

Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG)

Arbeitsanleitung

BESTELL-NR.	ANTIKÖRPER GEGEN	IG-KLASSE	SUBSTRAT	FORMAT
EI 2610-9601 G	Masern-Viren	IgG	Ag-beschichtete Mikrotitergefäße	96 x 01 (96)

Indikation: Der vorliegende Enzymimmunoassay (ELISA) dient der semiquantitativen oder quantitativen In-vitro-Bestimmung humaner Antikörper der Immunglobulinklasse IgG gegen Masern-Viren aus Serum oder Plasma zur Unterstützung der Diagnose von Infektionen mit Masern-Viren. Das Produkt ist für die Verwendung als **IVD** vorgesehen

Stellenwert: Die Bestimmung von spezifischen Antikörpern gegen Masern-Viren dient der Diagnostik von Masern-Virus-Infektionen und der Überprüfung des Immunstatus. Der Nachweis von Masern-Virus-IgG zeigt bei gleichzeitig negativem IgM-Test eine zurückliegende Infektion oder Impfung an. Ein positiver IgM-Nachweis und/oder eine Serokonversion bzw. ein deutlicher Anstieg der IgG-Aktivität in zwei aufeinanderfolgenden Proben weisen auf eine akute Infektion mit Masern-Viren hin. Die serologische Masern-Akutdiagnostik kann durch molekulardiagnostische Verfahren (PCR) ergänzt werden. Für eine zuverlässige Bewertung von Masern-Viren-spezifischen Antikörpernachweisen sollte die Impfanamnese des Patienten berücksichtigt werden.

Testprinzip: Die Testpackung enthält Mikrotiterstreifen zu je 8 vereinzelbaren Reagenzgefäßen, die mit Masern-Virus-Antigenen beschichtet sind. Die Reagenzgefäße werden im ersten Analyseschritt mit verdünnten Patientenproben inkubiert. Bei positiven Proben binden sich spezifische Antikörper der Klasse IgG (und IgA, IgM) an die jeweiligen Antigene. Zur Darstellung dieser Antikörper inkubiert man in einem zweiten Schritt mit einem enzymmarkierten Anti-Human-IgG (Enzymkonjugat), das eine Farbreaktion katalysiert.



Inhalt einer Testpackung:

Bezeichnung	Farbe	Format	Symbol
1. Antigenbeschichtete Reagenzgefäße 12 Mikrotiterstreifen zu je 8 vereinzelbaren Reagenzgefäßen im Rahmen, gebrauchsfertig	---	12 x 8	STRIPS
2. Kalibrator 1 5000 IE/I (IgG, human), gebrauchsfertig	In abnehmender Intensität rot gefärbt.	1 x 2,0 ml	CAL 1
3. Kalibrator 2 1000 IE/I (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	CAL 2
4. Kalibrator 3 250 IE/I (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	CAL 3
5. Kalibrator 4 50 IE/I (IgG, human), gebrauchsfertig		1 x 2,0 ml	CAL 4
6. Positive Kontrolle (IgG, human), gebrauchsfertig	blau	1 x 2,0 ml	POS CONTROL
7. Negative Kontrolle (IgG, human), gebrauchsfertig	grün	1 x 2,0 ml	NEG CONTROL
8. Enzymkonjugat Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG (Kaninchen), gebrauchsfertig	grün	1 x 12 ml	CONJUGATE
9. Probenpuffer gebrauchsfertig	hellblau	1 x 100 ml	SAMPLE BUFFER
10. Waschpuffer 10-fach konzentriert	farblos	1 x 100 ml	WASH BUFFER 10x
11. Chromogen-/Substratlösung TMB/H ₂ O ₂ , gebrauchsfertig	farblos	1 x 12 ml	SUBSTRATE
12. Stopplösung 0,5 M Schwefelsäure, gebrauchsfertig	farblos	1 x 12 ml	STOP SOLUTION
13. Arbeitsanleitung	---	1 Heft	
14. Qualitätskontrollzertifikat	---	1 Protokoll	

LOT Chargen-Bezeichnung

IVD In-vitro-Diagnostikum



 Lagertemperatur
 ungeöffnet verwendbar
 bis

Änderungen zur Vorversion sind grau unterlegt.



Vorbereitung und Haltbarkeit der Reagenzien

Hinweis: Sämtliche Reagenzien müssen ca. 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) gebracht werden. Nach erstmaligem Öffnen sind die Reagenzien 6 Monate, höchstens jedoch bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar, wenn sie bei +2 °C bis +8 °C gelagert und gegen Kontamination geschützt werden und es im nachfolgenden Text nicht ausdrücklich anders beschrieben ist.

