



Diagnostik zur Dengue-Virus-Infektion (Teil 2)

Ursula Brett, Essen

Aedes albopictus

© Edy Perez; <https://creativecommons.org/licenses/by-nd/2.0/>

Dengue-Viren sind mittlerweile die am häufigsten, durch Stechmücken der Gattung *Aedes aegypti* (Gelbfieber Mücke) und der Gattung *Aedes albopictus* (Asiatische Tigermücke), übertragenen humanpathogenen Flaviviren. Es zirkulieren vier unterschiedliche Dengue-Serotypen DENV 1 bis DENV 4, die weiter in Genotypen unterteilt werden. In Südostasien und der Karibik kommen alle vier Serotypen vor, in Mittelamerika, den USA und in Ostafrika (Dschibuti, Kenia und Mosambik) die Serotypen 2 und 3. In Westafrika (Nigeria, Elfenbeinküste, Senegal) herrschen die Serotypen 1 und 2 vor. In der Pazifikregion ist nur der Serotyp 2 verbreitet. In Deutschland wurde das Dengue-Fieber – allerdings mit jährlich steigenden Fallzahlen von Infektionen – bisher ausschließlich bei Reiserückkehrern diagnostiziert, die sich vorwiegend in ostasiatischen Ländern wie Thailand, In-

dien, Indonesien, Vietnam, Malaysia und Sri Lanka aufgehalten haben.

Nachdem seit 2010 autochthone Dengue-Infektionen in südeuropäischen Regionen (Frankreich, Madeira, Griechenland, Kroatien) aufgetreten sind, muss in Zukunft auch mit nicht fernreiseassoziierten Dengue-Virus-Infektionen gerechnet werden. Deshalb wird eine schnelle und sichere Diagnostik zum Nachweis akuter Infektionen mit Dengue-Viren immer wichtiger.

Klinik

Nach einem Stich einer infizierten Mücke beginnt die Erkrankung nach 2- bis 7-tägiger Inkubationszeit mit grippeähnlichen

Symptomen. Das klassische Dengue-Fieber ist häufig eine selbstlimitierende, kurz dauernde Erkrankung, die mit hohem Fieber, starken Kopf-, Muskel-, Gelenkschmerzen, Abgeschlagenheit und Exanthem einhergeht. Als Komplikationen sind schwere Verläufe wie das Dengue-Hämorrhagische-Fieber

(DHF) und das Dengue-Schock-Syndrom (DSS) bekannt. Das DHF äußert sich in einer unterschiedlich stark ausgeprägten hämorrhagischen Symptomatik, wie Haut-, Nasenblutungen und Teerstuhl. Kreislaufstörungen bis hin zum Schock, dem Dengue-Schock-Syndrom, können tödlich enden.

Zusammenfassung

Dengue-Fieber, eine tropische Infektionskrankheit, ist weltweit auf dem Vormarsch und wird deshalb auch als emerging disease (sich ausbreitende Krankheit) bezeichnet. Mit über 300 Millionen infizierten Menschen und ca. 90 Millionen an Dengue-Fieber Erkrankten ist Dengue-Fieber die häufigste virale Infektionskrankheit in den subtropischen und tropischen Gebieten. Die klinische Diagnose ist aufgrund der unspezifischen Anfangssymptome erschwert. Sporadische und milde Verläufe sind nur durch den virologischen Nachweis des Dengue-Virus zu erkennen und differenzialdiagnostisch von anderen Viruserkrankungen wie z.B. dem Chikungunya-Fieber, Gelbfieber, der West-Nil-Virus-Infektion, Frühsommermeningoenzephalitis und Malaria abzugrenzen. Mögliche Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren müssen berücksichtigt werden. Zur Bestätigung einer Verdachtsdiagnose stehen unterschiedliche Nachweismethoden zur Verfügung. Ein Erregernachweis kann nur während der kurzen virämischen Phase in den ersten 4 bis 5 Krankheitstagen mit der RT-PCR erfolgen. Als wichtiger Marker zur Bestätigung einer Dengue-Virus-Infektion hat sich das Dengue-NS1 (Nichtstruktur)-Protein sowohl bei Erst- als auch bei Zweitinfektionen vom 1. bis zum 9./10. Tag nach Symptombeginn bewährt. Da das Virus und das NS1-Antigen nur bis zum 10. Tag nach Krankheitsbeginn nachweisbar sind, hat der serologische Antikörpernachweis in der Dengue-Virus-Diagnostik einen hohen Stellenwert. IgM-Antikörper sind ca. ab dem 5. Krankheitstag, IgG-Antikörper ab dem 10. bis 14. Tag im Serum/Plasma nachweisbar. Nach Empfehlung der WHO sollte das Blut eines Patienten mit Verdacht auf Dengue-Fieber immer dann auf Antikörper gegen das Chikungunya-Virus untersucht werden, wenn eine Infektion mit Dengue-Viren ausgeschlossen werden kann, der Patient sich aber in einem Gebiet aufgehalten hat, in dem Chikungunya-Fieber vorkommt.

