

INHALT

1. EINLEITUNG

2. HISTORISCHES

3. DAS KOMPLEMENTSYSTEM

4. REAKTIONSPARTNER DER KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION

- 4.1 Antigene
- 4.2 Kontrollantigene
- 4.3 Veronalpuffer
- 4.4 Komplement
- 4.5 Erythrozyten
- 4.6 Ambozeptor
- 4.7 Gebrauchsfertiges Hämolytisches System
- 4.8 Kontrollseren

5. DIE TESTEINSTELLUNG

6. DAS TESTPRINZIP DER KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION

- 6.1 Komplement-Kontrolle
- 6.2 Pipettierschema

7. TESTAUSWERTUNG UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- 7.1 Zur Interpretation von KBR-Titern mit Reagenzien der
Institut Virion\Serion GmbH, Würzburg
- 7.2 Kreuzreaktionen

8. STÖRFAKTOREN UND HÄUFIGE FEHLERQUELLEN

- 8.1 Beseitigung von antikomplementären Eigenschaften

9. SEROLOGISCH-DIAGNOSTISCHE MÖGLICHKEITEN BEI INFEKTIONEN

10. LITERATUR

Wissenschaftliche Informationen zur Komplementbindungsreaktion (KBR)

1. EINLEITUNG

Die **Komplementbindungsreaktion (KBR)** zählt zu den ältesten serologischen Tests. Die Diagnostik von Infektionskrankheiten kann auf eine mehr als 90-jährige Erfahrung mit dieser Methode zurückblicken. Auch im Zeitalter hochsensitiver Nachweisverfahren wie dem Enzymimmunoassay (EIA) oder der Polymerasekettenreaktion (PCR) hat die KBR in der Serodiagnostik von bakteriellen, viralen, parasitären und teilweise auch pilzbedingten Infektionskrankheiten kaum an Aktualität verloren.

Die folgenden Ausführungen sollen keine „Gebrauchsanweisung“ sein. Sie richten sich vor allem an das medizinische Personal, das sich mit diesem serologischen Test auseinandersetzt und sein Hintergrundwissen auffrischen oder vertiefen möchte.

2. HISTORISCHES

Beim Studium mikrobiologischer oder immunologischer Lehrbücher fällt auf, daß eine historische Einführung oft fehlt, oder nur punktuell dargestellt wird. Häufig werden als Grundbegriffe und Eckdaten der mikrobiologischen und immunologischen Geschichte lediglich die Vorstellung von "*miasma*" und "*contagium*" in Zusammenhang mit den großen Seuchen, die Entdeckung des Mikroskops durch *Leeuwenhoek*, die "Erfindung" der Pockenschutzimpfung durch *Jenner* und schließlich die berühmten bakteriologischen Postulate von *Koch* erwähnt.

Die Geschichte der Serologie und der Immunologie gestaltet sich bei näherer Betrachtung aber wesentlich komplexer und interessanter. Es lohnt sich, einen "Abstecher" in die Medizin des 2. nachchristlichen Jahrhunderts zu unternehmen, da das medizinische Denken dieser Zeit nachfolgende Generationen noch lange beeinflusste.

In der Beschreibung der Humoralpathologie (Vier-Säfte-Lehre) erklärt *Galen* die Entstehung der Krankheiten und greift dabei auf ältere Vorstellungen der Elementenlehre zurück. Das Blut (*haima*) entspreche der Luft und habe seinen Sitz im Herzen. Die schwarze Galle (*melancholia*) entspreche der Erde und sei in der Milz lokalisiert. Die gelbe Galle (*cholera*) mit Sitz in der Leber vertrete das Element Feuer und der Schleim (*phlegma*), der dem Wasser entspreche, befinde sich im Gehirn. Ein ausgewogenes Verhältnis dieser Körpersäfte bedeutete nach dieser Vorstellung Gesundheit, während ein Ungleichgewicht körperliche und seelische Erkrankungen bewirken könne. Gerade ein vermeintliches Überwiegen des Schleims begründete die wohl am häufigsten durchgeführte medizinische Therapie während vieler Jahrhunderte, den Aderlaß.

Auch heute sind wir nicht frei von humoralpathologischen Vorstellungen: so erfreuen sich Wasserkuren (z.B. nach *Kneipp*), Behandlungen mit "Heilerde" und vieles mehr

einer großen Beliebtheit. Diese lassen sich auf humoralpathologisch geprägte Ursprünge zurückführen. Auch sprechen wir heute noch von "Phlegmatikern", "Cholerikern" oder "Melancholikern" und schätzen den *Humor* als eine positive Charaktereigenschaft.

Zwangsläufig haben sich Ärzte und Bevölkerung mit immunologischen Phänomenen schon immer auseinandergesetzt: besonders während der großen Seuchen des Mittelalters und der Renaissance drängte sich die Frage auf, warum ein Teil der Bevölkerung schwer erkrankte oder starb, während ein anderer Teil symptomfrei blieb oder nur leicht erkrankte. Sicherlich war "Krankheit als Strafe Gottes" *eine* Erklärungsweise der damaligen Zeit, dies war aber hierzu nicht die einzige Vorstellung. So machte man sich bereits frühzeitig sehr konkrete Gedanken, wie diesen Seuchen zu begegnen sei.

Girolamo Fracastoro wies 1546 in seinem Werk über die ansteckenden Krankheiten u.a. auf die Möglichkeit hin, sich durch die Kleidung von an Pest Erkrankten anstecken zu können. Leider wurde diese Entdeckung von Seiten der Wissenschaft kaum beachtet; der Staat leitete aber Konsequenzen daraus ab und führte z.B. die "quaranta" ein, die noch heute als Quarantäne bekannt ist. Andere Relikte dieser Zeit sind die Ammergauer Festspiele oder das Kölnisch Wasser, die ursprünglich ebenfalls dem Pestschutz dienen sollten.

Neben der Pest, die in Europa zwischen dem 11. und dem 17. Jahrhundert ca. 25 Millionen Todesopfer forderte, gab es noch zahlreiche andere epidemisch auftretende Infektionskrankheiten. Vor 500 Jahren versetzte die sich plötzlich rasant verbreitende Syphilis-Epidemie die Menschheit in Angst und Schrecken. Auch die Pocken forderten viele Menschenleben.

Es war nicht *Edward Jenner*, der die Pockenschutzimpfung entdeckt hatte, wenn er auch die Methode als erster wissenschaftlich beschrieben hat. Es gibt Quellen und erhaltene Impfwerkzeuge aus China, wo bereits im 11. Jahrhundert aktiv gegen die Pocken immunisiert wurde. Die Impfungen sind wohl eine menschliche Urerfahrung; auch Ureinwohner von Dschungelgebieten, die niemals mit der "Zivilisation" in Kontakt standen, führten Immunisierungen gegen Amphibiengifte durch. In Europa war es *Lady Montague*, die Frau des britischen Konsuls von Konstantinopel, die bereits um 1720 die Pockenschutzimpfung bekannt machte und einen regelrechten Impfboom (nicht nur gegen Pocken) auslöste. Konstantinopel war damals ein wichtiger Umschlagsort für den Sklavenhandel und selbstverständlich wurden die Sklaven gegen die Pocken immunisiert, um wirtschaftliche Verluste zu verhindern.

Bei den Anfängen der Bakteriologie und der Immunitätsforschung spielte der Chemiker *Louis Pasteur* eine entscheidende Rolle. Über die alkoholische Gärung kam er zur Mikrobiologie. 1880 gelang es ihm, Hühnercholera-Erreger *in vitro* in ihrer Virulenz zu schwächen und als Impfschutz einzusetzen. Natürlich drängte sich die Frage auf, welche Reaktionen im Reagenzglas stattgefunden haben und warum mit diesen modifizierten Erregern geimpfte Hühner vor einer Neuerkrankung geschützt waren. *Pasteur* vertrat die damals übliche Erschöpfungshypothese: Ein Erreger, der einen Wirt erstmalig befällt, findet reichlich "Nahrung" und braucht diese auf.