- **Beschichtete Reagenzgefäße:** Gebrauchsfertig. Die wiederverschließbare Schutzhülle der Mikrotiterplatte an den Einkerbungen oberhalb der Griphaut aufreißen. Schutzhülle erst öffnen, wenn der Inhalt Raumtemperatur angenommen hat, damit die Präparate nicht feucht werden! Nicht gebrauchte Reagenzgefäße einer angebrochenen Mikrotiterplatte sofort wieder in die Schutzhülle legen und mit der integrierten Griphaut dicht verschließen (Trockenbeutel nicht entfernen). Nach dem erstmaligen Öffnen der Schutzhülle sind die antigenbeschichteten Reagenzgefäße trocken bei +2 °C bis +8 °C gelagert 4 Monate lang haltbar.
- **Kalibratoren und Kontrollen:** Gebrauchsfertig. Die Reagenzien sind vor Gebrauch gründlich zu durchmischen.
- **Enzymkonjugat:** Gebrauchsfertig. Das Enzymkonjugat ist vor Gebrauch gründlich zu durchmischen.
- **Probenpuffer:** Gebrauchsfertig.
- **Waschpuffer:** Der Waschpuffer ist 10-fach konzentriert. Sollten im konzentrierten Puffer Salzkristalle auftreten, den Puffer auf +37 °C erwärmen und vor dem Verdünnen gut durchmischen. Das benötigte Volumen ist der Flasche mit einer sauberen Pipettenspitze zu entnehmen und mit entionisiertem oder destilliertem Wasser zu verdünnen (1 Teil Reagenz plus 9 Teile Wasser).
Beispiel: Für 1 Mikrotiterstreifen 5 ml Konzentrat plus 45 ml Wasser.
Der gebrauchsfertig verdünnte Waschpuffer ist bei +2 °C bis +8 °C gelagert und bei sachgerechter Handhabung 4 Wochen lang haltbar.
- **Chromogen-/Substratlösung:** Gebrauchsfertig. Die Flasche sofort nach Gebrauch wieder verschließen, da die Lösung lichtempfindlich ist ☀. Die Chromogen-/Substratlösung muss klar sein, wenn sie vor Benutzung bereits bläulich gefärbt ist, darf sie nicht mehr verwendet werden.
- **Stopplösung:** Gebrauchsfertig.

Lagerung und Haltbarkeit: Die Testpackung ist bei +2 °C bis +8 °C aufzubewahren, nicht einfrieren! Ungeöffnet sind die Testsatzkomponenten bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Entsorgung: Patientenproben, Kalibratoren, Kontrollen und inkubierte Mikrotiterstreifen sind wie infektiöser Abfall zu handhaben. Alle Reagenzien sind nach den gesetzlichen Vorschriften zu entsorgen.

Warnung: In den Kalibratoren und Kontrollen ließen sich weder HBsAg noch Antikörper gegen HCV, HIV-1 und HIV-2 nachweisen. Dennoch sollte man mit allen Testkomponenten ebenso vorsichtig umgehen wie mit infektiösem Material. Einige der Reagenzien enthalten außerdem Natriumazid in nicht deklarationspflichtiger Konzentration. Hautkontakt ist zu vermeiden.

Vorbereitung und Haltbarkeit der Proben

Probenmaterial: Humanes Serum sowie EDTA-, Heparin- oder Citrat-Plasma.

Haltbarkeit: Die zu untersuchenden **Patientenproben** können in der Regel bei +2 °C bis +8 °C bis zu 14 Tage aufbewahrt werden. Verdünnte Proben müssen innerhalb eines Arbeitstages inkubiert werden.

Probenverdünnung: Die zu untersuchenden **Patientenproben** werden im Verhältnis **1:101** mit Probenpuffer verdünnt.

Beispiel: 10 µl Probe in 1,0 ml Probenpuffer aufnehmen und gut durchmischen (Vortex). Die Probenpipette ist zum Mischen ungeeignet.

Hinweis: Die Kalibratoren und Kontrollen sind gebrauchsfertig, nicht verdünnen.



Inkubation

Außer der Positiv- und Negativkontrolle sowie den Patientenproben verwendet man für die Durchführung eines **semiquantitativen Tests** zusätzlich den **Kalibrator 3**, für die Durchführung eines **quantitativen Tests** zusätzlich die **Kalibratoren 1 bis 4**.

(Teil-)Manuelle Testdurchführung

Proben-Inkubation: (1. Schritt) Entsprechend dem Pipettierschema je 100 µl Kalibrator, Positiv- und Negativkontrolle oder verdünnte Patientenproben in die einzelnen Reagenzgefäße pipettieren.

30 Minuten bei Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) inkubieren.

Waschen: Manuell: Reagenzgefäße entleeren und anschließend 3x mit jeweils 300 µl gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer waschen.

