zu denen die Guthrie-

Trockenblutkarte zählt, nach drei Monaten vernichtet werden (Kassenärztliche Bundesvereinigung 2004). Für künftige epidemiologische Studien stehen sie daher nicht zur Verfügung (Hamprecht und Jahn 2007).

2.7 Potentielle Therapieoptionen in der Schwangerschaft

Die maternale Immunität und die Plazenta haben bei einer fetalen Infektion Schlüsselrollen bei der Inhibition und Reduktion der Pathogenität des Virus (Nigro und Adler 2013). Bei einer sehr frühen CMV-Infektion in den ersten Wochen der Schwangerschaft, werden initial maternale Antikörper mit hoher IgG-Avidität und hoher Neutralisationskapazität noch nicht ausreichend gebildet. Eine diaplazentare Virustransmission kann daher durch die eigene humorale Immunantwort nicht effizient verhindert werden. Hier können hochavide Immunglobulinpräparate helfen, das Risiko einer kongenitalen Transmission zu reduzieren (Kagan et al. 2016). Die Möglichkeiten der Vakzinierung und antiviralen Therapie sind weitere Optionen, die im Folgenden näher erläutert werden.

2.7.1 Vakzine

Die Prävention einer maternalen CMV-Infektion spielt eine große Rolle bei der Prävention einer kongenitalen CMV-Infektion. Hierfür wurde bisher ein rekombinanter Glykoprotein B Impfstoff an seronegativen Frauen erprobt. Dieser zeigte zwar eine Wirksamkeit von 50% für die maternale Serokonversion, jedoch zeigte sich im weiteren Verlauf eine abnehmende Immunität, weshalb eine Langzeitwirksamkeit noch in Frage steht. Weitere klinische Studien zu diversen Vakzinen gegen CMV sollen in Zukunft durchgeführt werden (Rawlinson et al. 2017). Solang diese Präventionsmaßnahme noch nicht verfügbar ist, nimmt die Hygieneberatung insbesondere seronegativer Schwangerer eine hohe Stellung ein. Der enge

Kontakt mit Kindern unter zwei Jahren stellt einen Risikofaktor für eine CMV-Infektion der Schwangeren dar, da das Zytomegalievirus für mehrere Monate oder sogar Jahre über den Speichel und den Urin von Kleinkindern ausgeschieden werden kann. Dabei können Kinder hohe Konzentrationen des Virus verbreiten und regelmäßig von anderen Kindern in Kindertagesstätten erhalten. Empfehlungen zur Expositionsprophylaxe gegen das Zytomegalievirus in der Schwangerschaft raten daher von zu engem Kontakt mit Kleinkindern ab und raten zu häufigem gründlichem Händewaschen nach Kontakt mit potentiell infektiösen Gegenständen. (Rawlinson et al. 2017; Buxmann et al. 2017).

2.7.2 HIG-Therapie

CMV-Hyperimmunglobulin (HIG) ist ein Präparat, welches von Blutspendern mit hochtitrigen HCMV-spezifischen IgG Antikörpern gewonnen wird. Die Wirkung des HIG zeigt sich in der Wechselwirkung mit viralen Oberflächenglykoproteinen (Glykoprotein B, Pentamerkomplex) und der daraus folgenden Neutralisation der Virusinfektiosität (Gerna et al. 2008). Eine Analyse verschiedener Hyperimmunglobuline und intravenöser Immunglobuline (IVIg) in vitro zeigt, dass alle Präparate hohe IgG-Konzentrationen und –Aviditäten, sowie sehr starke Bindungsreaktivitäten gegen die sechs viralen rekombinanten Antigene IE1, p150, CM2, p65 gB1 und gB2 zeigen. IgM-Antikörper sind durch die HIG-Aufarbeitung weitgehend abgetrennt. Obwohl IVIGs insgesamt eine zweimal höhere IgG-Konzentration aufweisen, enthalten HIGs mehr CMV-spezifisches IgG. Daher ist die Neutralisationskapazität bei einer Neutralisation von 50% von HIGs höher. In vitro verhindern CMV-spezifische neutralisierende Antikörper, die sowohl in HIG-Präparaten als auch in Standard-IgG-Präparaten präsent sind, Verdünnung eine Infektion von Epithelzellen durch das Virus, weshalb Hyperimmunglobuline durch Standardglobuline substituiert werden können. Jedoch kann nicht davon ausgegangen werden, dass IVIGs auch in vivo einen ausreichenden Schutz bieten (Schampera et al. 2017).

Der Einsatz von Hyperimmunglobulin bei Schwangeren wurde erstmals in einem Fallbericht zu einer Zwillingsschwangerschaft von Nigro et al 1999 beschrieben. Die primäre CMV-Infektion der Mutter führte bei einem der Zwillingenfeten zu einer Wachstumsretardierung. Nachdem die Schwangere HCMV-Hyperimmunglobulin intravenös erhalten hatte, zeigte sich der Erfolg der Therapie durch neuerliches Wachstum des betroffenen Fetus. Neben Hepatosplenomegalie zeigte er bei der Geburt nur Virurie mit DNAämie. Der andere Fetus, welcher zum Zeitpunkt der Geburt negativ für CMV getestet wurde, zeigte nach einer Woche CMV-DNA im Urin. Neun Monate postnatal hatten beide Zwillinge negative Ergebnisse für CMV-DNA (Nigro et al. 1999).

Diesem Befund folgten weitere, meist nichtrandomisierte Studien, um die Wirksamkeit von HIG bei kongenitalen CMV-Infektionen zu überprüfen. In einer 2005 nicht randomisierten Studie wurden insgesamt 181 schwangere Frauen mit einer HCMV-Primärinfektion ausgewertet. 79 dieser Frauen stimmten einer Amniozentese zu, bei 55 wurde HCMV im Fruchtwasser festgestellt. Aus 31/55 Frauen setzte sich die Therapiegruppe zusammen, die mit Hyperimmunglobulin behandelt wurden. Nur eine Frau aus dieser Gruppe (3%) gebar ein Kind mit symptomatischer HCMV-Infektion, verglichen mit 7 von 14 (50%) Schwangeren, die keine HIG-Therapie nach vorhandenem Virusnachweis im Fruchtwasser erhielten. In der Präventionsgruppe von 102 Frauen, bei denen keine Amniozentese durchgeführt wurde, bekamen 37 Hyperimmunglobulin. Sechs von ihnen (16%) gebaren kongenital infizierte Kinder. Dem gegenüber stehen 19 von 47 (40%) nicht behandelte Schwangere aus der Präventionsgruppe mit symptomatisch infizierten Kindern. Die passive Immunisierung geht mit einem signifikant niedrigeren Risiko einer kongenitalen Transmission von CMV einher. (Nigro et al. 2005). Im Gegensatz dazu zeigt die erste randomisierte Placebo-kontrollierte Studie zur Prophylaxe der kongenitalen CMV-Infektion von Revello et al Ergebnisse, die für keine signifikante Reduktion der materno-fetalen Übertragung des HCMV sprechen. 30% der Fälle mit kongenitaler Infektion aus der Therapiegruppe stehen 44% aus der Kontrollgruppe gegenüber (siehe Abb. 4) (Revello et al. 2014). Insgesamt zeigen Studien jedoch einen Trend der

Wirksamkeit der Therapie mit HIG. Sowohl die Rate als auch der Schweregrad von Fehlbildungen, die dem Virus nach einer Primärinfektion der Mutter in der ersten Hälfte der Schwangerschaft geschuldet sind, nehmen ab (Nigro und Adler 2013).

Zur Behandlung symptomatischer Neugeborener mit angeborener CMV-Infektion steht gegenwärtig noch keine evidenzbasierte Therapie zur Verfügung. Antivirale Agenzien wie Ganciclovir und Valganciclovir bieten eine Möglichkeit zur Therapie, werden jedoch aufgrund ihres Toxizitätsprofils bisher nur im Off-Label-Use angewendet (Meyer-Wittkopf et al. 2009; Hamprecht und Jahn 2007).

Studien mit Kontrollgruppe zur Prophylaxe der materno-fetalen Transmission des humanen Zytomegalievirus oder zur Verhinderung einer symptomatischen kongenitalen Infektion mit dem humanen Zytomegalievirus beziehungsweise deren Folgeschäden							
Autor/Jahr (Quelle)	Design	N	IV-Dosis (PEU/kg) ¹	Nachverfolgt (Jahre ab Geburt)	Endpunkt	Ergebnisse	
						HCMV/HIG	Kontrollgruppe
Revello, et al. 2014 (31)	prospektiv, randomisiert, doppelblind (RCT)	123	100 q4w 3-6 Dosen	0	Anteil der infizierten Feten/Kinder	18/61 (30 %), p = 0,13 3/10 symptomatisch 8 Aborte ²	27/62 (44 %) 4/17 symptomatisch 11 Aborte ²
Nigro, et al. 2005 (32)	prospektiv, nichtrandomisiert	84	100 q4w 2-7 Dosen	2	Anteil der infizierten Lebendgeburten	6/37 (16 %), p = 0,02 0 symptomatisch ³	19/47 (40 %) 3 symptomatisch ³
Nigro, et al. 2005 (32)	prospektiv, nichtrandomisiert	45	200 q2-6w 1-3 Dosen ⁴	2	Anteil der Kinder mit symptomat. Infektion	1/31 (3 %) ⁵ , p < 0,001	7/14 (50 %) ⁵
Nigro, et al. 2012 (34)	retrospektiv	64	200 q2-4w 1-4 Dosen	1-5	Anteil der Kinder mit Folgeschäden	4/32 (13 %) ⁵ , p < 0,001	27/32 (85 %) ⁵
Nigro, et al. 2012 (35)	prospektiv, nichtrandomisiert	16 ⁶	200 q4w 1-3 Dosen	2-8	Anteil der Kinder mit Folgeschäden	1/9 (11 %) ⁵ , p < 0,001	8/8 (100 %) ⁵ inklusive 1 Totgeburt
Visentin, et al. 2012 (36)	prospektiv, nichtrandomisiert	68	200 1 Dosis	1	Anteil der Kinder mit Folgeschäden	4/31 (13 %), p < 0,01	16/37 (43 %)

HCMV, humanes Zytomegalievirus; HIG, Hyperimmunglobulinpräparat; IV, intravenös; qXw, alle X Wochen; N, Zahl der schwangeren Teilnehmerinnen mit Primärinfektion; PEU, Einheiten basierend auf dem Referenzstandard des Paul-Ehrlich-Instituts; RCT, randomisierte kontrollierte Studie; symptomat., symptomatisch

¹ Einheiten basierend auf dem Referenzstandard des Paul-Ehrlich-Instituts; ² Bei 18-maligem Nachweis von HCMV im Fruchtwasser wurden wahrscheinlich insgesamt 18 Aborte induziert; ³ Symptomatik inklusive neurologischer Spätschäden; ein weiterer spontaner Abort erfolgte in der Kontrollgruppe; ⁴ Bei neun Frauen wurden zusätzlich zu jeder intravenösen Dosis 400 PEU in die Amnionhöhle oder Nabelschnur injiziert; acht der neun Kinder dieser Frauen waren bei der Geburt und in der

Nachbeobachtungsperiode asymptomatisch; ⁵ In diesen Studien wurde eine Rückbildung von fetalen sonographischen Anomalien und ein Aufholen des Wachstums beobachtet (insgesamt in 30 von 38 Feten in den HCMV-HIG-Gruppen und in acht von 32 Feten in den Kontrollgruppen); ⁶ Darunter drei Frauen mit HCMV-Reaktivierung oder -Reinfektion (eine in der Behandlungsgruppe – normale Kindesentwicklung, zwei in der Kontrollgruppe – beide Kinder symptomatisch) und zwei Frauen mit Zwillingsgeburten.

Abbildung 4: aus (Buxmann et al. 2017) Übersicht von Studien zur HIG-Therapie [(Revello et al. 2014), (Nigro et al. 2005), (Nigro et al. 2012a; Nigro et al. 2012b)(Visentin et al. 2012)]

2.7.3 Postnatale antivirale Therapie

Die antivirale Therapie stellt eine Behandlungsmethode für Neugeborene mit kongenitaler CMV-Infektion dar. In den letzten Jahren wurden sowohl intravenöses Ganciclovir als auch das orale Valganciclovir in verschiedenen Studien getestet. In einer 2015 veröffentlichten Studie wurden symptomatisch infizierte Neugeborene oral mit Valganciclovir behandelt. In den Ergebnissen zeigte sich bei einer 6-monatigen Therapie ab Geburt eine langfristige, signifikante Verbesserung des Hörvermögens und der kognitiven Entwicklung nach 12 und 24 Monaten (Kimberlin et al. 2015).

2.8 Zielsetzung dieser Arbeit

Die kongenitale Infektion mit dem Zytomegalievirus ist weltweit die häufigste unter den angeborenen Virusinfektionen. Dabei spielt eine Primärinfektion in der ersten Hälfte der Schwangerschaft eine bedeutende Rolle, da sie in ca. 10% der Fälle symptomatisch infizierte Neugeborene zur Folge hat. Der Nachweis einer maternalen Primärinfektion ergibt sich aus der Stufendiagnostik CMV-spezifischer Antikörper und deren Avidität, viraler Oberflächenglykoproteine sowie Tegumentproteine. Zur Diagnostik der IgM- und IgG-Antikörper und der IgG-Avidität stehen verschiedene Testverfahren zur Verfügung. Bei Vorliegen einer frühen CMV-Primärinfektion kann den Schwangeren im Studien-Kontext eine Therapie mit Hyperimmunglobulin angeboten werden. HIG beinhaltet hohe Konzentrationen an hochavidem CMV-spezifischen IgG, jedoch keine IgM-Antikörper. Es kann das Risiko einer Transmission des Virus auf den Fetus und somit Symptome bei der Geburt minimieren.

Um primär infizierte Schwangere anhand der Serokonversion identifizieren und eine Therapie allen betroffenen Schwangeren anbieten zu können, wäre es sinnvoll, eine routinemäßige Untersuchung für alle Frauen vor bzw. während

einer Schwangerschaft einzuführen (Schwangerschaftsscreening). Hierfür werden standardisierte virologische Testverfahren benötigt.

Während der Auswertung unserer Daten ist aufgefallen, dass die Ergebnisse der verwendeten Testverfahren ECLIA und CMIA teilweise starke Differenzen aufweisen. Wir wollen diese Unterschiede anschaulich darstellen und auswerten.

Untersucht werden sollen folgende Fragestellungen bei vorliegenden Primärinfektionen in der Schwangerschaft:

- 1) Vergleich der CMV-IgM Indices zwischen automatisierten Enzymimmunoassayverfahren (ECLIA Roche versus CMIA Abbott) und im Vergleich mit dem CMV recomLine Blot
- 2) Vergleich der CMV-IgG Konzentrationen zwischen automatisierten Enzymimmunoassayverfahren (ECLIA Roche versus CMIA Abbott) und im Vergleich mit dem CMV recomLine Blot
- 3) Vergleich der CMV IgG Aviditäten zwischen automatisierten Enzymimmunoassayverfahren (ECLIA Roche versus CMIA Abbott) und im Vergleich mit dem CMV recomLine Blot
- 4) Signifikante Unterschiede, Ausreißer und diskordante Ergebnisse zwischen automatisierten Enzymimmunoassayverfahren (ECLIA Roche versus CMIA Abbott) und im Vergleich mit dem CMV recomLine Blot

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Patientendaten

Im Rahmen der statistischen Analyse wurden die klinischen Daten von insgesamt 90 schwangeren Frauen verwendet, bei denen eine CMV-Primärinfektion nachgewiesen vorliegt. Diese stammen zum einen aus der Zusammenarbeit mit der Pränataldiagnostik der Frauenklinik des Universitätsklinikums Tübingen (UKT). Zum anderen wurden Daten von Schwangeren aus anderen deutschen Kliniken verwendet, die im Konsiliarlabor für HCMV des Universitätsklinikums Tübingen auf eine CMV-Primärinfektion untersucht werden sollten.

Die Frauen befanden sich bei der Erstvorstellung (EV) in unterschiedlichen Stadien der Schwangerschaft. Jeder Einzelfall wurde nach Kriterien für eine Therapie mit Hyperimmunglobulin untersucht. Es wurde mindestens eine Blutentnahme (BE) vor Beginn der HIG-Therapie durchgeführt, also bei der EV. Alle weiteren BEs wurden in einem bestimmten Zyklus genommen, der in Abbildung 5 dargestellt ist.

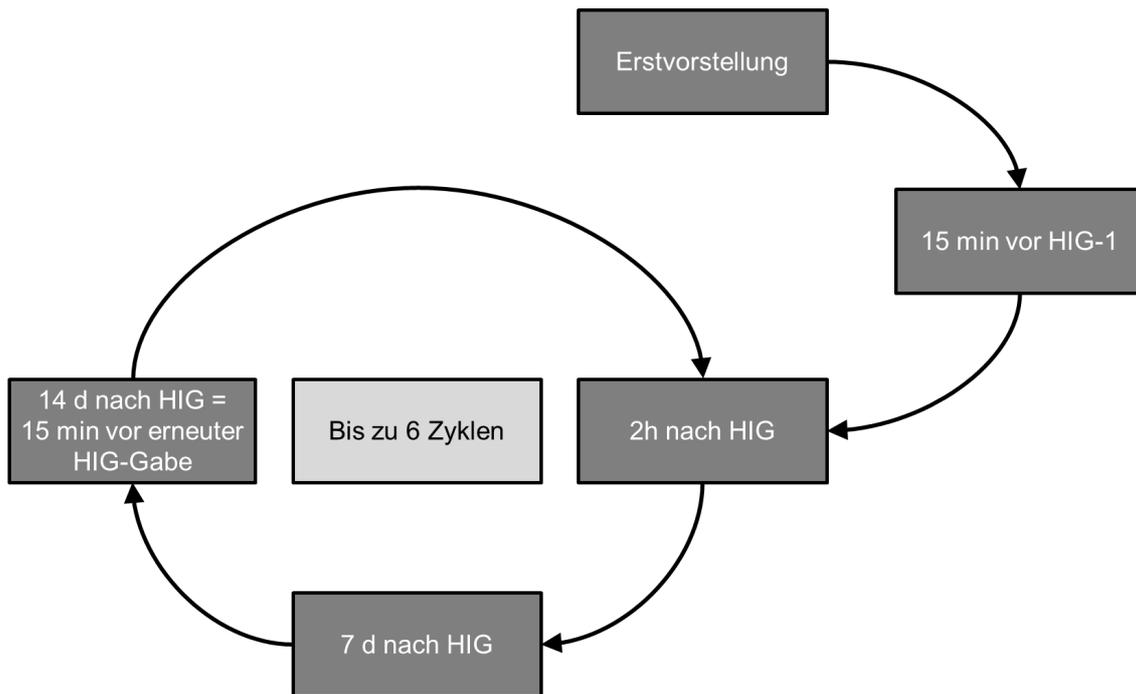


Abbildung 5: Zeitpunkte der BEs | geringe Abweichungen bei einzelnen Patientinnen liegen vor

Dieser Zyklus wurde bis zu sechsmal durchgeführt, je nachdem in welchem GA sich die Schwangere befand. War das GA ≤ 21 . SSW, wurde das HIG maximal bis Woche 18 verabreicht. In der 21.SSW wurde eine Amniozentese zur Untersuchung der Viruslast im Fruchtwasser durchgeführt, um die Transmission des CMV auf den Fetus zu detektieren. Die Prävention der maternofetalen Transmission zum Zeitpunkt der Amniozentese war das primäre Studienziel. Sekundäres Studienziel war die Prävention der maternofetalen Transmission nach der Amniozentese bis zur Geburt.

Das gesamte Patientenkollektiv der 90 Frauen ist anhand des GAs zum Zeitpunkt der EV in drei Kohorten aufgeteilt. Die Kohorte I beinhaltet Patientinnen mit einem GA bis 14+6 SSW und zählt 57 Frauen. Kohorte II sind alle mit einem GA > 15. SSW.

Die HIG-Studienkohorte, ein Teilkollektiv der Kohorte I umfasst 40 Schwangere mit CMV-Primärinfektion mit GA < 15. SSW. Sie zählen zu einer Studie, durchgeführt in einer Kooperation der Pränatalmedizin des UKT (Prof. Kagan) mit dem Institut für Medizinische Virologie des UKT (Prof. Hamprecht), zur

Untersuchung der Effektivität einer longitudinalen HIG-Therapie im Zweiwochen-Intervall bei Schwangeren mit einer CMV-Primärinfektion im ersten Trimester (Kagan et al. 2017). Kriterien dieser Auswahl waren eine diagnostizierte Primärinfektion im ersten Trimester der Schwangerschaft. Die Patientinnen durften bei der Erstvorstellung kein GA > 14,857 Wochen haben, damit für die HIG-Therapie bis zur Amniozentese in der 21. SSW mindestens ein Zeitfenster von sechs Wochen Zeit blieb. Primäres Studienziel ist der Nachweis, dass keine CMV-Transmission auf den Fetus stattgefunden hat. Die maternofetale Transmission wurde durch PCR und Viruskultur aus Fruchtwasser in der 21. SSW diagnostiziert. Im Falle der maternofetalen Transmission wurde CMV-DNA sowie CMV-Isolate im Fruchtwasser nachgewiesen. Lediglich zwei Frauen dieser Studienkohorte übertrugen das Virus auf ihr ungeborenes Kind. Bei einer (AF 72482041) wurde CMV bei der Amniozentese im Fruchtwasser nachgewiesen, hier kam es also im ersten oder zweiten Trimester zur Transmission. Im anderen Fall (AF 71118931) geschah die Transmission erst bei der Geburt, zum Zeitpunkt der Amniozentese konnte CMV nicht im Fruchtwasser detektiert werden. Eine genaue Einteilung der Kohorten ist Abbildung 6 zu entnehmen.

Ausgeschlossen wurden Frauen mit Immunsuppression oder einer HIV-Infektion, jene, die zum Zeitpunkt der klinischen Untersuchung noch nicht volljährig waren und solche, denen schon extern HIG verabreicht wurde, bevor ihre Proben im Tübinger Konsiliarlabor untersucht werden konnten.

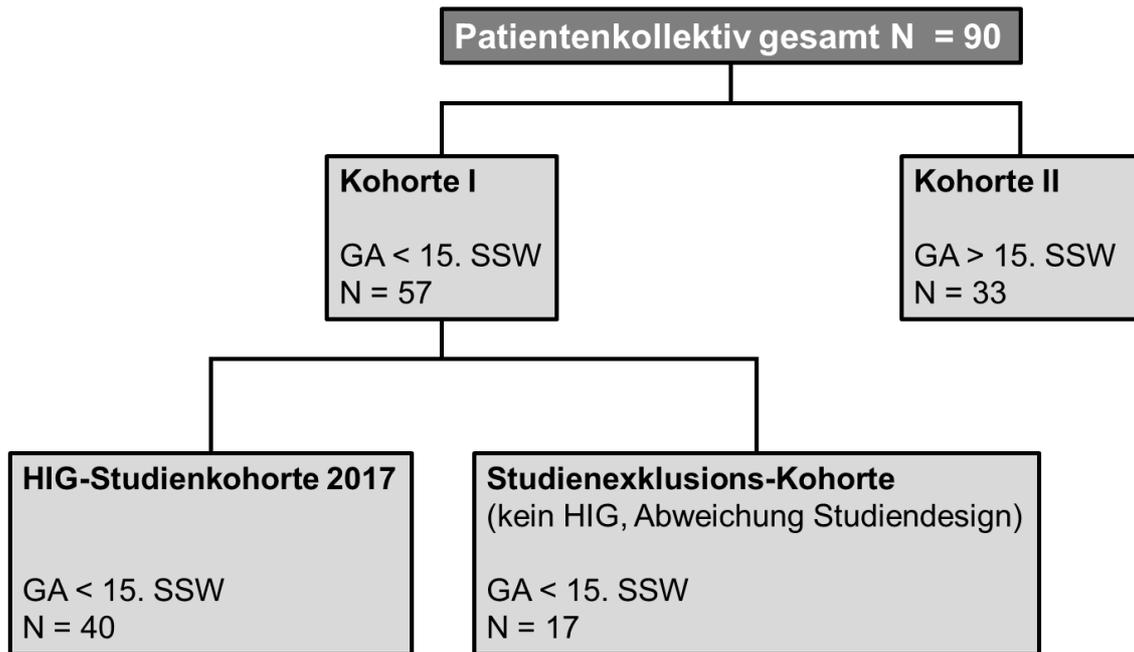


Abbildung 6: Aufteilung des gesamten Studienkollektivs

3.2 Datenerhebung

Die Daten wurden in einem Zeitraum von 2010-2017 erhoben und im Labordatensystem Swisslab abgelegt. Auf dieses System haben nur bestimmte Mitarbeiter des Instituts für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten des Universitätsklinikums Tübingen Zugriff. Von ihnen wurden die Daten aus Swisslab entnommen und in Excel-Tabellen nach dem longitudinalen Verlauf der CMV-Diagnostik übertragen. Im Verlauf der Bearbeitung hat man sie durch neu gewonnene Daten mehrmals aktualisiert. Die Excel-Dateien und Ausdrücke von Befunden aus Swisslab lagen zur statistischen Analyse vor.

3.3 Auswertung der Daten

3.3.1 Pseudonymisierung der Patientendaten

Aus Datenschutzgründen wurden die aus Swisslab extrahierten Daten ohne Angaben von Klartext-Namen oder Geburtsdatum pseudonymisiert. Dies geschah über die Anforderungsnummer eines jeweiligen Untersuchungsauftrags, über welche Daten einer bestimmten Patientin eindeutig zugeordnet werden können.

3.3.2 Wichtige Parameter der CMV-Diagnostik: Blutentnahme und Analyte

Den Patientinnen wurde zum CMV-Antikörpermonitoring der HIG-Therapie mehrmals Blut abgenommen. Die zeitlichen Abstände zwischen den Blutentnahmen und deren Anzahl sind für alle Frauen konstant. Dokumentiert sind dabei immer das Datum der Untersuchung, sowie das Gestationsalter, in dem sich die Schwangere zu diesem Zeitpunkt befand. Das Gestationsalter wird zur statistischen Analyse in stetig numerischer Form in Wochen angegeben, wobei Tage einer angebrochenen Woche mit drei Nachkommastellen angegeben sind.

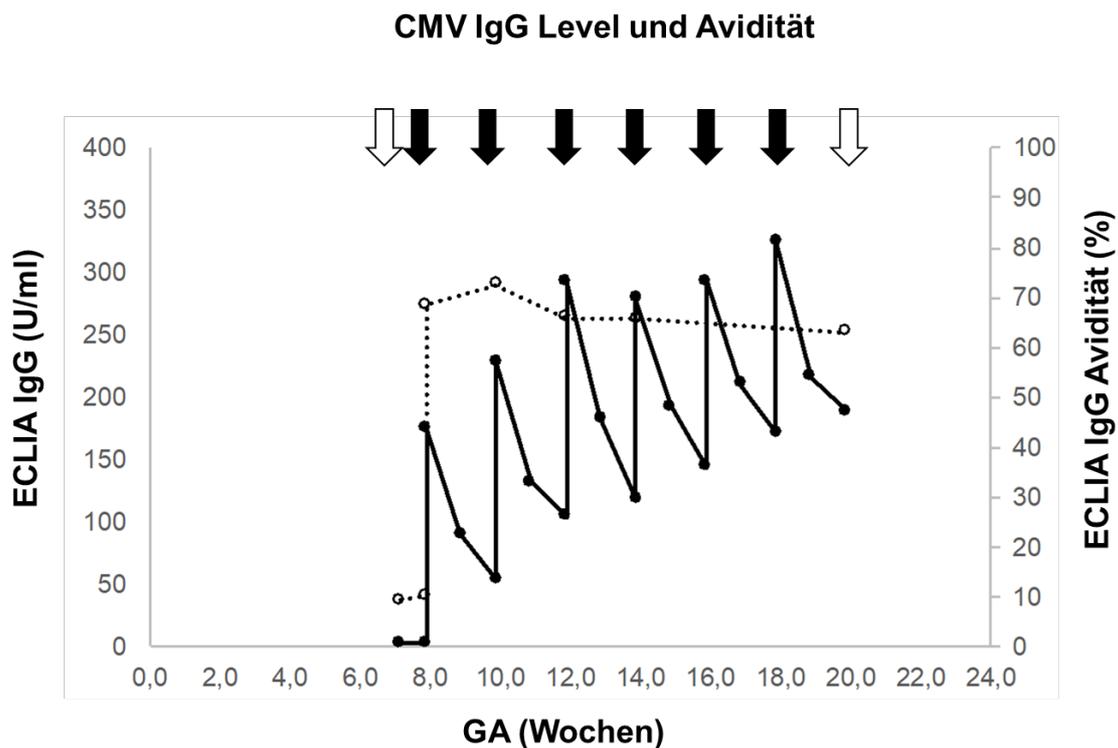


Abbildung 7: CMV IgG Level (schwarze Linie) und entsprechende IgG Avidität (gepunktete Linie) während einer HIV-Therapie eines repräsentativen Falls.

