

## Anti-Masern-Viren-ELISA (IgM) Arbeitsanleitung

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

**Testprinzip:** Der vorliegende ELISA-Testatz dient der semiquantitativen In-vitro-Bestimmung humaner Antikörper der Immunglobulinklasse IgM gegen Masern-Viren aus Serum oder Plasma. 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 IgM (und IgA, IgG) an die jeweiligen Antigene. Zur Darstellung dieser Antikörper inkubiert man in einem zweiten Schritt mit einem Enzym-markierten Anti-Human-IgM (Enzymkonjugat), das eine sich anschließende Farbreaktion katalysiert.

### Inhalt einer Testpackung:

Bezeichnung	Farbe	Format	Symbol
<b>1. Antigen-beschichtete Reagenzgefäße</b> 12 Mikrotiterstreifen zu je 8 vereinzelbaren Reagenzgefäßen im Rahmen, gebrauchsfertig	---	12 x 8	
<b>2. Kalibrator</b> (IgM, human), gebrauchsfertig	dunkelrot	1 x 2,0 ml	
<b>3. Positive Kontrolle</b> (IgM, human): gebrauchsfertig	blau	1 x 2,0 ml	
<b>4. Negative Kontrolle</b> (IgM, human), gebrauchsfertig	grün	1 x 2,0 ml	
<b>5. Enzymkonjugat</b> Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgM (Ziege), gebrauchsfertig	rot	1 x 12 ml	
<b>6. Probenpuffer</b> enthält IgG/RF-Absorbens (Ak von der Ziege, die gegen humanes IgG gerichtet sind), gebrauchsfertig	grün	1 x 100 ml	
<b>7. Waschpuffer</b> 10fach konzentriert	farblos	1 x 100 ml	
<b>8. Chromogen/Substrat-Lösung</b> TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , gebrauchsfertig	farblos	1 x 12 ml	
<b>9. Stopplösung</b> 0,5 M Schwefelsäure, gebrauchsfertig	farblos	1 x 12 ml	
<b>10. Arbeitsanleitung</b>	---	1 Heft	
<b>11. Qualitätskontrollzertifikat</b>	---	1 Protokoll	
Chargen-Bezeichnung		Lagertemperatur	
In-vitro-Diagnostikum		ungeöffnet verwendbar bis	

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

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

Änderungen zur Vorversion sind grau unterlegt.



## Vorbereitung und Haltbarkeit der Reagenzien

**Hinweis:** Sämtliche Reagenzien müssen ca. 3 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) gebracht werden. Nach erstmaligem Öffnen sind die Reagenzien 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 Gripnaht 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 Gripnaht dicht verschließen (Trockenbeutel nicht entfernen).  
Nach dem erstmaligen Öffnen der Schutzhülle sind die Antigen-beschichteten 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. Der grün gefärbte Probenpuffer enthält das IgG/RF-Absorbens. Die mit diesem Probenpuffer verdünnten Serum- oder Plasmaproben dürfen nur für die Bestimmung von Antikörpern der Immunglobulinklasse IgM eingesetzt werden.
- **Waschpuffer:** Der Waschpuffer ist 10fach 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/Substrat-Lösung:** Gebrauchsfertig. Die Flasche sofort nach Gebrauch wieder verschließen, da die Lösung lichtempfindlich ist. Die Chromogen/Substrat-Lösung muss klar sein, wenn sie vor Benutzung bereits bläulich gefärbt ist, darf sie nicht mehr verwendet werden.
- **Stopp-Lösung:** Gebrauchsfertig.

**Warnung:** In den Kontrollen und Kalibratoren ließen sich mit Enzymimmuntests und indirekter Immunfluoreszenz 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 das giftige Natriumazid, 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.

**Vorbereitung:** Vor der Bestimmung spezifischer Antikörper der Klasse IgM müssen Antikörper der Klasse IgG aus den Patientenproben entfernt werden. Dadurch wird verhindert, dass eventuell vorhandene Rheumafaktoren der Klasse IgM mit spezifisch gebundenem IgG reagieren und zu falsch IgM-positiven Testergebnissen führen oder dass spezifisches IgG IgM vom Antigen verdrängt (falsch IgM-negative Ergebnisse).