Automatisch: Reagenzgefäße 3x mit je 450 µl gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer waschen (Programmeinstellung: z. B. TECAN Columbus Washer „Overflow Modus“).

Den Waschpuffer in jedem Reagenzgefäß pro Waschzyklus 30 bis 60 Sekunden einwirken lassen, anschließend absaugen oder ausschütten. Nach dem Waschvorgang sowohl bei manueller als auch automatischer Durchführung die Mikrotiterplatte mit den Öffnungen nach unten kräftig auf Vliespapier ausschlagen, um Waschpufferreste vollständig zu entfernen.

Achtung: Flüssigkeitsreste (> 10 µl), die nach dem Waschvorgang in den Reagenzgefäßen verbleiben, können einen Einfluss auf die Substratumsatzung haben und zu falsch erniedrigten Extinktionswerten führen.

Unzureichendes Waschen (z. B. weniger als 3 Waschzyklen, zu geringe Waschpuffervolumina oder zu geringe Einwirkzeiten) kann zu falsch erhöhten Extinktionswerten führen.

Freie Positionen innerhalb des Mikrotiterstreifens sind mit leeren Reagenzgefäßen desselben Plattenformates wie das des zu untersuchenden Parameters aufzufüllen.

Konjugat-Inkubation: (2. Schritt) Jeweils 100 µl Enzymkonjugat (Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG) in die Reagenzgefäße pipettieren.

30 Minuten bei Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) inkubieren.

Waschen: Reagenzgefäße entleeren. Waschen wie oben.

Substrat-Inkubation: (3. Schritt) Jeweils 100 µl Chromogen-/Substratlösung in die Reagenzgefäße pipettieren. **15 Minuten** bei Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) inkubieren (vor direkter Sonneneinstrahlung schützen).

Stoppen: Jeweils 100 µl Stopplösung in die Reagenzgefäße pipettieren, in der gleichen Reihenfolge und mit der gleichen Geschwindigkeit, wie bei der Zugabe der Chromogen-/Substratlösung.

Messen: Die **fotometrische Auswertung** der Farbintensität sollte **innerhalb von 30 Minuten nach dem Stoppen** erfolgen, bei **450 nm Messwellenlänge** und einer Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm. Vor dem Messen die Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln, um eine homogene Verteilung der Farblösung zu gewährleisten.

Testdurchführung mit vollautomatischen Analysegeräten

Die Probenverdünnung und anschließende Testabarbeitung erfolgen vollautomatisch mit **einem** Analysegerät. Die in der jeweiligen von EUROIMMUN autorisierten Software hinterlegten Inkubationsbedingungen können geringfügig von den Angaben der ELISA-Testanleitung abweichen, sind jedoch in der Kombination mit dem EUROIMMUN-Analyzer I, **EUROIMMUN-Analyzer I-2P** oder dem DSX der Firma Dynex und dem vorliegenden EUROIMMUN-ELISA validiert worden. Eine Validierungsdokumentation ist auf Anfrage erhältlich. Eine Automatisierung auf weiteren offenen vollautomatischen Analysegeräten ist möglich, die Kombination muss jedoch vom Anwender validiert sein.



Pipettierschema

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	K 3	P 6	P 14	P 22			K 1	P 3	P 11	P 19		
B	pos.	P 7	P 15	P 23			K 2	P 4	P 12	P 20		
C	neg.	P 8	P 16	P 24			K 3	P 5	P 13	P 21		
D	P 1	P 9	P 17				K 4	P 6	P 14	P 22		
E	P 2	P 10	P 18				pos.	P 7	P 15	P 23		
F	P 3	P 11	P 19				neg.	P 8	P 16	P 24		
G	P 4	P 12	P 20				P 1	P 9	P 17			
H	P 5	P 13	P 21				P 2	P 10	P 18			

Das für die Mikrotiterstreifen 1 bis 4 angegebene Pipettierschema gilt beispielhaft für die **semi-quantitative Analyse** von 24 Patientenproben (P 1 bis P 24).

Das für die Mikrotiterstreifen 7 bis 10 angegebene Pipettierschema gilt beispielhaft für die **quantitative Analyse** von 24 Patientenproben (P 1 bis P 24).

Kalibratoren (K 1 bis K 4), positive (pos.) und negative (neg.) Kontrolle sowie Patientenproben werden jeweils in Einzelbestimmung eingesetzt. Die Zuverlässigkeit der Bestimmung kann noch gesteigert werden, wenn man jede Probe doppelt einsetzt.

Die Reagenzgefäße können von jedem Mikrotiterstreifen einzeln abgebrochen werden: Man kann die Zahl der eingesetzten Testsubstrate mit der Zahl der zu untersuchenden Proben in Einklang bringen, und es werden keine Reagenzien vergeudet.