Bei erneutem Befall durch den gleichen Erreger ist die Nahrungsquelle erschöpft und der Erreger kann folglich nichts mehr ausrichten.

Bemerkenswert war die Entdeckung der Phagozytose durch *Metchnikoff* im Jahre 1894. Kurze Zeit glaubte man, daß die Widerstandskraft eines Organismus durch die Phagozytentätigkeit bedingt sei.

Bahnbrechend für eine bessere medizinische Versorgung einerseits und für das immunologische Verständnis andererseits war die Entwicklung des Diphtherie- und Tetanusantitoxins durch *Behring* und *Kitasato* im Jahre 1890. Man hatte nicht nur eine wirksame Waffe gegen den "blauen Würger" (gerade in den unteren sozialen Schichten der Großstädte grassierten aufgrund der schlechten hygienischen Verhältnisse und der Mangelernährung Diphtherie-Epidemien) sondern auch ein faßbares Modell für die Immunität. Gegen ein "Toxin" wird ein spezifisches "Antitoxin" gebildet und hebt dessen krankmachende Wirkung auf.

Die bakterizide Eigenschaft von Blut und Serum wurde in dieser Zeit vielerorts erforscht. *Buchner* beschrieb das Alexin, welches dann später von *Ehrlich* als Komplement bezeichnet wurde.

Gruber, *Durham* und *Widal* machten im Jahre 1896 eine interessante Entdeckung: Träufelte man Blut von Patienten, die an Typhus erkrankt waren und sich im Rekonvaleszenzstadium befanden, auf Typhusbazillen, verklumpten diese. Mit der auf diese Weise entdeckten Agglutinationsreaktion konnte man herausfinden, ob ein Patient tatsächlich an Typhus erkrankt war, oder ob eine andere Erkrankung den klinischen Beschwerden zugrunde lag. Dieser erste serologische Test konnte bei vielen Infektionskrankheiten eingesetzt werden und ist nach wie vor als *Widal-Reaktion* fester Bestandteil vieler mikrobiologischer Laboratorien. Bereits wenige Jahre später wurden taxonomische Einteilungen der Bakterien durch *Schottmüller* serologisch durchgeführt, da man die Präzision und die Spezifität dieser Methode erkannt hatte.

Eine umfassende Beschreibung der humoralen Immunität gelang *Paul Ehrlich* um die Jahrhundertwende in seiner "Seitenkettenreaktion"-Theorie, in der die Bildung spezifischer Antikörper anschaulich demonstriert wurde.

Jules Bordet, ein Schüler *Metchnikoffs* und späterer Nobelpreisträger, experimentierte lange Zeit mit der bakteriziden Wirkung der Seren. Bei der Agglutinationsreaktion störte ihn, daß hierzu lebende Bakterienstämme eingesetzt wurden, die sich während des Versuchs weiter vermehrten, so daß eine quantitative Bewertung der Ergebnisse bei längerdauernden Versuchen schwierig wurde. Deswegen war er auf der Suche nach einem anderen Indikatorsystem und entdeckte die Brauchbarkeit speziell behandelter Erythrozyten. Im Jahre 1901 konnte er diesen neuen Indikator, der sich in Koppelung mit Komplement und einem Antigen als ein hervorragender serologischer Test zeigte, als Komplementbindungsreaktion vorstellen. Wenige Jahre später bereits wurde dieser Test zum Nachweis des 1905 von *Schaudinn* entdeckten Syphilis-Erregers als Wassermann-Reaktion zum festen Bestandteil der mikrobiologischen Laboratorien und bewahrte sich viele Jahrzehnte. Noch heute sind die *Wassermann-Laboratorien* vielen ein Begriff.

3. DAS KOMPLEMENTSYSTEM

Paul Ehrlich führte den Begriff des Komplements Ende des letzten Jahrhunderts ein und verstand das Komplementsystem - der Namensgebung nach - lediglich als einen Hilfsstoff ("complementum") des Immunsystems. Heute weiß man, daß das Komplement wichtigster Träger der unspezifischen Immunabwehr ist.

Jeder, der eine Komplementbindungsreaktion durchführt oder deren Ergebnisse in einem medizinischen Befund bewertet, sollte sich mindestens grob mit dem "hauptverantwortlichen" Reaktionspartner der KBR, dem Komplement, auseinandergesetzt haben. Für detaillierte Beschreibungen sei auf die immunologischen Lehrbücher verwiesen. Im Folgenden kann nur eine orientierende Übersicht aufgeführt werden.

Das Komplementsystem besteht aus mehr als zwanzig Serumproteinen. Noch heute werden die Bestandteile in C1 - C9 eingeteilt, was keine funktionelle Einteilung ist, sondern der zeitlichen Folge der Entdeckung entspricht.

Die einzelnen Komplementbestandteile verändern sich während der Reaktion, so daß weitere Proteine als Zwischenprodukte entstehen. Ähnlich der Blutgerinnung reagiert das Komplement in einer Kaskade. Dieses bietet einige Vorteile gegenüber einer einfachen Reaktion: Die entstehenden Zwischenprodukte können unterschiedliche Wirkungen aufweisen. Beim Komplementsystem sind z. B. verschiedene Zwischenprodukte für die Chemotaxis (chemische Anlockung von Abwehrzellen), für die Opsonierung (Hilfestellung für die Fresszellen) oder für die Ausschüttung von Histamin aus den Mastzellen verantwortlich.

Entscheidend für das Immunsystem und auch für die Komplementbindungsreaktion ist die Fähigkeit des Komplements, Zellen aufzulösen (Lysis).

Die Aktivierung dieser Kaskade von Serumproteinen geschieht entweder durch Antigen-Antikörper-Komplexe (*klassische Aktivierung*) oder durch Mikroorganismen (*alternative Aktivierung*). Die verschiedenen Wege der Aktivierung sind in der stark vereinfachten, schematischen Darstellung (Abb.1) des Komplementsystems wiedergegeben.