Die HIV-Gabe ist jeweils durch schwarze Pfeile markiert, die EV und die AC jeweils durch die weißen Pfeile. (aus (Kagan et al. 2018))

Die bei der Analyse untersuchten Parameter sind das CMV IgM, IgG und die IgG Avidität.

Das IgG und die IgG-Avidität dienen als Unterscheidungsmerkmale zwischen primärer und sekundärer Infektion. Sie wurden des Weiteren dazu herangezogen Differenzen zwischen den beiden Testverfahren, welche im Labor verwendet wurden und unter 4.3.3 näher dargestellt sind, aufzuzeigen. Hierfür konnten nur die Ausgangswerte verwendet werden, die vor der HIV-Gabe bestimmt worden sind, da die CMV-IgG Konzentration und CMV-IgG-Avidität von der HIV-Gabe stark beeinflusst sind (siehe Abb. 7).

Weiterhin wurde die Antikörperreaktivität des CMV-IgM und CMV-IgG gegen spezifische rekombinante Zytomegalievirus-Antigene im Immunblot (Mikrogen) zum Zeitpunkt der EV hin überprüft. In die Auswertung mit einbezogen wurden

die rekombinanten anti-CMV-IgM Antikörperreaktivitäten gegen rekombinantes IE1, p150, CM2, p65, gB1 und gB2,

3.3.3 Serologische Testverfahren

Zur Bestimmung der CMV Serologie der Mütter wurden zwei verschiedene Testverfahren herangezogen. Diese weisen verschiedene Grenzwerte auf.

Der Elecsys CMV assay ist ein Elektrochemi-Lumineszenz-Immunoassay (ECLIA) und bewertet die IgM-Immunantwort ab einem Index ≥ 1 und das IgG ab einer Konzentration ≥ 1 U/ml als reaktiv. Die IgG Avidität wird bis zu einem Aviditätsindex (AI) $< 45\%$ als gering eingestuft (Roche Diagnostics 2011c, 2011b, 2011a).

Der Architect CMV assay ist ein Chemilumineszens-Mikropartikelimmunoassay (CMIA), der das IgM ab einem Indexwert ≥ 1 als reaktiv bewertet, das IgG ab einer Konzentration ≥ 6 UE/ml. Der IgG Avidität ist bis zu einem AI $< 50\%$ eine niedrige Bindungsaffinität zugeordnet (ABBOTT Diagnostics Division 2007, 2008a, 2008b). Tabelle 7 fasst alle Grenzwerte zusammen. Weitere Informationen wurden aus den jeweiligen Testinformationen der Hersteller entnommen.

Tabelle 7: Interpretation der Ergebnisse der automatisierten Enzymimmunoassays für CMV IgM, IgG und IgG Avidität

	Nicht reaktiv/ niedrige Avidität	Grauzone	Reaktiv/ hohe Avidität
ECLIA IgM Index	<0,7	0,7-1,0	≥1,0
ECLIA IgG	<0,5 U/ml	0,5-1,0 U/ml	≥1,0 U/ml
ECLIA IgG Avi	<45,0%	45,0-54,9%	≥55,0%
CMIA IgM Index	<0,85	0,85-1,0	≥1,0
CMIA IgG	<6,0 UE/ml		≥6,0 UE/ml
CMIA IgG Avi	<50%	50,0-59,9%	≥60,0%

Daten, die beim CMV IgM Index und dem CMV IgG in der Grauzone liegen, wurden als noch grenzwertig positiv angesehen. Alle Werte unterhalb der Grauzone liegen unter dem Cut off „grenzwertig“ und sind negativ. Solche Werte wurden bei der Auswertung ausgeschlossen.

Der rekombinante IgG Aviditätsimmunblot wurde als Referenzstandard einbezogen.

Der Nachweis von Antikörperreaktivitäten gegen spezifische rekombinante Zytomegalie-Virus-Antigene erfolgt anhand eines Immunblots (Mikrogen). Bei Reaktivität der Testlösung gegen eines der Antigene bildet sich auf dem Teststreifen eine blaue Bande. Als Kontrolle ist am oberen Ende des Teststreifen Anti-Human-Immunglobulin aufgetragen, welches immer eine Reaktion zeigt (Müller 2014). Je nach Intensität der Banden auf dem Teststreifen werden den Antigenen eine Reaktivität von (-) bis (+++) zugeteilt. Diese Reaktivitäten werden zur Vereinfachung als Score ausgedrückt. Die Zuteilung der Reaktivitäten und Scores können Tabelle 8 entnommen werden.

Tabelle 8: Zuordnung der Scores zu Reaktivitäten der Testanalyte gegen spezifische rekombinante CMV-Antigene

Teststreifen - Banden	Reaktivität	Score
Keine Reaktion	-	0
Sehr schwache Intensität (<Kontrolle)	+/-	1
Schwache Intensität (~Kontrolle)	+	2
starke Intensität	++	3
Sehr starke Intensität	+++	4

3.4 Datenverarbeitung und statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Excel Version 2010 für Windows und der statistischen Analyseprogramme IBM SPSS Statistics 24 und JMP Version 12.2 für Windows. In zwei Beratungsgesprächen mit Frau Aline Naumann aus dem Institut für Biometrie der Universität Tübingen bekam ich Anregungen zum Vorgehen bei der Auswertung der Daten und es wurden Methoden der statistischen Datenanalyse besprochen.

In Excel wurden die Patientendaten nach aufsteigendem GA bei EV in Tabellen geordnet.

Zur deskriptiven Statistik der Werte der EV CMV-spezifischer Parameter sind Boxplots herangezogen worden. Für Rückschlüsse und Vergleiche der Häufigkeiten dienen Lagemaße wie der Median mit dem interquartilen Abstand und der Mittelwert mit der Standardabweichung. Aus ihnen ließen sich die Signifikanzen berechnen. In dieser Arbeit wurden bei der Auswertung des CMV IgM und IgG jene Daten, die im Bereich der Grauzone liegen, als „grenzwertig positiv“ angesehen und mit in die Berechnungen eingeschlossen. Alle unterhalb des Cut off „grenzwertig“ liegenden Ergebnisse sind negativ und wurden

ausgeschlossen. Sie sind in den zur statistischen Analyse verwendeten Boxplots nicht enthalten und wurden in den Abbildungen als Werte unterhalb des Cut off „grenzwertig“ angegeben. In die Berechnungen mit einbezogen wurden dagegen extrem hohe Daten, die in den Abbildungen nicht als Ausreißer dargestellt wurden, jedoch mit ihren Werten oberhalb der Boxplots angegeben sind.

Zur Veranschaulichung der Korrelation der beiden Parameter CMV IgG-Konzentration und CMV IgG-Avidität wurden Streudiagramme herangezogen. In diesen werden die korrespondierenden CMV IgG- und CMV IgG-Aviditätswertepaare jeder Schwangeren jeweils als Punkt abgebildet, durch die Funktion Loess ergibt sich die zugehörige Regressionsgerade, sodass deren Abhängigkeit voneinander begutachtet werden kann. Diese Art der statistischen Analyse wurde nach Maßgabe der statistischen Beratung durch Prof. Dr. rer. nat. Peter Martus und Frau Aline Naumann des Instituts für klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie des UKT gewählt.

Die Sensitivitäten und positiven prädiktiven Werte der EIAs ECLIA und CMIA ergaben sich aus dem Vergleich der IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot.

Ergebnisse des rekombinanten Immunblots werden in Histogrammen veranschaulicht.

4 ERGEBNISSE

4.1 Erstvorstellung: Vergleich der Immunoassays für CMV IgM, IgG und IgG Avidität des HIG-Studienkollektivs und der Kohorten I und II

Die im Folgenden dargestellten Parameter wurden zum Zeitpunkt der Erstvorstellung untersucht. Es wurden von den insgesamt 90 Schwangeren mit Verdacht auf eine CMV-PI das CMV-spezifische IgM, IgG und die IgG Avidität bestimmt.

Teilweise unterschiedliche Fallzahlen in den Abbildungen resultieren daraus, dass nicht immer alle Proben mit beiden Testverfahren auswertbar waren aufgrund zu niedriger Serumkonzentrationen der jeweiligen Antikörper (siehe Tab. 38 und 39 Anhang) oder aufgrund von nicht verfügbaren externen Serumproben.

4.1.1 Verteilung und Vergleich der ECLIA und CMIA IgM-Indizes zum Zeitpunkt der EV

Betrachtet man die Abbildungen 8 und 9 des HIG-Studienkollektivs ist auffällig, dass der CMIA insgesamt höhere Index-Werte liefert als der ECLIA. Der Median liegt für den ECLIA bei einem Wert von 2,23, für den CMIA ist er mit 3,8 vergleichsweise größer. Die Mittelwerte zeigen sich ähnlich. Daher ergibt sich mit einem p-Wert von $p = 0,234$ keine statistische Signifikanz zwischen den beiden Immunoassays. Für 37 der 40 Frauen wurden Messwerte durch beide Immunoassays erhoben, bei den restlichen drei war der CMIA nicht verfügbar. Der CMIA zeigt nur ein grenzwertiges IgM-Ergebnis, sonst ausschließlich positive Werte. Mit ECLIA liegen fünf Indices unterhalb des Cut off „positiv“ (Tab.9).

Tabelle 9: HIG-Studienkollektiv IgM Serostatus für N = 37/40 | N = 3 na im CMIA

IgM -Serostatus		CMIA IgM			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
ECLIA IgM	positiv	31	1		32
	grenzwertig	3			3
	negativ	2			2
	Summe	37			37

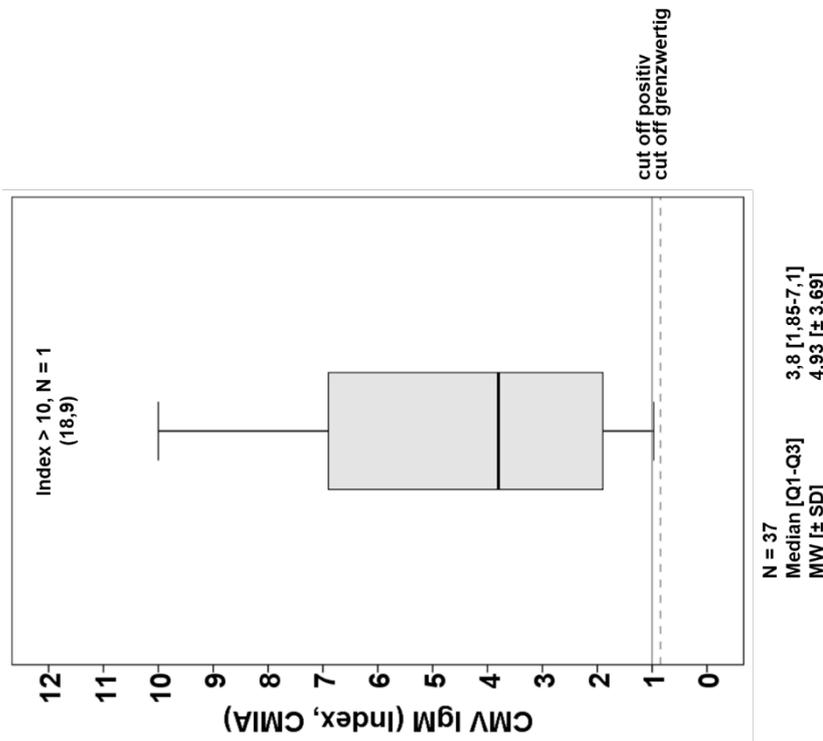


Abbildung 9 : Verteilung der EV CMIA IgM Indices des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 | N = 36 > cut off „positiv“ | N = 1 „grenzwertig positiv“ | N = 3 na

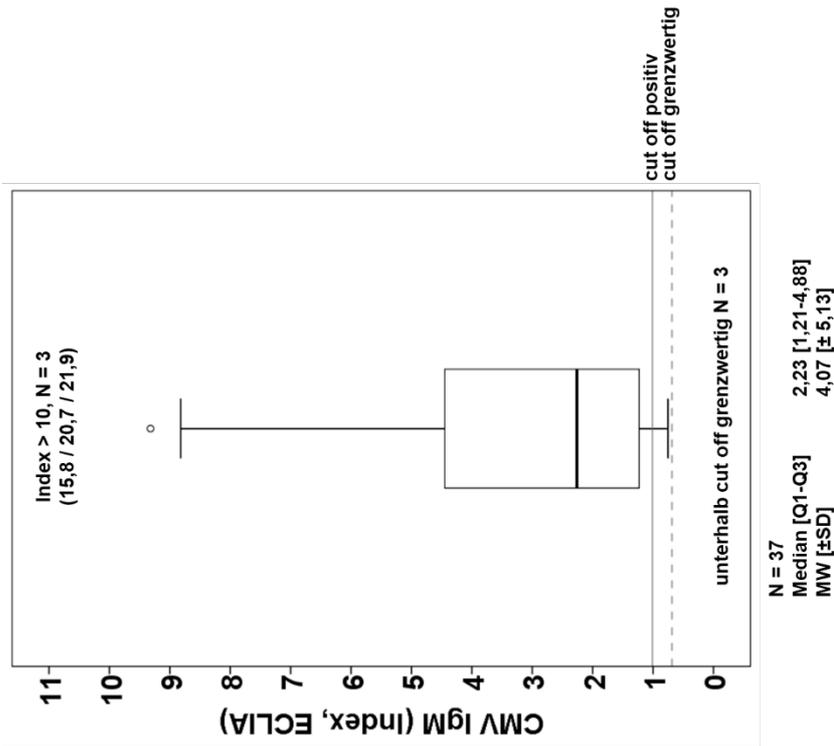


Abbildung 8: Verteilung der EV ECLIA CMV IgM Indices des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 | N = 33 > cut off „positiv“ | N = 4 „grenzwertig positiv“ | N = 3 negativ (ausgeschlossen)(Kagan et al. 2018)

Die Kohorte I zeigt für die EV nicht auswertbare IgM-Indices von zwei Schwangeren mittels ECLIA, mittels CMIA ist bei drei externen Patientinnen das CMV IgM nicht nachweisbar. Die Indices zu ECLIA sind in den meisten Fällen niedrig, es gibt nur wenige Ausreißer nach oben. Im Median liegen sie bei einem Wert von 2,85, der Mittelwert wird durch die wenigen hohen Werte auf 4,95 nach oben gezogen. Bei 3 von 57 Frauen (5,2 %) befindet sich der Index mit einem Wert $< 0,7$ unter dem Cut off grenzwertig und ist somit nicht reaktiv. Die Werte der CMIA IgM-Indices liegen auch hier insgesamt etwas höher. Sie haben eine Ausprägung von 4,85 im Median. Der Mittelwert hat mit 5,66 eine vergleichsweise kleine Differenz zu ECLIA. Auch im Fall der Kohorte I liegt mit einem p-Wert von 0,251 kein signifikanter Unterschied in den Mittelwerten der Testergebnisse für das CMV IgM vor (siehe Tab. 12). Nur für eine Schwangere (1,7 %) wurde ein Index mit einem Wert $< 1,0$ registriert (Abb. 10, 11). In Tabelle 10 sind die ECLIA IgM Indices mit den CMIA IgM Indices der Patientinnen eingetragen, bei denen mit beiden Testverfahren Werte ermittelt werden konnten.

IgM -Serostatus		CMIA IgM			
		positiv	grenzwertig	negativ	Summe
ECLIA IgM	positiv	46	1		47
	grenzwertig	3			3
	negativ	2			2
	Summe	51	1		52

Tabelle 10: Kohorte I IgM Serostatus für N = 52/57 | N = 2 na im ECLIA und N = 3 na im CMIA

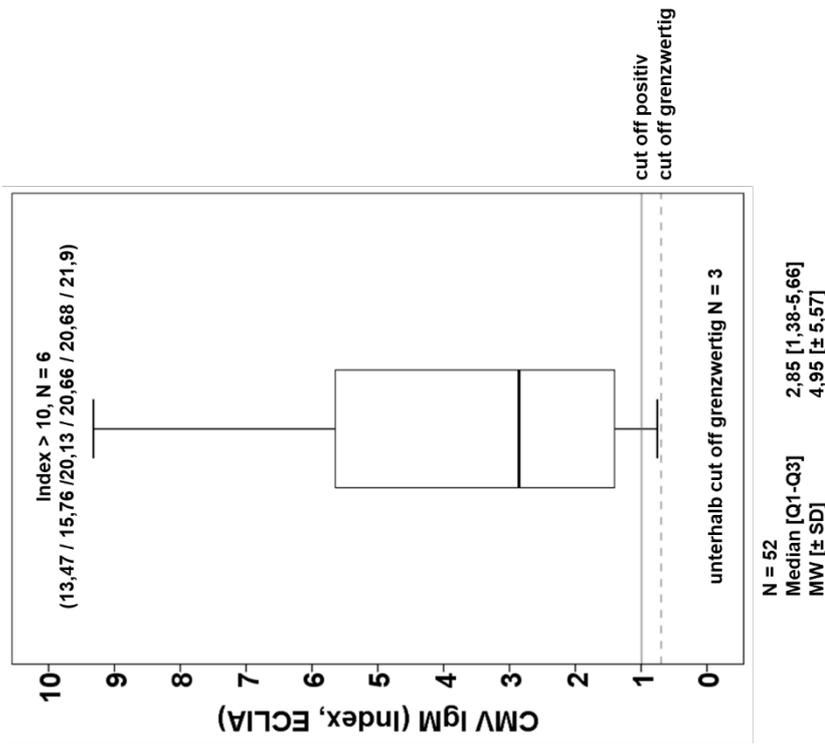


Abbildung 10: Verteilung der EV ECLIA IgM Indices der Kohorte I
N = 52/57 | N = 48 > cut off „positiv“ | N = 4 „grenzwertig positiv“ |
N = 3 negativ (ausgeschlossen) | N = 2 na

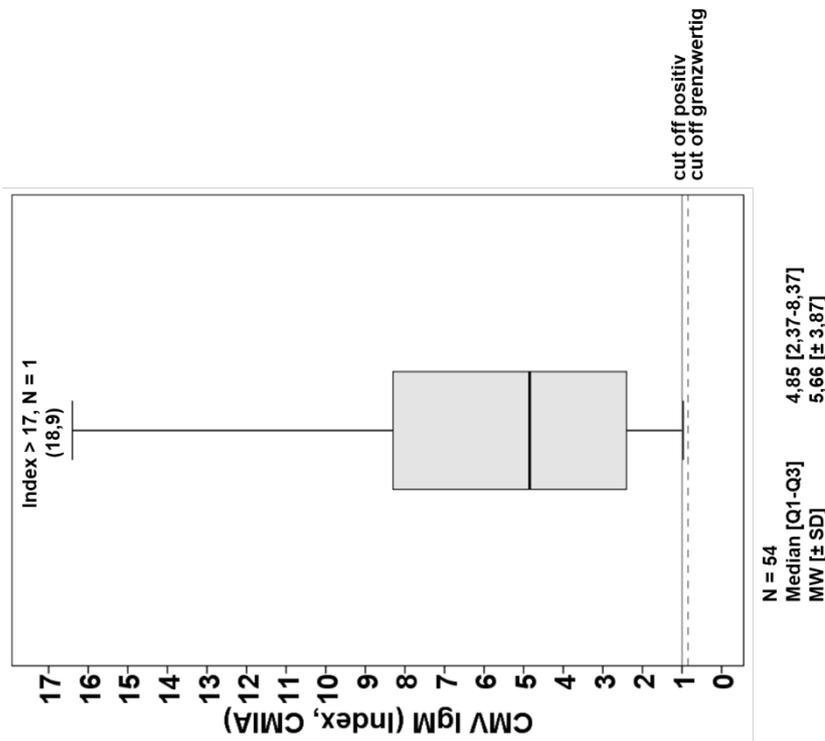


Abbildung 11: Verteilung der EV CMIA IgM Indices der Kohorte I
N = 54/47 | N = 53 > cut off „positiv“ | N = 1 „grenzwertig positiv“
| N = 3 na

Für die Frauen aus der Kohorte II sehen die Verteilungen der ECLIA und CMIA CMV IgM-Indices ähnlich aus. Der Boxplot zu ECLIA beweist am Median einen Wert von 3,46, welcher somit, aufgrund fehlender Werte unterhalb des Cut off, höher liegt als beim HIG-Studienkollektiv und bei Kohorte I. Der Mittelwert ergibt 4,23 (Abb. 12). Bei sechs von 32 Schwangeren war der IgM Index nicht auswertbar. In dem CMIA IgM Boxplot fehlen zwei Fälle, da keine Seren der externen Schwangeren verfügbar waren. Bei 25 Frauen wurden Indices sowohl mit ECLIA als auch CMIA ermittelt. Diese sind alle positiv (siehe Tab. 11). Im CMIA liegt der Median mit einem Wert von 4,7 vor, der Mittelwert mit 6,04. Beide Werte sind zwar denen der Kohorte I sehr nahe (Abb. 13), dennoch liegt für die Kohorte II ein signifikanter Unterschied mit einem p-Wert = 0,025 vor.

Tabelle 11: Kohorte II IgM Serostatus für N = 25/33 | N = 6 na im ECLIA und N = 2 na im CMIA

IgM -Serostatus		CMIA IgM			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
ECLIA IgM	positiv	25			25
	grenzwertig				
	negativ				
	Summe	25			25

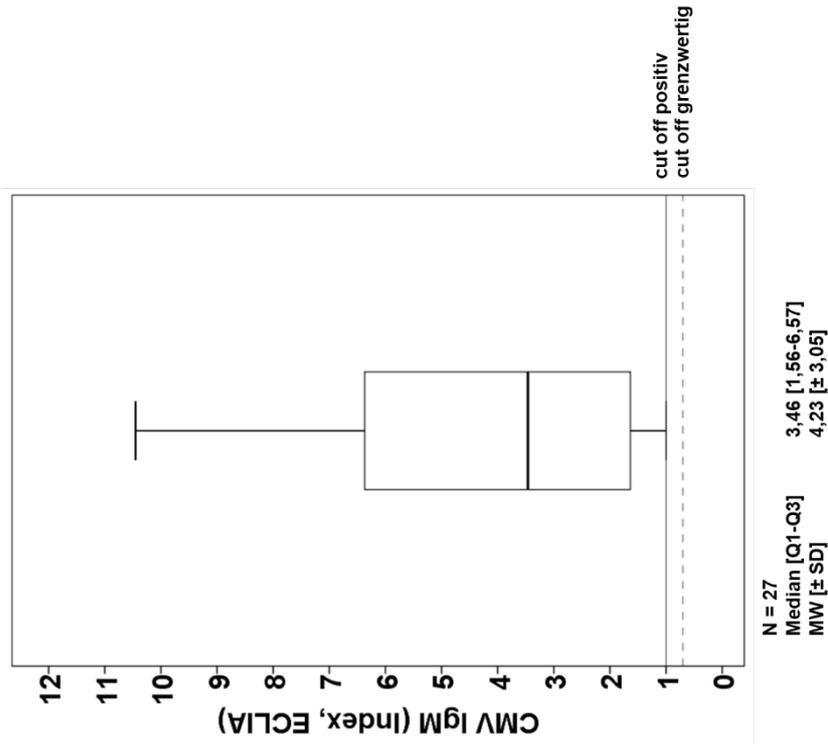


Abbildung 12: Verteilung der EV ECLIA IgM Indices der Kohorte II
N = 27/33 | N = 27 > cut off „positiv“ | N = 6 na

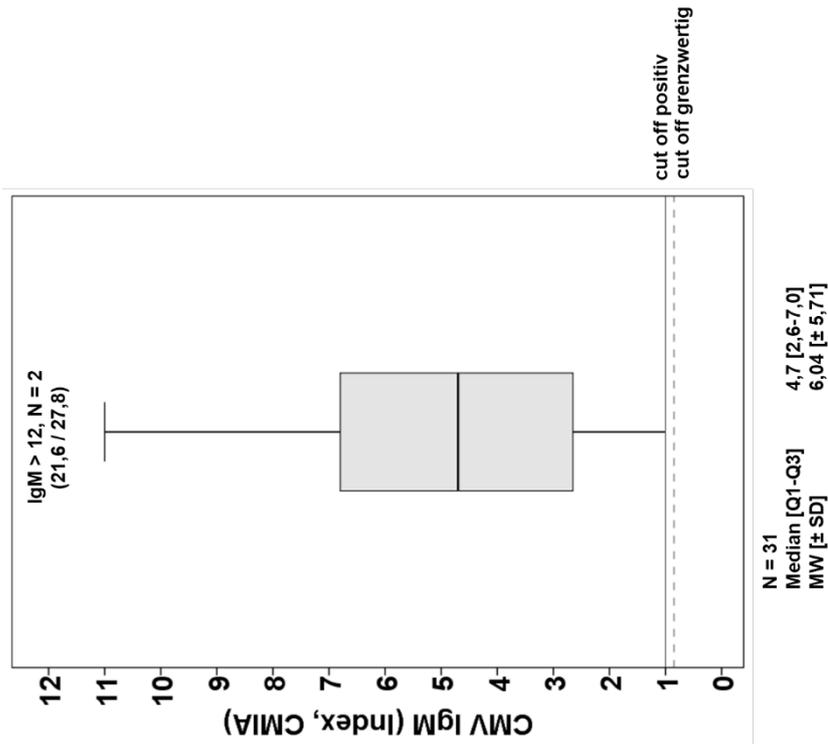


Abbildung 13: Verteilung der EV CMIA IgM Indices der Kohorte II
N = 31/33 | N = 31 > cut off „positiv“ | N = 2 na

Im Folgenden sind die Ergebnisse der t-Tests bezüglich des CMV IgM für die drei Patientenkollektive in der Tabelle zusammengefasst. Ist der p-Wert $> 0,05$, liegt keine statistische Diskrepanz zwischen den Mittelwerten der beiden Testverfahren ECLIA und CMIA vor.

Tabelle 12: CMV IgM t-Tests für ECLIA vs. CMIA der HIG-Studienkohorte, der Kohorte I und der

t-Test	Kohorte	T-Wert	MW[±SD]	MW[±SD]	p-Wert
			ECLIA	CMIA	
CMV IgM	HIG- Studienkollektiv	-1,210	4,07[±5,13]	4,93[±3,69]	0,234
	Kohorte I	-1,161	4,95[±5,57]	5,66[±3,87]	0,251
	Kohorte II	-2,388	4,23[±3,05]	6,04[±5,71]	0,025

Kohorte II

Solang ein positiver IgM-Nachweis vorliegt, kann von einer akuten Primärinfektion, Reaktivierung oder latenten Infektion mit IgM-Persistenz ausgegangen werden. Um bei Ergebnissen mit Indices $< 1,0$ auszuschließen, dass es sich nicht nur um Hintergrundreaktivität handelt, sondern möglicherweise doch um einen positiven IgM-Nachweis, wurde der rekombinante IgM-Immunblot herangezogen.

4.1.2 Verteilung und Vergleich der ECLIA und CMIA IgG-Konzentrationen zum Zeitpunkt der EV

Die ECLIA und CMIA Werte des CMV-IgG verzeichnen für alle drei Studienkollektive im Vergleich größere Diskrepanzen als das CMV-IgM (Abb. 14 - 19).