Die positive und die negative Kontrolle dienen als interne Prüfung für die Zuverlässigkeit des Testverlaufs. Sie sollten bei jedem Testdurchlauf verwendet werden.

Testauswertung

Semiquantitativ: Die Berechnung einer Ratio, bei der die Extinktionswerte der Kontrollen bzw. Patientenproben in Bezug zum Extinktionswert des Kalibrators 3 gesetzt werden, erlaubt eine semi-quantitative Abschätzung der Ergebnisse. Folgende Formel dient zur Berechnung der Ratio:

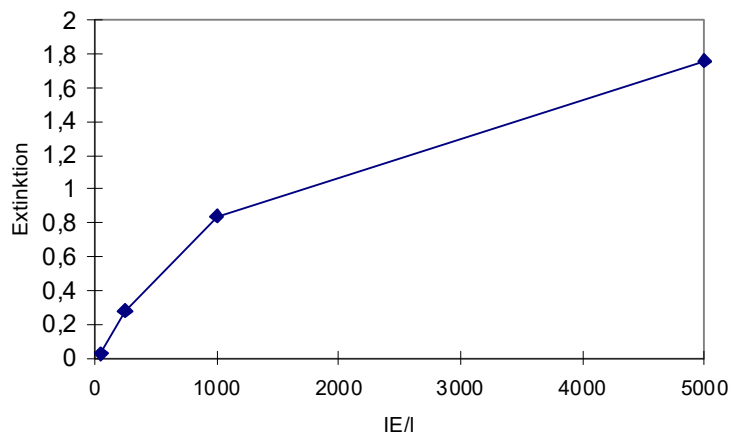
$$\frac{\text{Extinktion der Kontrolle bzw. Patientenprobe}}{\text{Extinktion des Kalibrators 3}} = \text{Ratio}$$

EUROIMMUN schlägt folgende Befundinterpretation vor:

Ratio < 0,8:	negativ
Ratio ≥ 0,8 bis < 1,1:	grenzwertig
Ratio ≥ 1,1:	positiv

Bei einem grenzwertigen Testergebnis sollte eine weitere Patientenprobe mindestens 7 Tage später entnommen und parallel mit der ersten Patientenprobe untersucht werden. Die Bewertung der Ergebnisse beider Proben erlaubt eine Aussage über **Veränderungen der spezifischen Antikörperaktivität**.

Quantitativ: Nach Auftragen der gemessenen Extinktionen für die 4 Kalibratoren gegen die entsprechenden Konzentrationen (linear/linear) kann eine Standardkurve erstellt werden, mit deren Hilfe die Antikörperkonzentrationen der unbekanntenen Proben ermittelt werden können. Zur computer-gesteuerten Berechnung der Standardkurve sollte das Auswerteverfahren „Punkt zu Punkt“ gewählt werden. Nachfolgend ist ein typisches Beispiel für eine Standardkurve aufgeführt. Verwenden Sie diese Kurve bitte nicht zur Ermittlung der Antikörperkonzentration in Patientenproben.



Liegt die Extinktion einer Patientenprobe oberhalb der des Kalibrators 1 (5.000 IE/l), ist das Ergebnis mit „> 5.000 IE/l“ anzugeben. Es empfiehlt sich, diese Probe in einem neuen Testansatz mit einer Verdünnung von z. B. 1:400 wiederholt zu messen. Das aus der Standardkurve ermittelte Ergebnis in IE/l muss entsprechend diesem Beispiel dann mit dem Verdünnungsfaktor 4 multipliziert werden.

Der von EUROIMMUN empfohlene obere Grenzwert des Referenzbereiches für nicht-infizierte Personen (**Cut-off**) beträgt **250 Internationale Einheiten (IE/l)**. EUROIMMUN schlägt folgende Befundinterpretation vor:

< 200 IE/l:	negativ
≥ 200 bis < 275 IE/l:	grenzwertig
≥ 275 IE/l:	positiv

Hinweise zur Testauswertung: Bei Doppelbestimmungen ist der Mittelwert für Berechnungen zu verwenden. Weichen die Ergebnisse einer Doppelbestimmung erheblich voneinander ab, empfiehlt EUROIMMUN, die Probe erneut zu messen.

Für die Interpretation eines grenzwertigen Ergebnisses kann die Untersuchung mittels weiterer Tests (z. B. Aviditätsbestimmung der Antikörperklasse IgG) hilfreich sein.

Die Bestimmung von Veränderungen der Antikörperaktivität bei paralleler Untersuchung von zwei Serumproben, die in einem Abstand von mindestens 7 Tagen entnommen wurden, kann die Diagnose sichern.