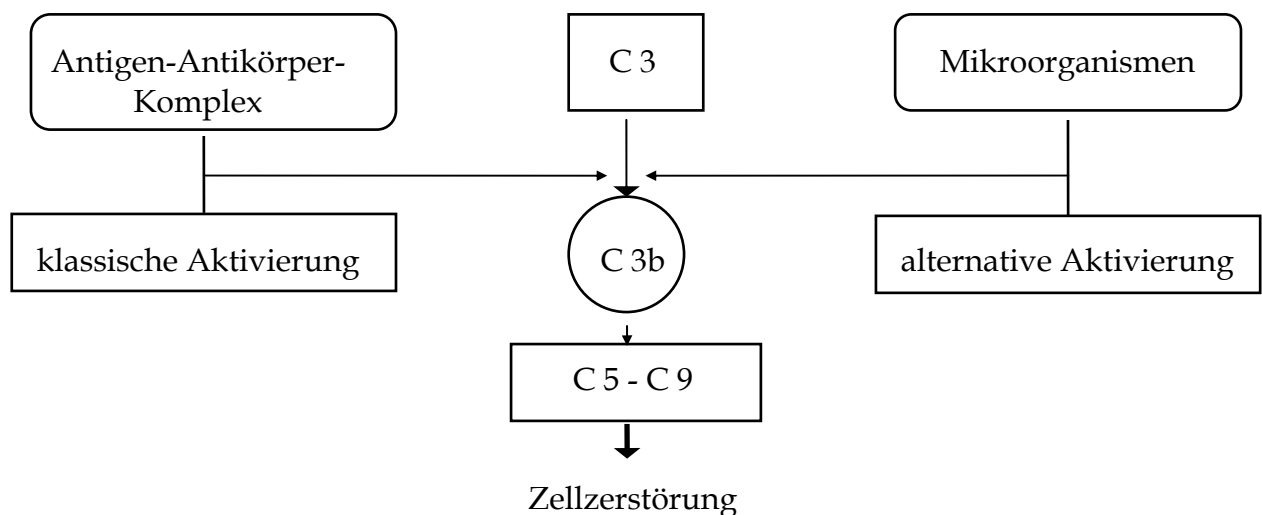


Abbildung 1: Vereinfachte schematische Darstellung des Komplementsystems

Die klassische Aktivierung ist der "ausgereifere" und entwicklungsgeschichtlich neuere Weg der Komplementaktivierung. Nach der bereits stattgefundenen spezifischen Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Erreger und erfolgter Antikörperbildung, wird das Komplementsystem durch die Antigen-Antikörper-Komplexe in Funktion gebracht. C3 verwandelt sich hierbei in C3b, was gewissermaßen wie eine Drehscheibe fungiert. Hierdurch kommt es zu einer Aktivierung des Membran-attackierenden Komplexes (C5 - C9), der wiederum die Zellerstörung und damit die wesentliche Abwehrleistung bewirkt.

Grob gegliedert kann das Komplementsystem in drei "Funktionsabschnitte" untergliedert werden: eine Erkennungseinheit, eine Aktivierungseinheit und eine Ausführungseinheit.

Professor *Riede* und Professor *Wehner* haben im Lehrbuch der allgemeinen und speziellen Pathologie den klassischen Weg der Komplementaktivierung sehr anschaulich mit einem Polizeieinsatz verglichen:

Die Polizeistreife spürt einen Täter auf (Erkennungseinheit) und alarmiert das Polizeipräsidium. Von dort wird der Polizeiapparat in Gang gebracht (Aktivierungseinheit). Das Überfallkommando mit den Scharfschützen rückt aus und macht den Täter unschädlich (Ausführungseinheit).

Die alternative Aktivierung ist der unspezifischere und entwicklungsgeschichtlich ältere Weg der Komplementaktivierung. Bestandteile von Mikroorganismen (z. B. Lipopolysaccharide gramnegativer Erreger) können in größerer Menge ebenfalls die Komplementkaskade in Gang bringen, ohne daß zuvor spezifische Antikörper gebildet werden müssen. Dies ist sehr sinnvoll, da die Antikörperproduktion eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt und der Organismus auf diese Weise sofort von der Komplementwirkung profitieren kann.

Durch die kaskadenartige Reaktionsweise des Komplementsystems und die beiden möglichen Aktivierungswege können isolierte Ausfälle einzelner Komplementproteine oder -enzyme vom Organismus gut kompensiert werden, so daß sich diese nicht unbedingt klinisch bemerkbar machen müssen. Komplement-assoziierte Erkrankungen, wie das nicht allergische Quincke-Ödem oder erhöhte Infektanfälligkeit kommen aber vor. Auch schwerwiegende Erkrankungen wie z. B. die membranproliferative Glomerulonephritis oder der Lupus erythematodes werden im Zusammenhang mit Komplementdefekten diskutiert.

Die klassische Komplementaktivierung kann auch in vitro, d.h. unter Laboratoriumsbedingungen stattfinden. Dies ist die Grundlage der KBR. Die Komplementkaskade als physiologische Reaktion benötigt in vitro aber geeignete ("physiologische") Bedingungen. So müssen ein geeigneter pH-Wert, eine geeignete Temperatur und andere Rahmenbedingungen geschaffen werden. Das Komplementsystem ist desweiteren auch auf eine passende Konzentration bestimmter Ionen, wie Magnesium- oder Calcium-Ionen angewiesen.

Die Durchführung der KBR aus Untersuchungsmaterialien, deren Ionengehalt verändert wurde (z.B. EDTA-Blut etc.), ist daher unbedingt zu vermeiden. Selbstverständlich muß ebenso berücksichtigt werden, daß auch das zu untersuchende Serum Komplement enthält. Dieses muß durch eine 30-minütige Inkubation bei 56°C inaktiviert werden. Die Wärmeinaktivierung des Komplements unter diesen Bedingungen wurde von *Buchner* bereits vor über 120 Jahren beschrieben!

4. REAKTIONSPARTNER DER KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION

4.1 Antigene

Als klassischer Antikörpernachweis bedient sich die KBR spezifischer Antigene (Erreger), gegen die Antikörper gerichtet sind, die im Untersuchungsmaterial vermutet werden. Die Institut Virion\Serion GmbH bietet eine große Anzahl bakterieller, viraler, parasitärer Antigene sowie einige Pilzantigene an. Darüberhinaus stehen verschiedene Antigen-Pools (z.B. Picorna-Viren) zur Verfügung. Die Antigenpräparationen werden als Lyophilisat mit langer Haltbarkeit vertrieben.

Zum Einsatz der Antigene in der KBR werden die Lyophilisate mit destilliertem Wasser rekonstituiert (gelöst) und anschließend mit Veronalpuffer in die individuelle Gebrauchsverdünnung gebracht. Man sollte sich hierbei vergegenwärtigen, daß es sich bei den Antigenen um biologische Materialien handelt, die zwar nahezu, aber niemals vollkommen identisch hergestellt werden können. Hieraus kann resultieren, daß unterschiedliche Chargen desselben Antigens unterschiedliche Gebrauchsverdünnungen aufweisen. Auch wenn es dem Hersteller in aller Regel gelingt, die Gebrauchsverdünnung von Charge zu Charge konstant zu halten, so sollte vor der Verdünnung der Antigene der individuelle Wert auf dem Etikett sorgfältig überprüft werden. Vom Hersteller ist eine "Sicherheitsstufe" bezüglich der Gebrauchsverdünnung "eingebaut", d.h. die Antigene zeigen auch bei doppelter Verdünnung noch volle Wirksamkeit. Dies ist sehr wichtig, um einem späteren, lagerungsbedingten Aktivitätsverlust (z.B. nach Rekonstitution) entgegenzuwirken. Rekonstituierte Antigene sind im Kühlschrank maximal eine Woche haltbar, können jedoch eingefroren bei -20°C zwei Monate aufbewahrt werden. Das Einfrieren in kleinen Portionen ist unbedingt zu empfehlen, insbesondere wenn die benötigte Antigenmenge nicht im voraus abgeschätzt werden kann, da wiederholtes Tauen und Frieren jedes Antigen in seiner Aktivität stark beeinträchtigt.

4.2 Kontrollantigene

Bei der technischen Herstellung wachsen bakterielle Antigene überwiegend in Nährmedien und virale Antigene überwiegend in der Zellkultur. Zellkulturen bestehen aus definierten Zelllinien, die dem Immunsystem des Menschen möglichst "unbekannt" sind (z.B. embryonale Tierzellen). Dennoch besteht prinzipiell - wenn auch sehr selten - die Möglichkeit, daß im Untersuchungsmaterial Antikörper vorhanden sind, die mit diesen Zellen eine Reaktion eingehen. In der Herstellung führt man zwei Präparationen in der Zellkultur durch: Eine Präparation der Zelllinie beimpft man mit dem Erreger,

verarbeitet diese und stellt hieraus das Antigen her. Die andere Präparation verarbeitet man, ohne daß der Erreger darauf gewachsen ist. Hieraus entsteht das Kontrollantigen.

Der Ansatz mit Kontrollantigen wird analog zum Ansatz mit dem entsprechenden Antigen durchgeführt. Eine Auswertung kann nur dann erfolgen, wenn beide Ansätze parallel zum gleichen Zeitpunkt durchgeführt wurden.

