

Der Fall des Halbjahres: Epstein-Barr-Virus Infektion (infektiöse Mononukleose)

Einleitung

Die infektiöse Mononukleose, auch Pfeiffersches Drüsenfieber, Morbus Pfeiffer, Kissing Disease oder Studentenkrankheit genannt, ist eine weltweit vorkommende Viruserkrankung. Sie wird durch einen zu den Herpesviridae gehörenden Erreger, das Epstein-Barr-Virus (EBV), verursacht. In Mitteleuropa sind Kinder zu ca. 80% und Erwachsene zu circa 90% durchseucht. Eine Erkrankung nach dem 50. Lebensjahr kommt jedoch praktisch nicht mehr vor.

Die Übertragung des Virus erfolgt durch Tröpfchen-, Kontakt- und Schmierinfektion. Besonders unter jugendlichen Paaren wird der Virus häufig von Mund zu Mund ausgetauscht, weshalb die Krankheit auch als Kissing Disease (Kusskrankheit) oder Studentenkrankheit bezeichnet wird. Zunächst tritt das Virus über das lymphoepitheliale Gewebe des Rachenraums in den Körper ein und befällt vornehmlich die B-Lymphozyten. Häufig beginnt die Krankheit mit Grippe ähnlichen Beschwerden wie Fieber, Gliederschmerzen und Müdigkeit. Zusätzlich schwellen die Lymphknoten der Erkrankten vor allem an Hals und Nacken an, es entsteht eine Angina und Pharyngitis und nicht selten kommt es zur Splenomegalie und Hepatomegalie.

Die Inkubationszeit des Epstein-Barr-Virus kann bis zu einigen Wochen betragen und die Erkrankung kann sich bis über Monate hinweg ziehen. Eine langfristige Prognose ist jedoch fast immer gut und ein chronischer Krankheitsverlauf ist ungewöhnlich. Jedoch ist heute bekannt, dass bei Patienten mit auftretender Immunstörung, wie zum Beispiel bei AIDS-Patienten, die befallenen B-Lymphozytenklone zu einem Lymphom auswachsen können. Schon 1962 wurde von dem englischen Tropenarzt Burkitt ein spezielles Lymphom beschrieben, das Epstein, Achong und Barr mit der lymphotropen Herpesvirusinfektion assoziiert haben, das Burkitt-Lymphom.

Die Lymphatische Reaktion der EBV-Infektion

Die lymphatische Reaktion bei einer EBV-Infektion ist sehr komplex und genaue Vorgänge werden noch immer diskutiert. Stark vereinfacht lassen sich jedoch drei Phasen beschreiben:

- Das Epstein-Barr-Virus infiziert die B-Lymphozyten in den befallenen Regionen, wie im Rachen und in den generalisierten Lymphknoten, durch die Bindung über einen Rezeptor auf der Zellmembran und kann sich in der Zelle stark vermehren. Durch diese Infektion und Aktivierung entsteht eine klonale Proliferation der infizierten B-Zellen und eine heterophile Immunglobulinproduktion Typ IgM, die auf Grund fehlender T-Zell-Stimulation bis zu diesem Zeitpunkt, noch unspezifisch ist.

Der erste Prozess findet vorwiegend auf lokaler Ebene im Gewebe (Lymphknoten) statt. Die für eine Mononukleose typischen Veränderungen des Blutbildes, vor allem in der lymphatischen Zellreihe, sind daher noch nicht zu erwarten.

- Zytokine, die von antigenpräsentierenden Zellen gebildet werden, aktivieren die T-Lymphozyten zu aktiven Helferzellen (T₄ Lymphozyten), Suppressor-Zellen, zytotoxischen T-Zellen und Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). Aktivierte T-Helfer-Zellen stimulieren gesunde B-Lymphozyten zur Produktion von spezifischen Antikörpern gegen das Viruspartikel.
- Bei immunkompetenten Personen wird der rasch proliferierende infizierte B-Lymphozytenzellklon durch virusspezifische zytotoxische T-Zellen und NK-Zellen eliminiert. Der Virus kann jedoch auch nach überstandener Infektion lebenslang in einer Restpopulation von B-Lymphozyten persistieren.