Für die Beurteilung des Immunstatus gegen Masernviren sind bislang keine allgemeinen Empfehlungen verfügbar. In einigen Publikationen werden Antikörperkonzentrationen gegen Masernviren beschrieben, bei welchen ab einem Grenzwert von 200 IE/l eine Immunität angenommen werden kann^{1, 2, 3, 4}. Entsprechend dieser Publikationen kann folgende Befundinterpretation für die Bestimmung des Immunstatus empfohlen werden:

< 150 IE/l: negativ
 ≥ 150 bis < 200 IE/l: grenzwertig
 ≥ 200 IE/l: positiv

Zu beachten ist, dass neben der humoralen Immunantwort auch die zelluläre Immunität berücksichtigt werden muss.

¹ Poethko-Müller C, Mankertz A. **Seroprevalence of measles-, mumps- and rubella-specific IgG antibodies in German children and adolescents and predictors for seronegativity.** PLoS One. 2012;7(8):e42867

² Tischer A, Gassner M, Richard JL, Suter-Riniker F, Mankertz A, Heininger U. **Vaccinated students with negative enzyme immunoassay results show positive measles virus-specific antibody levels by immunofluorescence and plaque neutralisation tests.** J Clin Virol. 2007;38(3):204-9.

³ Siennicka J, Cząścik A, Trzcińska A. **The significance for epidemiological studies anti-measles antibody detection examined by enzyme immunoassay (EIA) and plaque reduction neutralization test (PRNT).** Przegl Epidemiol. 2014;68(3):417-20, 527-9.

⁴ World Health Organization. **Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome. Immunization, Vaccines and Biologicals;** Third edition, June 2018



Ein negatives serologisches Ergebnis schließt eine Infektion nicht aus. Insbesondere in einer frühen Infektionsphase können Antikörper noch nicht oder in nicht nachweisbarer Menge vorhanden sein. Liegt ein grenzwertiges Ergebnis vor, ist keine eindeutige Beurteilung möglich. Bei bestehendem klinischen Verdacht und negativem bzw. grenzwertigem Serumbefund werden die Abklärung mithilfe anderer diagnostischer Methoden und/oder die serologische Untersuchung einer Folgeprobe empfohlen. Ein positives Ergebnis weist auf einen Erregerkontakt hin. Bei der Bestimmung erregerspezifischer IgM-Antikörper stellen polyklonale Stimulierungen des Immunsystems oder Antikörper-Persistenzen störende Einflüsse dar, welche die diagnostische Aussagekraft positiver Befunde einschränken können. Signifikante Anstiege der spezifischen IgG-Antikörperaktivität (um mehr als Faktor 2) und/oder Serokonversionen in einer im zeitlichen Abstand von mindestens 7 bis 10 Tagen entnommenen Folgeprobe können als Hinweis auf eine akute Infektion gewertet werden. Um Veränderungen der spezifischen Antikörperaktivität zu untersuchen, sollten Probe und Folgeprobe in benachbarten Kavitäten der ELISA-Mikrotiterplatte im selben Testlauf inkubiert werden. Für die Diagnose ist neben dem serologischen Befund auch immer die Klinik des Patienten zu beachten.

Testcharakteristika

Kalibrierung: Die Kontrollen des Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG) wurden mit dem 3. Internationalen Standardserum NIBSC 97/648 kalibriert (Anti-Measles and Anti-Poliovirus Serum, National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, England; als Internationale Referenzpräparation anerkannt vom WHO Expert Committee on Biological Standardization). Das Serum NIBSC 97/648 enthält definitionsgemäß 3 Internationale Einheiten (IE) pro Ampulle und wurde in einer Konzentration von 3 IE/ml resuspendiert.

Bei jedem Testansatz müssen die Extinktionswerte der Kalibratoren sowie die internationalen Einheiten bzw. Ratiowerte der positiven und der negativen Kontrolle innerhalb der für jede Charge angegebenen Toleranzen liegen. Ein Qualitätskontrollzertifikat mit den entsprechenden Daten ist beigelegt. Wenn diese Anforderungen an die Kontrollen nicht erfüllt sind, können die Testergebnisse ungenau sein und der Test sollte wiederholt werden.

Das Bindungsverhalten der Antikörper sowie die Aktivität des eingesetzten Enzyms hängen von der Temperatur ab. Es empfiehlt sich daher, für alle drei Inkubationsschritte einen Thermostaten einzusetzen. Je höher die Umgebungstemperatur bei den Inkubationen, desto höher werden die Extinktionswerte. Entsprechende Variationen gelten auch für die Inkubationszeiten. Die Kalibratoren sind aber den gleichen Einflüssen unterworfen, sodass sich diese Variationen bei der Ergebnisberechnung weitgehend aufheben.

Antigen: Als Antigenquelle dienen inaktivierte Zelllysate von Vero-Zellen, die mit Masern-Viren des Stammes „Edmonston“ infiziert wurden.