Schlüsselwörter: Dengue-Fieber, Flaviviren, RT-PCR, IgM-/IgG-Antikörper

Abstract

Dengue fever, a tropical infectious disease is on the rise worldwide and is therefore referred to as an emerging disease. With over 300 million infected people and about 90 million of dengue fever sufferers dengue fever is the most common viral disease in subtropical and tropical areas. The clinical diagnosis is difficult because of the nonspecific initial symptoms. Sporadic and mild courses can only be detected by the virological evidence of the dengue virus. In the differential diagnosis dengue fever must be differentiated of other viral diseases such as the Chikungunya fever, yellow fever, West Nile virus infection, encephalitis and malaria. Possible cross-reactions with other flaviviruses must also be considered. To confirm a suspected diagnosis different detection methods are available. A pathogen can be carried out only during the short viremic phase during the first 4 to 5 days of illness by RT-PCR. As an important marker for the confirmation of dengue virus infection the dengue NS1 (non-structural) protein in both primary as well as secondary infections is used from 1st to 9th / 10th proven day after symptom onset. Since the virus and the NS1 antigen can be detected only up to the 10th day after onset, the serological antibody detection is of great value in the dengue virus diagnostics. IgM antibodies are detectable approximately from the 5th day of illness, IgG antibodies from 10th to 14th day in serum/plasma.

According to the WHO recommendation, the blood of a patient with suspected dengue fever should always be examined for antibodies against Chikungunya virus when an infection with dengue virus was excluded and the patient may have stayed in an area in which Chikungunya fever occurs.

Keywords: Dengue fever, flaviviruses, RT-PCR, IgM/IgG antibodies

Diagnose

Nur selten kann anhand der klinischen Symptome eine Verdachtsdiagnose auf eine Dengue-Virus-Infektion gestellt werden. Von großer Wichtigkeit für die Diagnose ist die Befragung des Patienten nach einem kurz zurückliegenden Aufenthalt in einem Dengue-Risikogebiet, der das Vorliegen einer Dengue-Erkrankung wahrscheinlich macht. Erschwerend kommt hinzu, dass in den bekannten Dengue-Risikogebieten oft auch Malaria verbreitet ist und daher bei Fieber fälschlicherweise nur an Malaria gedacht wird. Als wichtige regional unterschiedliche Differenzialdiagnosen gelten das Chikungunya-Fieber und Infektionen mit dem Japanischen Enzephalitis-Virus (auch als Doppelinfektion z. B. in Ostasien möglich) sowie Gelbfieber, Ross-River-Virus-, West-Nil-Virus-Infektionen und andere virusbedingte hämorrhagische Fieber-Infektionen. Bei fieberhaften Infektionen mit Exanthem können möglicherweise auch importierte Masern- oder Rötelninfektionen vorliegen.

Bei Reiserückkehrern aus Ländern, in denen zwei oder mehr Flaviviren vorkommen, kann die serologische Diagnostik einer Dengue-Virus-Infektion durch mehrfache und aufeinander folgende Flaviviren-Infektionen infolge bereits vorhandener „pre-existing“ Antikörper erschwert werden. Außerdem kann die Interpretation serologischer Ergebnisse aufgrund von Kreuzreaktivität der Antikörper innerhalb der Gruppe der Flaviviren durch vorausgegangene Impfungen wie z.B. Gelbfieber-, Japanische Enzephalitisimpfung, gegen Frühsommermeningoenzephalitis sowie durch Infektionen mit anderen Flaviviren erschwert werden. Zur Diagnostik einer Dengue-Virus-Infektion stehen unterschiedliche Testverfahren sowohl zum Erreger- als auch zum Antikörpernachweis zur Verfügung.

Antigennachweis

Dengue-Virus-NS1-ELISA

Als wichtigster Marker zur Detektion einer akuten Dengue-Virus-Infektion hat sich das Dengue-NS1 (Nichtstruktur)-Protein erwiesen. Es wird in großen Mengen von infizierten Zellen sezerniert und eignet sich daher besonders gut zum Antigennachweis. NS1 ist ein hoch konserviertes Glykoprotein, das im Serum eines infizierten Patienten bereits ab dem ersten Krankheitstag nachgewiesen werden kann und zwar sowohl bei Erst- als auch bei Sekundärinfektionen. Das NS1-Antigen kann bis zum 9./10. Tag nach Fieberbeginn im Blut erfasst werden. Es lässt sich noch zu einem Zeitpunkt nachweisen, an dem eine Untersuchung auf virale RNA bereits negativ ausfällt aber noch keine IgM- oder IgG-Antikörper nachweisbar sind. Das Auftreten einer diagnostischen Lücke kann so minimiert werden.