Das HIG-Studienkollektiv zeigt dementsprechend im Median Werte von 6,6 U/ml im ECLIA und 102 AU/ml im CMIA (Abb. 14 + 15). Auch die Mittelwerte weisen eine vergleichbare Differenz auf, die mit einem p-Wert $< 0,0001$ statistisch signifikant ist (Tab. 16). Während sich im ECLIA eine Patientin unterhalb des Cut off „grenzwertig“ herausstellt, sind im CMIA alle positiv. Jedoch waren für drei externe Serumproben der 40 Schwangeren keine CMIA-Untersuchungen verfügbar. Die hier zugehörigen ECLIA IgG-Konzentrationen sind sehr niedrig, eine befindet sich unterhalb des Cut off positiv. Die drei weiteren Fälle mit grenzwertigen und negativen ECLIA Werten korrelieren mit positiven, hohen CMIA IgG-Konzentrationen.

Tabelle 13: HIG-Studienkollektiv IgG Serostatus für N = 37/40 | N = 3 na im CMIA

IgG-Serostatus		CMIA IgG			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
ECLIA IgG	positiv	34			34
	grenzwertig	2			2
	negativ	1			1
	Summe	37			37

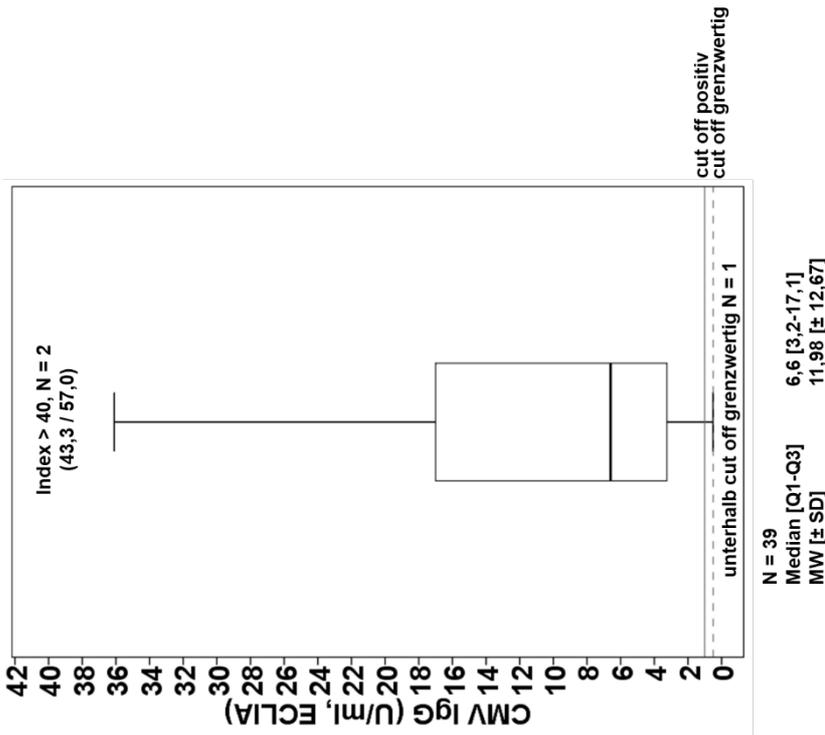


Abbildung 14: Verteilung des EV ECLIA CMV-IgG des HIG-Studienkollektivs N = 39/40 | N = 36 > cut off „positiv“ | N = 3 „grenzwertig positiv“ | N = 1 negativ (ausgeschlossen) (Kagan et al. 2018)

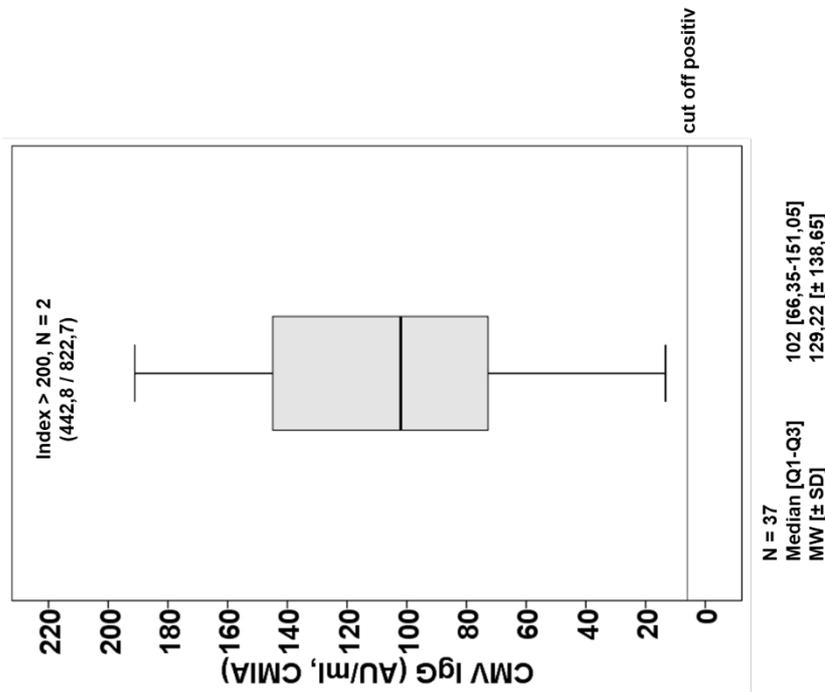


Abbildung 15: Verteilung des EV CMIA CMV IgG des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 | N = 37 > cut off „positiv“ | N = 3 na

Die ECLIA IgG-Konzentration liegt bei Kohorte I mit 5,95 U/ml im Median deutlich unter der CMIA IgG-Konzentration, welche einen Wert von 98,95 AU/ml im Median aufweist. Der Mittelwert der ECLIA IgG Konzentration ist durch Ausreißer nach oben mit 12,65 U/ml deutlich höher als der Median. Das gleiche gilt für die CMIA IgG Verteilung. Der t-Test beweist mit $p < 0,0001$ und einem stark von 0 abweichenden T-Wert eine statistische Signifikanz (Tab. 16). Während die ECLIA IgG-Konzentration in einem Fall mit unter 0,5 U/ml negativ ist, ist der Minimalwert des CMIA IgG mit 13,3 AU/ml über dem Cut off Wert von 6 AU/ml einzuordnen (Abb. 16 + 17). Bei drei der vier Patientinnen mit einer ECLIA Konzentrationen $< 1,0$ können die durch CMIA gemessenen Konzentrationen als positiv bewertet werden. Diese mit CMIA detektierten Konzentrationen liegen zwischen 55 – 74 AU/ml. Nur in einem Fall war die CMIA IgG Konzentration nicht auswertbar.

Die wenigen hohen ECLIA IgG Konzentrationen gehen mit ähnlich hohen CMIA IgG Konzentrationen einher. Der Großteil an hochpositiven CMIA Werten zeigt ansonsten niedrige, jedoch positive ECLIA Werte.

In 54 Fällen wurden sowohl mit ECLIA als auch mit CMIA IgG-Konzentrationen erhoben (Tab. 14).

Tabelle 14: Kohorte I CMV-IgG Serostatus für N = 54/57 | N = 3 na im CMIA

IgG-Serostatus		CMIA IgG			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
ECLIA IgG	positiv	51			51
	grenzwertig	2			2
	negativ	1			1
	Summe	54			54

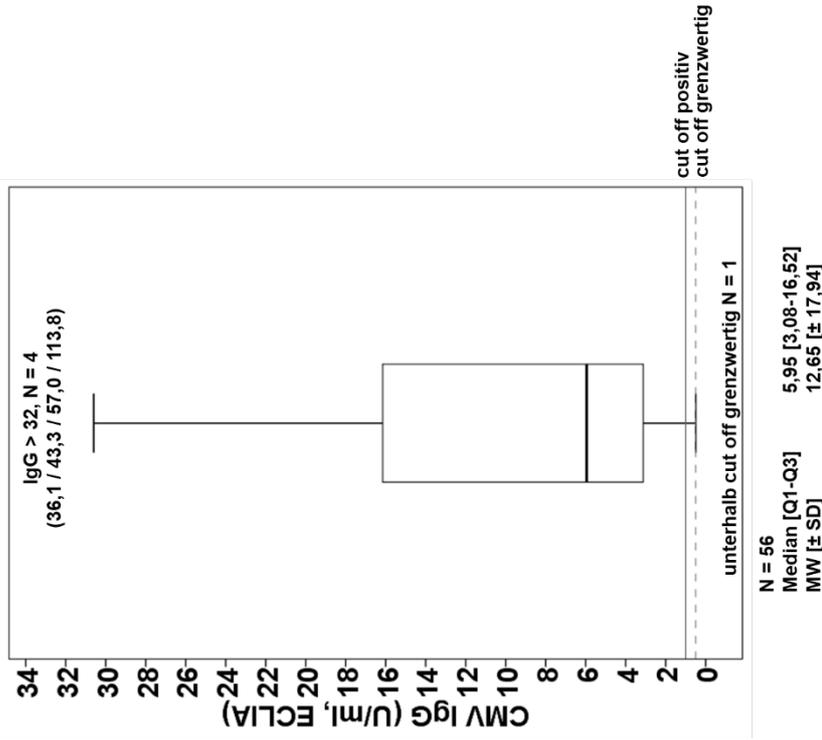


Abbildung 16: Verteilung des EV ECLIA CMV-IgG Kohorte I
N = 56/57 | N = 53 > cut off „positiv“ | N = 3 „grenzwertig
positiv“ | N = 1 negativ

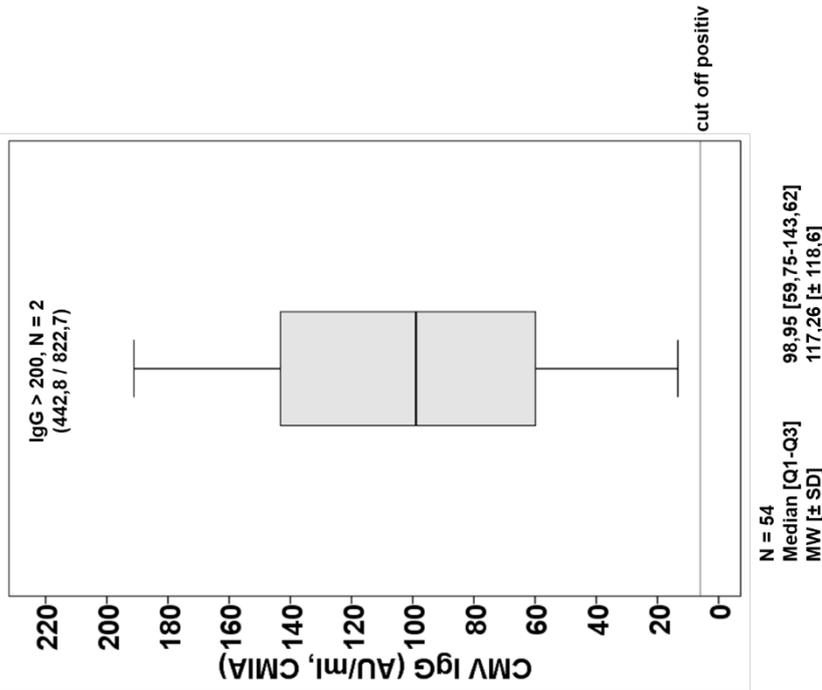


Abbildung 17: Verteilung des EV CMIA CMV-IgG Kohorte I
N = 45/57 | N = 54 > cut off „positiv“ | N = 3 na

Die Ergebnisse der IgG – Konzentrationen des Kollektivs II sind ähnlich zu denen der Patientinnen aus der Kohorte I. Der Median des ECLIA IgG ist mit 4,74 U/ml und der Mittelwert aufgrund der fehlenden niedrigen Werte mit 13,83 U/ml etwas niedriger (Abb. 18). Die mit CMIA gemessenen Werte ergeben im Kollektiv II einen niedrigeren Median und auch einen kleineren Mittelwert als im HIG-Studienkollektiv und in Kohorte I (Abb. 19). Entsprechend diesen beiden Kohorten liegt auch bei der Kohorte II eine signifikante Diskrepanz mit $p < 0,0001$ zwischen den Testergebnissen der Immunoassays vor. Für den CMIA wurden bei allen Patientinnen positive Konzentrationen gemessen. Mit dem ECLIA waren fünf Fälle nicht auswertbar.

Tabelle 15: Kohorte II IgG Serostatus für N = 28/33 | N = 5 na im ECLIA

IgG-Serostatus		CMIA IgG			Summe
		positiv	grenzwertig	negativ	
ECLIA IgG	positiv	28			28
	grenzwertig				
	negativ				
	Summe	28			28

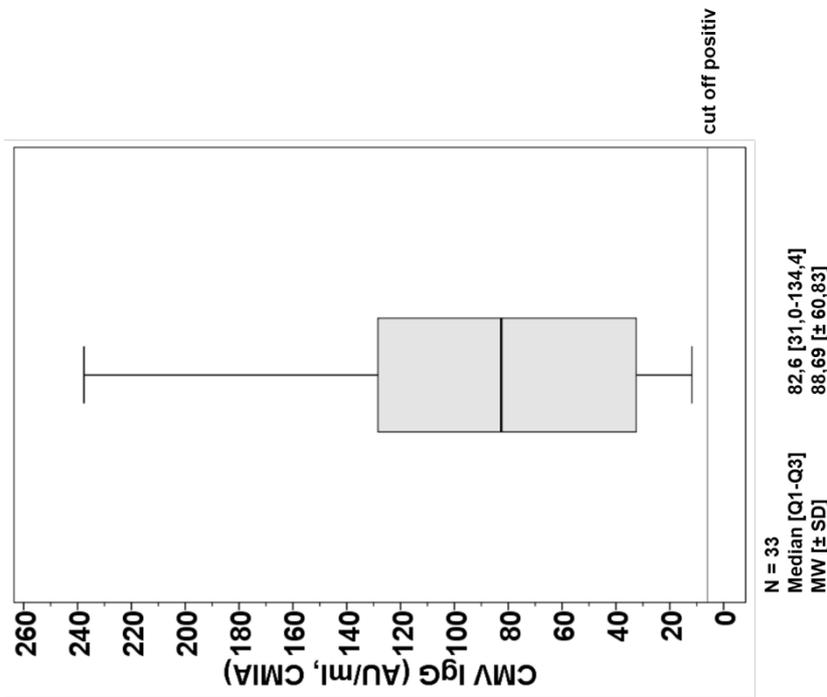


Abbildung 19: Verteilung des EV CMIA CMV-IgG Kohorte II
N = 33 | N = 33 > cut off „positiv“

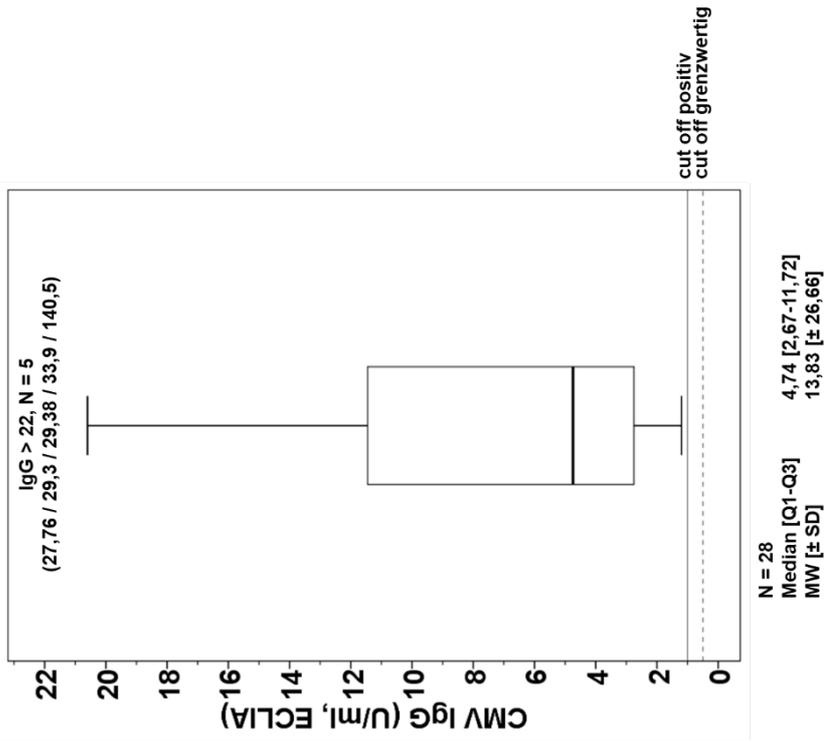


Abbildung 18: Verteilung des EV ECLIA CMV-IgG Kohorte II
N = 28/33 | N = 28 > cut off „positiv“ | N = 5 na

Insgesamt zeigen sich beim CMV IgG im Vergleich zum CMV IgM sowohl in den Medianen als auch den Mittelwerten größere Diskrepanzen zwischen ECLIA und CMIA. Dass diese von statistischer Signifikanz sind zeigt die Tabelle 16 mit der Auflistung der T-Werte, die alle stark von 0 abweichen. Das führt zu p-Werten von $p < 0,0001$, welche deutlich unterhalb des Signifikanzniveaus von 0,05 liegen.

Tabelle 16: CMV IgG t-Tests für ECLIA vs. CMIA der HIG-Studienkohorte, der Kohorte I und der Kohorte II

T-Test	Kohorte	T-Wert	MW[±SD]	MW[±SD]	p-Wert
			ECLIA	CMIA	
CMV IgG	HIG-Studienkollektiv	-5,190	11,98[±12,67]	129,22[±138,65]	<0,0001
	Kohorte I	-6,521	12,65[±17,94]	117,26[±118,6]	<0,0001
	Kohorte II	-6,806	13,83[±26,66]	88,69[±60,83]	<0,0001

4.1.3 Verteilung und Vergleich der ECLIA und CMIA IgG-Aviditäten zum Zeitpunkt der EV

Weniger Diskrepanzen als bei der CMV- spezifischen IgG Konzentration treten auf den ersten Blick beim Vergleich der dazugehörigen IgG Aviditäten zwischen den beiden Immunoassays auf. Der Großteil zeigt für alle Studienkollektive sowohl bei ECLIA als auch bei CMIA niedere Aviditätsindizes.

Trotzdem ergibt sich im t-Test eine statistische Signifikanz der Diskrepanzen zwischen ECLIA und CMIA für das HIG-Studienkollektiv und die Kohorte I (Tab. 17).

Tabelle 17: CMV IgG Avidität t-Tests für ECLIA vs. CMIA der HIG-Studienkohorte, der Kohorte I und der Kohorte II

T-Test		T-Wert	MW[±SD]		p-Wert
			ECLIA	CMIA	
CMV IgG Avidität	Kohorte HIG- Studienkollektiv	-3,287	22,78[±12,73]	36,2[±20,94]	0,002
	Kohorte I	-2,876	23,9[±13,98]	34,25[±21,12]	0,006
	Kohorte II	-0,656	26,32[±10,04]	31,03[±19,09]	0,517

Für das HIG-Studienkollektiv wurde die IgG Avidität mittels ECLIA in 35 Fällen, mittels CMIA in 37 von 40 Fällen bestimmt. Die zu den fünf nicht verfügbaren ECLIA IgG Aviditätsindizes gehörigen ECLIA IgG-Konzentrationen waren bei vier Schwangeren < 1,0 U/ml, bei einer Schwangeren lag ein Wert von 1,44 U/ml vor. Bei den drei Schwangeren, bei denen im CMIA nicht verfügbare IgG Aviditäten vorliegen, war jeweils auch das CMV IgG nicht verfügbar. Die Werte, die mit ECLIA registriert wurden, liegen für 34 Schwangere (97,14%) im niederen Bereich, nur ein Wert ist knapp in der Grauzone (AI = 45,7%). Es ergibt sich ein Median von AI = 21,71 %. Die mit CMIA bestimmten Aviditäten sind bei 78,37 % (29/37) der Patientinnen nieder, ein Wert liegt in der Grauzone, der Rest (18,91 %) ist im hoch aviden Bereich. Der Median ist mit AI

= 35,7 % deutlich höher als bei ECLIA (Abb. 20 + 21). Die hohen Aviditäten, die mit CMIA gemessen wurden, gehen mit niederen Aviditäten im ECLIA einher (Tab. 18). Es errechnet sich ein p-Wert von $p = 0,002$.

Tabelle 18: HIG-Studienkollektiv Aviditätsindizes für N = 34/40 | N = 5 na im ECLIA und N = 3 na im CMIA

Aviditätsindizes		CMIA IgG Avi			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
ECLIA IgG Avi	nieder	26	1	6	33
	intermediär	1			1
	hoch				
	Summe	27	1	6	34

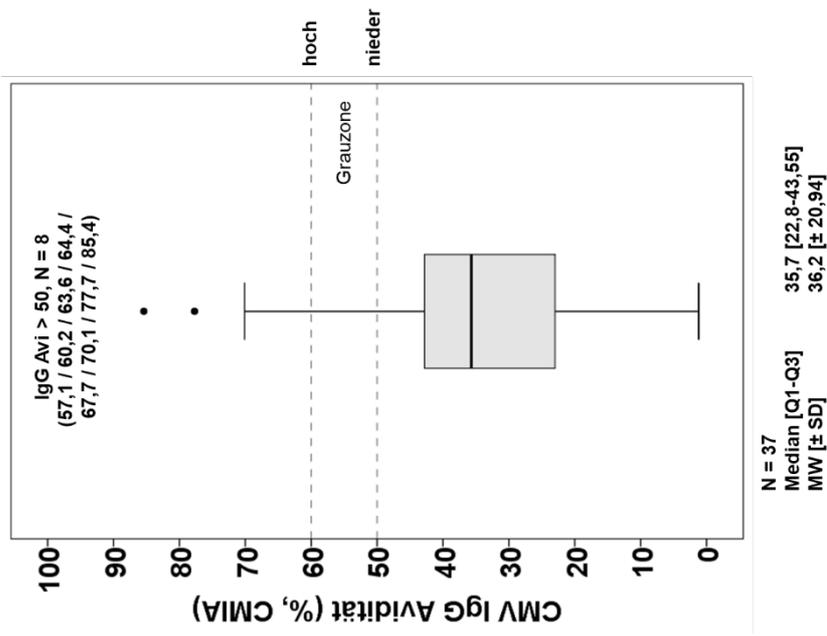
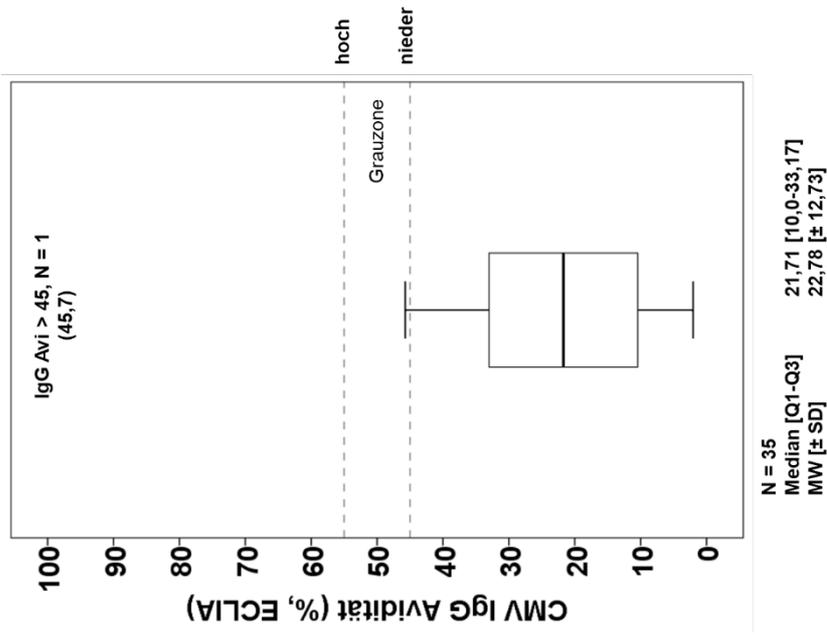


Abbildung 20: Verteilung der EV ECLIA IgG Aviditätsindices des HIG-Studienkollektivs N= 35/40 | N = 34 „nieder“ | N = 1 „intermediär“ | N = 5 na (Kagan et al. 2018)

Abbildung 21: Verteilung der EV CMA IgG Aviditätsindices des HIG-Studienkollektivs N = 37/40 | N = 29 „nieder“ | N = 1 „intermediär“ | N = 7 „hoch“ | N = 3 na

Der Median liegt für ECLIA bei Kohorte I bei AI = 24,45 %, der Mittelwert errechnet sich mit AI = 23,9 % und ist nur geringfügig niedriger. Der Median für die mit CMIA untersuchten Aviditäten des CMV IgG der Kohorte I findet sich bei AI = 35,3 % und es besteht damit eine ähnliche Differenz zwischen den beiden Testverfahren wie bei dem HIG-Studienkollektiv. Der Mittelwert ist mit AI = 34,25 % wenig niedriger ausgefallen. Durch einen t-Test ergibt sich ein $p = 0,006$ und damit ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der beiden Immunoassays.

Es haben im ECLIA 49 von 52 Schwangeren (94,23 %) eine niedere Avidität, zwei (3,84 %) liegen im Bereich der Grauzone, zu der keine Interpretation möglich ist. Nur eine Schwangere (1,92 %) zeigt einen hohe ECLIA IgG Aviditätsindex. Bei 5 Fällen aus dieser Kohorte waren CMV IgG AI-Werte mit ECLIA nicht messbar. Es sind jene, die auch im HIG-Studienkollektiv als nicht verfügbar angegeben wurden. Mit CMIA wurde die IgG Avidität in 53 Fällen bestimmt. Bei drei Schwangeren sind weder IgG noch IgG-Aviditätswerte verfügbar. Im vierten Fall lag eine IgG-Konzentration von 37,1 AU/ml vor. 43 von 53 Schwangeren (81,13 %) zeigen eine niedere und 8 (15,09 %) eine hohe CMIA Avidität. Der Rest (3,77 %) liegt in der Grauzone.

Ähnlich zur CMV IgG-Konzentration zeigt sich, dass hohe IgG-Aviditäten, die mit CMIA gemessen wurden, mit niedrigen ECLIA IgG Aviditäten korrelieren und somit diskrepante AI-Werte erzielt wurden. Bei einer Schwangeren war die ECLIA IgG Avidität hoch, während sie im CMIA nieder war.