Das Kontrollantigen bietet die Möglichkeit, unspezifische Reaktionen der Untersuchungsprobe zu ermitteln, die aufgrund von antizellulären Antikörpern verursacht werden (und nicht von Antikörpern, die gegen das Antigen gerichtet sind). Liegen in einer Untersuchungsprobe spezifische Antikörper gegen die Virusbestandteile vor, so werden diese mit dem KBR-Antigen reagieren (positives Ergebnis), nicht aber mit dem Kontrollantigen (negatives Ergebnis). Sind hingegen unspezifische Antikörper gegen die Zelllinie vorhanden, so wird die Reaktion mit KBR-Antigen und KBR-Kontrollantigen positiv ausfallen. Liegt aber der mit dem Antigen erhaltene Titer 2 Titerstufen und mehr über dem Kontrollantigen-Titer, so sind spezifische Antikörper gegen Virusbestandteile im Serum vorhanden.

Ob ein Kontrollantigen stets bei jeder Untersuchungsprobe mitgeführt wird oder nicht, liegt in der Entscheidung des Labors. Da dieser "erweiterte" Ansatz einen zusätzlichen Sicherheitsfaktor darstellt, kann die Entscheidung hierfür prinzipiell befürwortet werden. In jedem Falle sollten Kontrollantigene in Laboratorien durchgeführt werden, die noch keine längere Erfahrung mit der KBR sammeln konnten. Fallen in der Routineaustestung von Patientenserum ungewöhnliche Antikörper-Titer auf, so sollte der Ansatz mit Verwendung eines entsprechenden Kontrollantigens (sofern das Antigen in der Zellkultur hergestellt wurde) wiederholt werden. Die Haltbarkeiten der Kontrollantigene entsprechen denen der Antigene.

4.3 Veronalpuffer

Der Veronalpuffer ist ein Puffersystem auf Barbituratbasis, der einen geeigneten pH-Wert und eine geeignete Ionenzusammensetzung für die Immunhämolysen bewirkt. Der Veronalpuffer muß verschlossen im Kühlschrank (aufgelöst bei 4-8°C 4 Wochen) aufbewahrt werden.

4.4 Komplement

Das Komplementsystem wurde ausführlich unter Punkt 3 besprochen. Für die Komplementbindungsreaktion wird es aus Meerschweinchenserum gewonnen. Rekonstituiertes Komplement ist im Kühlschrank maximal 4 Wochen haltbar. Die Gebrauchsverdünnungen können von Charge zu Charge variieren und sollten unbedingt immer frisch angesetzt werden.

4.5 Erythrozyten

Die Erythrozyten stammen vom Hammel und werden mit einem Stabilisator „Alseverlösung“ versetzt. Für die Komplementbindungsreaktion bietet die Institut Virion\Serion GmbH Erythrozyten in zwei verschiedenen Handelsformen an:

50%ige Vollblutsuspension in Alseverlösung (Hammel-Erythrozyten): diese müssen noch 3 mal mit NaCl-Lösung und einmal mit Veronalpuffer gewaschen und anschließend durch photometrische Abgleichung in die Gebrauchsverdünnung gebracht werden. Unbehandelt sind sie im Kühlschrank max. 8 Wochen haltbar.

1%ige Erythrozyten: diese liegen gebrauchsfertig vor und können per Dauerauftrag bestellt werden ("Erythrozyten-Service"). Die Haltbarkeit beträgt maximal 4 Wochen.

Die Wahl der Erythrozytenhandelsform ist am besten den individuellen Laborbedingungen anzupassen. Bei nur wenigen KBR-Ansätzen pro Woche lohnt sich der zeitliche Aufwand der Herstellung einer Erythrozytengebrauchsverdünnung in der Regel nicht. Da alle Transportgesellschaften (Bundespost, private Transportunternehmen) eine gewisse Fehlerquote aufweisen, ist es jedoch für die Anwender der gebrauchsfertigen Form ratsam, zusätzlich eine kleine Menge der 50%igen Präparation greifbar zu haben.

Die optimale Konzentration der Erythrozyten liegt zwischen 0,8% und 2%, wobei eine höhere Konzentration die Sensitivität der Methode erheblich reduziert.

4.6 Ambozeptor

Der Ambozeptor ist ein spezifischer Antikörper, der gegen die Hammelerythrozyten gerichtet ist. Er wird aus dem Serum immunisierter Kaninchen gewonnen.

Wird der Ambozeptor mit den Hammelerythrozyten gemischt, so findet eine Antigen-Antikörper-Reaktion statt. In einer geeigneten Ambozeptor- und Erythrozytenkonzentration sind die Erythrozytenoberflächen vollständig mit den Kaninchenantikörpern "beladen", ohne zu agglutinieren oder zu lysieren. Dieser Antigen-Antikörper-Komplex wird auch als sensibilisierte Erythrozyten (Indikatorsystem) oder hämolytisches System bezeichnet. Es muß daran erinnert werden, daß es sich bei dieser Antigen-Antikörper-Reaktion um eine biologische Bindung handelt, die eine geeignete Temperatur und ausreichend Zeit benötigt. Die Inkubation des Indikatorsystems muß daher sehr sorgfältig erfolgen.

4.7 Gebrauchsfertiges Hämolytisches System

Das Hämolytische System ist ein gebrauchsfertiges Reagenz (Mischung von Erythrocyten und Ambozeptor) , welches direkt für die Komplementbindungsreaktion (KBR) eingesetzt werden kann.

Handhabung für den Anwender:

Bei Einsatz des gebrauchsfertigen Hämolytischen Systems wird bedingt durch Stabilisierungsfaktoren eine höhere Komplementkonzentration erforderlich. Interne Studien haben einen Faktor von 1,4 ergeben, so daß sich z.B. bei einer auf dem Etikett angegeben 1:55 Verdünnung eine 1:40 Verdünnung für das Komplement ergeben wird.

Schütteln Sie das Hämolytische System vorsichtig auf und entnehmen Sie die für den Test benötigte Menge. Inkubieren Sie das Hämolytische System für 30 Minuten bei 37°C, bevor Sie es zum Test pipettieren (je 50µl/Kavität). Fahren Sie mit dem Testansatz wie bisher fort.

Die Auswertung erfolgt wie bisher. Bitte kontrollieren Sie die leicht verlängerten Lysiszeiten (maximal bis zu 10 Minuten) wie gewohnt anhand der Komplementkontrolle.

4.8 Kontrollseren

Seren mit bekannter Reaktionsstärke müssen bei jedem Testansatz mitgeführt werden, um die Richtigkeit des Testlaufes zu überprüfen (mindestens ein positives und ein negatives Serum).