Der EUROIMMUN Dengue-Virus-NS1- μ -capture ELISA beruht auf monoklonalen Anti-Dengue-NS1-Antikörpern gegen die Serotypen 1, 2, 3 und 4. Durch die Verwendung von hoch aufgereinigten Antikörpern gegen alle vier Serotypen wird eine hohe Sensitivität des Testsystems erreicht. Laut Hersteller beträgt die Sensitivität 100 %, die Spezifität liegt bei 98 %.

Der Dengue-Virus-NS1 ELISA eignet sich zur Früherkennung einer Dengue-Virus-Infektion noch vor dem Auftreten von spezifischen IgM-Antikörpern und hat den Vorteil gegenüber der RT-PCR, bis zum 9. Tag und in einigen Fällen noch

länger nach Auftreten der klinischen Symptome positiv zu bleiben.

Positives Ergebnis: Ein positiver NS1-Antigennachweis mit negativem IgM- und IgG-Antikörperrnachweis spricht für eine akute Dengue-Virus-Infektion. Zur Bestätigung einer akuten Infektion sollte eine zweite Blutprobe nach ca. 7 Tagen entnommen werden, um eine Serokonversion zu bestätigen.

Negatives Ergebnis: Ein negatives Ergebnis schließt eine Dengue-Infektion nicht aus. Es kann auftreten, wenn die Menge an Dengue-Virus-NS1 in der Serumprobe unter der Nachweisgrenze des Assays liegt. Besteht weiterhin der Verdacht, sollte eine weitere Blutprobe entnommen und serologisch untersucht werden.

Bestätigung einer Sekundärinfektion

Der NS1-Antigen- μ -capture ELISA eignet sich in Kombination mit dem Dengue-IgM und IgG Antikörper ELISA, um eine sekundäre Dengue-Infektion zu erkennen. In diesem Fall sind bereits ab dem 1. oder 2. Krankheitstag NS1-Antigene nachweisbar und in der frühen Infektionsphase (1. – 3. Krankheitstag) bereits hohe Konzentrationen spezifischer Anti-Dengue-IgG-Antikörper nachweisbar. Spezifische IgM-Antikörper sind nur mäßig erhöht oder nicht nachweisbar (Abb. 1).

Der Dengue-Virus-NS1 ELISA ist eine gute Alternative zur PCR. Im Gegensatz zur PCR ist der ELISA mit technisch einfachen Mitteln durchführbar und vergleichsweise schneller und kostengünstiger als eine PCR.

Direkter Virusnachweis

Eine Virusanzüchtung in Vero-, BHK-21- oder in Zelllinien von *Aedes albopictus* Mücken ist innerhalb der ersten vier Tage nach

Auftreten der klinischen Symptome möglich. Die Identifizierung erfolgt durch fluoreszenzmarkierte Serotypen spezifischer, monoklonaler Antisera.

Der sehr spezifische kulturelle Virusnachweis darf nur in Laboratorien der Sicherheitsstufe 3 durchgeführt werden, da die Dengue-Viren den Infektionserregern der Risikogruppe 3 zugeordnet sind. Für die Routinediagnostik ist die Virusanzucht weniger geeignet, da sie in der Durchführung sehr aufwendig ist und frühestens 1 Woche nach Testbeginn mit einem Ergebnis gerechnet werden kann.

DENV-Genom-Nachweis

DENV-RNA kann innerhalb der ersten 5 Tage der Erkrankung in Blutproben (Serum, Plasma) nachgewiesen werden. Für den DENV-Genom-Nachweis mit der Polymerase-Kettenreaktion sind verschiedene Testvarianten erhältlich z.B. die Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), nested RT-PCR oder Multiplex RT-PCR. Die Sensitivität der PCRs liegt bei 80 – 90%, die Spezifität über 95%. Durch geeignete Zielsequenzenauswahl für die Primer-Sonden-Bindung können die unterschiedlichen DENV-Serotypen direkt nachgewiesen werden. Geeignete Primerbindungsstellen liegen im Core- und Envelope-Genomabschnitt. Um alle DENV-Serotypen zu erfassen, ist eine Taqman Realtime PCR in der NS5 Region entwickelt worden. Nach RT-PCR-Amplifikation können verschiedene Flaviviren durch Massenspektrometrie identifiziert werden. Einen alternativen Methodischen Ansatz bieten RT-PCR-Varianten, die Virusgruppenspezifische Amplifikate erzeugen. Nach Sequenzierung dieses Amplikons und anschließendem Sequenz-Alignment mit einer Gendatenbank erhält man nicht nur den jeweiligen DENV-Genotyp, sondern ggf. Informationen über das Vorliegen anderer Flaviviren.