**Wirkprinzip:** Der Probenpuffer (grün gefärbt!) enthält Antikörper von der Ziege, die gegen humanes IgG gerichtet sind. IgG einer Serumprobe wird hochspezifisch von diesen Antikörpern gebunden und präzipitiert. Falls die Probe auch Rheumafaktoren aufweist, werden diese vom IgG/Anti-Human-IgG-Komplex absorbiert.

### Trenneigenschaften:

- Alle IgG-Subklassen werden durch die Anti-Human-IgG-Antikörper gebunden und präzipitiert.
- Humanes Serum-IgG in Konzentrationen von mindestens 15 mg pro ml humanen unverdünnten Serums wird durch das Absorbens entfernt (durchschnittliche Serum-IgG-Konzentration von Erwachsenen: 12 mg/ml).
- Rheumafaktoren werden mit entfernt.
- Die Wiederfindungsrate der IgM-Fraktion beträgt nahezu 100 %.

**Durchführung:** Die zu untersuchenden **Patientenproben** werden im Verhältnis **1 : 101** mit grün gefärbtem Probenpuffer verdünnt.

Beispiel: 10 µl Probe in 1,0 ml Probenpuffer aufnehmen und gut durchmischen (Vortex). Die Probenpipette ist zum Mischen ungeeignet. Das Gemisch mindestens **10 Minuten** bei Raumtemperatur (+18 °C bis +25 °C) inkubieren. Es kann anschließend entsprechend dem Pipettierschema in die Reagenzgefäße pipettiert werden.

### Hinweise:

- Für die Bestimmung von Antikörpern der Klasse IgG darf dieses Gemisch nicht eingesetzt werden.
- Es besteht die Möglichkeit, die Wirksamkeit des IgG/RF-Absorbens für eine individuelle Patientenprobe zu überprüfen, indem parallel zum IgM-Test der entsprechende IgG-Test mit dem Gemisch durchgeführt wird – wenn dieser negativ ausfällt, ist das IgM-Ergebnis verlässlich.
- Der Kalibrator und die Kontrollen sind gebrauchsfertig, nicht verdünnen.



## Inkubation

### (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 entleeren und anschließend 3x mit je 450 µl gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer waschen (Programm-Einstellung: z.B. TECAN Columbus Washer „Overflow Modus“).

Den Waschpuffer in jedem Reagenzgefäß pro Waschzyklus 30-60 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-IgM) 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/Substrat-Lösung 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/Substrat-Lösung.

**Messen:** Die **photometrische 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 dem 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 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	P 6	P 14	P 22								
B	pos	P 7	P 15	P 23								
C	neg	P 8	P 16	P 24								
D	P 1	P 9	P 17									
E	P 2	P 10	P 18									
F	P 3	P 11	P 19									
G	P 4	P 12	P 20									
H	P 5	P 13	P 21									

Das angegebene Pipettierschema gilt beispielhaft für die **semiquantitative Analyse** von 24 Patientenproben (P 1 bis P 24).

Der Kalibrator (K), 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 negative Kontrolle dienen als interne Prüfung für die Zuverlässigkeit des Testverlaufs. Sie sollten bei jedem Testdurchlauf verwendet werden.

## Testauswertung

Die Extinktion des Kalibrators entspricht dem von EUROIMMUN empfohlenen oberen Grenzwert des Referenzbereiches für nicht-infizierte Personen (**Cut-off**). Extinktionswerte von Patientenproben oberhalb des Extinktionswertes des Kalibrators gelten als positiv, Extinktionswerte darunter als negativ.

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

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



EUROIMMUN schlägt folgende Befundinterpretation vor:

<b>Ratio &lt;0,8:</b>	<b>negativ</b>
<b>Ratio ≥0,8 bis &lt;1,1:</b>	<b>grenzwertig</b>
<b>Ratio ≥1,1:</b>	<b>positiv</b>

**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 Titerveränderungen bei paralleler Untersuchung von zwei Serumproben, die in einem Abstand von mindestens 7 Tagen entnommen wurden, kann die Diagnose sichern.