Tabelle 19: Kohorte I Aviditätsindizes für N = 50/57 | N = 5 na im ECLIA und N = 4 na im. CMIA
Diskrepanz im Bereich hoher AI

Aviditätsindizes		CMIA IgG Avi			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
ECLIA IgG Avi	nieder	39	2	6	47
	intermediär	1		1	2
	hoch	1			1
Summe		41	2	7	50

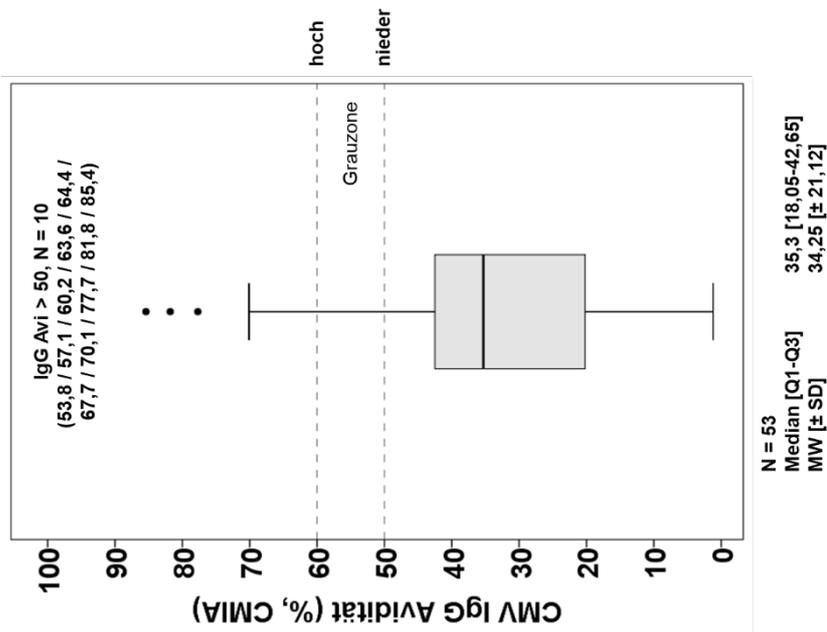
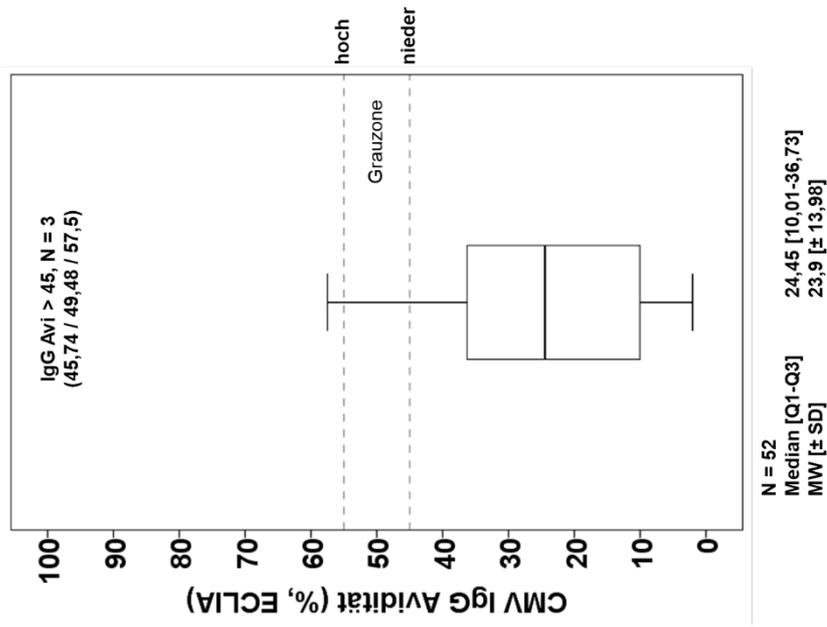


Abbildung 22: Verteilung der EV ECLIA IgG Aviditäten Kohorte I N= 52/57 | N = 49 „nieder“ | N = 2 „intermediär“ | N = 1 „hoch“ | N = 5 na

Abbildung 23: Verteilung der EV CMIA IgG Aviditäten Kohorte I N=53/57 | N = 43 „nieder“ | N = 2 „intermediär“ | N = 8 „hoch“ | N = 4 na

Aus den Patientenproben der Kohorte II wurden mit ECLIA nur niedrigere Werte für die IgG Avidität bestimmt. Der Median liegt hier bei AI = 28,67 % und somit insgesamt trotzdem höher als bei den beiden anderen Kollektiven. Bei vier der 33 Frauen konnte die ECLIA IgG Avidität nicht ausgewertet werden, da auch die ECLIA IgG-Konzentrationen in diesen Fällen nicht verfügbar waren (Abb. 24). Im CMIA zeigt sich der Median zwar mit AI = 26,3 % unterhalb dem des ECLIA, es wurden jedoch bei sechs Schwangeren auch hohe Aviditäten bzw. Aviditäten, die in der Grauzone liegen detektiert (Abb. 25).

Anders als bei dem HIG-Studienkollektiv und der Kohorte I zeigt sich bei der Kohorte II mit einem $p = 0,517$ keine Signifikanz im t-Test (Tab. 17). Der Aviditäts-Status konnte für 29 Frauen erstellt werden (Tab. 20).

Tabelle 20: Kohorte II Aviditätsindizes für N = 29/33 | N = 4 na im ECLIA

Aviditätsindizes		CMIA IgG Avi			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
ECLIA IgG Avi	nieder	25	3	1	29
	intermediär				
	hoch				
	Summe	25	3	1	29

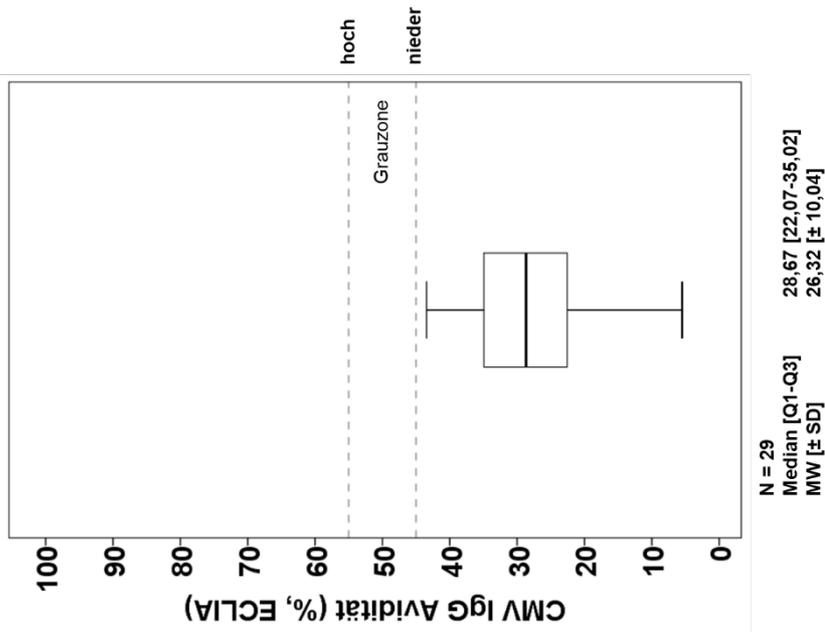


Abbildung 24: Verteilung der EV ECLIA IgG Aviditäten Kohorte II N = 29/33 | N = 29 „nieder“ | N = 4 na

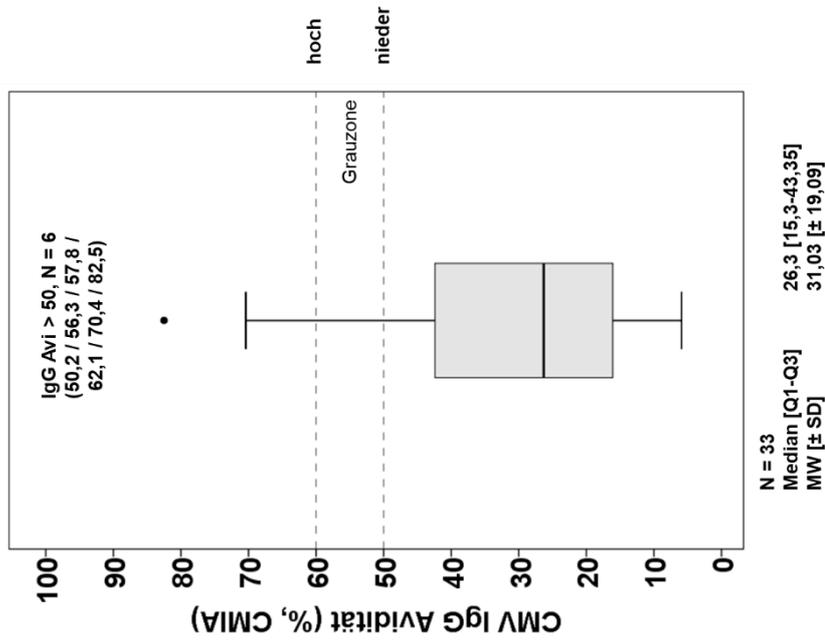


Abbildung 25: Verteilung der EV CMA IgG Aviditäten Kohorte II N = 33 | N = 27 „nieder“ | N = 3 „intermediär“ | N = 3 „hoch“

4.1.4 Erstvorstellung IgG vs. IgG Avidität Vergleich ECLIA vs. CMIA

In allen Verteilungen zur EV ergeben sich teilweise deutliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen der beiden Testverfahren. Der Immunoassay CMIA hat häufig sehr hohe Werte der IgG Konzentration als auch der IgG Avidität als Ergebnis. In den folgenden Abbildungen (26-28) sind die Beziehungen zwischen der Konzentration [IgG] und der Avidität des IgG in Gegenüberstellung der beiden Testverfahren für alle drei Studienkollektive dargestellt.

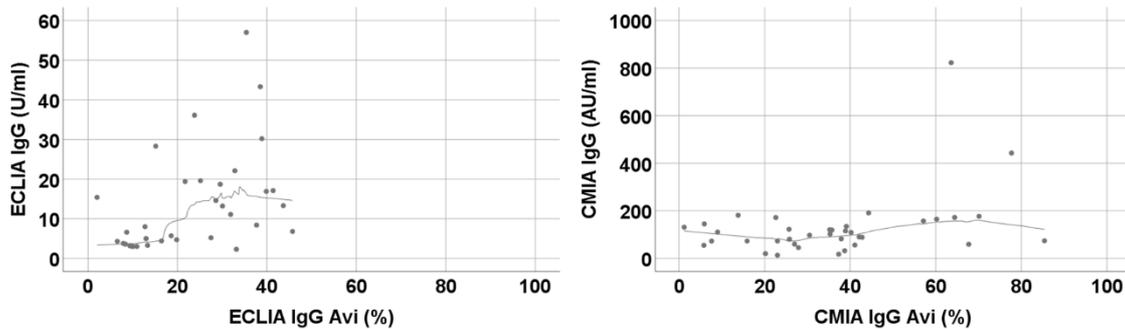


Abbildung 26: [IgG] vs. IgG Avidität bei EV für ECLIA und CMIA im Vergleich HIV-Studienkollektiv

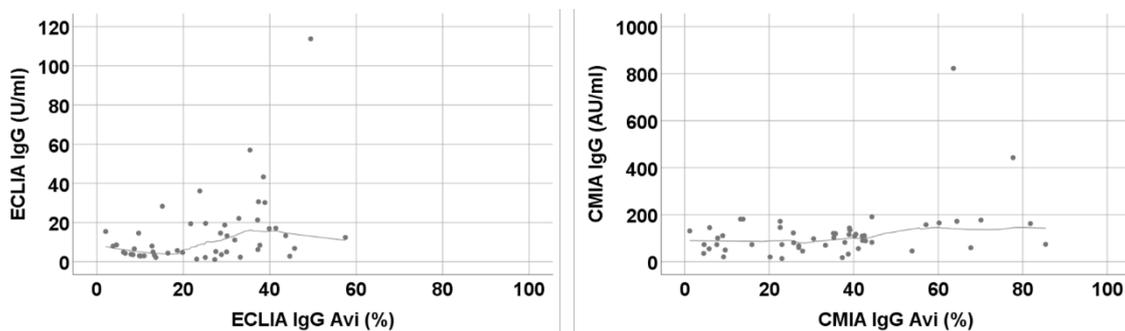


Abbildung 27: [IgG] vs. IgG Avi bei EV für ECLIA und CMIA im Vergleich Kohorte I

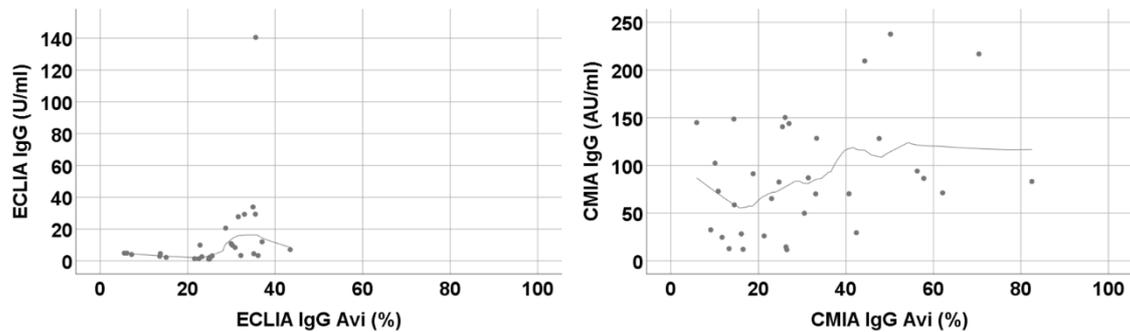


Abbildung 28: [IgG] vs. IgG Avi bei EV für ECLIA und CMIA im Vergleich Kohorte II

Die Diskrepanz zwischen den beiden Testverfahren ist offensichtlich. Geringe ECLIA CMV IgG Konzentrationen korrelieren überwiegend mit niederen IgG-Aviditäten und erst mit Zunahme der Konzentration steigt auch die Avidität des CMV IgG. Die Ergebnisse durch CMIA verhalten sich anders. Hohe Konzentrationen des CMV IgG zeigen sich zwar häufig hochavide, aber ebenso mit niederen Aviditäten. Es ist kein eindeutiger Trend wie bei den ECLIA Ergebnissen zu sehen.

4.2 Longitudinaler Verlauf der CMV IgM Indices bei Progression einer CMV Primärinfektion

Die CMV IgM Indices sind unabhängig von der HIG Gabe, welches die Patientinnen im Verlauf der Primärinfektion verabreicht bekamen. Daher ist es möglich, die Dynamik des CMV IgM während einer Primärinfektion darzustellen und nicht nur die Werte der Erstuntersuchung auszuwerten. Im Folgenden sind Diagramme zu drei Patientinnen abgebildet, die jeweils zum HIG-Studienkollektiv (Abb. 29), der Kohorte I (Abb. 30) oder der Kohorte II (Abb. 31) zählen. Die Kurven in den Abbildungen 30 und 31 zeigen den charakteristischen Anstieg mit der darauffolgenden steilen Abnahme der IgM Indices. Dann nähern sich die Werte dem Cut off Wert mit einem IgM Index = 1

an. Abbildung 29 zeigt einen Verlauf der IgM Indices, bei dem der initiale Anstieg nicht erfasst wurde.

Die Werte für CMIA und ECLIA liegen bei den Patientinnen des HIG Studienkollektivs und der Kohorte I nah beieinander. Der Fall der Kohorte II zeigt deutlich höhere IgM Indices für CMIA als für ECLIA. Zu den restlichen Fällen liegen entweder keine CMV IgM Indices außer die der EV vor oder die EV fand zu einem späten Zeitpunkt der PI statt, wodurch der charakteristische Verlauf nicht verzeichnet ist.

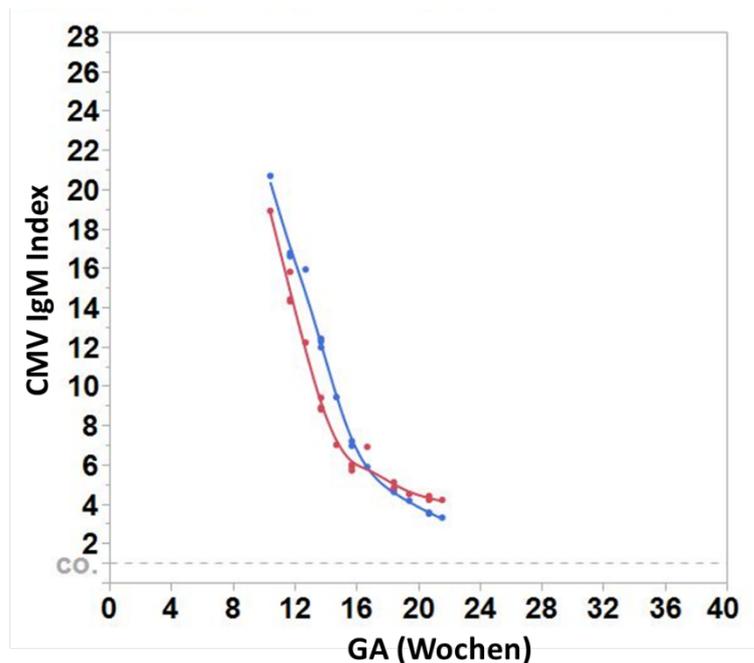


Abbildung 29: Verlauf der IgM Indices während einer PI bei einer Patientin aus dem HIG-Studienkollektiv AF 72361176 GA bei EV = 10,429 Wochen | ECLIA in blau, CMIA in rot

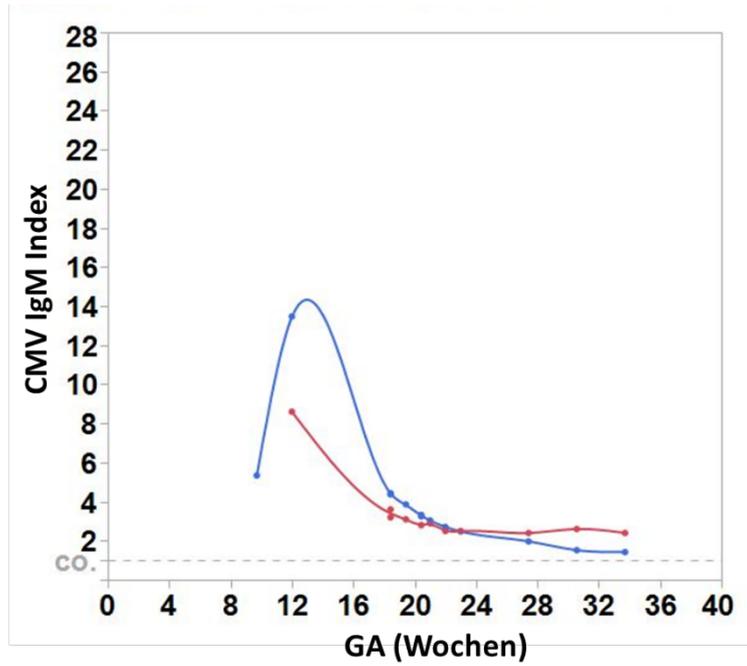


Abbildung 30: Verlauf der IgM Indices während einer PI bei einer Patientin aus der Kohorte I AF 72378087 GA bei EV = 12,0 Wochen | ECLIA in blau, CMIA in rot

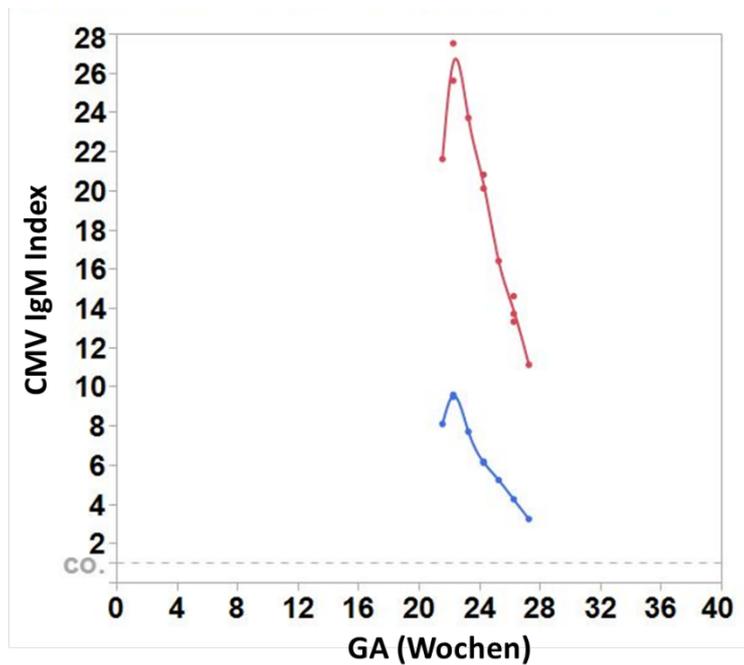


Abbildung 31: Verlauf der IgM Indices während einer PI bei einer Patientin aus der Kohorte II AF 72336332 GA bei EV = 21,571 Wochen | ECLIA in blau, CMIA in rot

4.3 Vergleich der ECLIA und CMIA IgG Aviditäten mit der rekombinanten IgG Avidität zum Zeitpunkt der Erstvorstellung

Um bei diskrepanzen Ergebnissen der IgG Avidität der beiden Immunoassays Klarheit über den tatsächlichen Serostatus der Schwangeren zu erhalten, wurden sie mit dem rekombinanten IgG-Aviditätsimmunblot als Referenztest verglichen. Im rekombinanten Immunblot werden die Einzelreaktivitäten von Antikörpern gegen CMV-spezifische Antigene ermittelt. Aus ihnen ergibt sich die Kategorisierung der rekombinanten IgG-Avidität als „nieder“, „intermediär“ oder „hoch“. Dieses Testverfahren wird in der Serodiagnostik als Goldstandard verwendet. Ergebnisse durch ECLIA und CMIA lassen sich hiermit bestätigen oder ausschließen. In der Tabelle 38 (siehe Anhang) sind alle EV-Parameter der Kohorten I und II zusammengetragen. Anhand der Herstellerangaben können die ECLIA und CMIA IgG Aviditäten als nieder-, intermediär- oder hoch-avide bewertet werden. Von der rekombinanten Avidität abweichende Ergebnisse sind farblich markiert. 9 Patientenproben der Kohorte I und 5 Patientenproben der Kohorte II ergaben mit CMIA zu hohe IgG Aviditäten im Vergleich zum rekombinanten Immunblot. Sie sind in Tabelle 23 gesondert aufgelistet. Die dazugehörigen ECLIA IgG Aviditäten stimmen größtenteils mit dem Immunblot überein, bei zwei Schwangeren zeigen die IgGs anstatt intermediärer Aviditäten niedere (AF 72478145 und 72436245). In zwei Fällen sind die Ergebnisse des ECLIA höher zu bewerten als der rekombinante Immunblot (Tab. 21). Im Vergleich zum rekombinanten Immunblot ergeben sich bei Kohorte I bei fünf Schwangeren zu niedrige IgG Aviditäten im ECLIA, in Kohorte II zeigt sich diese Konstellation bei sechs Schwangeren. Der CMIA liefert seltener zu niedrige Werte. In Kohorte I dreimal und in Kohorte II bei fünf Seren. Die Aviditäts-Kategorisierung „nieder“ ist bei ECLIA-Tests häufiger konkordant mit dem Referenztest als bei CMIA-Tests (siehe Anhang Tab. 38).

Tabelle 21: Diskrepante EV-Werte der beiden Patientinnen mit ECLIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 2 (aus Kohorte I) | Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high; Aviditätskategorisierung siehe S. 34 Material und Methoden)

Geordnet nach der ECLIA IgG Konzentration in aufsteigender Reihenfolge

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG- Avi
71138317	10,714	0,78	1,9	6,8	90,3	45,74 (i)	42,1 (l)	
72494102	13,714	5,16	11,2	12,4	20,3	57,5 (h)	9,2 (l)	

Tabelle 22: Diskrepante EV-Werte der Patientinnen aus dem HIG-Studienkollektiv mit CMIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 7 oder ECLIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 1 (letzte Zeile) | Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high; Aviditätskategorisierung siehe S. 34 Material und Methoden)

Geordnet nach der ECLIA IgG Konzentration in aufsteigender Reihenfolge

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG- Avi
72460410	14,143	9,32	2,5	0,8	74	na	85,4	l
72329148	9,857	5,68	1,7	3	59,3	10,91	67,7	l
72445639	7,714	2,88	9,2	3,6	176,9	8,33	70,1	l
71112453	12,285	1,54	9,4	4,3	822,7	6,55	63,6	l
72478145	10,429	1,75	1,6	19,6	172,1	25,15	64,4	i
72436245	8,143	2,92	1,5	22,1	164,9	32,84	60,2	i
72492798	11,857	0,94	1,3	43,3	442,8	38,52	77,7	l
71138317	10,714	0,78	1,9	6,8	90,3	45,74	42,1	l

Tabelle 23: Diskrepante EV-Werte der Patientinnen aus Kohorte I und II mit CMIA IgG Avi zu hoch im Vergleich mit der rekombinanten IgG Avi N = 14 | Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high; Aviditätskategorisierung siehe S. 34 Material und Methoden)

Geordnet nach der ECLIA IgG Konzentration in aufsteigender Reihenfolge

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG- Avi
Kohorte I								
72460410	14,143	9,32	2,5	0,8	74	na	85,4	l
71140532	8,285	1,1	4,9	1,1	45,7	27,27	53,8	l
72329148	9,857	5,68	1,7	3	59,3	10,91	67,7	l
72445639	7,714	2,88	9,2	3,6	176,9	8,33	70,1	l
71112453	12,285	1,54	9,4	4,3	822,7	6,55	63,6	l
72478145	10,429	1,75	1,6	19,6	172,1	25,15	64,4	i
72436245	8,143	2,92	1,5	22,1	164,9	32,84	60,2	i
72492798	11,857	0,94	1,3	43,3	442,8	38,52	77,7	l
72491729	12,857	1,37	3,7	113,8	162,4	49,48	81,8	i
Kohorte II								
71131796	21,285	4,45	5,8	7,09	71,3	43,44	62,1	l
72427866	16,857	na	1	27,76	86,5	31,56	57,8	l
71112920	27	1,03	3,1	29,3	94,1	32,98	56,3	l
72455258	21,429	1,5	5	na	83,2	na	82,5	l
72455134	17,571	1,74	na	na	216,8	na	70,4	l

Durch die Auswertung unserer Daten wurde evident, dass die zur Bestimmung des Serostatus verwendeten Testverfahren teilweise starke Diskrepanzen aufweisen können. Anhand der unter 4.1 gewählten Darstellung der verschiedenen Parameter in Boxplots, die aus den bei der EV entnommenen Patientenproben ermittelt wurden, konnten diese Unterschiede anschaulich dargestellt werden. Vor allem für das CMV IgG und die CMV IgG Avidität scheint der CMIA überhöhte Ergebnisse zu ermitteln. Vergleicht man die Parameter in den Tabellen 21-23, werden die Unterschiede offensichtlich. Während die beiden mit ECLIA zu hoch diagnostizierten IgG Aviditäten mit niedrigen IgG Konzentrationen einhergehen, liegen für alle hohen CMIA IgG Aviditäten auch außerordentlich hohe CMIA IgG Konzentrationen vor. Die hierzu gehörigen ECLIA IgG Konzentrationen und auch Aviditäten sind dagegen sehr niedrig. Der auffälligste Fall liegt für die Patientin mit der AF 71112453 vor. Mit einer niedrigeren rekombinanten IgG Avidität zeigt sich eine dazu passende niedrigere ECLIA IgG Avidität mit AI = 6,55 % und einer ebenso niedrigen ECLIA IgG Konzentration von 4,3 U/ml. Die durch den CMIA gemessene Avidität ist mit AI = 63,6 % schon im hoch aviden Bereich und die IgG Konzentration ist mit 822,7 AU/ml die höchste detektierte von allen. Selbst der CMV-spezifische IgM Index, der eigentlich von keiner sehr hohen Diskrepanz zwischen den beiden Testverfahren zeugt, hat eine Differenz von 7,86 zwischen den Immunoassays, wobei CMIA den höheren Index feststellte.

Da die IgG Avidität für die Diagnostik einer CMV-Primärinfektion einen wichtigen Parameter darstellt, sollen die gemessenen Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot verglichen werden. Der rekombinante Immunblot gilt in der Serodiagnostik weitverbreitet als Goldstandard und sollte als das „wahre“ Ergebnis angenommen und als Referenzmethode eingesetzt werden.

4.3.1 ECLIA IgG Avidität im Vergleich mit dem rekombinanten IgG Immunblot

Um zu überprüfen, welches Testverfahren in der Mehrzahl richtige Werte für die IgG Avidität ausgibt, müssen die Ergebnisse vom ECLIA und CMIA mit der rekombinanten IgG Avidität verglichen werden. Dies erfolgt für jedes Studienkollektiv und jeweils für die beiden Immunoassays über Neunfeldertafeln. Aus ihnen kann die Sensitivität und der positive prädiktive Wert berechnet werden. Die Sensitivität gibt dabei die durch den jeweiligen virologischen Test (ECLIA oder CMIA) tatsächlich richtig bestimmten IgG Aviditäten bei Zugrundelegung der rekombinanten IgG Avidität als Referenz an. Im Folgenden sind die Daten für das HIG-Studienkollektiv (Tab. 24), die Kohorte I (Tab. 26) und die Kohorte II (Tab. 28) analysiert, die mit ECLIA für den IgG Aviditätsstatus ermittelt wurden und mit dem rekombinanten IgG Immunblot verglichen werden können. Außerdem sind in den Tabellen 25, 27 und 29 die Sensitivitäten und positiven prädiktiven Werte aufgetragen, die mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot als Referenzmethode für den ECLIA berechnet werden können.