5. DIE TESTEINSTELLUNG

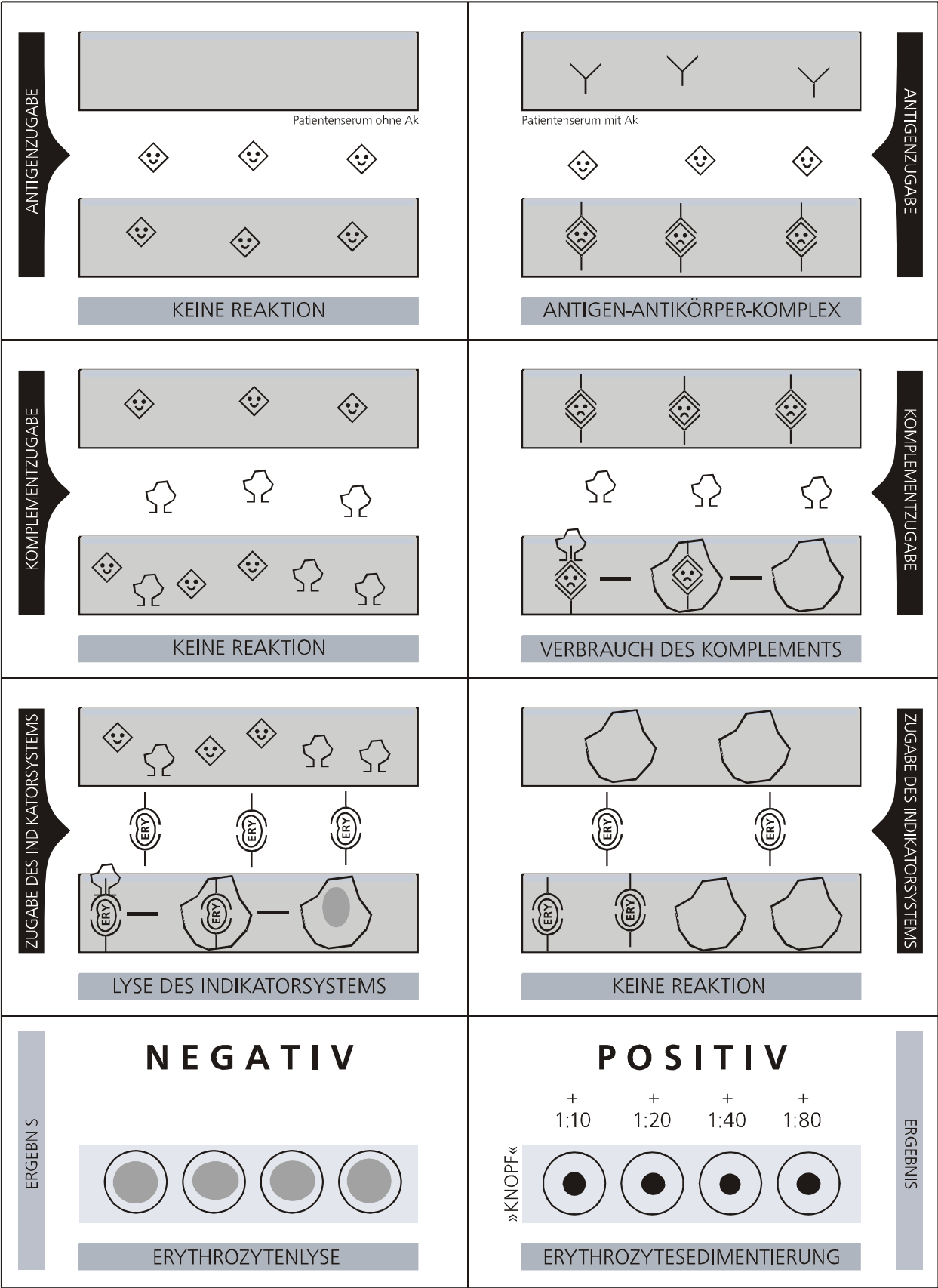
Obwohl die Testeinstellung zum Aufgabenbereich des Herstellers zählt, sollen zum Verständnis einige Anmerkungen hierzu getroffen werden.

Ziel eines jeden serologischen Tests ist es, eine optimale Sensitivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit zu erhalten. In anderen Worten ausgedrückt, soll der Test Kranke erkennen, Gesunde unbehelligt lassen und unabhängig von der durchführenden Person oder vom Zeitpunkt der Austestung identische Ergebnisse erbringen. Kein serologischer Test erfüllt diese Kriterien 100%ig!

Bei der Testeinstellung werden anhand von in Vorversuchen ermittelten statistischen Parametern die Reaktionspartner so aufeinander abgestimmt, daß hinreichend gute Werte für Sensitivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit erreicht werden.

Für die praktische Arbeit mit der KBR im medizinischen Laboratorium ist es von größter Wichtigkeit, daß einheitliche Testbedingungen für eine große Anzahl verschiedener Antigene gelten. Ein entscheidender Vorteil der KBR ist es, daß parallel (als Screening) innerhalb eines Ansatzes eine große Anzahl verschiedener Erreger untersucht werden können. Wären für jedes einzelne KBR-Antigen verschiedene Komplement- und Ambozeptorgebrauchsverdünnungen nötig, würde jede noch so routinierte medizinisch-technische Kraft den Überblick verlieren. Das "Schreckgespenst" der Vorversuche, die früher zur Ermittlung der Komplement- und Ambozeptorkonzentrationen für jedes Antigen vor dem eigentlichen Testlauf notwendig waren, ist durch die sogenannte *normierte KBR* hinfällig geworden. Normierte KBR bedeutet, daß der Hersteller in zahlreichen Vorversuchen und Qualitätskontrollen die KBR-Reagenzien derartig aufeinander abstimmt, daß für alle angebotenen Antigene dieselbe Komplement- und Ambozeptorkonzentration verwendet werden kann.

6. DAS TESTPRINZIP DER KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION



Ziel der KBR ist es, spezifische Antikörper gegen das eingesetzte Antigen zu ermitteln. Nachgewiesen werden komplementbindende Antikörper, die den Klassen IgG₁, IgG₂, IgG₃ und IgM angehören. Die klassische Komplementaktivierung findet auch *in vitro* statt; unter standardisierten Testbedingungen wird der Komplementverbrauch mittels eines Indikatorsystems (sensibilisierte Erythrozyten) direkt sichtbar gemacht.

Die KBR erfolgt an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit Übernacht-Inkubation bei 2°C bis 8°C. An den beiden Tagen sind folgende Reaktionspartner beteiligt:

<i>Reaktionspartner d. 1. Tages</i>	Serum Antigen Komplement Ambozeptor Erythrozyten	<i>Reaktionspartner d. 2. Tages</i>
-------------------------------------	--	-------------------------------------

- 1. Tag: Das zu untersuchende Patientenserum, Komplement und das spezifische Antigen werden gemischt. Sind spezifische Antikörper im Serum enthalten, kommt es zur Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. Dieser bewirkt eine klassische Komplementaktivierung. Da das Komplement in Testansatz nicht unerschöpflich vorhanden ist, wird dieses bei der Aktivierung verbraucht (gebunden). Sind keine spezifischen Antikörper im Serum enthalten, findet an diesem Tag keine Reaktion statt und das Komplement bleibt für weitere Testschritte des 2. Tages aktiv.
- 2. Tag: Das Indikatorsystem wird beigegeben. Dieses ist ein Antigen-Antikörper-Komplex aus Hammelerythrozyten und Kaninchenantikörpern (Ambozeptor) und kann eine klassische Komplementaktivierung bewirken.

Waren am 1. Tag Antikörper im Serum vorhanden, kommt es nun zu keiner weiteren Reaktion, da kein Komplement mehr vorhanden ist. Die Erythrozyten bleiben unbeschadet und können als *roter Knopf* nach der Zentrifugation sedimentieren (*positive KBR*). Waren am 1. Tag keine Antikörper im Serum enthalten, wird das Komplement nun durch das Indikatorsystem aktiviert und führt zu einer Lysis der Hammelerythrozyten (*Hämolyse*). Die Hämolyse ist schon mit dem bloßen Auge sichtbar (*negative KBR*).

Das Prinzip ist in nachfolgender Tabelle nochmals zusammengefaßt:

	1. Tag	Ergebnis	2. Tag	Ergebnis
Serum mit Antikörpern	Komplementaktivierung durch AG-AK-Komplex	Komplement wird gebunden	keine Reaktion	Erythrozyten bleiben intakt positive KBR
Serum ohne Antikörper	keine Reaktion	Komplement bleibt aktiv	Komplementaktivierung durch Indikatorsystem	Erythrozyten werden lysiert negative KBR

Tabelle 1: Prinzip der Komplementbindungsreaktion

Um ein Maß für den Antikörpergehalt der Seren zu erhalten, wird diejenige Verdünnung der Seren bestimmt, bei der noch eine eindeutig positive Reaktion erzielt wird (Serumtitration).