Die DENV-Viruskonzentration im Blut korreliert mit der Schwere der Erkrankung. Bei Werten höher als 10^6 Genomä-

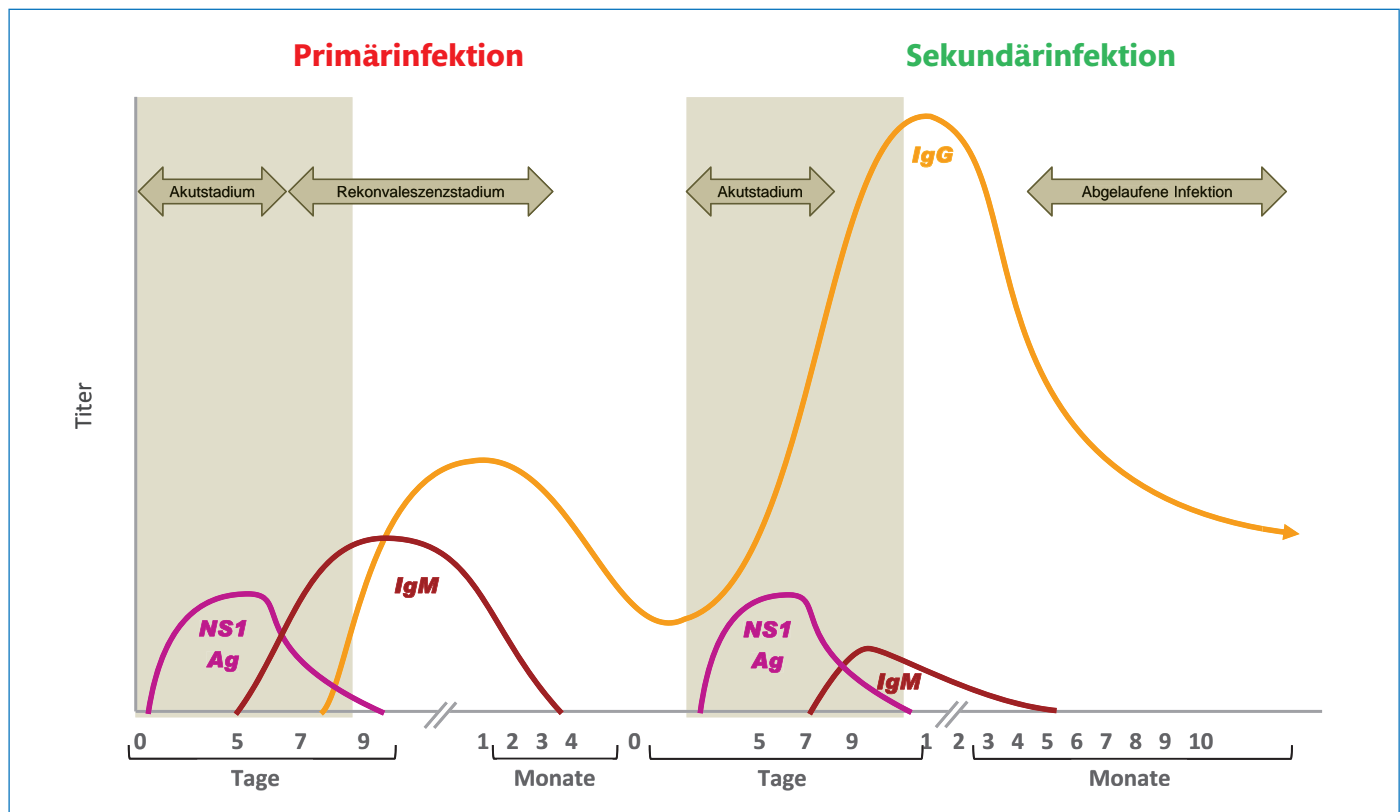


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf von Antigen- und Antikörperbildung bei primärer- und sekundärer Dengue-Virus-Infektion

quivalenten/ml besteht ein etwa 90%iges Risiko, dass sich ein DHF entwickelt. Der DENV-RNA-Nachweis im Blut ist aufgrund der kurzen virämischen Phase von nur 4 bis 5 Tagen nach Krankheitsbeginn wenig erfolgversprechend. Ein negatives Ergebnis schließt eine Dengue-Virus-Infektion nicht aus.

Vorteil: eine Dengue-Virus-Typisierung kann mit der PCR durchgeführt werden.

Antikörpernachweis

Der Schwerpunkt der Labordiagnostik der Dengue-Virus-Infektion beruht auf dem Nachweis spezifischer IgM- und IgG-Antikörper. Dengue-Virus-Antikörper sind in erster Linie gegen das in der Lipidhülle des Virus verankerte E-Protein gerichtet. Dieses verhindert das Binden der Viren an entsprechende Zielzellen und wirken somit neutralisierend. Während der Infektion mit einem der 4 Dengue-Virus-Serotypen werden gegen das E-Protein virusneutralisierende spezifische Antikörper gebildet, die vor einer Neuinfektion mit dem gleichen Serotyp schützen, nicht aber gegen die drei anderen Serotypen. Da die Virämie bei Dengue-Virus-Infektionen nur sehr kurz ist, IgM-Antikörper oftmals schon 3 bis 5 Tage nach Auftreten der klinischen Symptome nachweisbar sind, kommt dem Antikörpernachweis bereits in der Akutphase der Erkrankung ein hoher Stellenwert zu.