Tabelle 24: HIG-Studienkollektiv N = 34/40 | N = 5 ECLIA IgG Avi na | N = 2 rek IgG Avi na | Neunfeldertafel zum Vergleich des Aviditätsstatus zu ECLIA im Bezug zum rekombinanten Aviditätsimmunblot

Aviditäts-Status		rek IgG Avidität			Summe
		nieder	intermediär	hoch	
ECLIA IgG Avi	nieder	28	5		33
	intermediär	1			1
	hoch				
Summe		29	5		34

Tabelle 25: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des ECLIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot als Referenz für das HIG-Studienkollektiv N = 34/40

Sensitivität	niedere Avi	28/29 = 0,9655	96,55%
Positiver prädiktiver Wert	niedere Avi	28/33 = 0,8484	84,84%

Tabelle 26: Kohorte I N = 51/57 | N = 5 ECLIA IgG Avi na | N = 2 rek IgG Avi na | Neunfeldertafel zum Vergleich des Aviditätsstatus zu ECLIA im Bezug zum rekombinanten Aviditätsimmunblot

Aviditäts-Status		rek IgG Avidität			Summe
		nieder	intermediär	hoch	
ECLIA IgG Avi	nieder	40	8		48
	intermediär	1	1		2
	hoch	1			1
	Summe	42	9		51

Tabelle 27: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des ECLIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot als Referenz für die Kohorte I N = 51/57

Sensitivität	niedere Avi	40/42 = 0,9523	95,23%
Positiver prädiktiver Wert	niedere Avi	40/48 = 0,8333	83,33%

Tabelle 28: Kohorte II N = 29/33 | N = 4 ECLIA IgG Avi na | Neunfeldertafel zum Vergleich des Aviditätsstatus zu ECLIA im Bezug zum rekombinanten Aviditätsimmunblot

Aviditäts-Status		rek IgG Avidität			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
ECLIA IgG Avi	nieder	21	8		29
	intermediär				
	hoch				
	Summe	21	8		29

Tabelle 29: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des ECLIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot als Referenz der Kohorte II N = 29/33

Sensitivität	niedere Avi	$21/21 = 1$	100%
Positiver prädiktiver Wert	niedere Avi	$21/29 = 0,7241$	72,41%

Der Hersteller des ECLIA schreibt eine Sensitivität für die CMV IgG Avidität von 96,1% aus (Roche Diagnostics 2011a). Alle drei Studienkollektive zeigen für niedere Aviditäten größtenteils Übereinstimmungen mit der rekombinanten IgG Avidität. Das bestätigt sich auch durch die berechneten Sensitivitäten, die für niedere Aviditäten von 95,23% über 96,55% bis zu 100% erreichen. Ein hohes Transmissionsrisiko liegt im Fall einer CMV-Primärinfektion mit noch niedriger IgG Avidität vor. Anhand dessen scheint, ausgehend von der Sensitivität im niederen Bereich, der ECLIA eine geeignete Methode zu Diagnostik einer CMV-Primärinfektion zu sein.

4.3.2 CMIA IgG Avidität im Vergleich mit dem rekombinanten IgG Immunblot

Auch für CMIA wurden die Daten der drei Studienkollektive zur IgG Avidität mit der rekombinanten IgG Avidität als Referenzmethode begutachtet (Tab. 30, 32, 34). Die dazu errechneten Sensitivitäten und positiven prädiktiven Werte sind in den Tabellen 31, 33 und 35 aufgeführt.

Tabelle 30: HIG-Studienkollektiv N = 35/40 | N = 3 CMIA IgG Avi na | N = 2 rek IgG Avi na | Neunfeldertafel zum Vergleich der CMIA IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot

Aviditäts-Status		rek IgG Avidität			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
CMIA IgG Avi	nieder	25	2		27
	intermediär		1		1
	hoch	5	2		7
	Summe	30	5		35

Tabelle 31: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des CMIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot des HIG-Studienkollektivs N = 35/40

Sensitivität	niedere Avi	$25/30 = 0,8333$	83,33%
Positiver prädiktiver Wert	niedere Avi	$25/27 = 0,9259$	92,59%

Tabelle 32: Kohorte I N = 51/57 | N = 4 CMIA IgG Avi na | N = 2 rek IgG Avidität na | Neunfeldertafel zum Vergleich der CMIA IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot

Aviditäts-Status		rek IgG Avidität			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
CMIA IgG Avi	nieder	37	5		42
	intermediär		1		1
	hoch	5	3		8
	Summe	42	9		51

Tabelle 33: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des CMIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot der Kohorte I N = 51/57

Sensitivität	niedere Avi	$37/42 = 0,8809$	88,09%
Positiver prädiktiver Wert	niedere Avi	$37/42 = 0,8809$	88,09%

Tabelle 34: Kohorte II N = 33 | Neunfeldertafel zum Vergleich der CMIA IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot

Aviditäts-Status		rek IgG Avidität			
		nieder	intermediär	hoch	Summe
CMIA IgG Avi	nieder	20	7		27
	intermediär	2	1		3
	hoch	3			3
	Summe	25	8		33

Tabelle 35: Sensitivitäten und positive prädiktive Werte des CMIA durch Vergleich mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot der Kohorte II N = 33

Sensitivität	niedere Avi	20/25 = 0,8	80%
Positiver prädiktiver Wert	niedere Avi	20/27 = 0,7407	74,07%

Für den CMIA gibt die Kundeninformation des Herstellers eine Sensitivität von 97,3% an (ABBOTT Diagnostics Division 2008b). An diesen hohen Wert reichen unsere ermittelten Sensitivitäten bei Weitem nicht ran. Die positiven prädiktiven Werte sind etwas höher als die des ECLIA.

Aufgrund der nicht überzeugenden Sensitivität im niederavidem Bereich, vor allem im Vergleich mit der des ECLIA, ist aus unserer Sicht der CMIA für die Diagnostik der CMV-Primärinfektion nicht empfehlenswert. Die Avidität ist ein zu wichtiger Parameter, weshalb ein Test mit höchstmöglicher Sensitivität gefordert ist.

4.4 Rekombinante CMV – Antigene im anti – CMV recomLine Blot

4.4.1 CMV-spezifische Reaktivität im recomLine CMV IgM-Immunblot gegen rekombinante Virusantigene IE1, CM2, p150, p65, gB1 und gB2

Die Immunantwort gegen die CMV-spezifischen rekombinanten Antigene wird begutachtet zur Diagnostik einer akuten Infektion.

Es wurde bei allen Frauen sowohl des HIG-Studienkollektivs, als auch der Kohorte I (N = 57) und der Kohorte II (N = 33) der rekombinante CMV IgM Immunblot durchgeführt. In Verteilungen können die Scores der jeweiligen Antigene gegen die Anzahl der untersuchten Sera aufgetragen und miteinander verglichen werden.

Da es sich bei den meisten Patientinnen um Primärinfektionen in einem akuten oder frühen Stadium handelt und nur bei wenigen um eine schon fortgeschrittene Primärinfektion, sollte der Nachweis für IgM Antikörper positiv ausfallen.

Alle Frauen zeigen mit dem CMV-spezifischen IgM mindestens gegen ein Antigen eine ausgeprägte Reaktivität im rekombinanten Immunblot. Diesen Ergebnissen zufolge ist bei der Mehrheit eine IgM - Reaktivität bestätigt.

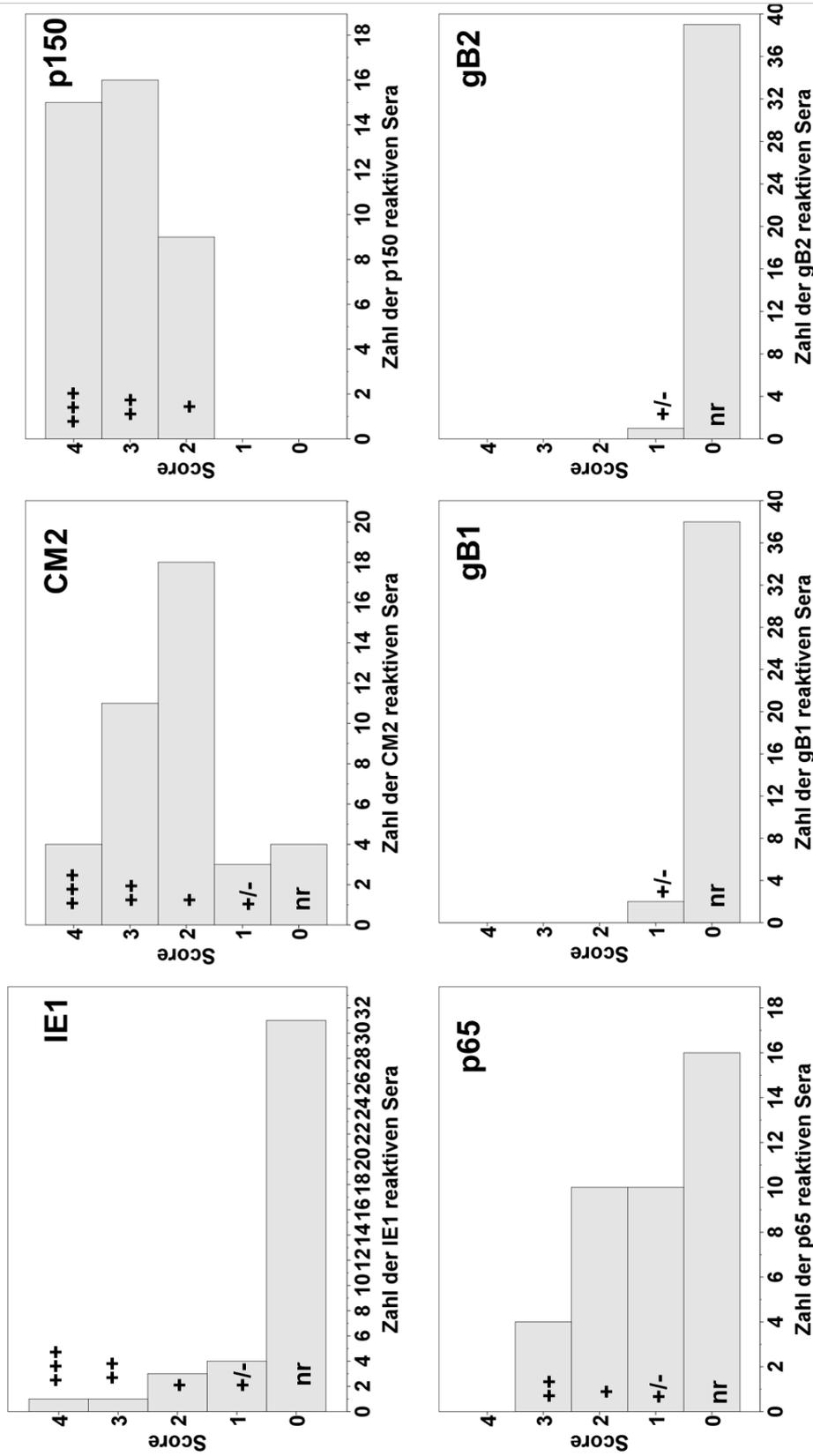


Abbildung 32: HIG-Studienkollektiv - Verteilungen der Scores der IgM Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot (Kagan et al. 2018)

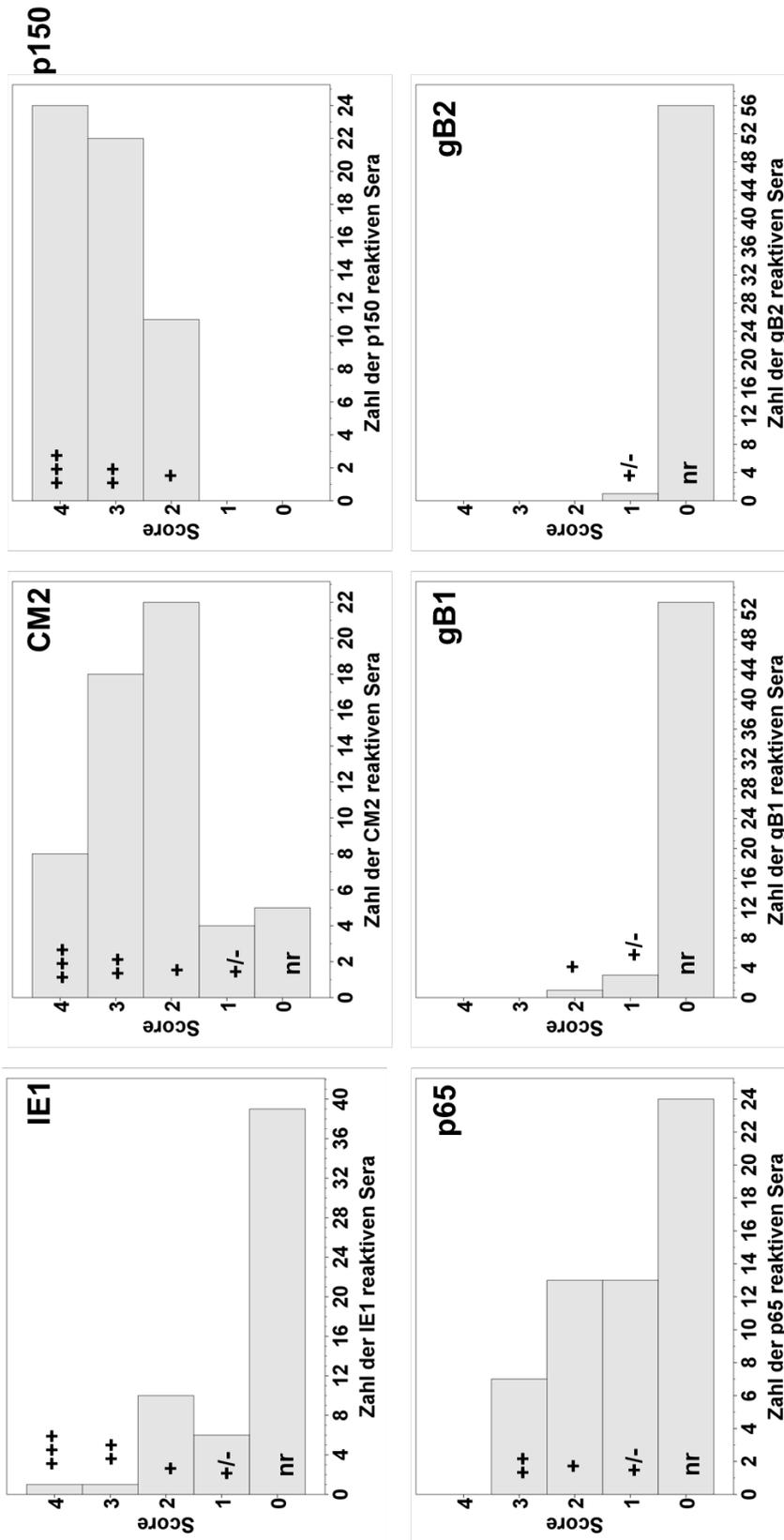


Abbildung 33: Kohorte I - Verteilungen der Scores der IgM Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot

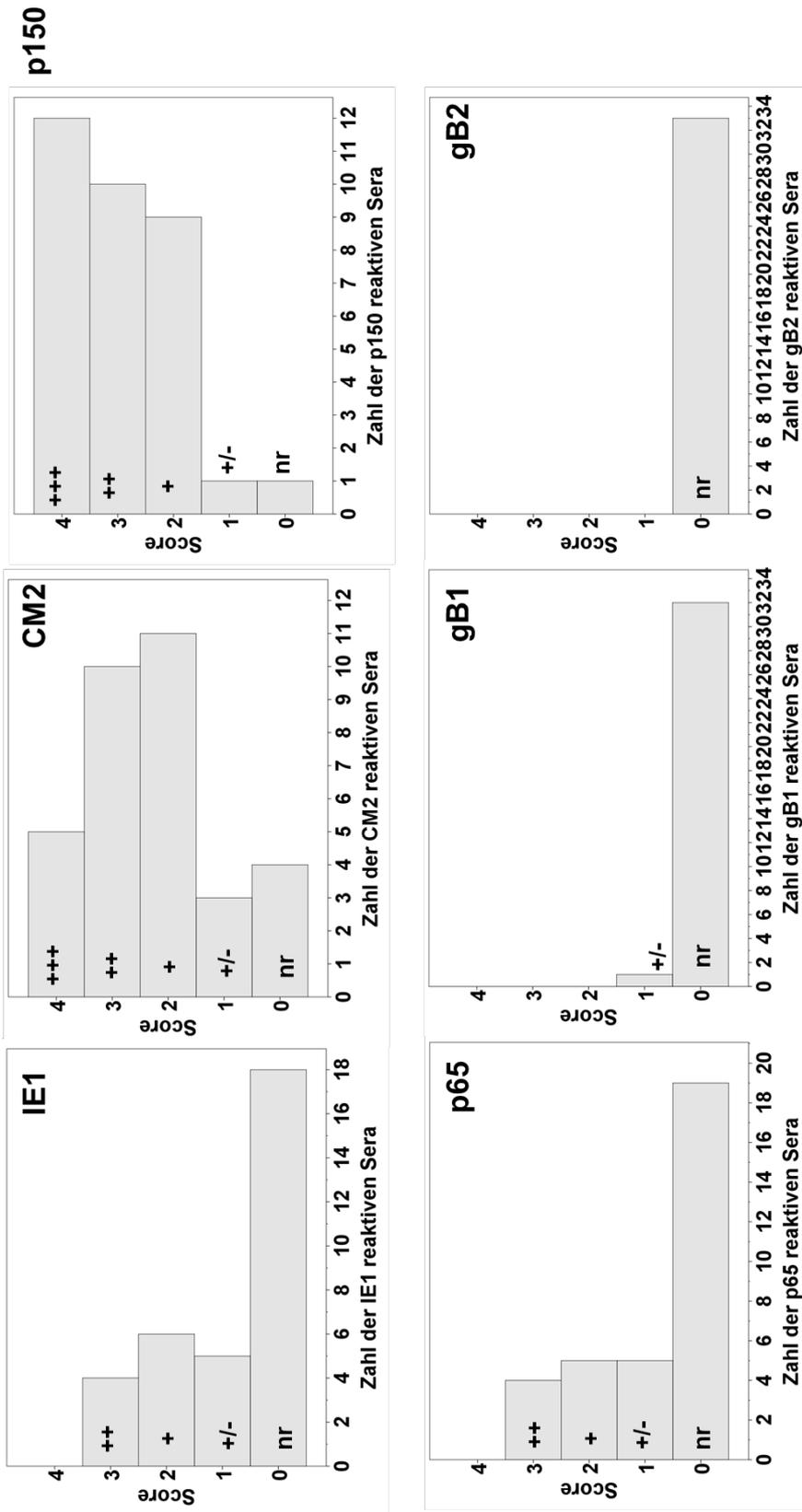


Abbildung 34: Kohorte II N = 33 - Verteilungen der Scores der IgM Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot

4.4.2 CMV-spezifische Reaktivität im recomLine CMV IgG Test gegen die rekombinanten Virusantigene IE1, CMV2, p150, p65, gB1 und gB2

Das rekombinante IgG gB2 gilt als Marker für eine CMV-Primärinfektion. Es ist frühestens drei Monate nach der Serokonversion des CMV IgG nachweisbar (Schoppel et al. 1997). Der rekombinante CMV IgG Immunblot verhält sich bei der Kohorte II ähnlich dem des CMV IgM. Die Antigene IE1, p65, gB1 und gB2 zeigen überwiegend niedrige Scores. Das gB2 zeigt sogar bei allen 33 Schwangeren einen Score = 0, wie man es bei einer frühen CMV Primärinfektion erwartet. Die CM2 und p150 reaktiven Sera ergeben hauptsächlich Scores > 1, wobei ab einem Score = 1 eine Serokonversion vorliegt. Für die Kohorte I und damit auch für das HIG-Studienkollektiv liegen im rekombinanten Immunblot des CMV IgG teilweise andere Ergebnisse vor. Dem Großteil der Patientinnen werden für das gB1 und das gB2 niedrige Scores zugeteilt. Das rekombinante IgG gB2 hat in fünf Fällen nicht mehr einen Score = 0, sondern einen Score = 1. Bei diesen Patientinnen kam es zwar schon zur Serokonversion des CMV IgG. Der Zustand des IgG gB2 mit einem Score = 1 wird jedoch noch als eine Primärinfektion gewertet. Auch das CM2 und das p150 der Kohorte I und damit auch des HIG-Studienkollektivs haben wie bei Kohorte II hohe Werte im Scoring. Eine ganz andere Verteilung der Reaktivitäten gegen die rekombinanten Antigene liegt für das IE1 und das p65 im Vergleich zum Studienkollektiv der Schwangeren mit einem GA > 15. SSW vor. Hier zeigen sich bis auf wenige Ausnahmen hohe Scores.

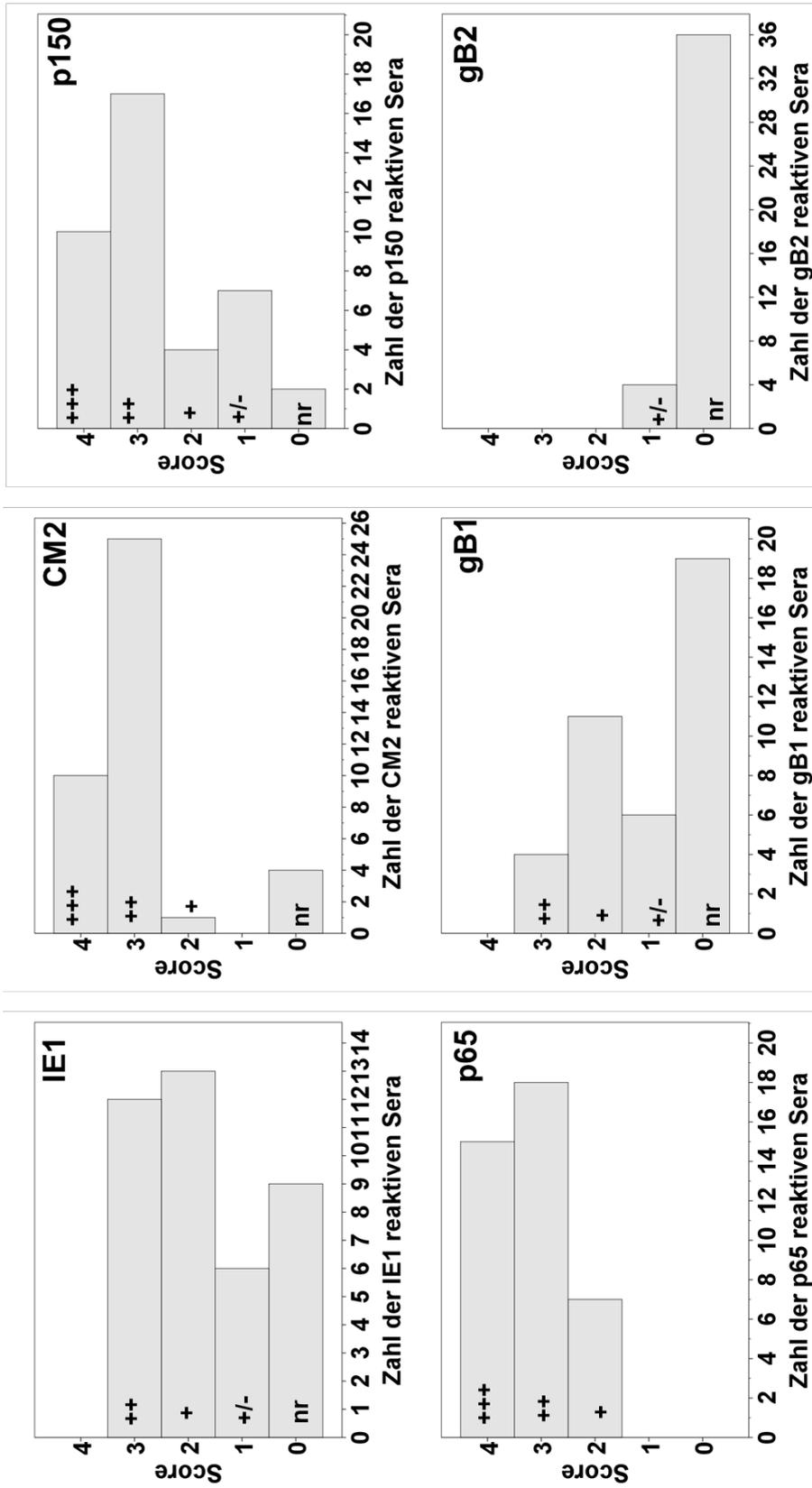


Abbildung 35: HIG-Studienkollektiv - Verteilungen der Scores der IgG Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot (Kagan et al. 2018)

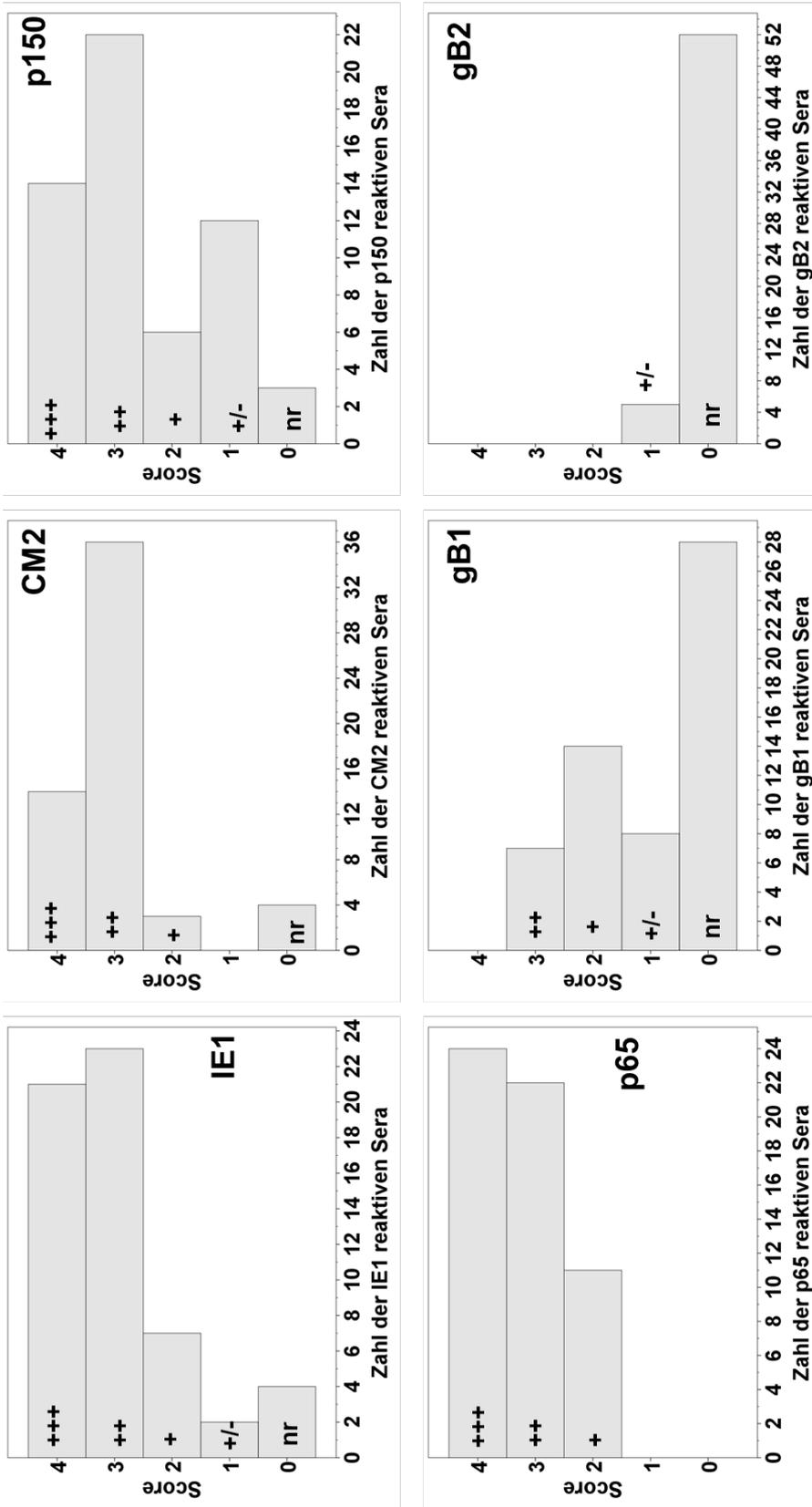


Abbildung 36: Kohorte I N = 57 - Verteilungen der Scores der IgG Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot

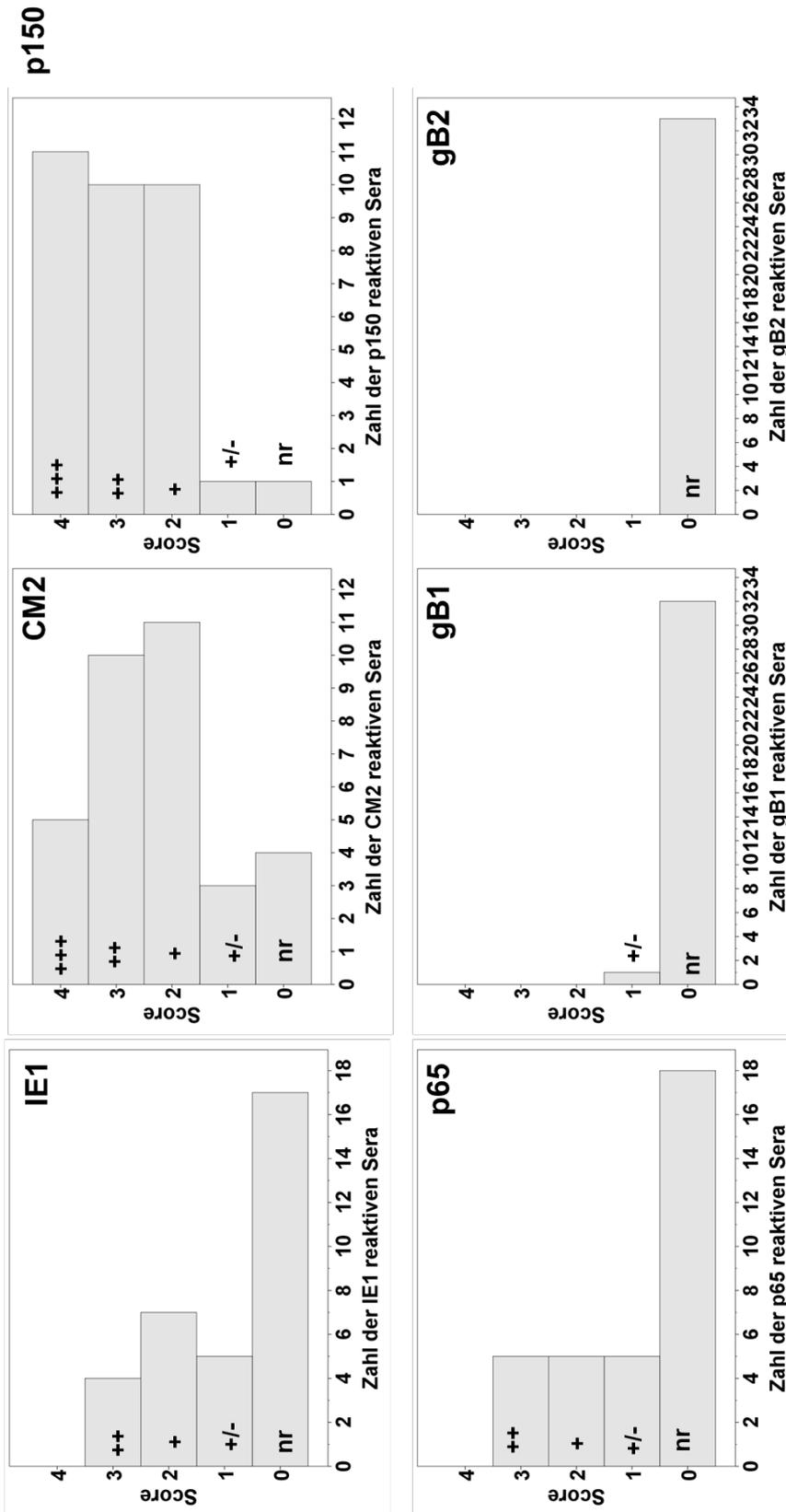


Abbildung 37: Kohorte II N = 33 - Verteilungen der Scores der IgG Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/p65/gB1/gB2 recomline Blot

4.4.3 CMV-IgG-Antikörper im recomLine IgG Aviditätstest gegen rekombinante Virusantigene IE1, CM2, p150 und gB2

Für das gesamte Patientenkollektiv hat im recomLine IgG Aviditätstest das gB2 einen Score = 0. Hierdurch kann für alle Patientinnen eine Primärinfektion bestätigt werden. Gegen die anderen drei rekombinanten Virusantigene IE1, CM2 und p150 erbringt das CMV IgG zum Teil eine Reaktivität. Aus den Abbildungen 38, 39 und 40 ist ersichtlich, dass bei allen drei Kohorten vorwiegend Scores von 0-3 vorliegen.

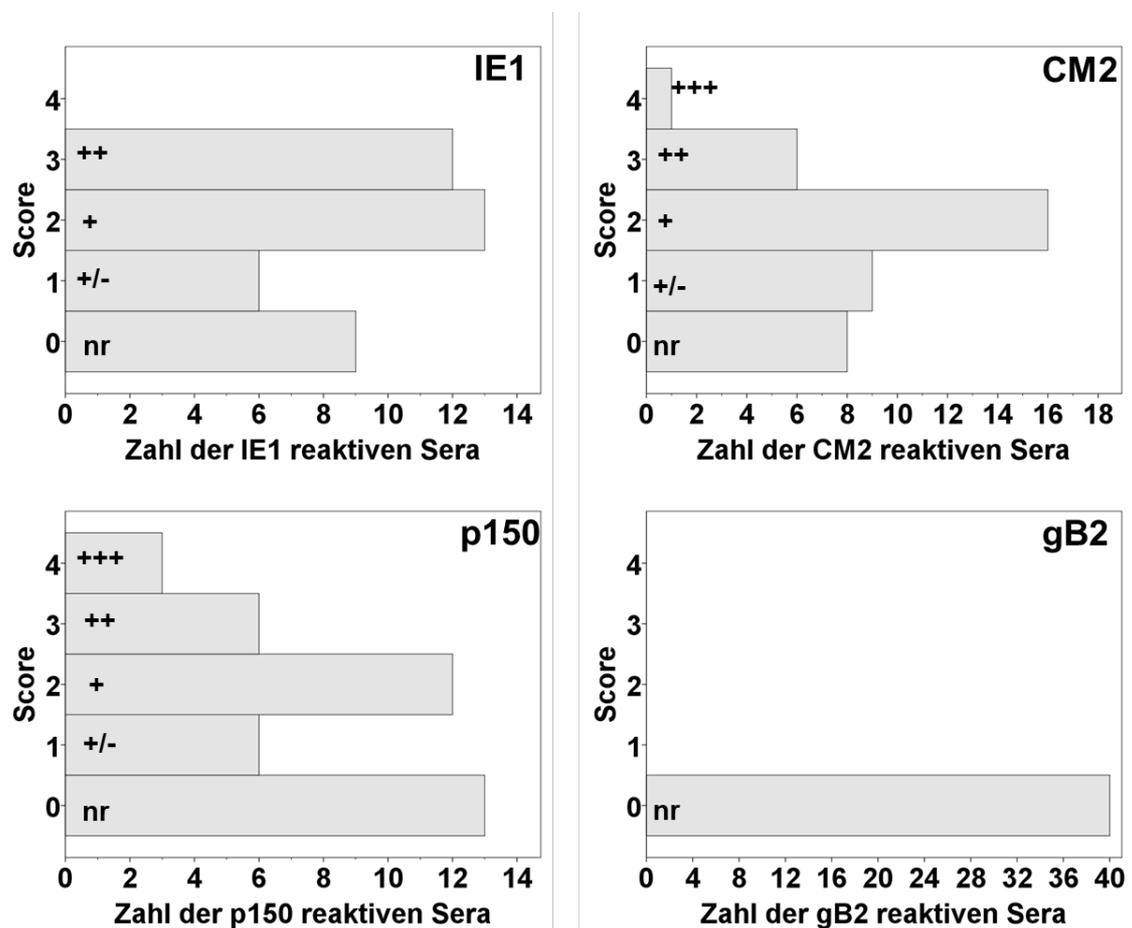


Abbildung 38: HIG-Studienkollektiv - Verteilungen der Scores der IgG Avidität Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/gB2 recomline Blot

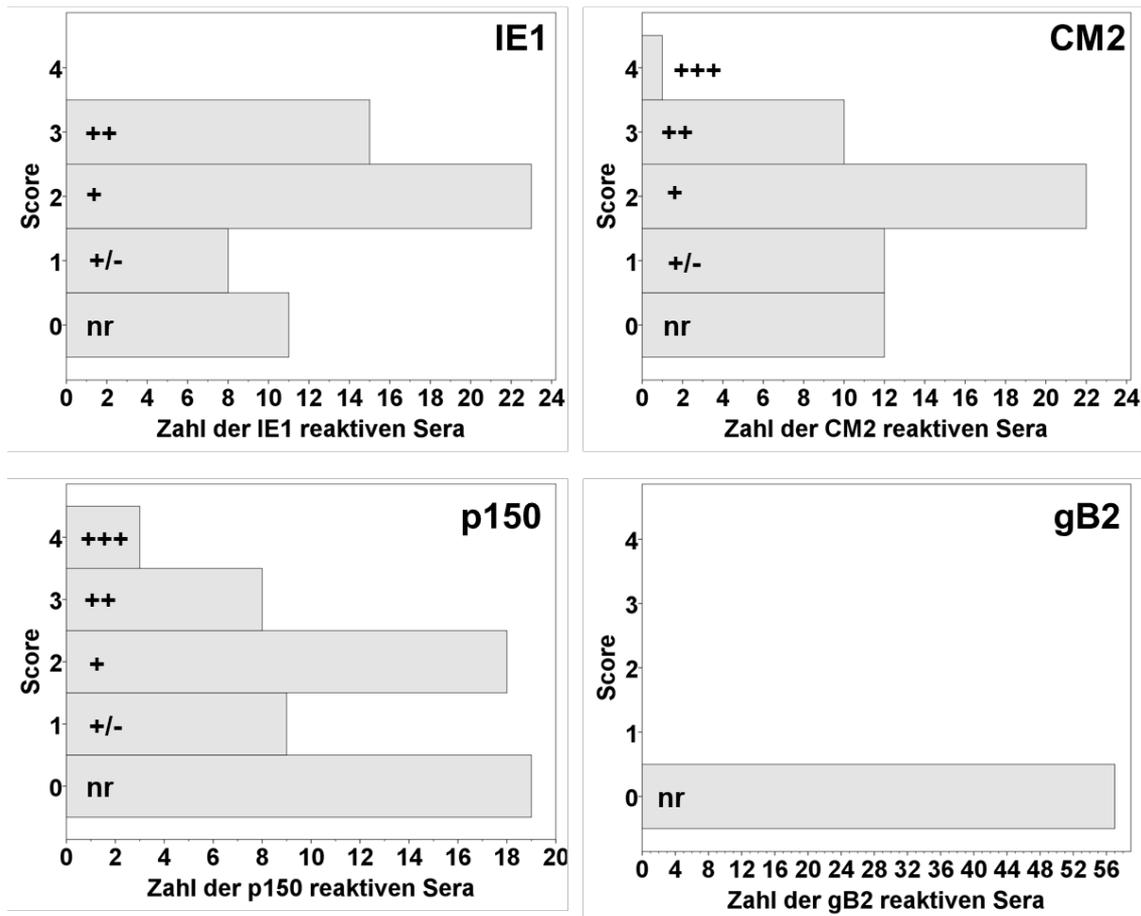


Abbildung 39: Kohorte I - Verteilungen der Scores der IgG Avidität Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/gB2 recomline Blot

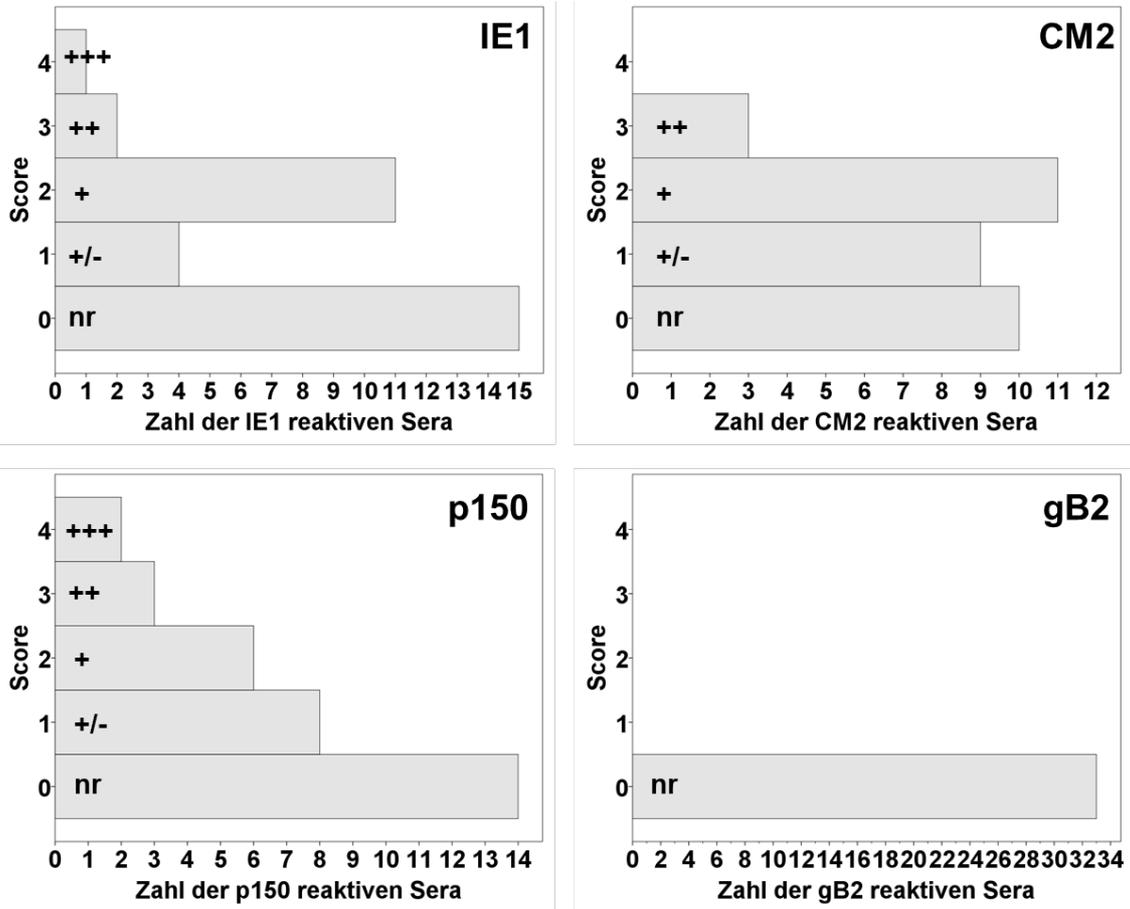


Abbildung 40: Kohorte II - Verteilungen der Scores der IgG Avidität Antikörperreaktionen gegen die rekombinanten CMV-Antigene im anti CMV – IE1/CM2/p150/gB2 recomline Blot

5 DISKUSSION

5.1 Primärinfektion oder Nicht-Primärinfektion – diagnostische Marker

Der Status einer CMV Infektion wird anhand diverser virologischer Parameter festgestellt. Dazu zählen der CMV Serostatus mit CMV-spezifischem IgG/IgM Antikörpernachweis, die CMV IgG Avidität und der rekombinante CMV IgG/IgM Immunblot sowie der rekombinante IgG Aviditätstest. Wie die Ergebnisse der unterschiedlichen Testungen interpretiert werden und wie die Laborparameter einer CMV Primärinfektion sich von einer Nicht-Primärinfektion unterscheiden, ist in den Tabellen 36 und 37 aufgeführt.

Zu erwarten sind bei einer frischen CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft in der Serologie ein positiver CMV IgM Index, der mit zunehmender Schwangerschaftsdauer abfällt, ein niedrig positives CMV IgG und eine niedere IgG Avidität, die im Verlauf ansteigt (Aviditätsmaturation). (AWMF S2k-Leitlinie 2014; Prince und Lape-Nixon 2014; Kagan und Hamprecht 2017; Hamprecht 2017). Der Immunblot dient zum Nachweis von IgM und IgG Antikörpern, die gegen rekombinante Virusantigene (IE1, p150, CM2, p65) und Glycoproteine (gB1 und gB2) reaktiv sind. Er kann in Kombination mit Immunoassays zum Einsatz kommen, wenn die Standard-ELISA-Systeme für das CMV IgM, IgG oder die IgG Avidität unklare Ergebnisse wie etwa intermediäre IgG Avidität liefern. Immunblots werden zeitintensiv manuell durchgeführt im Gegensatz zu den automatisierten Enzymimmunoassaymethoden für die Bestimmung von CMV IgG/IgM/IgG Avidität (Rajasekariah et al. 2013). Der rekombinante Immunblot (Mikrogen) hat aber den Vorteil, dass gleichzeitig sechs verschiedene virale Antigene zur Bestimmung CMV spezifischer Antikörper eingesetzt werden. Bei Anwendung eines Immunblots wird immer z.B. die anti-CMV gB2 IgG Reaktivität ausgewertet, da die Glycoprotein-spezifischen IgGs bei einer CMV PI charakteristischerweise erst etwa 100 Tagen nach Beginn der Primärinfektion

nachweisbar werden. Daher lässt sich durch das Nichtvorhandensein der anti-CMV gB2-IgG Reaktivität auf den Erwerb einer nicht länger als ca. 13-14 Wochen zurückliegenden CMV-Primärinfektion schließen (Schoppel et al. 1997). Weiterhin zeigte sich, dass die Aviditätsmaturation bzw. die anti-gB2-IgG-spezifischen Antikörper, die mit dem rekombinanten IgG Aviditätsassay bestimmt werden, mit dem Anstieg der Neutralisationskapazität von Fibroblastenzellen korrelieren (Hamprecht et al. 2014; Schoppel et al. 1997).

Tabelle 36: *Virologische Laborparameter in Abhängigkeit vom CMV-Infektionsstatus [aus (Hamprecht 2017)]*

Testergebnisse	Interpretation
<i>EIA: IgG neg; IgM neg</i>	Nicht infiziert, seronegativ, suszeptibel für PI
<i>EIA: IgG (niedrig) pos; IgM pos (IgM-Index > 2); IgG Avidität niedrig (AI 0-< „intermediär“)</i> <i>PCR: CMV DANN aus EDTA-Blut/Urin pos</i> <i>Immunblot: niedrig-avide</i> <i>IE1/CM2/p150/gB2-Reaktivität;</i> <i>IE1/CM2-IgM-Reaktivität; anti-gB2-IgG nicht reaktiv</i>	Primärinfektion (PI)
<i>EIA: IgG pos; IgM neg; IgG-Avidität hoch;</i> <i>PCR CMV DANN aus EDTA Blut/Urin neg</i>	Latent infiziert (lange zurückliegende PI)
<i>EIA: IgG (hoch) pos; IgM pos (IgM-Index eher niedrig); IgG-Avidität hoch</i> <i>PCR: HCMV-DNA in Blut und/oder Urin positiv oder negativ (Picone et al. 2018)</i>	Rekurrente Infektion (Reinfektion oder Virusreaktivierung)

Tabelle 37: CMV-Primärinfektion vs. Nicht-Primärinfektion: Einfluss auf die Laborparameter [aus (Hamprecht 2017)]

Primärinfektion	Nicht-Primärinfektion
Initial niederes IgG	Initial hohes IgG
kein Nachweis von anti-gB2-IgG	Nachweis von anti-gB2-IgG
Niedere IgG Avidität	Hohe IgG Avidität
Hoher IgM-Index	Niederer IgM-Index
IgM-Immunblot: IE1, CM2, p150	IgM-Immunblot: isoliert anti-p150-IgM
Viruslast im EDTA-Gesamtblut/Urin ggf. präsent	Viruslast im EDTA-Gesamtblut/Urin ggf. präsent (Picone et al, 2018)

Die Diagnostik der CMV Nicht-Primärinfektion ist noch stark verbesserungsfähig. Bis heute kann man eine rekurrente Sekundärinfektion und eine Reaktivierung routinemäßig nicht unterscheiden. Bei der Non-Primärinfektion ist auch der CMV DNA Nachweis nicht obligat (Picone et al. 2017).

5.1.1 Die Rolle von CMV IgM in der Diagnostik der CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft

Anti-CMV IgM ist ein wichtiger diagnostischer Marker einer akuten Primärinfektion (Hazell 2007). Es kann sehr sensitiv sein, jedoch nicht spezifisch für eine CMV Primärinfektion, da die Antikörper noch mehrere Monate nach der Infektion im Körper persistieren können (Kanengisser-Pines et al. 2009; AWMF S2k-Leitlinie 2014; Hazell 2007). Auch bei Rekurrenz, bei einer Sekundärinfektion oder einer Koinfektion mit dem EBV oder Parovirus B19 sind CMV-spezifische IgM Antikörper nachweisbar. Solche Testergebnisse können irreführend sein und zur falschen Diagnose führen. Daher ist das IgM allein nicht zum Nachweis einer CMV Primärinfektion ausreichend und soll durch den Nachweis CMV-spezifischen IgGs und der IgG Avidität unterstützt werden (Hazell 2007; AWMF S2k-Leitlinie 2014). Hohe IgM Indices korrelieren mit dem

Nachweis niederer IgG Aviditäten, sowohl durch herkömmliche Immunoassays (Dollard et al. 2011) als auch durch den rekombinanten Aviditätsimmunblot (Hamprrecht et al. 2014). Wang et al. konnten durch die Untersuchung der IgM Seroprävalenz in Kombination mit positiven IgG Befunden eine Risikogruppe unter den US - amerikanischen Frauen eingrenzen. Sowohl die 20-29 jährigen Probandinnen mit zusätzlich positiv nachgewiesenem IgG als auch die Gruppe der nicht lateinamerikanischen weißen Frauen mit positivem IgG zeigten mit 7,3% und 9,7% die höchste IgM Seroprävalenz (Wang et al. 2016).

Ein weiteres Hilfsmittel zur Diagnostik einer CMV Primärinfektion ist der rekombinante Immunblot, um positive CMV IgM Befunde zu bestätigen. Der rekombinante IgM-Westernblot zeigt in solchen Fällen am häufigsten eine Reaktivität gegen das rekombinante CMV Phosphoprotein p150 (Lazzarotto et al. 1996).

5.1.2 Die Rolle des CMV IgG in der Diagnostik der CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft

Gegenteilig zur Abnahme des IgM Index zeigt die Konzentration der IgG Antikörper im Verlauf einer Primärinfektion einen steilen Anstieg und geht dann in ein Plateau über (Prince und Lape-Nixon 2014; Hamprrecht et al. 2014; AWMF S2k-Leitlinie 2014). Bei einer länger zurückliegenden Primärinfektionen sind hohe IgG Konzentrationen messbar, weshalb es als Marker einer späten Infektion gilt (AWMF S2k-Leitlinie 2014; Hazell 2007). Durch das CMV IgG allein kann eine Primärinfektion nur dann als sicher diagnostiziert gelten, wenn die Serokonversion des IgG nachgewiesen ist. Dazu sind zwei in einem zeitlichen Abstand von etwa zwei Wochen aufeinanderfolgende Proben nötig, von denen Erstere seronegativ für CMV IgG ist (AWMF S2k-Leitlinie 2014). Die CMV IgG-Serokonversion ist der Goldstandard der CMV Serologie zur Erfassung einer Primärinfektion. Da die Serokonversion jedoch nur selten aufgrund fehlender Serumrückstellproben bewiesen werden kann, ist die Diagnostik der CMV Primärinfektion erschwert und weitere Testsysteme wie die

CMV IgG Avidität sind unabdingbar (Kanengisser-Pines et al. 2009; Hazell 2007).

5.1.3 Die Rolle der CMV IgG Avidität in der Diagnostik der CMV Primärinfektion in der Schwangerschaft

Im Sinne einer Stufendiagnostik werden bei der Labordiagnostik einer CMV Primärinfektion Serum- oder Plasmaproben auf CMV-spezifische Antikörper getestet. Liegen also anti-CMV IgM und IgG Antikörper vor, sollte zur weiteren Abklärung immer die IgG Avidität bestimmt werden (AWMF S2k-Leitlinie 2014). Eine niedere Avidität lässt auf eine kürzlich zurückliegende Infektion schließen und kann somit als Nachweis einer Primärinfektion gelten. Daher werden IgG Aviditätsassays als angemessenes Instrument zur Charakterisierung einer CMV Infektion gehandelt (Guisasola et al. 2010).

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Immunoassays ECLIA und CMIA bieten neben dem Antikörpernachweis auch die automatisierte Bestimmung der IgG Avidität. Anhand der Tabelle 7 werden die Aviditäten als „nieder“, „intermediär“ und „hoch“ klassifiziert. Diese Klassifizierung ist vom Hersteller abhängig, weshalb unterschiedliche Testsysteme zu unterschiedlichen Aviditätsbeurteilungen führen können (Revello et al. 2010; Vauloup-Fellous et al. 2013). Schwierigkeiten treten hierbei vor allem im Bereich der Grauzone auf, welche die Klassifizierung „intermediär“ darstellt. Zu ihr ist keine klinische Interpretation möglich, wodurch stark divergierende Definitionen der Grauzone durch die verschiedenen Tests zu unklaren Diagnosen führen (Hamprecht et al. 2014). Hinzu kommt, dass alle Individuen unterschiedliche Aviditäts-marturationen zeigen. Bei Schwangeren mit verzögertem Anstieg der Avidität kann sich eine hohe Avidität ggf. erst bis zu 9 Monate nach Exposition zeigen (Hamprecht 2017). In solchen Fällen der verspäteten Aviditätsmarturation kann der aktuelle Stand einer Infektion fehlinterpretiert werden (Vauloup-Fellous et al. 2014). Daher wird eine Standardisierung mit neuer Klassifikation der Cut-off

Werte der Immunoassays als sinnvoll angesehen und schon für den VIDAS CMV IgG Aviditätsassay erfolgreich umgesetzt (Vauloup-Fellous et al. 2013).

5.2 Vergleich der CMV-spezifischen Immunoassays ECLIA und CMIA im Kontext der PI

Die CMV IgM-Indices der EV waren bei den Patientinnen unserer Kollektive sowohl mit den EIAs ECLIA als auch CMIA außer bei wenigen Ausnahmen positiv und noch relativ hoch. Zu diesen Befunden passend ergaben sich mit ECLIA niedrige IgG-Konzentrationen. Nur in zwei Fällen wurde eine Konzentration des CMV IgG > 100 U/ml ermittelt, jeweils eine aus der Kohorte I (AF 72322520 ECLIA CMV IgG = 140,5 U/ml) und eine andere aus der Kohorte II (AF 72491729 ECLIA CMV IgG = 113,8 U/ml). Alle anderen befanden sich unter 60 U/ml. Dazu passend ergaben sich außer bei drei Patientinnen (AF 71138317, AF 72494102, AF 72491729) niedere ECLIA IgG Aviditäten und ebenso niedere Aviditäten aus dem Immunblot.

Die Kriterien zur Diagnose der CMV-Primärinfektion erfüllt das HIG-Studienkollektiv bei Erstdiagnose vor HIG-Therapiebeginn (siehe Tab. 39 im Anhang), das auch in der kürzlich veröffentlichten Studie von Kagan et al. zur Untersuchung der Prävention einer materno-fetalen Transmission des CMV durch HIG-Gabe nach der maternalen CMV-Primärinfektion in der Frühschwangerschaft beschrieben wurde (Kagan et al. 2018). Dort war für das HIG-Studienkollektiv genau wie in der vorliegenden Auswertung und auch für die Kohorten I und II auffällig, dass alle Sera, außer in zwei Fällen der Kohorte II, im IgM Immunblot gegen das rekombinante p150 und fast alle gegen das rekombinante CM2 reaktiv waren. Gegen das rec gB1 und rec gB2 zeigte sich keine Reaktivität (siehe Abb. 32-34) (Kagan et al. 2018; Hamprecht et al. 2017). Diese Befunde stimmen mit den für eine Primärinfektion spezifischen Befunden aus Tab. 37 überein.