In der Literatur gibt es keine einheitlichen Empfehlungen, in welchen Verdünnungsstufen die Seren austitriert werden sollen (z.B. ab 1:2, 1:5, 1:10 etc.). Hierbei sollten die Empfehlungen des Herstellers Beachtung finden.

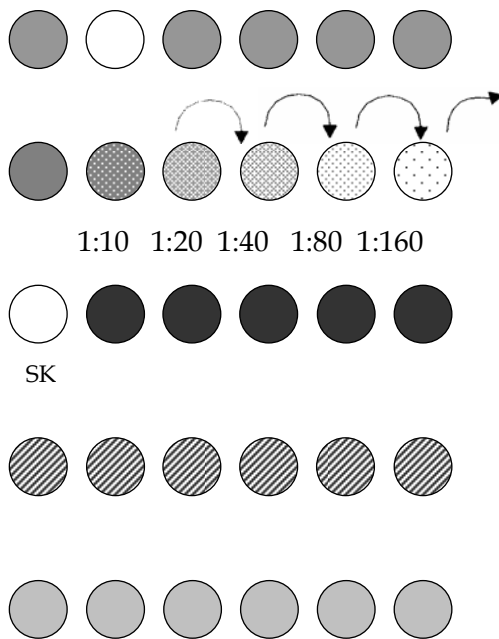
6.1 Komplement-Kontrolle

Die Komplement-Kontrolle, welche für *jedes Antigen* mitgeführt werden sollte, dient der Überprüfung des richtigen Verhältnisses von Komplement und Antigen (Ansatz siehe Pipettierschema). Sie ist darüber hinaus eine Orientierungshilfe, wie lange der Ansatz inkubiert werden soll. In der Regel wird die Inkubation mit dem Hämolytischen System dann gestoppt, wenn die Kavitäten mit 2 und 1 Einheit Komplement lysiert sind.

Zur Überprüfung des Hämolytischen und des Komplement Systems kann die Komplement-Kontrolle ohne Antigen durchgeführt werden. Anstelle des Antigens wird in diesem Ansatz dann zusätzlich Veronalpuffer verwendet.

6.2 Pipettierschema -KBR

Seren mit Veronalpuffer (VP) 1:10 verdünnen und 30 Min. bei 56°C inaktivieren



25 µl **Veronalpuffer** vorlegen

25 µl **Serumverdünnung** zugeben
Verdünnungsreihe der Seren herstellen (25µl)

25µl **Antigen**-Gebrauchsverd. zugeben
Kavität 1 bleibt frei (SK=Serumkontrolle)

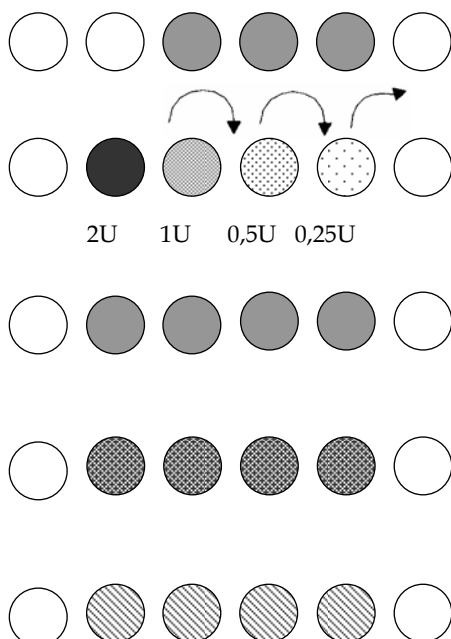
25µl **Komplement**-Gebrauchsverd. zugeben

Platte gut schütteln, 16-20 h bei 4°C inkub.

50 µl **Hämolytisches System** zugeben
(ca. 30 Min bei 37°C inkubieren)
- Ambozeptor-Gebrauchsverd. (1:2500)
- tropffertige Erythrozyten

Platte gut schütteln, bei 37°C inkubieren,
nach Komplementkontrolle ablesen.

Komplement-Kontrolle



25µl **Veronalpuffer** vorlegen

25µl **Komplement** zugeben
Verdünnungsreihe herstellen (25µl)

25µl **Antigen**-Gebrauchsverd. zugeben

25µl **Veronalpuffer** zugeben (Vol. ausgleich)

Platte gut schütteln, 16-20 h bei 4°C inkub.

50µl **Hämolytisches System** zugeben

Platte gut schütteln, bei 37°C inkubieren,
Reaktion stoppen, wenn die ersten beiden
Kavitäten lysiert sind.

7. TESTAUSWERTUNG UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Komplementbindende Antikörper gestatten einen Rückschluß vor allem auf akut ablaufende oder kürzlich abgelaufene Infektionen. Sie treten etwa 3 - 6 Tage nach Infektionsbeginn auf, erreichen einen Gipfelwert und persistieren daraufhin meist 1 - 6 Monate. Geringe Basistiter können jahrelang nachweisbar sein.

Beim Ablesen empfiehlt sich folgendes Bewertungsschema:

eine 100%ige Hämolyse-Hemmung wird mit	4
eine 75%ige Hämolyse-Hemmung wird mit	3
eine 50%ige Hämolyse-Hemmung wird mit	2
eine 25%ige Hämolyse-Hemmung wird mit	1
Spuren von Hämolyse-Hemmung wird mit	±
eine komplette Hämolyse wird mit	0

bezeichnet. **Als positives Ergebnis wird das Ergebnis 3 und 4 bewertet.**

Ein Testschwankungsbereich von einer Titerstufe muß unbedingt berücksichtigt werden. Es kann keine Aussage über einen Krankheitsverlauf getroffen werden, wenn ein Patient am Tag A z.B. einen Titer von 1:20 und am Tag B einen Titer von 1:10 oder 1:40 aufweist. Dies gilt ebenso für die Kontrollseren: der angegebene Solltiter darf im Testlauf eine Verdünnungsstufe nach oben oder nach unten abweichen, ohne daß dies als Zeichen für eine fehlerhafte Testdurchführung oder ein fehlerhaftes Kontrollserum zu werten ist.

Bei den meisten serologischen Fragestellungen ist nicht die Einzeluntersuchung als "Momentaufnahme", sondern der zeitliche Verlauf durch Testung eines Serumpaars entscheidend. Für die KBR gilt ein zwei- bis vierfacher Titeranstieg oder -abfall als signifikante Veränderung.

Die Ergebnisse werden als negativ, grenzwertig oder positiv befundet (die Grenzwertbereiche werden vom Hersteller angegeben) und der ermittelte Titer wird daneben aufgeführt. Die Wahl des Grenzwertbereichs resultiert aus statistischen Berechnungen des Herstellers im Laufe der Testeinstellung. Für den einzelnen Patienten ist jedoch stets die Klinik entscheidend und nicht die Statistik! So wird z.B. ein schwach positiver Enteroviren-Antikörpertiter bei einem multimorbiden, alten Patienten und klinischem Verdacht auf eine Meningoenzephalitis eine andere Beachtung als bei einem klinisch gesunden, jungen Patienten finden.

Leider fehlen auf den Begleitscheinen der Untersuchungsproben häufig klinische Angaben. Auch wird selten ein Serumpaar eingeschickt. In solchen Fällen sollte man sich vor gewagten Interpretationen, wie z.B. "akute Infektion" oder "keine Infektion" hüten und den Einsender ggf. auf die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen hinweisen. Dies kann mit kurzen Bemerkungen zum ermittelten Ergebnis, wie z.B. "Kontrolle in ... Tagen empfohlen" oder "Titerverlauf beobachten" geschehen. Im

Zweifelsfall ist eine telefonische Rücksprache mit dem einsendenden Kollegen angebracht.