Peripheres Blut:

Im peripheren Blut können erhöhte Leukozytenzahlen bis zu 20.000 Zellen pro μl auftreten, davon sind meist mehr als 60% mononukleäre Zellen. Je nach Status der Erkrankung tritt ein Nebeneinander verschiedener lymphatischer Reizformen auf. In Phase 2. entsteht das bunte Bild von Lymphozyten hauptsächlich durch aktivierte T-Lymphozyten (T-Helfer, Suppressor und zytotoxischen T-Zellen) und einen geringen Anteil gesunder aktivierter B-Lymphozyten. Phase 3 zeigt hauptsächlich nur noch zytotoxische T-Zellen und NK-Zellen.

»Aktivierte« B-Lymphozyten, Lymphoplasmozytoide Zellen oder Plasmazellen befinden sich generell nur zum geringen Teil im peripheren Blut, da sie ihre Aufgabe verstärkt auf lokaler Ebene, im befallenen Gewebe oder Lymphknoten, vornehmen.

Fallbeispiel:

Der Fall zeigt eine 16-jährige Frau mit Symptomen von Fieber, Müdigkeit, schmerzhafter Halsentzündung und geschwollenen Mandeln. Die Leukozytenzahl ist normal, die Lymphozyten sind jedoch prozentual leicht erhöht (50,7%) und die Thrombozytenzahl ist leicht erniedrigt. (Abb. 1) Weitere Laborunter-

suchungen zeigen eine erhöhte LDH, serologisch einen erhöhten IGG Anti-VCA Titer, einen negativen IGM Anti-VCA und einen gering erhöhten EBNA-1 Test. Der Paul-Bunnell-Test war negativ.

Das DIFF-Scattergramm des xE-2100 (Abb. 2) zeigt eine kompakte Wolke, von der Lymphozytenregion hoch in den Bereich der »hochfluoreszierenden« Lymphozyten (high

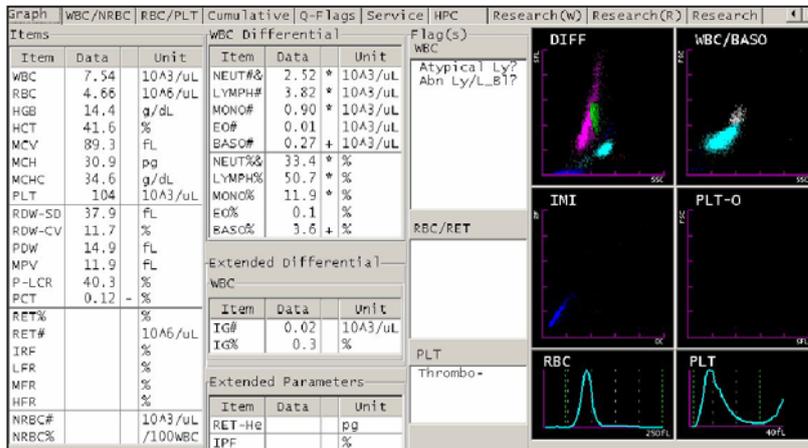


Fig. 1: Hämogramm des xE-2100, graphische Ansicht: Die Warnhinweise »Atypical Ly?« und »Abn Ly/L-B?« wurden generiert. Lymphozyten und Monozyten können auf Grund lymphatischer Reizformen nicht sauber getrennt werden. Die Differenzierung und die morphologische Beurteilung sollte im Ausstrichpräparat weiter abgeklärt werden.

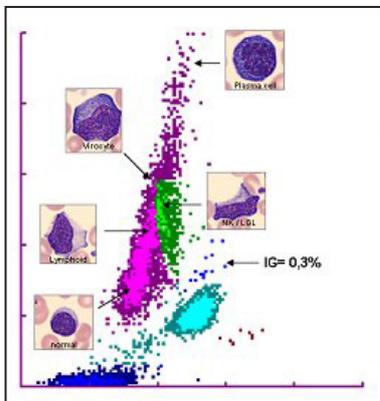


Fig. 2: DIFF Scattergramm des xE-2100. Lage der verschiedenen Lymphozyten im Scattergramm

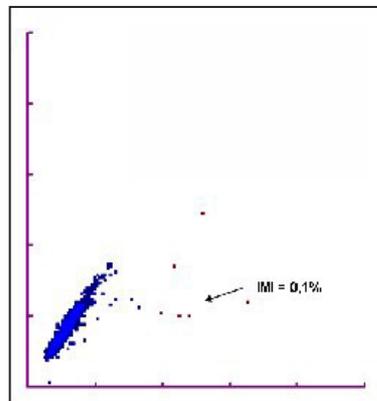


Fig. 3: IMI Scattergramm des xE-2100. Es wurden nur ca. 0,1% unreife Zellen im IMI-Kanal detektiert.