Linearität: Zur Bestimmung der Linearität des Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG) wurden 4 serielle Verdünnungen verschiedener Patientenproben durchgeführt. Der Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG) ist mindestens im untersuchten Konzentrationsbereich (52 IE/l bis 4.865 IE/l) linear.

Nachweisempfindlichkeit: Die untere Nachweisgrenze ist definiert als der Mittelwert einer analytischen Probe plus der dreifachen Standardabweichung und gibt die geringste eindeutig erfassbare spezifische Antikörperaktivität an. Die untere Nachweisgrenze des Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG) liegt bei 8 IE/l.

Kreuzreaktivität: Die Qualität des verwendeten Antigens garantiert eine hohe Spezifität des ELISA. Seren von Patienten mit akuten Infektionen verschiedener Erreger wurden mit dem EUROIMMUN-Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG) untersucht.



Antikörper gegen	n	Positiv im Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG)
Adenoviren	8	0 %
CMV	6	0 %
EBV-CA	11	0 %
HSV-1	3	0 %
Influenza-Viren Typ A	5	0 %
Influenza-Viren Typ B	11	0 %
Mumps-Viren	4	0 %
Mycoplasma pneumoniae	4	0 %
Parainfluenza-Viren Typ 1-4	11	0 %
Röteln-Viren	6	0 %
RSV	9	0 %
Toxoplasma	3	0 %
VZV	5	0 %

Interferenzen: Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml Hämoglobin, von 20 mg/ml Triglyceride und von 0,4 mg/ml Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

Reproduzierbarkeit: Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten mit 3 Proben ermittelt. Den Intra-Assay-Variationskoeffizienten liegen jeweils 20 Bestimmungen, den Inter-Assay-Variationskoeffizienten jeweils 4 Bestimmungen in 6 verschiedenen Testansätzen zugrunde.

Intra-Assay-Variation, n = 20		
Probe	Mittelwert (IE/l)	VK (%)
1	830	8,0
2	3410	6,6
3	3725	5,6

Inter-Assay-Variation, n = 4 x 6		
Probe	Mittelwert (IE/l)	VK (%)
1	796	11,6
2	3635	5,0
3	3946	6,8

Sensitivität und Spezifität: 112 klinisch charakterisierte Patientenproben (INSTAND, Labquality und NEQAS) wurden mit dem EUROIMMUN-Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG) untersucht. Die Spezifität und die Sensitivität betrug jeweils 100 %.

n = 112		INSTAND/Labquality/NEQAS		
		positiv	grenzwertig	negativ
EUROIMMUN-Anti-Masern-Viren-ELISA (IgG)	positiv	89	1	0
	grenzwertig	0	0	0
	negativ	0	0	22

Referenzbereich: Die Spiegel der Anti-Masern-Viren-Antikörper (IgG) wurden bei 500 gesunden Blutspendern mit diesem EUROIMMUN-ELISA ermittelt. Bei einem Cut-off von 250 IE/l waren 94 % der Blutspender anti-Masern-Viren-positiv (IgG), dies entspricht der bekannten Durchseuchung Erwachsener.



Klinische Bedeutung

Das **Masern-Virus (MV)** ist eines der am leichtesten zu identifizierenden Morbilliviren, einer Gruppe von Viren, die der Familie Paramyxoviridae zugeordnet ist. Masern-Viren besitzen kein tierisches Reservoir. Sie verursachen eine akute fieberhafte Erkrankung, die vorwiegend im Kindesalter auftritt und sehr ansteckend ist. 1999 lag die Anzahl masernbedingter Todesfälle weltweit noch bei 873.000 pro Jahr. Heute tritt diese Erkrankung aufgrund der durchgeführten Schutzimpfungen weitaus seltener auf, insbesondere in Westeuropa. Jedoch werden in einigen Ländern noch immer Masernepidemien verzeichnet. Frisch infizierte Personen zeigen ein breites Spektrum an klinischen Symptomen; das Krankheitsbild reicht von einer charakteristischen, milden und selbstbegrenzenden Infektion bis zu einem tödlichen Verlauf.

Maserninfektionen haben eine Inkubationszeit von ungefähr 10 Tagen und sind gekennzeichnet durch grippeähnliche Symptome mit Fieber, Unwohlsein, Katarrh der oberen Luftwege, Husten, Kongestion und Konjunktivitis. Kurz darauf bildet sich der Hautausschlag, ein maserntypisches Exanthem, zunächst an den Ohren, dann auf der Stirn, im Gesicht und am restlichen Körper.