IgM-Nachweis

Nach Einsetzen des Fiebers sind bei 50% der Patienten und bis zum 10. Tag in 99% der Fälle IgM-Antikörper nachweisbar und zeigen das Vorliegen einer akuten Infektion an. Sie erreichen ihren höchsten Titer nach ca. 14 Tagen nach Fieberbeginn und fallen nach 3 bis 4 Monaten unter die Nachweisgrenze ab. Bei einigen Patienten wird eine IgM-Antikörper Persistenz mit niedrigen Titern über längere Zeit nach Infektion beobachtet.

Ein fehlender Nachweis von IgM-Antikörpern innerhalb der ersten 6 bis 7 Tage der Erkrankung schließt in der Regel eine Infektion mit Dengue-Viren aus. In wenigen Fällen können in der frühen Phase der Infektion IgM-Antikörper noch nicht oder in nicht nachweisbarer Menge vorhanden sein. Bei weiterhin bestehendem Verdacht auf eine akute Dengue-Virus-Infektion sollte nach 5 bis 7 Tagen erneut eine Blutprobe auf IgM- und IgG-Antikörper untersucht werden. Nach einer Zweitinfektion mit einem anderen Dengue-Serotyp sind IgM-Antikörper bei ca. 5% der Patienten nicht nachweisbar oder nur mit niedrigen Titern (Abb. 1). Bei alleinigem Nachweis von IgM-Antikörpern ohne Nachweis von Dengue-Virus-NS1- und IgG-Antikörpern in nachfolgenden Serumproben besteht der Verdacht auf eine unspezifische IgM-Aktivität.

Der Nachweis von spezifischen IgM-Antikörpern bzw. ein mindestens 4-facher Titeranstieg wird als Beweis für das Vorliegen einer akuten Erkrankung angesehen.

Je nach Region kann es zwischen den 4 Dengue-Virus Serotypen, dem Japanischen Enzephalitis-, Murray Valley Enzephalitis- und St. Louis-Enzephalitis-Viren sowie den Gelbfieber- und West-Nil-Viren zur serologischen Kreuzreaktivität kommen. Diese Erkrankungen müssen vor Bestätigung der Diagnose ausgeschlossen werden.

IgG-Nachweis

Nach der ersten Erkrankungswoche sind spezifische Dengue-IgG-Antikörper nachweisbar, deren Titer langsam ansteigen. Sie bleiben über Monate nachweisbar, wahrscheinlich lebenslang. Ein negatives IgG Ergebnis in der akuten Phase der Infektion und ein positiver IgG Nachweis in der Rekonvaleszenzphase spricht für eine Erstinfektion. Im Gegensatz dazu steht eine sekundäre Infektion mit einem anderen Dengue-Serotyp. Hierbei steigt der IgG-Antikörpertiter sofort zu Beginn der akuten Infektion um das bis zu Zehnfache an. In Nichtendemiegebieten kann der einmalige gesicherte Nachweis von IgG-Antikörpern in Verbindung