Neben dem serologischen Befund ist auch immer die Klinik des Patienten für die Diagnose zu beachten.

## Test-Charakteristika

**Kalibrierung:** Da für den Nachweis der Antikörper der Klasse IgM gegen Masern-Viren kein internationales Referenzserum existiert, werden die Ergebnisse in Form von Ratiowerten angegeben, die ein relatives Maß für die Konzentration der Antikörper im Serum oder Plasma darstellen.

Bei jedem Testansatz müssen die Extinktionswerte des Kalibrators sowie die Ratiowerte der positiven und 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 hängt 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. Der Kalibrator ist 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.

**Nachweisempfindlichkeit:** Die untere Nachweisgrenze ist definiert als der Mittelwert einer analytfreien Probe plus der dreifachen Standardabweichung und gibt den geringsten eindeutig erfassbaren Antikörpertiter an. Die untere Nachweisgrenze dieses ELISA liegt bei Ratio 0,02.

**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 (IgM) untersucht.

Antikörper gegen	n	Anti-Masern-Viren-ELISA (IgM)
<b>Borrelia burgdorferi</b>	10	0 %
<b>CMV</b>	7	0 %
<b>EBV-CA</b>	17	0 %
<b>Mumpsviren</b>	8	0 %
<b>Parvovirus B19</b>	9	0 %
<b>Rötelnviren</b>	10	0 %
<b>Toxoplasma gondii</b>	10	0 %
<b>VZV</b>	5	0 %



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

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

<b>Intra-Assay-Variation, n = 20</b>		
Serum	Mittelwert (Ratio)	VK (%)
1	2,6	7,9
2	4,6	2,5
3	7,0	2,3

<b>Inter-Assay-Variation, n = 4 x 6</b>		
Serum	Mittelwert (Ratio)	VK (%)
1	2,4	8,0
2	4,1	4,4
3	6,6	4,4

**Spezifität und Sensitivität:** 72 klinisch charakterisierte Patientenproben (INSTAND Ringversuch, Deutschland) wurden mit dem EUROIMMUN Anti-Masern-Viren-ELISA (IgM) untersucht. Die Spezifität betrug 98 %, bei einer Sensitivität von 100 %.

		n = 72	
		INSTAND	
ELISA	positiv	26	1
	grenzwertig	0	1
	negativ	0	44

**Referenzbereich:** Die Spiegel der anti-Masern-Viren-Antikörper (IgM) wurden bei 300 gesunden Blutspendern mit diesem EUROIMMUN-ELISA ermittelt. Bei einem Cut-off von Ratio 1,0 waren 0,3 % der Blutspender anti-Masern-Viren-positiv (IgM).

## Klinische Bedeutung

Das **Masernvirus (MV)** ist eines der am leichtesten zu identifizierenden Morbilliviren, einer Gruppe von Viren, die der Familie Paramyxoviridae zugeordnet ist [1]. Masernviren besitzen kein tierisches Reservoir. Sie verursachen eine akute, fieberhafte Erkrankung, die vorwiegend im Kindesalter auftritt und sehr ansteckend ist [2, 3]. 1999 lag die Anzahl masernbedingter Todesfälle weltweit noch bei 873.000 pro Jahr [1, 4, 5]. Heute tritt diese Erkrankung aufgrund der durchgeführten Schutzimpfungen weitaus seltener auf, insbesondere in Westeuropa [6, 7]. Jedoch werden in einigen Ländern noch immer Masernepidemien verzeichnet [2, 3, 4, 5, 6, 8, 9]. 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 [1, 2, 8, 10].

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 [1, 5, 8, 11].