Ebenso liegt kein CMV-spezifischer anti-gB2-IgG Nachweis weder im recomLine IgG Test noch im recomLine IgG Aviditätstest vor, wodurch eine

CMV-Primärinfektion bestätigt werden kann. Erwähnenswert ist neben dem obligativen Nachweis von anti-CMV pp150 IgG die Reaktivität aller Sera des HIG-Studienkollektivs und der Kohorte I gegen das p65 Tegumentprotein im rekombinanten IgG Immunblot (Abb. 35+36). Interessanterweise zeigte sich bei Kohorte II eine Reaktivität gegen das p65, jedoch nur in 10 von 33 Fällen (Abb. 37).

Signifikant abweichend zu ECLIA-Serokonstellationen zeigten sich die CMIA Resultate bei Erstdiagnose. Die CMV IgG Konzentrationen waren überwiegend sehr hoch. Zwei Fälle wurden als Ausreißer mit 442,8 AU/ml (AF 72492798) und 822,7 AU/ml (AF 71112453) gewertet, 15/40 des HIG-Studienkollektivs, 23/57 der Kohorte I und 11 /33 der Kohorte II befanden sich in einem Intervall zwischen 100 – 250 AU/ml. Problematisch bei dem Vergleich der Ergebnisse der beiden Immunoassays ECLIA und CMIA sind die unterschiedlichen Einheiten bezüglich des CMV IgG. Es gibt noch keinen international anerkannten CMV IgG Standard, wodurch die CMV-Serodiagnostik erschwert wird (Hamprecht 2017). Aber auch die mit CMIA ermittelten CMV IgG Aviditäten sind in vielen Fällen nicht einer Primärinfektion entsprechend nieder. In 7 Fällen des HIG Studienkollektivs und der Kohorte I und in 5 Fällen der Kohorte II ergaben sich hohe IgG Aviditäten bei einer zugehörigen niederen rekombinanten IgG Avidität (siehe Tab. 38 + 39). Auch die CMV IgG Konzentrationen waren bei diesen Konstellationen hoch. Solche Ergebnisse passen nicht in die in Tabelle 37 aufgelisteten Kriterien einer CMV Primärinfektion. Zur Diagnostik der CMV Primärinfektion sollten zwei voneinander unabhängige Testsysteme für eine sichere Diagnose übereinstimmende Ergebnisse liefern. Das ist beim CMIA in Kombination mit dem rekombinanten Immunblot nicht der Fall. ECLIA zeigt überwiegend eine gute Übereinstimmung mit dem Immunblot.

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass die CMV Serodiagnostik in der Schwangerschaft noch optimierbar ist und deutliche Lücken in der Standardisierung aller Parameter aufweist. Die Selektion von CMV-ECLIA-

Daten und deren Korrelation zum rekombinanten Immunblot zeigen aber Wege zur reproduzierbaren Diagnostik in der Frühschwangerschaft auf.

Trotz der Möglichkeit zur frühen Diagnostik einer CMV Primärinfektion ist ein CMV-Antikörperscreening in der Schwangerschaft nicht empfohlen (Rawlinson et al. 2017). Dadurch ist die Identifizierung von schwangeren Frauen mit einer frühen CMV Primärinfektion in Deutschland rein zufällig und das Risiko einer ZNS-Schädigung von Neugeborenen erhöht.

5.2.1 Vergleich der Immunoassays ECLIA und CMIA bezüglich des CMV IgM

Ein erster übersichtlicher Vergleich der beiden Testverfahren wird bereits durch die Darstellung der Ergebnisse der Erstvorstellung in Boxplots (Abb. 8-13) gegeben. Es wird ersichtlich, dass sowohl bei unserem HIG-Studienkollektiv als auch bei der Kohorte I der Abstand zwischen Q1 und Q3 (interquartiler Abstand) für die Box zu CMIA größer ist, als bei dem zugehörigen ECLIA Boxplot. Die Mediane zeigen zwar in beiden Kollektiven deutlich höhere Werte für CMIA, jedoch gibt es zwischen den Mittelwerten keinen großen Unterschied. Daher ergibt sich aus den t-Tests auch keine Signifikanz in diesen Fällen. Nur bei Kohorte II, bei der die Mediane und die interquartilen Abstände der Boxplots zu ECLIA und CMIA keine starken Diskrepanzen zeigen, errechnet sich aus den weiter auseinanderliegenden Mittelwerten ein p-Wert $< 0,05$ (siehe Tab. 12) und somit ein signifikanter Unterschied zwischen den Testergebnissen der beiden Immunoassays für das CMV IgM.

Diese Ergebnisse erscheinen auf den ersten Blick bei Betrachtung der Tabellen 9-11 und der Abbildungen 8-13 unerwartet, ergeben jedoch Sinn, da der Mittelwert des CMIA CMV IgM der Kohorte II durch zwei verhältnismäßig sehr hohe Werte nach oben gezogen wird. Bei dem HIG-Studienkollektiv und der Kohorte I zeigen der ECLIA und der CMIA ähnlich hohe Ausreißer, weshalb die Mittelwerte nicht weit genug voneinander abweichen, so dass sich kein signifikanter Unterschied ergibt.

Insgesamt zeigt sich also für das CMV IgM keine signifikante Diskrepanz zwischen ECLIA und CMIA.

Durch die unter 4.2 dargestellten Verläufe der CMV IgM Indices bei Progression einer CMV PI zeigt sich, dass das CMV IgM vollkommen unabhängig von der HIG Gabe ist. Weil HIG kein CMV-spezifisches IgM enthält, wird dieser Zusammenhang plausibel.

5.2.2 Vergleich der Immunoassays ECLIA und CMIA bezüglich des CMV IgG

Die Tabelle 16 mit den Ergebnissen der t-Tests zum CMV IgG aller drei Kohorten zeigt mit p-Werten $< 0,0001$ signifikante Diskrepanzen zwischen ECLIA und CMIA für das CMV IgG. Es zeigen sich zwar in den Tabellen 13-15 größtenteils Übereinstimmungen bei der Kategorisierung der Ergebnisse, die Abbildungen 14-19 zeigen jedoch den Grund für die Signifikanz. Ausreißer nach oben gibt es in allen drei Kollektiven für beide Testverfahren. Doch die höchsten Werte, die mit CMIA für das CMV IgG ermittelt wurden, sind deutlich größer als die des ECLIA und erhöhen dadurch den Mittelwert extrem. Das HIG-Studienkollektiv und die Kohorte I beinhalten zwei Patientinnen mit deutlich überhöhten Werten von CMIA CMV [IgG] = 442,8 AU/ml (AF 72492798) und CMIA CMV [IgG] = 822,7 AU/ml (AF 71112453).

In Tabelle 38 (siehe Anhang) sind die Werte des ECLIA IgG im direkten Vergleich mit den CMIA IgG Werten einzusehen. Die ECLIA IgG Werte befinden sich noch auf einem niedrigen Niveau. Die Testverfahren divergieren bei allen Patientinnen für das CMV IgG weit auseinander. Außer eine Patientin mit einem ECLIA IgG > 100 U/ml zeigen alle für das CMV IgG ECLIA – Werte unter 60 U/ml, der Großteil sogar unter 20 U/ml. Die zugehörigen CMIA IgG Werte sind alle > 10 AU/ml, 27/57 liegen für Kohorte I und 11/33 für Kohorte II über 100 AU/ml.

Aber können diese beiden Immunoassays hinsichtlich des CMV IgG überhaupt direkt miteinander verglichen werden? An dieser Stelle ist Vorsicht geboten. Denn bisher gibt es noch keine internationale, von der WHO anerkannte Einheit

zur Angabe der IgG Konzentrationen. Diese wird von den Herstellern selbst definiert und ist von den für den jeweiligen Test eingesetzten Virusantigenen abhängig. Den Berechnungen der t-Tests und damit den Ergebnissen der Signifikanzen darf in Bezug auf die CMV IgG Konzentration bisher keine zu große Bedeutung zugeschrieben werden. Abhilfe zur Interpretation der Testergebnisse schaffen die angegebenen Cut-off Werte. Sie setzen die Grenze zu positiven IgG Konzentrationen fest (Hamprecht 2017).

5.2.3 Vergleich der Immunoassays ECLIA und CMIA bezüglich der CMV IgG Avidität

Die CMV IgG Avidität zeigt in mehreren Fällen uneinheitliche Testergebnisse von ECLIA und CMIA. Sie sollte bei einer frühen Primärinfektion noch niedriger sein, da sie erst im Verlauf der Infektion mit der Reifung der CMV IgGs auf ein hohes Niveau ansteigt (entspricht Aviditätsmaturation). Jedoch zeigen schon die Tabellen 18-20, dass, anders als bei ECLIA, mit CMIA mehrere Werte im Bereich der intermediären und hohen Aviditäten liegen. ECLIA zeigt insgesamt nur einmal eine intermediäre und einmal eine hohe IgG Avidität in allen drei Kohorten. Die Abbildungen 20-25 stellen diesen Unterschied anschaulicher dar. Sowohl beim HIG-Studienkollektiv als auch bei der Kohorte I sind die Mediane als auch die Mittelwerte für CMIA deutlich höher. Daraus ergeben sich auch im t-Test signifikante Diskrepanzen zwischen den Immunoassays (siehe Tab. 17). Anders verhält es sich bei der Kohorte II. Hier liegt keine Signifikanz vor, da die Mittelwerte trotz intermediärer und hoher Aviditäten allein auf Seiten von CMIA nicht sehr stark voneinander abweichen. Der Median, der sich aus den Werten des ECLIA ergibt liegt sogar höher als der des CMIA.

5.2.4 Vergleich von ECLIA und CMIA bei Betrachtung der CMV IgG Konzentration im Zusammenhang mit der CMV IgG Avidität

Die unter 4.1.4 dargestellten Streudiagrammen zeigen den Zusammenhang zwischen der CMV IgG Konzentration und der CMV IgG Avidität. Zu erwarten wäre, dass bei einer hohen IgG Konzentration auch eine hohe IgG Avidität vorliegt und sich damit die Streuung der Punkte im Diagramm kegelförmig darstellt. Dementsprechend würde eine eingefügte Regressionsgerade der einer positiven quadratischen Gleichung gleichen.

Solch ein Ergebnis zeigt sich in allen drei Kohorten für ECLIA (siehe Abb. 26-28). Die Werte, die mit CMIA für das IgG und die IgG Avidität ermittelt wurden, stehen in einer anderen Beziehung zueinander. Durch die Funktion Loess des Statistikprogramms SPSS, mit dem die Auswertung durchgeführt wurde, werden extreme Ausreißer außer Acht gelassen, wodurch sich bei CMIA in den Kohorten eine ebene Gerade ergibt. Hohe IgG Konzentrationen korrelieren mit niederen IgG Aviditäten sowie hohe IgG Aviditäten gemeinsam mit niedrigen IgG Konzentrationen vorkommen.

5.2.5 Vergleich der ELICA und CMIA CMV IgG Aviditäten mit dem rekombinanten IgG Immunblot

Dass die mit ECLIA diagnostizierten Werte im Vergleich zu CMIA insgesamt die überzeugenderen Ergebnisse sind, wurde anhand des Vergleichs der Aviditäten mit dem rekombinanten Aviditätsimmunblot und der daraus berechneten Sensitivitäten bestätigt. Aufgrund der geringen Fallzahlen im Bereich der intermediären und hohen Aviditäten wurden die Sensitivitäten und positiven prädiktiven Werte nur für niedere Aviditäten berechnet. Die Herstellerangaben für die Sensitivitäten erstrecken sich über alle drei Klassifikationen von nieder, intermediär und hoch. Als Referenz gilt der Goldstandard des rekombinanten Aviditätsimmunblot. ECLIA liefert mit unseren Kohorten von Frauen mit überwiegend niederer IgG Avidität Sensitivitäten für die richtige Klassifizierung der niederen IgG Avidität im Vergleich mit dem rekombinanten

Aviditätsimmunblot zwischen 96% und 100% für die verschiedenen Patientenkollektive. Das macht im Durchschnitt eine Sensitivität von 98,09 %, die über der des Herstellers (96,1 %) liegt. Ein vergleichsweise ernüchterndes Ergebnis liefert CMIA mit Resultaten von 80 % über 83,3 % bis zu 88,09 % und damit einem Mittelwert von 83,79 %. Dieser liegt 13,51 % unterhalb der Herstellerangabe von 97,3 %. Diese Werte errechnen sich daraus, dass die mit CMIA ermittelten Aviditäten in 9/40 Fällen beim HIG-Studienkollektiv, in 14/57 Fällen bei Kohorte I und in 11/33 Fällen bei Kohorte II nicht mit dem rekombinanten IgG Aviditätsimmunblot übereinstimmen. Bei 7/40 aus dem HIG-Studienkollektiv, 9/57 aus der Kohorte I und 5/33 aus der Kohorte II steht einer niederen rekombinanten IgG Avidität eine hohe CMIA IgG Avidität gegenüber (siehe Tab. 38 + 39 im Anhang).

5.3 Routinemäßiges Screening von Frauen auf HCMV vor bzw. zu Beginn einer Schwangerschaft zur frühen Erkennung einer Primärinfektion

Eine routinemäßige Untersuchung von Frauen auf den Zytomegalievirus ist sowohl vor als auch während einer Schwangerschaft bisher nicht weltweit empfohlen (Munro et al. 2005; Prince und Lape-Nixon 2014; Revello und Gerna 2002). Gründe hierfür sind zum einen, dass es zu ungerechtfertigten Schwangerschaftsabbrüchen kommt aufgrund von positiven Testergebnissen und der daraus resultierenden Angst vieler Schwangerer, ein symptomatisches Kind zu gebären. Zum anderen besteht bisher noch ein Mangel an verifizierten Behandlungsmethoden zur Reduzierung und Prävention einer kongenitalen CMV-Transmission (Prince und Lape-Nixon 2014; Saldan et al. 2017). Schwangeren mit dem Risiko der Transmission kann pränatale Diagnostik und eine Therapie mit Hyperimmunglobulin angeboten werden. Diese Therapie zeigt bisher erfolgsversprechende Ergebnisse dahingehend, dass bei Schwangeren mit einer CMV Primärinfektion im ersten Trimester die maternofetale Transmissionsrate durch HIG-Gabe noch vor der 20. Schwangerschaftswoche erheblich vermindert werden kann (Kagan et al. 2018). Sie stellt aber kein

evidenzbasiertes Behandlungskonzept dar und wird bisher noch in laufenden Studien weiter erprobt. Seronegative Frauen können durch frühzeitige Aufklärung über Hygienemaßnahmen das Risiko, eine HCMV-Infektion während der Schwangerschaft zu erwerben, reduzieren (Prince und Lape-Nixon 2014; Kagan und Hamprecht 2017).

Einen weiteren Grund für ein Schwangeren-Screening kann die Serokonversion darstellen. Durch die Serokonversion erhält man Auskunft über eine Primärinfektion und es lässt sich mit ihr der Infektionszeitpunkt besser bestimmen als mit Werten, die zu einem späteren Zeitpunkt der Infektion gemessen werden. Liegt ein positiver IgG-Nachweis vor, jedoch ohne vorherige Serologie, kann nicht zwischen primärer und sekundärer Infektion unterschieden werden. In solchen Fällen muss zusätzlich die IgG Avidität ermittelt werden.

Um jedoch eine Routineuntersuchung auf HCMV bei Frauen einzuführen, müssen die verwendeten Testverfahren eine hohe Sensitivität und auch Spezifität aufweisen. Bei unseren Daten ist auffällig, dass die beiden Immunoassays ECLIA und CMIA teilweise signifikante Unterschiede in ihren Ergebnissen aufweisen. Solche Differenzen sind kürzlich beschrieben worden (Schampera et al. 2017). Vor allem bei der Avidität der IgG-Antikörper ist ein zuverlässiges Ergebnis entscheidend, um auf eine Primärinfektion schließen zu können. Dieses ist durch verschiedene Testverfahren nicht zu erreichen, aufgrund der unterschiedlichen Definitionen der Cut-off Werte für niedere, intermediäre und hohe Aviditäten. Dadurch ergeben sich unterschiedliche Zeitpunkte, zu denen der Übergang der Avidität von nieder zu intermediär und von intermediär zu hoch stattfindet (Hamprecht et al. 2014). Einige unserer Patientinnen zeigten mit ECLIA nieder avide Antikörper, während die durch CMIA erzielten Resultate als hoch avide gelten. Solche Frauen können je nach verwendeter Methode als Risikopatientinnen oder Nicht-Risikopatientinnen eingestuft werden. Die rechtzeitige Diagnose einer primären CMV-Infektion sowie die Ermittlung des Infektionszeitpunktes (anti-gB2-IgG) ist aber äußerst wichtig, um ein mögliches Risiko der maternofetalen Transmission zu beschreiben, welches im ersten Trimenon am höchsten ist.

Daraus ergibt sich, dass weiterer Forschungsbedarf besteht, bis es möglich ist, ein CMV-Screening für Schwangere und Frauen im gebärfähigen Alter standardisiert einzuführen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die intrauterine CMV-Infektion ist die häufigste aller viralen Infektionen in der Schwangerschaft. Etwa 0,5% - 4% der Schwangeren durchlaufen eine Primärinfektion (PI) mit dem Zytomegalievirus, der Großteil dieser bleibt jedoch aufgrund eines symptomlosen Verlaufs unerkannt. Wird das Virus auf den Feten übertragen, kann es zu diversen Symptomen kommen, welche sowohl das Zentralnervensystem betreffen, als auch extrazerebral, im retikuloendothelialen System (RES) nachweisbar sein können. Ein CMV Antikörperscreening in der Schwangerschaft ist trotz der Möglichkeit zur frühen Identifizierung von Risikoschwangeren nach aktueller Konsensus-Leitlinie nicht empfohlen (Rawlinson et al. 2017), weshalb in Deutschland die Identifizierung schwangerer Frauen mit einer CMV PI rein zufällig ist und das Risiko für ZNS-Schädigungen bei Neugeborenen erhöht ist.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das CMV-Monitoring von insgesamt 90 Schwangeren mit CMV-PI hinsichtlich ihres Serostatus bei der Erstdiagnose ausgewertet. 40 dieser Frauen wurden zusätzlich als Studienkollektiv gesondert mit CMV-spezifischem HIG behandelt. Kriterien dieser Auswahl war ein GA \leq 14,857 Wochen bei der Erstdiagnose und das Einverständnis zur Durchführung einer Amniozentese in der 21. SSW zum Ausschluss einer maternofetalen CMV-Transmission. Kohorte I umfasst neben den 40 Patientinnen des HIG-Studienkollektivs 27 weitere Frauen mit GA \leq 14,857 Wochen. 33 Frauen mit GA \geq 15 Wochen wurden als Kohorte II zusammengefasst. Zur Bestimmung des CMV IgG/IgM und der IgG Avidität dienten die Enzymimmunoassays (EIAs) ECLIA und CMIA. Der rekombinante Immunblot wurde zur Bestätigung der Primärinfektion durchgeführt. Um die Ergebnisse von ECLIA und CMIA bezüglich der CMV Avidität als richtig oder falsch einordnen zu können, wurde der rekombinante Aviditätsimmunblot als Referenzstandard herangezogen.

Die Datenevaluierung zeigt signifikante Unterschiede zwischen den EIAs ECLIA und CMIA für alle drei Studienkohorten für das CMV IgG und zusätzlich beim HIG Studienkollektiv und der Kohorte I für die IgG Avidität. Die Ermittlung der CMV IgG Antikörperkonzentrationen zeigte sich signifikant different zwischen ECLIA und CMIA ($p < 0,0001$ für alle drei Studienkollektive). Deren Mediane für ECLIA-IgG liegen bei 6,6 U/ml, 5,95 U/ml und 4,74 U/ml, während deren Mittelwerte bei 11,98 U/ml, 12,65 U/ml und 13,83 U/ml bestimmt wurden. Mit CMIA ergeben sich signifikant höhere Mediane von 102 AU/ml, 98,95 AU/ml und 82,6 AU/ml mit Mittelwerten von 129,22 AU/ml, 117,26 AU/ml und 88,69 AU/ml. Jedoch gibt es für das CMV IgG noch keinen WHO - Standard, was dazu führt, dass verschiedene Einheiten für ECLIA und CMIA vorliegen und diese nicht direkt miteinander vergleichbar sind.

Virologisches Einschlusskriterium für die HIG-Studienkohorte war das Fehlen der anti-gB2-IgG-Serokonversion sowie niedrige IgG Aviditäten im Immunblot und ECLIA, was das Vorliegen einer CMV Primärinfektion bestätigt. Erwähnenswert ist die Reaktivität aller Sera der Kohorte I und des HIG Studienkollektivs gegen das p65 Tegumentprotein im recomLine IgG Test neben dem konstitutiven Nachweis von anti-CMV pp150 IgG.

Die Gegenüberstellung des CMV IgG und der CMV IgG Avidität in Streudiagrammen zeigt, dass ECLIA bei niedrigem CMV IgG auch niedere Aviditäten und bei hohem CMV IgG hohe Aviditäten ermittelt. Hohe IgG Konzentrationen korrelieren bei CMIA mit niederen und hohen IgG Aviditäten sowie hohe IgG Aviditäten mit niedrigen und hohen IgG Konzentrationen. CMIA ermittelt in 7/40 Fällen (17,5%) des HIG-Studienkollektivs, in 8/53 Fällen (15,1%) der Kohorte I (4/57 nicht auswertbar) und in 3/33 Fällen (9,1%) der Kohorte II falsch hohe IgG Aviditäten, was einer latenten CMV-Infektion und nicht einer CMV Primärinfektion entspricht und damit zu Fehldiagnosen führen kann.

Es zeigt sich, dass die EIAs ECLIA und CMIA nicht isoliert zur Diagnostik einer CMV PI in der Schwangerschaft genutzt werden können. Es ist notwendig verschiedene Testsysteme in Kombination zu verwenden, um eine sichere Diagnose zu stellen. Diese Untersuchungen bieten Evidenz dafür, dass sowohl

der quantitative CMIA IgG Test als auch der CMV IgG Aviditätstest im Kontext der CMV-Primärinfektion in der Schwangerschaft im Vergleich zum ECLIA Test signifikante Divergenzen aufweist, was dazu führen kann eine CMV PI zu übersehen.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ABBOTT Diagnostics Division (2007): Architect System: CMV IgM. Package insert. Hg. v. Abbott Laboratories. Online verfügbar unter www.ilexmedical.com/files/PDF/CMVIgM_ARC.pdf, zuletzt geprüft am 14.05.2017.

ABBOTT Diagnostics Division (2008a): Architect System: CMV IgG. Package insert. Hg. v. Abbott Laboratories. Online verfügbar unter www.ilexmedical.com/files/PDF/CMVIgG.pdf, zuletzt geprüft am 14.05.2017.

ABBOTT Diagnostics Division (2008b): Architect System: CMV IgG Avidity. Package insert. Hg. v. Abbott Laboratories. Online verfügbar unter www.ilexmedical.com/files/PDF/CMVIgGAvidity_ARC.pdf, zuletzt geprüft am 14.05.2017.

AWMF S2k-Leitlinie (2014): Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen. C.II.8. Zytomegalie. Unter Mitarbeit von Klaus Hamprecht. Hg. v. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) (0093/001). Online verfügbar unter www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/093-001I_S2k_Labordiagnostik_schwangerschaftsrelevanter_Virusinfektionen_2014-05.pdf.

Basson, J.; Tardy, J. C.; Aymard, M. (1989): Pattern of anti-cytomegalovirus IgM antibodies determined by immunoblotting. A study of kidney graft recipients developing a primary or recurrent CMV infection. In: *Archives of virology* 108 (3-4), S. 259–270.

Benoist, G.; Salomon, L. J.; Jacquemard, F.; Daffos, F.; Ville, Y. (2008): The prognostic value of ultrasound abnormalities and biological parameters in blood of fetuses infected with cytomegalovirus. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 115 (7), S. 823–829. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2008.01714.x.

- Benoist, Guillaume; Leruez-Ville, Marianne; Magny, Jean Francois; Jacquemard, Francois; Salomon, Laurent J.; Ville, Yves (2013): Management of pregnancies with confirmed cytomegalovirus fetal infection. In: *Fetal diagnosis and therapy* 33 (4), S. 203–214. DOI: 10.1159/000342752.
- Bodeus, M.; Feyder, S.; Goubau, P. (1998): Avidity of IgG antibodies distinguishes primary from non-primary cytomegalovirus infection in pregnant women. In: *Clinical and diagnostic virology* 9 (1), S. 9–16.
- Britt, William J. (2017): Congenital HCMV infection and the enigma of maternal immunity. In: *Journal of virology*. DOI: 10.1128/JVI.02392-16.
- Buxmann, Horst; Hamprecht, Klaus; Meyer-Wittkopf, Matthias; Friese, Klaus (2017): Primary Human Cytomegalovirus (HCMV) Infection in Pregnancy. In: *Deutsches Arzteblatt international* 114 (4), S. 45–52. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0045.
- Cannon, Michael J.; Hyde, Terri B.; Schmid, D. Scott (2011): Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection. In: *Reviews in medical virology* 21 (4), S. 240–255. DOI: 10.1002/rmv.695.
- Daiminger, A.; Bader, U.; Enders, G. (2005): Pre- and periconceptional primary cytomegalovirus infection. Risk of vertical transmission and congenital disease. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 112 (2), S. 166–172. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2004.00328.x.
- Dollard, Sheila C.; Staras, Stephanie A. S.; Amin, Minal M.; Schmid, D. Scott; Cannon, Michael J. (2011): National prevalence estimates for cytomegalovirus IgM and IgG avidity and association between high IgM antibody titer and low IgG avidity. In: *Clinical and vaccine immunology : CVI* 18 (11), S. 1895–1899. DOI: 10.1128/CVI.05228-11.
- Emery, Vincent C.; Lazzarotto, Tiziana (2017): Cytomegalovirus in pregnancy and the neonate. In: *F1000Research* 6, S. 138. DOI: 10.12688/f1000research.10276.1.
- Enders, Gisela; Daiminger, Anja; Lindemann, Lisa; Knotek, Frank; Bader, Ursula; Exler, Simone; Enders, Martin (2012): Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in pregnant women, bone marrow donors and adolescents in

Germany, 1996-2010. In: *Medical microbiology and immunology* 201 (3), S. 303–309. DOI: 10.1007/s00430-012-0232-7.

Enders, M.; Daiminger, A.; Exler, S.; Ertan, K.; Enders, G.; Bald, R. (2017): Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in 115 cases. A 5 years' single center experience. In: *Prenatal diagnosis* 37 (4), S. 389–398. DOI: 10.1002/pd.5025.

Fowler, K. B.; Stagno, S.; Pass, R. F.; Britt, W. J.; Boll, T. J.; Alford, C. A. (1992): The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. In: *The New England journal of medicine* 326 (10), S. 663–667. DOI: 10.1056/NEJM199203053261003.

Fowler, Karen B.; Stagno, Sergio; Pass, Robert F. (2003): Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. In: *JAMA* 289 (8), S. 1008–1011.

Gerna, Giuseppe; Sarasini, Antonella; Patrone, Marco; Percivalle, Elena; Fiorina, Loretta; Campanini, Giulia et al. (2008): Human cytomegalovirus serum neutralizing antibodies block virus infection of endothelial/epithelial cells, but not fibroblasts, early during primary infection. In: *The Journal of general virology* 89 (Pt 4), S. 853–865. DOI: 10.1099/vir.0.83523-0.

Guerra, Brunella; Simonazzi, Giuliana; Puccetti, Chiara; Lanari, Marcello; Farina, Antonio; Lazzarotto, Tiziana; Rizzo, Nicola (2008): Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 198 (4), 380.e1-7. DOI: 10.1016/j.ajog.2007.09.052.