Werden mehrere verschiedene Testverfahren parallel angesetzt (z.B. KBR, NT, EIA), sollte man sich durch das Vorliegen teilweiser diskrepanter Ergebnisse nicht verunsichern lassen. Zur Erinnerung sei nochmals aufgeführt, daß mit der Komplementbindungsreaktion komplementbindende Antikörper nachgewiesen werden. Werden z.B. parallel neutralisierende Antikörper mit dem Neutralisationstest bestimmt, so sind abweichende Ergebnisse plausibel, da andere Antikörper nachgewiesen werden. Beim EIA hängt es von der Antigenpräparation und der Art des eingesetzten Konjugates ab, welche Antikörper nachgewiesen werden. Auch hier müssen sich die ermittelten Ergebnisse nicht mit denen der KBR decken. Hinzu kommt, daß verschiedene Nachweismöglichkeiten einen unterschiedlichen zeitlichen Verlauf aufweisen. So wird die KBR in der Regel später positiv als beispielsweise ein EIA. Diese unterschiedlichen zeitlichen Verläufe sind nutzbar, um bei paralleler Austestung mit mehreren Methoden den Infektionszeitpunkt abzuschätzen.

7.1 Zur Interpretation von KBR-Titern auf der Basis von Reagenzien der Institut Virion\Serion GmbH, Würzburg

Erreger	Grenzwert-Titer	Kontroll-Titer	Positiv-Titer
Adenovirus	20	40	80
Aspergillus fum., met.			>10
Aspergillus fum., som.			>10
Bordetella pertussis	10	20	40
Borrelia burgdorferi			>10
Brucella	10	20	40
Campylobacter intestinalis	10	40	80
Campylobacter jejuni	10	40	80
Chlamydia-Spezies	10	20-40	80
Coxiella burnettii	10	20	40
Coxsackievirus	20	40	80
Cytomegalovirus	Säugling 10 Kind 20 Erw. 40	20 40 80	40 80 160
Echinococcus granulosus	10	20	40
Echovirus	20	40	80
Epstein-Barr Virus	20	40	80
FSME Virus	10	20	40
Helicobacter pylori	10	40	80
Herpes Simplex Virus 1/2	40	80	80/160
Influenza A/B Virus	40	40	80
Legionella pneumophila	10	40	80
Leptospira-Spezies	10	40	80
LCM	Kind 10 Erw. 20	>10 >20	
Listeria monocytogenes	10	40	80

Erreger	Grenzwert-Titer	Kontroll-Titer	Positiv-Titer
Masern Virus	Kind 10 Erw. 20	20/40 40	80 80
Mumps Virus	10	40	80
Mycoplasma pneumoniae	10	40	80
Neisseria	10	40	80
Parainfluenza Virus 1, 2, 3	40	80	160
Picornavirus Pool	20	40	80
Poliovirus	10	10	20 **
Resp.-Syncytial-Virus (RSV)	Kind 10 Erw. 40	40 80	80 160
Rotavirus	Kind 10 Erw. 40	40 80	80 160
Shigella-Spezies	10	20	40
Toxoplasma gondii	10/20*	20/40*	80/160
Varizella-Zoster Virus	20	40	80
Yersinia-Spezies	10	20-40	80

*IgM-AK-Suche anschließen

** Nach Polio-Impfungen können Titer von 1:40 in der KBR auftreten

Als **Grenzwert-Titer** sind diejenigen Verdünnungen angegeben, die primär für eine zurückliegende Infektion sprechen (z. B. Serumnarbe) bzw. das frühere Stadium einer Infektion anzeigen. Klinische Symptome können apparent oder inapparent sein.

Bei Erhalt eines **Kontroll-Titers** ist die Notwendigkeit der Abnahme und Untersuchung eines zweiten Serums (Serumpaars) angezeigt.

Die **Positiv-Titer** sprechen **in der Regel** für eine akute Infektion. Zu beachten ist, daß die Aussagekraft von KBR-Titern durch den Nachweis einer Titerdynamik wesentlich erhöht wird (**Serumpaars**).

Bitte beachten Sie in diesem Zusammenhang, daß die Titerangaben ausschließlich auf langjährigen Erfahrungswerten beruhen.

Hinweise zur sicheren Befundinterpretation entnehmen Sie bitte entsprechenden Literaturhinweisen, wie z.B.: Deutsche Norm: Serodiagnostik von Infektionskrankheiten, Komplementbindungsreaktion (KBR), DIN 58 969, Teil 10, Ausgabe Juli 1998; Beuth Verlag GmbH, Burggrafenstr. 6, Berlin.

7.2 Kreuzreaktionen sind generell zu beachten zwischen:

Herpes Simplex Virus 1/2 - Varizella-Zoster Virus,
Mumps Virus - Parainfluenza Virus,
Neisseria gonorrhoeae - Neisseria meningitidis,
Brucella - Yersinia enterocolitica 09,
innerhalb der Enterovirusgruppe,
innerhalb der Shigellen,
innerhalb der Parainfluenza Viren.

8. STÖRFAKTOREN UND HÄUFIGE FEHLERQUELLEN

Die Fehlerursachen bei einer Komplementbindungsreaktion sind in der Regel im Untersuchungsmaterial selbst oder bei der Testdurchführung zu finden. Bei letzteren handelt es sich häufig um "banale" Fehler, die in der "Hektik" der Alltagssituation passieren.

Plasmen dürfen nicht eingesetzt werden, da Gerinnungsfaktoren den Ablauf der Komplementkaskade behindern können.

Wie bei der Besprechung des Komplementsystems bereits erwähnt, ist ein geeignetes ionales Milieu für den Testablauf erforderlich. Citrat- oder EDTA-Blut ist daher nicht für die KBR geeignet. In der praktischen Alltagssituation bleibt dem Labor oft keine andere Wahl, als die Austestung trotzdem durchzuführen. In jedem Falle muß der Einsender schon aus haftungsrechtlichen Gründen - auf das Einsenden von ungeeignetem Untersuchungsmaterial hingewiesen werden. Dies kann durch eine kurze Bemerkung neben dem Testergebnis, wie z.B. "Bestimmung erfolgte aus EDTA-Blut. Bitte Serum einschicken" geschehen.

Werden Reaktionspartner unterschiedlicher Hersteller verwendet, müssen sämtliche Vorversuche durchgeführt werden. Ansonsten können fehlerhafte Testergebnisse resultieren!

Wasserbäder mit zu niedrigem Wasserstand (Verdunstung) bewirken eine ungenügende Wärmeinaktivierung des Komplements in der Untersuchungsprobe und können das Testergebnis verfälschen.

Eine fehlerhafte Inkubation der Mikrotiterplatten durch falsch eingestellte oder häufig offenstehende Inkubatoren ist nicht selten die Fehlerursache bei Schwierigkeiten mit der KBR. Auch führt ein Aufeinanderstapeln von mehreren Mikrotiterplatten während der Inkubation zu Temperaturunterschieden zwischen den Platten.

Aus einer ungenügenden oder fehlenden Mischung der Mikrotiterplatten resultiert eine undeutliche Knopfbildung. Die Verwendung eines MT-Platten-Mischers ist zu empfehlen.

Bei der Herstellung des hämolytischen Systems wird eine Antigen-Antikörper-Reaktion gestartet. Diese braucht eine geeignete Temperatur und ein gewisses Quantum an Zeit. Bei dem hämolytischen System handelt es sich um eine Suspension, die während des Pipettiervorganges hin und wieder vorsichtig geschüttelt werden muß.

Zur Kontrolle der Funktionstüchtigkeit des Hämolytischen Systems kann die Komplement-Kontrolle (Ansatz ohne Antigen) herangezogen werden (siehe 6.1).