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) [5, 12, 13]. Zu den ursächlichen Faktoren von Otosklerose zählen persistierende Maserninfektionen der Ohrkapsel [9, 14]. Für die serologische Diagnose des otosklerotischen Hörverlusts weisen Anti-Masern-Antikörper der Klasse IgG eine hohe Spezifität und Sensitivität auf [15]. 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 [13]. Die Krankheit tritt häufiger bei Männern als bei Frauen auf. Frühere Aufzeichnungen zeigen, dass die Zahl von durch Masern verursachte SSPE unterschätzt wurde [12]. Aktuelle Daten sprechen von 6,5 bis 11 SSPE-Fällen je 100.000 Masernerkrankungen. Diese Ziffer ist 7 bis 13 mal höher als frühere Schätzungen [1, 9, 12].

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 [5].

Antikörper gegen Masernviren 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 [16, 20, 21, 22].

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 [15, 17]. Der Anti-Masernvirus-IgM-ELISA hat eine höhere Sensitivität und ermöglicht eine schnellere serologische Diagnose von Maserninfektionen als andere Tests [15, 18, 19]. 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 von Neutralisationstests [16, 20]. IgM- und IgG-Antikörper gegen Masernviren 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 [23, 24, 25, 26]. Diese spezifischen Antikörper werden im Gehirn synthetisiert [24]. 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 [24, 25, 26, 27]. Deshalb ist es erforderlich, sowohl im Liquor als auch im Serum mit dem ELISA Antikörper gegen Masern zu untersuchen. 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: Antikörperspezifitäts-Index) zu ermitteln [24, 25, 26]. Der  $LSQ_{rel.}$  errechnet sich als 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) [27]. Folglich zeigt ein relativer LSQ-Wert von über 1,5 an, dass im ZNS spezifische Antikörper produziert werden und somit eine ZNS-Beteiligung vorliegt [25, 26].

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 1. im Alter von 11-14 Monaten, die 2. im Alter von 15-23 Monaten [2, 4, 10, 11]. Die Impfung ermöglicht eine Neutralisierungsaktivität und Persistenz der Antikörper [6, 15].

In der Regel entwickelt sich eine lebenslange Immunität. Jedoch sind die Antikörpertiter bei Post-Vakzinationsseren 8 bis 10 Mal niedriger als bei konvaleszenten Seren [6, 19, 28]. Bei immunsupprimierten seronegativen Personen, wie Tumorkranken und Transplantat-Empfängern, sowie nach Exposition seronegativer Schwangerer, ist eine passive Immunisierung mit spezifischen Immunglobulin-Konzentraten angezeigt.

Das Regionalbüro für Europa der Weltgesundheitsorganisation WHO hat es sich zum Ziel gesetzt, Masern durch flächendeckende Impfaktionen in Europa in den kommenden Jahren vollständig auszurotten [4, 9, 10]. Ein Rückgang der Anzahl manifester Erkrankungen und insbesondere schwerer Krankheitsverläufe wäre zu erwarten. Zur Diagnose der verbleibenden Erkrankungen und von außerhalb Europas eingeschleppten Masern-Infektionen sowie zur Abklärung untypischer Krankheitsverläufe teilimmunisierter Patienten käme dann dem Antikörpernachweises in Serum und Liquor eine noch größere Bedeutung zu [3, 5, 8, 9].