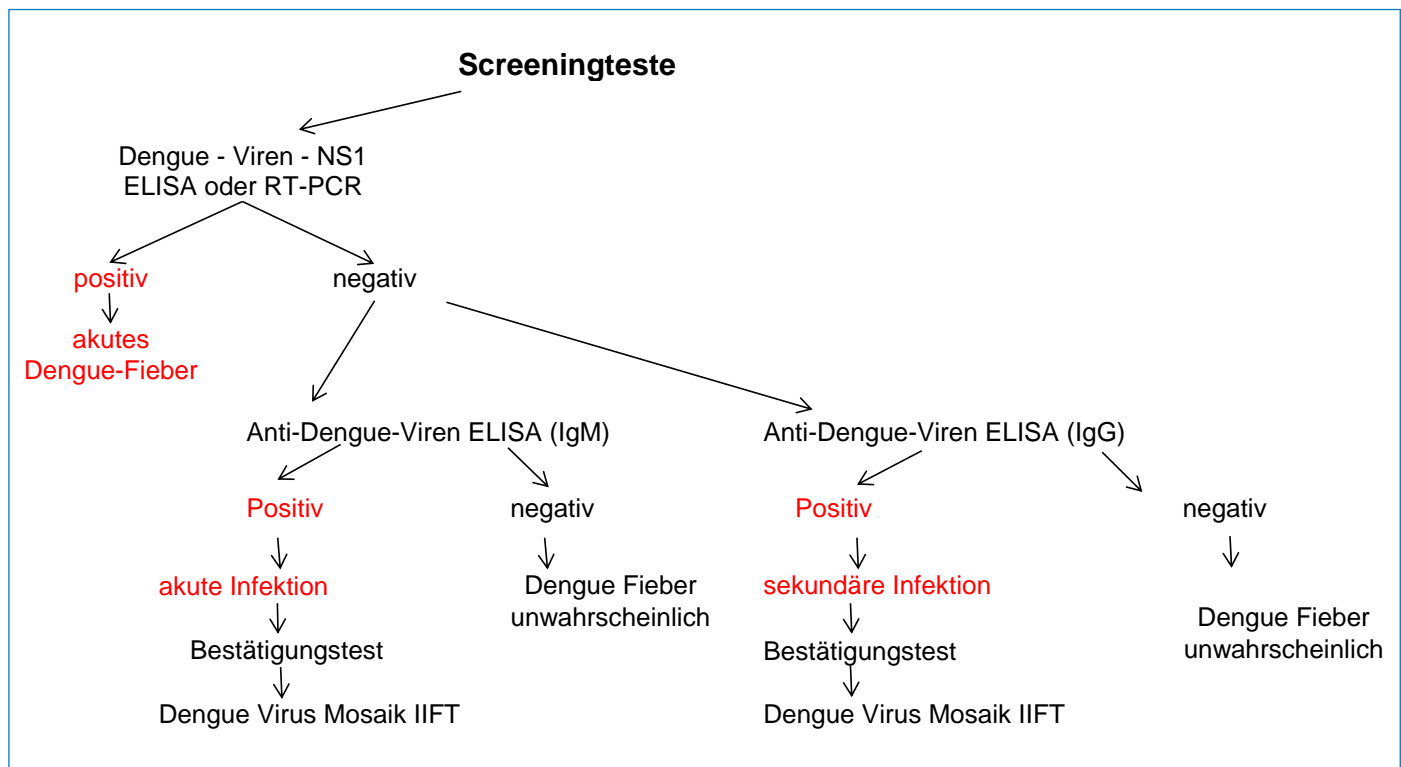


Abb. 2: Diagnostische Stufen Strategie bei Verdacht auf eine akute Dengue-Virus-Infektion

mit der klinischen Symptomatik als Beweis für eine Infektion angesehen werden.

IgG-Antikörper der 4 Dengue-Virus-Serotypen können mit anderen Flaviviren wie z.B. West-Nil-Viren, Murray Valley-Enzephalitis-Virus und dem Japanischen Enzephalitis-Virus serologische Kreuzreaktivität aufweisen.

Enzym-linked-immunosorbend-Assay

Für den Nachweis von spezifischen IgM- und IgG-Antikörpern sind ELISAs die Methode der Wahl. Es stehen kommerzielle Kits verschiedener Hersteller mit unterschiedlicher Sensitivität und Spezifität zur Verfügung. Als Antigenquelle dienen z.B. in Verozellen kultivierte Dengue-Viren des Serotyps 2. Aufgrund der hohen strukturellen Ähnlichkeit der Dengue-Virus-Typen 1 bis 4 ist die Verwendung eines Virustyps ausreichend, um Antikörper gegen alle 4 Virustypen sicher zu erfassen.

Indirekter Immunfluoreszenz-Test

Der indirekte Immunfluoreszenz-Test ist ein hochempfindlicher und spezifischer Test zum Nachweis von Antikörpern gegen Dengue-Viren. Er wird als Bestätigungstest eines positiven Ergebnisses im ELISA oder zur Abklärung unklarer Befunde als weitere Nachweismethode zur Dengue-Virus-Diagnostik eingesetzt. Weiterhin kann mit dem Anti-Dengue-Viren-IIFT eine Serotypbestimmung vorgenommen werden und Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren können ausgeschlossen werden.

Mit der Dengue-Virus-BIOCHIP-Mosaik Technik von EUROIMMUN können in einem Untersuchungsgang spezifische Dengue-Virus-Antikörper aller 4 Serotypen (Abb. 3) erfasst werden.

Der Vorteil dieser indirekten Immunfluoreszenz-Methode besteht darin, dass der Infektionsstatus eines Patienten exakt festgestellt werden kann. Differenziert lässt sich ermitteln, ob eine akute oder zurückliegende Infektion besteht oder ob kein Dengue-Virus-Kontakt stattgefunden hat. Im positiven Fall kann eine Austitrierung der Serumprobe vorgenommen wer-

den, deren Höhe Hinweise zum klinischen Verlauf der Erkrankung vermittelt.

Testprinzip

Auf jedem Testfeld eines Objektträgers sind 4 BIOCHIPS fixiert, die jeweils mit infizierten Zellen der verschiedenen Dengue-Viren Typen 1, 2, 3 und 4 beschickt sind. Mit diesem EUROIMMUN-BIOCHIP-Mosaik werden 4 Substrate nebeneinander in demselben Testfeld verwendet und gleichzeitig mit einem Tropfen Serumverdünnung inkubiert. Dadurch kann mit einer einzigen Untersuchung ein detailliertes Antikörperprofil des Patienten erstellt werden.