Besonders im Sommer häufen sich *Eigenhemmungen* (antikomplementäre Aktivität) in der KBR. Meist ist eine bakterielle Kontamination der Untersuchungsprobe hierfür verantwortlich. Die Ergebnisse der Austestung können bei Vorliegen einer Eigenhemmung nicht verwertet werden! Gelingt es, die Eigenhemmung durch eine Komplementvorbehandlung (siehe Gebrauchsinformationen des Herstellers) zu beseitigen, sollte dennoch im Befund ein kurzer Zusatz, wie z.B. "Ergebnis nach Komplementvorbehandlung wegen antikomplementärer Aktivität, Kontrolle empfohlen", aufgeführt werden.

Andere Ursachen für eine Eigenhemmung können Immunkomplexe im Patientenserum (z.B. Autoantikörper gegen Inselzellen beim juvenilen Diabetes) oder bestimmte Pharmaka sein. Wiederholtes Tauen und Einfrieren von Seren können ebenfalls eine antikomplementäre Aktivität bewirken.

8.1 Beseitigung von antikomplementären Eigenschaften (Absorption mit Komplement):

50 (100) µl Serum 50 (100) µl Komplement (konz.)
30 min. / 37°C / Wasserbad oder 60 min bei Raumtemperatur + 400 (800) µl Veronalpuffer
30 min. / 56°C / Wasserbad

Diese Mischung entspricht einer 1:10 Vorverdünnung.

Vorgehen bei unverändertem Phänomen trotz Serumvorbehandlung:

Vergleichende Titration des Serums

a) mit Antigen

b) ohne Antigen

Durchführung:

Es werden zwei Versuchsreihen (mit bzw. ohne Antigen) angesetzt, in denen die jeweiligen Serumverdünnungen vorgelegt werden. Hierbei wird das zu untersuchende Serum von 1:5 bis 2 Titerstufen über den zu erwartenden Titerwert verdünnt.

Ansatz a) mit Antigen	Ansatz b) ohne Antigen
25µl Serumverdünnung 25µl Antigen-Verdünnung 25µl Komplement-Gebrauchsverd.	25µl Serumverdünnung 25µl Puffer 25µl Komplement-Gebrauchsverd.
<i>16 Stunden bei 2 - 8°C inkubieren</i>	<i>16 Stunden bei 2 - 8°C inkubieren</i>
50µl hämolytisches System	50µl hämolytisches System
<i>30 Min. bei 37°C inkubieren</i>	<i>30 Min. bei 37°C inkubieren</i>

Ablesung:

Als Titer wird die höchste Verdünnungsstufe angenommen, die gerade noch eine Hämolysehemmung zeigt

- * der unspezifische Titer (Ansatz b) liegt > 3 Titerstufen unter dem spezifischen Titer (Ansatz a): die Eigenhemmung kann unberücksichtigt bleiben.
- * der unspezifische Titer liegt 2 Titerstufen unter dem spezifischen Titer: der spezifische Titer wird um eine Titerstufe niedriger angegeben als abgelesen.
- * sind spezifischer und unspezifischer Titer gleich oder unterscheiden sich nur um 1 Titerstufe, ist eine Bewertung nicht möglich.
Die Untersuchung muß mit einem neuen Serum wiederholt werden.
Patientenseren, die wiederholt Eigenhemmung aufweisen, sollten auf das Vorliegen eines pathologischen Geschehens untersucht werden, z.B. auf Autoimmunerkrankungen, Paraprotämien.

9. SEROLOGISCH-DIAGNOSTISCHE MÖGLICHKEITEN BEI INFEKTIONEN

Akute respiratorische Infektionen

Mycoplasma pneumoniae	Coxsackievirus Typ A9, B1 - B6
Coxiella burnetii Phase 1 und 2	
Legionella pneumophila	<i>Atypische Pneumonien:</i>
Bordetella pertussis	Varizella-Zoster Virus
Chlamydia	Adenoviren
Influenzavirus A und B	Masern Virus
Parainfluenzavirus 1-3	Epstein-Barr Virus
Respiratorisches-Syncytial-Virus	

Exanthematische Erkrankungen

Röteln Virus	Respiratorisches-Syncytial-Virus
Masern Virus	Herpes Simplex Virus 1 und 2
Coxsackieviren A9, B1-B6	Varizella-Zoster Virus
Adenoviren	Coxsackievirus A9
Epstein-Barr Virus	Listeria monocytogenes
Cytomegalovirus	
Parainfluenza Virus 3	

Akute und subakute fieberhafte Infektionen mit Beteiligung des Lympho-adenoiden Systems und/oder der Leber

Epstein-Barr Virus	Leptospiren
Cytomegalovirus	Echinococcus
Sandfliegen Virus	Entamoeba histolytica
Hepatitisviren A-G	Brucella

Verdacht auf konnatale und perinatale Infektionen

<i>Konnatale Infektionen:</i>	Listeria monocytogenes
Cytomegalovirus	
Rubella-Virus	<i>Perinatale Infektionen:</i>
Herpes-simplex-Virus	Herpes-simplex-Virus
Toxoplasma gondii	Varizella-Zoster-Virus
Mumps-Virus	Neisseria gonorrhoeae
Coxsackievirus Typ B1 - B6	

Akute Infektionen der Conjunctiva und/oder der Cornea

Adenoviren	Varizella-Zoster Virus
Masern Virus	Neisseria gonorrhoeae
Herpes Simplex Virus	Toxoplasma gondii
Chlamydia	

Patienten unter immunsuppressiver Therapie

Cytomegalovirus
Herpes Simplex Virus
Polyomavirus
RSV

Varizella-Zoster Virus
Aspergillus fumigatus
Listeria monocytogenes
Toxoplasma gondii

Gastrointestinale Erkrankungen

Rotavirus
Adenovirus
Picornaviren
Epstein-Barr-Virus
Sandfliegen Virus
Shigellen
Listeria monocytogenes

Yersinia enterocolitica
Yersinia pseudotuberculosis
Campylobacter fetus und jejuni
Helicobacter pylori
Entamoeba histolytica
Giardia lamblia

Verdacht auf Geschlechtskrankheiten

Neisseria gonorrhoeae
Shigellen
Campylobacter jejuni
Giardia lamblia
Entamoeba histolytica

Chlamydia
Herpes Simplex Virus 2
Cytomegalovirus
Hepatitis-B und C Viren

Erkrankungen des zentralen Nervensystems

Polioviren Typ 1-3
Coxsackieviren A9, B1 - B5
Mumps Virus
LCM Virus
FSME Virus
Herpes Simplex Virus 1
Varizella-Zoster Virus

Masern Virus
Epstein-Barr Virus
Adenovirus
Polyomavirus
Sandfliegen Virus
Borrelia burgdorferi

Infektiöse bzw. reaktive Arthritis

Borrelia burgdorferi
Brucella
Campylobacter jejuni
Yersinia enterocolitica
Yersinia pseudotuberculosis
Neisseria gonorrhoeae
Shigella flexneri
Adenoviren
Cytomegalovirus

Herpes Simplex Virus
Epstein-Barr Virus
Varizella-Zoster Virus
Mumps Virus
Rubella Virus
Picorna Viren
Chlamydia
Mycoplasma pneumoniae

10. LITERATUR

- 1.) Lennette, E.H., Schmidt, N.J.
Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections. 5.Ausgabe, S. 35-42, New York 1979
- 2.) Deutsche Norm: Serodiagnostik von Infektionskrankheiten
Komplementbindungsreaktion (KBR), DIN 58 969, Teil 10, Ausgabe Juli 1989; Beuth Verlag GmbH, Burggrafenstraße 6, Berlin
- 3.) Mayr, A. et al, Virologische Arbeitsmethoden, Band 2, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1977