## Literaturliste

1. Rima BK, Duprex WP. **Morbilliviruses and human disease.** J Pathol 208 (2006) 199-214.
2. 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.
3. Karimi A, Arjomandi A, Alborzi A, Rasouli M, Kadivar MR, Obood B, Pourabbas B. **Prevalence of measles antibody in children of different ages in Shiraz, Islamic Republic of Iran.** East Mediterr Health J 10 (2004) 468-473.
4. Cutts FT, Steinglass R. **Should measles be eradicated.** Br Med J 316 (1998) 765-767.
5. de Barros EN, Silva EM. **Epidemiologic surveillance of measles and rubella in Campinas (SP), Brazil: the reliability of the data.** [Article in Portuguese] Rev Panam Salud Publica 19 (2006) 172-178.
6. Gay N, Ramsay M, Cohen B, Hesketh L, Morgan-Capner P, Brown D, Miller E. **The epidemiology of measles in England and Wales since the 1994 vaccination campaign.** Commun Dis Rep CDR Rev 7 (1997) 17-21.
7. 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.
8. Ceylan A, Ertem M, Korukluoglu G, Acemoglu H, Kara IH, Erten PG, Arslan C, Ay ME. **An epidemic caused by measles virus type D6 in Turkey.** Turk J Pediatr 47(2005) 309-315.
9. Ota MO, Moss WJ, Griffin DE. **Emerging diseases: measles.** J Neurovirol 11 (2005) 447-454.
10. Shann F. **A little bit of measles does you good.** Br Med J 219 (1999) 4-5.
11. CDC **Measles outbreaks still occur among school-age children and travelers.** MMWR 46 (1997) 242-245.
12. Smith TC. **Measles vaccine doesn't cause SSPE.** Aetiology (2006).
13. Yokoyama T, Sakurai M, Aota Y, Wakabayashi Y, Ohyashiki K. **An adult case of acute disseminated encephalomyelitis accompanied with measles infection.** Intern Med 44 (2005) 1204-1205.
14. Singh MP, Ratho RK, Panda N, Mishra B. **Otosclerosis - do we have a viral aetiology?** Nepal Med Coll J 7 (2005) 129-130.
15. Tische A, Gerike E, Strauss J, Smelhausova M, Mrazova M. **Immunoglobulin specific and conventional methods in the serodiagnosis of measles.** [Article in German] Z Gesamte Hyg 35 (1989) 367-369.
16. Roodbari F, Roustai MH, Mostafaie A, Soleimanjdahi H, Foroshani RS, Sabahi F. **Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M antibodies against measles virus.** Clin Diagn Lab Immunol 10 (2003) 439-442.



17. Rossier E, Miller H, McCulloch B, Sullivan L, Ward K. **Comparison of immunofluorescence and enzyme immunoassay for detection of measles-specific immunoglobulin M antibody.** J Clin Microbiol 29 (1991) 1069-1071.
18. Pedersen IR, Antonsdottir A, Evald T, Mordhorst CH. **Detection of measles IgM antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).** Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B] 90 (1982) 153-160.
19. Glikmann G, Petersen I, Mordhorst CH. **Prevalence of IgG-antibodies to mumps and measles virus in non-vaccinated children.** Dan Med Bull 35 (1988) 185-187.
20. Bouche FB, Brons NH, Houard S, Schneider F, Muller CP. **Evaluation of hemagglutinin protein-specific immunoglobulin M for diagnosis of measles by an enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant protein produced in a high-efficiency mammalian expression system.** J Clin Microbiol 36 (1998) 3509-3513.
21. 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).
22. EUROIMMUN AG. **Aktuelle Themen der Autoimmundiagnostik und der Infektions-Serologie.** Wissenschaftliches Fortbildungsseminar mit Vorträgen von Prof. Dr. G. Wick, Prof. Dr. N. Sepp, Prof. Dr. F. Deisenhammer, Dr. med. W. Stöcker, Prof. Dr. Gerold Stanek, Prof. DDr. R. Würzner, A. Krapf, Dr. med. Dipl. oec. med. J. Brunner, Innsbruck (2007).
23. Dennin RH, Herb E. **Immunological diagnosis in viral infections of the central nervous system: course of antibody titres against homo- and heterologous viruses.** Med Microbiol Immunol 178 (1989) 255-268.
24. Reiber HO, Lange P. **Quantification of Virus-Specific Antibodies in Cerebrospinal Fluid and Serum: Sensitive and Specific Detection of Antibody Synthesis in Brain.** Clin Chem 37 (1991) 1153-1160.
25. Reiber H, Peter JB. **Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs.** J Neurol Sci 184 (2001) 101-122.
26. Reiber H, Lange P. **Virus-spezifische Antikörper in Liquor und Serum. ELISA-Analytik und Auswertung mittels Antikörper-Index und Quotientendiagramm.** Lab Med 15 (1991) 204-207.
27. Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. **The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis.** Multiple Sclerosis 4 (1998) 111-117.
28. 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.