Dazu wird die TITERPLANE-Technik verwendet. Verdünnte Serumproben sowie Positiv- und Negativkontrolle werden nebeneinander auf einen Objektträger pipettiert. Die Auftragsstellen sind durch hydrophobe Bereiche voneinander getrennt. Der Objektträger mit den BIOCHIPS wird auf einen Objektträger aufgelegt, die Substrate tauchen in den jeweiligen Tropfen ein und werden unter identischen Bedingungen inkubiert. Sind in der Patientenprobe spezifische IgM- oder IgG-Antikörper vorhanden, binden sie während der Inkubationszeit an die entsprechenden Antigene der Dengue-Viren. Nach einem Waschvorgang zur Entfernung nicht gebundener Antikörper, erfolgt ein weiterer Inkubationsschritt mit einem Fluoresceinisothiocyanat markiertem Antihuman-IgM bzw. -IgG-Serum. Nach dem Entfernen ungebundener Antihuman-Antikörper durch einen weiteren Waschschritt erfolgt die mikroskopische Auswertung gebundener fluoreszierender Antikörper mit einem Fluoreszenzmikroskop.

Die mikroskopische Auswertung der Immunfluoreszenzpräparate erfordert Erfahrung und ein geschultes Auge.

Positives Ergebnis: Sind im Patientenserum spezifische Dengue-Virus-Antikörper vorhanden, weisen die Zellwände, die mit Dengue-Viren infiziert sind, eine Fluoreszenz auf. Ein Teil der Zellen im Blickfeld sind nicht infiziert. Sie weisen keine Fluoreszenz auf (Abb. 3).

Negatives Ergebnis: liegt dann vor, wenn keinerlei Fluoreszenz erkennbar ist (Abb. 4).

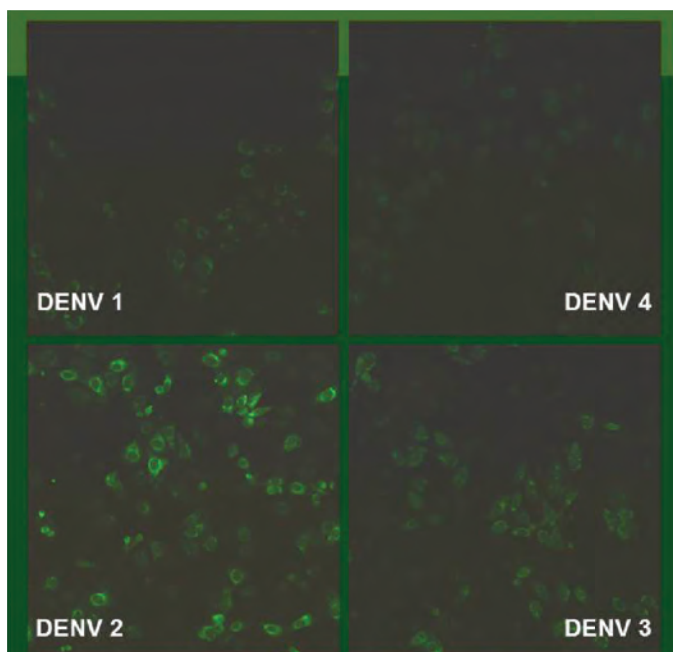


Abb. 3: Dengue-Viren IIF Mosaik BIOCHIPS mit infizierten Zellen der Serotypen 1 bis 4. Anti-DENV Serotyp 2 ist positiv.

© Euroimmun

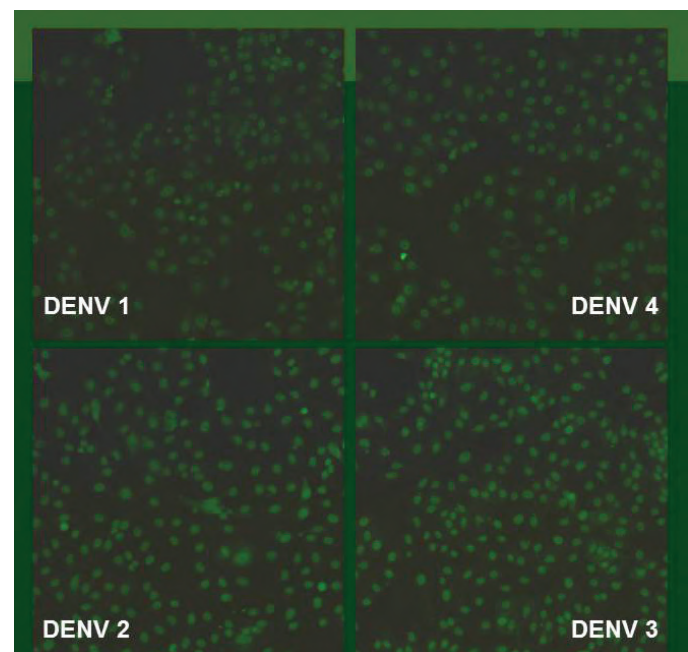


Abb. 4: Es wurden keine DENV-Antikörper nachgewiesen.