Guisasola, María Eulalia; Ramos, Belén; Sanz, Juan Carlos; García-Bermejo, Isabel; Ory Manchón, Fernando de (2010): Comparison of IgG avidity assays in the confirmation of the diagnosis of cytomegalovirus primary infection. In: *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 118 (12), S. 991–993. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2010.02682.x.

Hamprecht, Klaus (2017): Stolpersteine in der pränatalen HCMV-Diagnostik. Stellenwert von IgM und IgG-Avidität. In: *Diagnostik im Dialog* (53).

Hamprecht, Klaus; Abele, H.; Kagan, K. O.; Bäumel, E.; Fischer, I.; Jahn, Gerhard (2017): Analytical performance of CMV serodiagnosis at birth and in

early primary infection. wissenschaftliches Poster. CMV 2017, 6th International congenital CMV conference. Noordwijkerhout, NL, 2017.

Hamprecht, Klaus; Bissinger, Alfred Lennart; Arellano-Galindo, Jose; Schweinzer, Katrin; Jiang, Xioajing; Gohring, Katharina et al. (2014): Intrafamilial transmission of human cytomegalovirus (HCMV). Long-term dynamics of epitope-specific antibody response in context of avidity maturation. In: *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 60 (2), S. 119–126. DOI: 10.1016/j.jcv.2014.03.006.

Hamprecht, Klaus; Jahn, Gerhard (2007): Humanes Cytomegalovirus und kongenitale Infektion. In: *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 11 (50). DOI: 10.1007/s00103-007-0194-x.

Hamprecht, Klaus; Maschmann, Jens; Vochem, Matthias; Dietz, Klaus; Speer, Christian P.; Jahn, Gerhard (2001): Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. In: *Lancet* 357, S. 513–518.

Hazell, Stuart L. (2007): Clinical utility of avidity assays. In: *Expert opinion on medical diagnostics* 1 (4), S. 511–519. DOI: 10.1517/17530059.1.4.511.

Hof, H.; Dörries, R. (2009): Duale Reihe. Medizinische Mikrobiologie. 4. Aufl.: Georg Thieme Verlag.

Hui, Lisa; Wood, Gillian (2015): Perinatal outcome after maternal primary cytomegalovirus infection in the first trimester. A practical update and counseling aid. In: *Prenatal diagnosis* 35 (1), S. 1–7. DOI: 10.1002/pd.4497.

Kagan, K. O.; Goelz, R.; Hamprecht, Klaus (2016): Cytomegalovirusinfektion in der Schwangerschaft. In: *Gynäkologe* 49, S. 582–591. DOI: 10.1007/s00129-016-3923-0.

Kagan, K. O.; Hoopmann, M., Goelz, R.; Jahn, Gerhard; Hamprecht, Klaus (2017): Effectiveness of a 2 weekly HIG protocol in pregnancies with a first trimester CMV infection. CMV 2017, 6th International congenital CMV conference. Noordwijkerhout, NL, 2017.

Kagan, Karl Oliver; Enders, Martin; Schampera, Matthias Stefan; Baeumel, Elisabeth; Hoopmann, Markus; Geipel, Annegret et al. (2018): Prevention of maternal-fetal transmission of CMV by hyperimmunoglobulin (HIG)

administered after a primary maternal CMV infection in early gestation. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. DOI: 10.1002/uog.19164.

Kagan, Karl Oliver; Hamprecht, Klaus (2017): Cytomegalovirus infection in pregnancy. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 296 (1), S. 15–26. DOI: 10.1007/s00404-017-4380-2.

Kanengisser-Pines, Bibi; Hazan, Yenon; Pines, Guy; Appelman, Zvi (2009): High cytomegalovirus IgG avidity is a reliable indicator of past infection in patients with positive IgM detected during the first trimester of pregnancy. In: *Journal of perinatal medicine* 37 (1), S. 15–18. DOI: 10.1515/JPM.2009.012.

Kassenärztliche Bundesvereinigung (2004): Beschluss über eine Änderung des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 6. Lebensjahres (Kinder-Richtlinien) zur Einführung des erweiterten Neugeborenen-Screenings. A1158. In: *Deutsches Ärzteblatt* 102 (16).

Kimberlin, David W.; Jester, Penelope M.; Sanchez, Pablo J.; Ahmed, Amina; Arav-Boger, Ravit; Michaels, Marian G. et al. (2015): Valganciclovir for symptomatic congenital cytomegalovirus disease. In: *The New England journal of medicine* 372 (10), S. 933–943. DOI: 10.1056/NEJMoa1404599.

Lazzarotto, T.; Maine, G. T.; Del Monte, P.; Frush, H.; Shi, K.; Landini, M. P. (1996): Detection of serum immunoglobulin M to human cytomegalovirus by western blotting correlates better with virological data than detection by conventional enzyme immunoassay. In: *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 3 (5), S. 597–600.

Lazzarotto, T.; Spezzacatena, P.; Pradelli, P.; Abate, D. A.; Varani, S.; Landini, M. P. (1997): Avidity of immunoglobulin G directed against human cytomegalovirus during primary and secondary infections in immunocompetent and immunocompromised subjects. In: *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 4 (4), S. 469–473.

Lazzarotto, T.; Spezzacatena, P.; Varani, S.; Gabrielli, L.; Pradelli, P.; Guerra, B.; Landini, M. P. (1999): Anticytomegalovirus (anti-CMV) immunoglobulin G

avidity in identification of pregnant women at risk of transmitting congenital CMV infection. In: *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 6 (1), S. 127–129.

Lazzarotto, Tiziana; Guerra, Brunella; Lanari, Marcello; Gabrielli, Liliana; Landini, Maria Paola (2008): New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. In: *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 41 (3), S. 192–197. DOI: 10.1016/j.jcv.2007.10.015.

Manicklal, Sheetal; Emery, Vincent C.; Lazzarotto, Tiziana; Boppana, Suresh B.; Gupta, Ravindra K. (2013): The "silent" global burden of congenital cytomegalovirus. In: *Clinical Microbiology Reviews* 26 (1), S. 86–102. DOI: 10.1128/CMR.00062-12.

Meyer-Wittkopf, Matthias; Buxmann, Horst; Gonser Markus; Hamprecht, Klaus (2009): Neues zur prä- und perinatalen Cytomegalovirus-Infektion. In: *Frauenarzt* 50 (6), S. 524–527.

Müller, S. K. (2014): Analyse des maternalen Serostatus bei Geburt. Dissertation. Eberhard-Karls-Universität, Tübingen. Medizinische Fakultät.

Munro, S. C.; Hall, B.; Whybin, L. R.; Leader, L.; Robertson, P.; Maine, G. T.; Rawlinson, W. D. (2005): Diagnosis of and screening for cytomegalovirus infection in pregnant women. In: *Journal of clinical microbiology* 43 (9), S. 4713–4718. DOI: 10.1128/JCM.43.9.4713-4718.2005.

Nigro, G.; La Torre, R.; Anceschi, M. M.; Mazzocco, M.; Cosmi, E. V. (1999): Hyperimmunoglobulin therapy for a twin fetus with cytomegalovirus infection and growth restriction. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 180 (5), S. 1222–1226.

Nigro, Giovanni; Adler, Stuart P. (2013): Hyperimmunoglobulin for prevention of congenital cytomegalovirus disease. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 57 Suppl 4, S193-5. DOI: 10.1093/cid/cit586.

Nigro, Giovanni; Adler, Stuart P.; La Torre, Renato; Best, Al M. (2005): Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. In: *The New England journal of medicine* 353 (13), S. 1350–1362. DOI: 10.1056/NEJMoa043337.

- Pass, Robert F.; Fowler, Karen B.; Boppana, Suresh B.; Britt, William J.; Stagno, Sergio (2006): Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection. Symptoms at birth and outcome. In: *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 35 (2), S. 216–220. DOI: 10.1016/j.jcv.2005.09.015.
- Picone, O.; Grangeot-Keros, L.; Senat, Mv; Fuchs, F.; Bouthry, E.; Ayoubi, Jm et al. (2017): Cytomegalovirus non-primary infection during pregnancy. Can serology help with diagnosis? In: *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 30 (2), S. 224–227. DOI: 10.3109/14767058.2016.1169521.
- Prince, Harry E.; Lape-Nixon, Mary (2014): Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy. In: *Clinical and vaccine immunology : CVI* 21 (10), S. 1377–1384. DOI: 10.1128/CVI.00487-14.
- Rajasekariah, Harshita; Scott, Gillian; Robertson, Peter W.; Rawlinson, William D. (2013): Improving diagnosis of primary cytomegalovirus infection in pregnant women using immunoblots. In: *Journal of medical virology* 85 (2), S. 315–319. DOI: 10.1002/jmv.23471.
- Ratgeber für Ärzte: Zytomegalievirus Infektion. In: *Epidemiologisches Bulletin* 2014 (3), zuletzt geprüft am 25.01.2018.
- Rawlinson, William D.; Boppana, Suresh B.; Fowler, Karen B.; Kimberlin, David W.; Lazzarotto, Tiziana; Alain, Sophie et al. (2017): Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate. Consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy. In: *The Lancet Infectious Diseases* 17 (6), e177-e188. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30143-3.
- Revello, M. G.; Gerna, G. (2002): Diagnosis and Management of Human Cytomegalovirus Infection in the Mother, Fetus, and Newborn Infant. In: *Clinical Microbiology Reviews* 15 (4), S. 680–715. DOI: 10.1128/CMR.15.4.680-715.2002.

Revello, Maria Grazia; Genini, Emilia; Gorini, Giovanna; Klersy, Catherine; Piralla, Antonio; Gerna, Giuseppe (2010): Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. In: *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 48 (4), S. 255–259. DOI: 10.1016/j.jcv.2010.05.004.

Revello, Maria Grazia; Lazzarotto, Tiziana; Guerra, Brunella; Spinillo, Arsenio; Ferrazzi, Enrico; Kustermann, Alessandra et al. (2014): A randomized trial of hyperimmune globulin to prevent congenital cytomegalovirus. In: *The New England journal of medicine* 370 (14), S. 1316–1326. DOI: 10.1056/NEJMoa1310214.

Revello, Maria Grazia; Zavattoni, Maurizio; Furione, Milena; Fabbri, Elisa; Gerna, Giuseppe (2006): Preconceptional primary human cytomegalovirus infection and risk of congenital infection. In: *The Journal of infectious diseases* 193 (6), S. 783–787. DOI: 10.1086/500509.

Revello, Maria Grazia; Zavattoni, Maurizio; Furione, Milena; Lilleri, Daniele; Gorini, Giovanna; Gerna, Giuseppe (2002): Diagnosis and outcome of preconceptional and periconceptional primary human cytomegalovirus infections. In: *The Journal of infectious diseases* 186 (4), S. 553–557. DOI: 10.1086/341831.

Robert Koch Institut: Zytomegalievirus-Infektion. Online verfügbar unter http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Zytomegalievirus.html.

Roche Diagnostics (2011a): CMV-IgG Avidität. Testbeschreibung. Online verfügbar unter <https://www.roche.de/res/content/7862/electsys-cmv-igg-aviditaet-testprinzip.pdf>, zuletzt geprüft am 14.05.2017.

Roche Diagnostics (2011b): Elecsys CMV IgG. Testbeschreibung. Online verfügbar unter <https://www.roche.de/res/content/7862/electsys-cmv-igg-testprinzip.pdf>, zuletzt geprüft am 14.05.2017.

Roche Diagnostics (2011c): Elecsys CMV IgM. Testbeschreibung. Online verfügbar unter <https://www.roche.de/res/content/7862/electsys-cmv-igm-testprinzip.pdf>, zuletzt geprüft am 14.05.2017.

- Saldan, Alda; Forner, Gabriella; Mengoli, Carlo; Gussetti, Nadia; Palù, Giorgio; Abate, Davide (2017): Testing for Cytomegalovirus in Pregnancy. In: *Journal of clinical microbiology* 55 (3), S. 693–702. DOI: 10.1128/JCM.01868-16.
- Schampera, M. S.; Schweinzer, K.; Abele, H.; Kagan, K. O.; Klein, R.; Rettig, I. et al. (2017): Comparison of cytomegalovirus (CMV)-specific neutralization capacity of hyperimmunoglobulin (HIG) versus standard intravenous immunoglobulin (IVIG) preparations: impact of CMV IgG normalization. In: *Journal of Clinical Virology*. DOI: 10.1016/j.jcv.2017.03.005.
- 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. In: *The Journal of infectious diseases* 175 (3), S. 533–544.
- Sinzger, C.; Jahn, G. (1996): Human cytomegalovirus cell tropism and pathogenesis. In: *Intervirology* 39 (5-6), S. 302–319.
- Staras, Stephanie A. S.; Dollard, Sheila C.; Radford, Kay W.; Flanders, W. Dana; Pass, Robert F.; Cannon, Michael J. (2006): Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 43 (9), S. 1143–1151. DOI: 10.1086/508173.
- Vauloup-Fellous, C.; Lazzarotto, T.; Revello, M. G.; Grangeot-Keros, L. (2014): Clinical evaluation of the Roche Elecsys CMV IgG Avidity assay. In: *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 33 (8), S. 1365–1369. DOI: 10.1007/s10096-014-2080-4.
- Vauloup-Fellous, Christelle; Berth, Mario; Heskia, Fabienne; Dugua, Jean-Marc; Grangeot-Keros, Liliane (2013): Re-evaluation of the VIDAS(®) cytomegalovirus (CMV) IgG avidity assay: determination of new cut-off values based on the study of kinetics of CMV-IgG maturation. In: *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 56 (2), S. 118–123. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.10.017.

Ville, Y. (1998): The megalovirus. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 12 (3), S. 151–153. DOI: 10.1046/j.1469-0705.1998.12030151.x.

Wang, Chengbin; Dollard, Sheila C.; Amin, Minal M.; Bialek, Stephanie R. (2016): Cytomegalovirus IgM Seroprevalence among Women of Reproductive Age in the United States. In: *PloS one* 11 (3), e0151996. DOI: 10.1371/journal.pone.0151996.

8 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL

Unter der Betreuung von Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Hamprecht wurde die Arbeit am Institut für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten konzipiert und durchgeführt.

Die in der Auswertung verwendeten Daten wurden von Mitarbeitern des Instituts aus Swisslab extrahiert und mir zur Verfügung gestellt.

Mein Anteil lag in der statistischen Auswertung der Daten nach Beratung im Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie durch Professor Dr. rer. nat. Peter Martus und Frau Aline Naumann. Anteile der statistischen Auswertung bezüglich des HIG-Studienkollektivs wurde bereits in zwei Veröffentlichungen miteinbezogen.

Die Literaturrecherche und schriftliche Ausarbeitung der Dissertation erfolgten selbstständig und eigenverantwortlich.

Tübingen, den 21.02.2019

9 VERÖFFENTLICHUNGEN

Anteile der statistischen Auswertung dieser Arbeit wurden bereits in folgende Veröffentlichungen mit einbezogen:

Hamprecht, Klaus; Abele, H.; Kagan, K. O.; Bäumel, E.; Fischer, I.; Jahn, Gerhard (2017): Analytical performance of CMV serodiagnosis at birth and in early primary infection. wissenschaftliches Poster. CMV 2017, 6th International congenital CMV conference. Noordwijkerhout, NL, 2017

Kagan, Karl Oliver; Enders, Martin; Schampera, Matthias Stefan; Baeumel, Elisabeth; Hoopmann, Markus; Geipel, Annegret et al. (2018): Prevention of maternal-fetal transmission of CMV by hyperimmunoglobulin (HIG) administered after a primary maternal CMV infection in early gestation. In: Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. DOI: 10.1002/uog.19164.

10 DANKSAGUNG

An erster Stelle geht ein herzlicher Dank an meinen Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Hamprecht für die Überlassung des Themas sowie für die großartige Betreuung bei der Ausarbeitung meiner Dissertation.

Frau Wioleta Kapis danke ich besonders für die organisierte Zusammenführung der Daten in Excel-Dateien, die mir für meine Arbeit zur Verfügung gestellt wurden.

Weiterhin möchte ich mich bei Professor Dr. rer. nat. Peter Martus und bei Frau Aline Naumann für die statistische Beratung bedanken.

Meiner Familie und meinen Freunden bin ich für ihre stets hilfreichen Ratschläge und ihre Ausdauer, mich während meiner Dissertation immer wieder zu motivieren, sehr dankbar.

Abschließend geht ein ganz besonderes Dankeschön an meine lieben Eltern, die mich in allem immer tatkräftig unterstützen und die mir das Studium und so viele toller Erfahrungen ermöglicht haben.

11 ANHANG

Tabelle 38: EV-Werte aller Patientinnen Kohorte I N = 57 und Kohorte II N = 33 | Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high)

Geordnet nach der ECLIA IgG Konzentration in aufsteigender Reihenfolge; rot markiert sind extrem hohe Werte, gelb markiert sind zu niedrige Werte im Vergleich mit der rec IgG Avi

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG Avi
Kohorte I								
71135468	12,429	0,54	7,3	0,4	55	na	5,8	na
71132127	7,429	1,23	2,7	0,5	55,9	na	41,1	l
71127092	6,143	0,77	na	0,8	na	na	na	l
72460410	14,143	9,32	2,5	0,8	74	na	85,4	l
71140532	8,285	1,1	4,9	1,1	45,7	27,27	53,8	l
72502345	8	7,43	9,7	1,3	116,6	23,08	40,5	l
71132913	10,571	0,67	na	1,44	na	na	na	l
71136418	12,714	2,46	9,6	2,18	35,3	25,09	4,5	l
72495726	13,714	5,61	7,1	2,2	82,4	13,64	44,3	l
71132488	6,714	4,02	4,8	2,3	110,7	33,17	9	l
71133282	13,857	3,26	2	2,8	110,9	44,64	42,5	l
72378087	12	13,47	8,6	2,9	73	10,07	4,6	l
72329148	9,857	5,68	1,7	3	59,3	10,91	67,7	l
72485988	11,714	2,95	9,9	3	102	10	35,3	na
71135583	11	6,18	na	3,05	na	9,84	na	l
72464127	7,143	2,28	7,7	3,2	20,1	9,4	20,2	l
72482041	7,571	5,32	5,8	3,2	17,6	9,38	37,3	l
72349983	11,714	2,04	3,3	3,3	72,8	13,32	7,6	l

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG Avi
72445639	7,714	2,88	9,2	3,6	176,9	8,33	70,1	I
71136811	9,429	20,66	16,4	3,61	100,4	28,81	7,8	I
72469186	6,285	21,9	6,9	3,8	32,3	7,89	38,7	I
71112453	12,285	1,54	9,4	4,3	822,7	6,55	63,6	I
71131854	11	8,82	8,8	4,4	80,6	16,43	25,8	I
71136614	7,429	7,43	8,3	4,7	131	19,83	1,2	I
71135699	11,143	7,67	4,6	4,9	68,4	6,12	27	I
72433893	7,429	2,26	6,3	5	88,7	12,98	42,8	I
72494042	9,714	na	5,3	5	108,8	30	42	i
72443831	12,571	4,13	2,3	5,2	59,9	27,5	27	I
72435079	9,714	3,92	6,8	5,7	45,2	18,6	27,9	I
71135083	9,285	2,83	4,6	6,2	69,9	37,26	33,3	I
71136675	5,143	15,76	10	6,6	72,9	8,65	15,9	I
71138317	10,714	0,78	1,9	6,8	90,3	45,74	42,1	I
72461478	8	1,04	4,1	8	144,9	12,75	5,9	I
72497345	9,714	20,13	9,3	8	49,5	3,75	9,6	I
71118931	14,285	1,03	5,6	8,4	97,5	37,7	30,5	I
71138101	7,429	3,34	12,3	8,58	37,1	4,51	na	I
72306118	13,285	1,03	1,6	11,1	181,4	31,89	13,8	I
72494102	13,714	5,16	11,2	12,4	20,3	57,5	9,2	I
71136783	7	4,45	5,7	13,2	82,1	30,09	37,9	I
72437775	9,429	1,26	0,97	13,3	120,8	43,68	35,2	i
72406806	11,429	2,63	2,6	14,6	122,4	28,6	25,7	I
72469708	7,571	2,4	4	14,6	145,6	9,66	22,6	I
72361176	10,429	20,68	18,9	15,4	13,3	2,03	23	I
72486567	6,857	1,8	1,7	16,9	157,2	39,88	57,1	i
72424949	7,714	1,44	1,3	17,1	115,4	41,39	38,9	I

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG Avi
72476307	7,429	0,66	3,8	18,7	171,9	29,57	22,6	l
71133973	7,857	2,23	1,8	19,4	191,1	21,71	44,3	l
72478145	10,429	1,75	1,6	19,6	172,1	25,15	64,4	i
72497493	8,857	3,08	7,5	21,3	181,4	37,18	13,2	i
72436245	8,143	2,92	1,5	22,1	164,9	32,84	60,2	i
71131328	11,429	0,75	3,1	28,3	119,2	15,14	35,7	l
72415537	10,285	1,15	2,2	30,2	108,9	38,87	40,2	i
72377991	7,285	na	2,4	30,6	143,2	37,38	39	i
72425084	9,429	2,17	6	36,1	73	23,81	23	l
72492798	11,857	0,94	1,3	43,3	442,8	38,52	77,7	l
72386132	11,429	1,2	3,3	57	134,5	35,41	39,1	l
72491729	12,857	1,37	3,7	113,8	162,4	49,48	81,8	i

Kohorte II								
72487861	19	na	5,3	1,2	128,2	25	47,6	l
72415120	16,429	5,22	8,4	1,21	14,6	24,79	26,3	l
72424157	24,857	2,7	1,8	1,39	144,9	21,58	5,9	i
72300347	22,285	na	2,4	1,4	91,3	22,56	18,8	l
72366983	23,571	6,17	4,1	2,1	148,6	24,95	14,4	l
71128617	22,285	na	2,2	2,2	65,3	15,08	23	l
71132398	16,285	2,22	7,9	2,6	29,5	23,23	42,4	l
72445817	18,143	7,78	5,7	2,9	28,3	13,62	16,1	l
72366516	22	1	2,3	3,2	237,6	25,59	50,2	i
72440772	20	2,46	1,3	3,38	140,5	36,09	25,5	l
72354730	22	10,25	4,4	3,4	49,9	32,15	30,5	i
72336332	21,571	8,08	21,6	4	12,8	7,19	13,3	l
72489302	15,571	10,45	27,8	4,5	32,5	35,11	9,1	l

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG Avi
71136729	25,285	3,86	3	4,59	209,5	13,75	44,3	l
72365859	17,429	2,11	11	4,9	11,77	5,5	26,5	l
72474986	21,714	8,89	10	4,9	12,1	6,12	16,5	l
71131796	21,285	4,45	5,8	7,09	71,3	43,44	62,1	l
72492477	23,285	6,57	4,7	8,4	58,7	30,83	14,5	l
72340321	21,429	5,65	5,1	9,8	82,6	30,22	24,7	l
72495555	21,714	3,46	7	9,9	73	22,83	10,8	i
72473241	24	8,15	10,8	10,9	87	29,91	31,4	l
72389298	24,714	1,71	na	12	70,2	37	33,1	i
72373414	24,143	1,27	4	20,6	102,4	28,67	10,1	l
72427866	16,857	na	1	27,76	86,5	31,56	57,8	l
71112920	27	1,03	3,1	29,3	94,1	32,98	56,3	l
72428504	21,857	3,64	2	29,38	150,3	35,47	26,1	i
72496017	32	na	2,7	33,9	128,4	34,93	33,3	i
72322520	21,714	1,22	2,6	140,5	143,9	35,55	27	i
72455258	21,429	1,5	5	na	83,2	na	82,5	l
72455134	17,571	1,74	na	na	216,8	na	70,4	l
72495939	33,571	na	3	na	70,3	na	40,7	l
72424325	17,857	1,56	4,7	na	26,2	37,59	21,3	l
71135222	23,429	1,11	6,6	na	24,7	na	11,7	l

Tabelle 39: EV-Werte aller Patientinnen des HIG-Studienkollektivs N = 40 | Aufgelistet sind die AF, das GA zum Zeitpunkt der EV, ECLIA und CMIA IgM, IgG und IgG Avidität sowie die Bewertung der rekombinanten IgG Avidität (l = low, i = intermediär, h = high)

Geordnet nach der ECLIA IgG Konzentration in aufsteigender Reihenfolge; rot markiert sind extrem hohe Werte, gelb markiert sind zu niedrige Werte im Vergleich mit der rec IgG Avi

AF	EV GA (Wochen)	ECLIA IgM (Index)	CMIA IgM (Index)	ECLIA IgG (U/ml)	CMIA IgG (AU/ml)	ECLIA IgG Avi (%)	CMIA IgG Avi (%)	rec IgG Avi
71135468	12,4	0,539	7,3	0,4	55	na	5,8	na
71132127	7,4	1,23	2,7	0,5	55,9	na	41,1	l
71127092	6,1	0,77	na	0,8	na	na	na	l
72460410	14,1	9,32	2,5	0,8	74	na	85,4	l
71132913	10,6	0,667	na	1,44	na	na	na	l
71132488	6,7	4,02	4,8	2,3	110,7	33,17	9	l
72329148	9,9	5,68	1,7	3,0	59,3	10,91	67,7	l
72485988	11,7	2,95	9,9	3,0	102	10	35,3	na
71135583	11,0	6,18	na	3,05	na	9,84	na	l
72464127	7,1	2,28	7,7	3,2	20,1	9,4	20,2	l
72482041	7,6	5,32	5,8	3,2	17,6	9,38	37,3	l
72349983	11,7	2,04	3,3	3,3	72,8	13,32	7,6	l
72445639	7,7	2,88	9,2	3,6	176,9	8,33	70,1	l
72469186	6,3	21,9	6,9	3,8	32,3	7,89	38,7	l
71112453	12,3	1,54	9,4	4,3	822,7	6,55	63,6	l
71131854	11,0	8,82	8,8	4,4	80,6	16,43	25,8	l
71136614	7,4	7,43	8,3	4,7	131	19,83	1,2	l
72433893	7,4	2,26	6,3	5,0	88,7	12,98	42,8	l
72443831	12,6	4,13	2,3	5,2	59,9	27,5	27	l
72435079	9,7	3,92	6,8	5,7	45,2	18,6	27,9	l
71136675	5,1	15,76	10	6,6	72,9	8,65	15,9	l
71138317	10,7	0,775	1,9	6,8	90,3	45,74	42,1	l
72461478	8,0	1,04	4,1	8,0	144,9	12,75	5,9	l
71118931	14,3	1,03	5,6	8,4	97,5	37,7	30,5	l
AF	EV GA	ECLIA	CMIA	ECLIA	CMIA	ECLIA IgG	CMIA IgG	rec IgG

	(Wochen)	IgM (Index)	IgM (Index)	IgG (U/ml)	IgG (AU/ml)	Avi (%)	Avi (%)	Avi
72306118	13,3	1,03	1,6	11,1	181,4	31,89	13,8	l
71136783	7,0	4,45	5,7	13,2	82,1	30,09	37,9	l
72437775	9,4	1,26	0,97	13,3	120,8	43,68	35,2	i
72406806	11,4	2,63	2,6	14,6	122,4	28,6	25,7	l
72361176	10,4	20,68	18,9	15,4	13,3	2,03	23	l
72486567	6,9	1,8	1,7	16,9	157,2	39,88	57,1	i
72424949	7,7	1,44	1,3	17,1	115,4	41,39	38,9	l
72476307	7,4	0,661	3,8	18,7	171,9	29,57	22,6	l
71133973	7,9	2,23	1,8	19,4	191,1	21,71	44,3	l
72478145	10,4	1,75	1,6	19,6	172,1	25,15	64,4	i
72436245	8,1	2,92	1,5	22,1	164,9	32,84	60,2	i
71131328	11,4	0,753	3,1	28,3	119,2	15,14	35,7	l
72415537	10,3	1,15	2,2	30,2	108,9	38,87	40,2	i
72425084	9,3	2,17	6	36,1	73	23,81	23	l
72492798	11,9	0,943	1,3	43,3	442,8	38,52	77,7	l
72386132	11,4	1,2	3,3	57,0	134,5	35,41	39,1	l