Zu den im Zusammenhang mit Maserninfektionen auftretenden Komplikationen gehören sekundäre bakterielle Pneumonie, Otitis media (ca. 1 %), Encephalitis (ca. 1 %), Myokarditis, Aborte und die sogenannte subakute sklerosierende Panencephalitis (SSPE). Zu den ursächlichen Faktoren von Otosklerose zählen persistierende Maserninfektionen der Ohrkapsel. Für die serologische Diagnose des otosklerotischen Hörverlusts weisen Anti-Masern-Antikörper der Klasse IgG eine hohe Spezifität und Sensitivität auf. SSPE ist eine progrediente, im Allgemeinen tödlich verlaufende Erkrankung des Gehirns, die durch Maserninfektionen hervorgerufen wird. Sie tritt ungefähr 7 bis 10 Jahre nach der Infektion auf und führt innerhalb von 3 Jahren nach Beginn der Erkrankung zum Tode. Die Betroffenen leiden unter Verhaltensauffälligkeiten, kognitivem Verfall, Sehstörungen und schließlich fortgeschrittenen neurologischen Symptomen wie etwa schweren Krämpfen bis hin zu schwerwiegendem physischen und psychischen Verfall, der letztlich zum Tod führt. Die Krankheit tritt häufiger bei Männern als bei Frauen auf. Frühere Aufzeichnungen zeigen, dass die Zahl von durch Masern verursachte SSPE unterschätzt wurde. Aktuelle Daten lassen auf 6,5 bis 11 SSPE-Fällen je 100.000 Masernerkrankungen schließen. Diese Ziffer ist 7- bis 13-mal höher als frühere Schätzungen.

Frauen mit einer akuten Maserninfektion während der Schwangerschaft ohne masernspezifische Antikörper wurden z. B. in Japan, Indien, Thailand, Kenia und Brasilien beobachtet: 3 von 4 Schwangerschaften endeten mit Frühgeburt, Spontanabort oder Todgeburt; 2 von 4 Neugeborenen litten an einer kongenitalen Maserninfektion und wiesen IgM-Antikörper auf.

Antikörper gegen Masern-Viren lassen sich nahezu bei allen Patienten während der Erkrankung und nach deren Ablauf im Serum nachweisen. IgM-Antikörper entwickeln sich bereits kurz nach dem Auftreten der ersten Symptome und können mittels ELISA und indirekter Immunfluoreszenz (IIFT) nachgewiesen werden. Bei 50 % der Patienten sind drei Tage nach Ausbruch der Erkrankung IgM-Antikörper nachweisbar, bei mehr als 90 % innerhalb von 10 Tagen nach Auftreten des Ausschlags. Der Anti-Masernvirus-IgM-ELISA hat eine höhere Sensitivität und ermöglicht eine schnellere serologische Diagnose von Maserninfektionen als andere Tests. Maserninfektionen verursachen häufig einen Anstieg der Zahl von heterologen Antikörpern. Die statistisch ermittelte Nachweisrate von Antikörpern ist deutlich höher bei der Verwendung von ELISA und IIFT als beim Einsatz von Neutralisationstests. IgM- und IgG-Antikörper gegen Masern-Viren sind zuverlässige Marker bei Verdacht auf eine Maserninfektion.



Die Diagnose einer von Masern hervorgerufenen Myelitis oder Enzephalitis erfolgt mittels Nachweis der Antikörper gegen Masern im Liquor. Diese spezifischen Antikörper werden im Gehirn synthetisiert. Mittels des Liquor-Serum-Quotienten (LSQ) kann zwischen einer im Serum gebildeten und einer pathologischen, intrathekal gebildeten Antikörperfraktion im Liquor unterschieden werden, unter Berücksichtigung der individuellen Veränderungen der Blut/Hirn-Schranke. Unter dieser Prämisse können mit dem ELISA sowohl im Liquor als auch im Serum Antikörper gegen Masern untersucht werden mit Ermittlung des relativen LSQ-Werts. Während einer masernbedingten Myelitis oder Enzephalitis findet im Liquor eine Synthese von Antikörpern gegen Masern statt. Da spezifische Antikörper durch den Diffusionsprozess aus dem Serum durch die Blut-Hirn-Schranke in den Liquor gelangen können, ist es notwendig, den relativen Liquor-Serum-Quotienten (LSQ_{rel.}, Synonym: Antikörperspezifitätsindex) zu ermitteln. Dieser errechnet sich aus dem Anteil spezifischer Masern-IgG-Antikörper am Gesamt-IgG des Liquors im Verhältnis zum Anteil spezifischer IgG-Antikörper am Gesamt-IgG des Serums. In der Umrechnung wird der Liquor-Serum-Quotient der erregerspezifischen IgG-Antikörperkonzentration LSQ_{Err.-spez.} (IgG) ins Verhältnis gesetzt zum Liquor-Serum-Quotienten der Gesamt-IgG-Konzentration LSQ_{ges.} (IgG). Folglich zeigt ein relativer LSQ-Wert von über 1,5 an, dass im ZNS spezifische Antikörper produziert werden und somit eine ZNS-Beteiligung vorliegt.