© Euroimmun

Mit den Flaviviren-Mosaiken-Profilen und Arboviren-Fieber Mosaik können mehrere spezifische Antikörper simultan nachgewiesen werden. Sie können zur Abklärung von Kreuzreaktivitäten zwischen den verschiedenen Flaviviren beitragen und ermöglichen eine zuverlässige Differenzialdiagnostik im Falle ähnlicher oder unklarer Krankheitsbilder.

Schnellteste zum Nachweis einer Dengue-Virus-Infektion

Die angebotenen Schnellteste dienen zum schnellen Screening einer Dengue-Virus-Infektion.

Der SD BIOLINE NS1 Dengue Duo Assay ist ein Immunchromatischer Einstufentest zum Nachweis von Dengue-Virus NS1-Antigen und spezifischen IgM- und IgG-Antikörper gegen das Dengue-Virus. Die gleichzeitige Bestimmung des NS1-Antigens und der IgM/IgG-Antikörper ermöglichen die Differenzierung, ob eine Dengue-Virus-Infektion in der Akutphase oder im Rekonvaleszenzstadium vorliegt. Das Ergebnis liegt nach 15 – 20 Minuten vor.

Kurz und Bündig

- **Der wichtigste Marker zur Diagnostik einer akuten Dengue-Virus-Infektion ist das Dengue-NS1 (Nichtstruktur)-Protein. Es ist ab dem 1. Krankheitstag bis zum 9. Tag der Infektion im Serum/Plasma nachweisbar.**
- **Der Verdacht einer Dengue-Virus-Infektion kann innerhalb der virämischen Phase in den ersten 4 bis 5 Tagen nach Krankheitsbeginn mittels der reversen Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) nachgewiesen werden.**
- **In Anbetracht des kurzen Zeitfensters für den Antigennachweis sollte dieser unbedingt mit dem IgM- und IgG-Nachweis kombiniert werden.**
- **Spezifische IgM-Antikörper sind bereits ab dem 5. Tag nach Fieberbeginn nachweisbar.**
- **Spezifische IgG-Antikörper sind ca. Ende der ersten Krankheitswoche im Serum zu erwarten.**
- **ELISAs ermöglichen die Differenzierung, ob eine Primärinfektion mit einem Dengue-Virus vorliegt oder eine Sekundärinfektion mit einem anderen Dengue-Virus-Serotyp.**
- **Eine Dengue-Virus-Typisierung der 4 Serotypen ist mit der RT-PCR oder der Indirekten Immunfluoreszenz (Dengue-Viren-Mosaik IIFT) möglich.**
- **Nach Empfehlung der WHO sollte das Blut eines Patienten mit Verdacht auf Dengue-Fieber immer dann auf Antikörper gegen das Chikungunya-Virus untersucht werden, wenn eine Infektion mit Dengue-Viren ausgeschlossen werden kann, der Patient sich aber in einem Gebiet aufgehalten hat, in dem Chikungunya-Fieber vorkommt.**

Der Test liefert nur ein vorläufiges Ergebnis, das durch eine RT-PCR und ELISA zum spezifischen IgM/IgG Nachweis bestätigt werden muss.

Serologische Befundinterpretation

- Bei Erstdnachweis von Dengue-Virus-IgM- und/oder IgG-Antikörpern sowie Vorliegen klinischer Symptome und entsprechender Reiseanamnese des Patienten ist eine Dengue-Fieber-Infektion wahrscheinlich.
- Bei einem negativen serologischen Ergebnis kann eine Infektion nicht sicher ausgeschlossen werden. In der frühen Infektionsphase können Antikörper fehlen oder in noch nicht nachweisbarer Menge Antikörper vorhanden sein.
- Bei klinischem Verdacht auf eine Infektion aber negativem oder fraglichem Testergebnis sollte nach 7 – 14 Tagen eine erneute Probenentnahme und Testung erfolgen.

Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass kreuzreagierende Antikörper auftreten können, hervorgehoben z.B. durch Impfungen gegen Gelbfieber, FSME oder anderen Flaviviren-Infektionen. Die Laborergebnisse dürfen nur in Verbindung mit einer entsprechenden klinischen Symptomatik bewertet werden. ■

Für die fachliche Unterstützung bedanke ich mich bei Frau Nadja Ewers.

Literatur

1. Hans W. Doerr, Wolfram H. Gerlich: Medizinische Virologie, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag
2. Peeling, RW et al.: Evaluation of diagnostic tests: dengue Nature Reviews Microbiology , S30-S37; doi:10.1038/nrmicro2459
3. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz, 7, 2011
4. CDC Laboratory Guidance and Diagnostic Testing 2012, Dengue Homepage, <http://www.cdc.gov/dengue/clinicalLab/laboratory.html>
5. WHO Dengueguidelines for diagnosis, Treatment and control www.denguevirusnet.com/guidelines/42-who-dengue-guidelines-and-documents.html



Die Autorin:
Ursula Brett, MTA
Uhlenkruggarten 4
45133 Essen
E-Mail: u.brett@arcor.de