Insbesondere aufgrund der maserntypischen Komplikationen empfiehlt in Deutschland die Ständige Impfkommission am Robert Koch-Institut (STIKO), ein Bundesinstitut im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Gesundheit, die Impfung von Kleinkindern, und zwar die erste im Alter von 11 bis 14 Monaten, die zweite im Alter von 15 bis 23 Monaten.

In der Regel entwickelt sich eine lebenslange Immunität, die bei über Sechzigjährigen meist nicht mehr ausreicht, um eine Reinfektion zu verhindern. Auch sind die Antikörpertiter bei Post-Vakzinationsseren 8- bis 10-mal niedriger als bei Seren konvaleszenter Personen. Folglich wird eine Masern-Auffrischungsimpfung im höheren Alter dringend angeraten, um die in dieser Alterstufe oft lebensbedrohlichen Krankheitsverläufe zu verhüten. Bei immunsupprimierten seronegativen Personen, wie Tumorkranken und Transplantat-Empfängern sowie bei seronegativen Schwangeren nach Exposition ist eine passive Immunisierung mit spezifischen Immunglobulin-Konzentraten angezeigt.

Literatur

- Bellini WJ, Helfand RF. **The challenges and strategies for laboratory diagnosis of measles in an international setting.** J Infect Dis 187 (2003) 283-290.
- de Melker H, Pebody RG, Edmunds WJ, Levy-Bruhl D, Valle M, Rota MC, Salmaso S, van den Hof S, Berbers G, Saliou P, Spaendonck MCV, Crovari P, Davidkin I, Gabutti G, Hesketh L, Morgan-Capner P, Plesner AM, Raux M, Tische A, Miller E. **The seroepidemiology of measles in Western Europe.** Epidemiol Infect 126 (2001) 249-259.
- Dine MS, Hutchins SS, Thomas A, Williams I, Bellini WJ, Redd SC. **Persistence of vaccine-induced antibody to measles 26-33 years after vaccination.** J Infect Dis 189 (2004) 123-130.
- EUROIMMUN AG. **Testkit für die Labordiagnostik.** Deutsches Gebrauchsmuster DE 20 2012 004 404 (angemeldet 2012).
- Hogg GG, Darlington RJ, Hogg KG, Lester R. **Measles immunity and immunisation status in Australian children 1 to 4 years of age.** J Paediatr Child Health 42 (2006) 165-169.
- EUROIMMUN AG. Morrin M. **Vorrichtung und Verfahren zur automatischen Fokussierung für die Mikroskopie schwach leuchtender Substrate.** Deutsche und Inter-nationale Patentanmeldung DE 10 2010 035 104.0 (angemeldet 2010) und WO 2012/025220 (angemeldet 2011).
- Ota MO, Moss WJ, Griffin DE. **Emerging diseases: measles.** J Neurovirol 11 (2005) 447-454.
- Ratnam S, Tippl G, Head C, Fauvel M, Fearon M, Ward BJ. **Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology tests and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles.** J Clin Microbiol 38 (2000) 99-104.



- Reiber H, Peter JB. **Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs.** J Neurol Sci 184 (2001) 101-122.
- Rota PA, Brown K, Mankertz A, Santibanez S, Shulga S, Muller CP, Hübschen JM, Siqueira M, Beirnes J, Ahmed H, Triki H, Al-Busaidy S, Dosseh A, Byabamazima C, Smit S, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Bukenya H, Wairagkar N, Ramamurty N, Incomserb P, Pattamadilok S, Jee Y, Lim W, Xu W, Komase K, Takeda M, Tran T, Castillo-Solorzano C, Chenoweth P, Brown D, Mulders MN, Bellini WJ, Featherstone D. **Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology.** J Infect Dis 204 (2011) 514-523.
- Singh MP, Ratho RK, Panda N, Mishra B. **Otosclerosis – do we have a viral aetiology?** Nepal Med Coll J 7 (2005) 129-130.
- Stöcker* W, Fauer* H, Krause* C, Barth E, Martinez A. (*EUROIMMUN AG). **Verfahren zur Optimierung der automatischen Fluoreszenzerkennung in der Immundiagnostik.** Deutsche Patentanmeldung (Offenlegungsschrift) DE 10 2006 027 516.0 und WO2007140952 (2006).
- EUROIMMUN AG. Stöcker W, Ehling T. **Vorrichtung und Verfahren zur Untersuchung einer biologischen Probe.** Deutsche Patentanmeldung DE 10 2011 011 795.4 (angemeldet 2011).