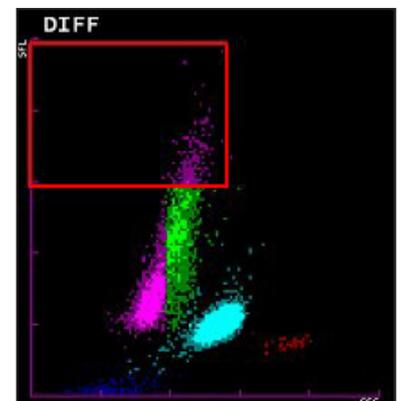


Fig. 4: DIFF-Scattergramm xE-2100: »HFL-Bereich«

fluorescence lymphocytes, HFL, Abb. 4). Der Warnhinweis »Atypische Ly?« wird generiert, da in diesem Bereich mehr als 1% oder mehr als 100 Zellen gefunden wurden. Neueste Studien bestätigen, dass im »HFL-Bereich« nur Immunglobulin-produzierende Lymphozyten (»aktivierte« B-Lymphozyten) liegen, insofern keine hämatologische Erkrankung (Blasten) vorliegt.

Auf Grund der lymphatischen Reizformen, wie aktivierte T-Lymphozyten oder Natürliche Killerzellen, wird die Trennung zwischen Lymphozyten und Monozyten ungenau und in Kombination mit der Information des IMI-Kanal (keine unreifen myeloischen Zellen) der Warnhinweis »Abn. Ly/ L-BI?« generiert (Abb. 3). Zur weiteren Abklärung dieser Hinweise sollte eine morphologische Beurteilung der Leukozyten im Ausstrichpräparat erfolgen.

Typische Veränderungen der Lymphopoese bei der Mononukleose

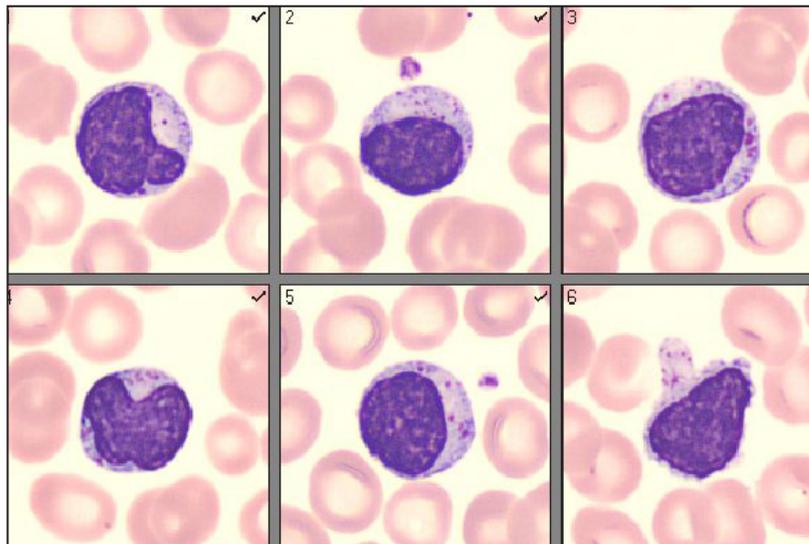


Fig. 5: Natürliche Killerzellen mit auffallender azurophiler Granula im Zytoplasma. Bilder: automatisches Differenziersystem DM 96

Abb. 5: Natürliche Killerzellen (NK-Zelle, engl.: Natural killer cell): Auch als LGL-Zelle (large granular lymphocyte) oder o-Lymphozyt bezeichnet. Morphologisch fallen die NK-Zellen durch grobe azurophile Granula auf. NK-Zellen sezernieren eine Reihe von Zytokinen, z.B. IL-1, IL-2 und Gamma-Interferon. Diese Zellen können maligne oder virusinfizierte Zellen ohne eine vorausgegangene immunologische Sensibilisierung zerstören und gehören daher

zur Gruppe der zytotoxischen Lymphozyten. **Lage im DIFF-Scattergramm der X-Serie:** NK-Zellen produzieren keine Antikörper, ihr RNA/DNA Gehalt entspricht denen von »normalen« Lymphozyten. Durch ihre Granulation fallen diese Zellen manchmal durch ein leicht verstärktes Seitwärtsstreulicht auf. Je nach Konzentration dieser Zellen im Blut wird der Warnhinweis für abnormale Lymphozyten (»Abn. Ly/ L-BI?«) generiert.

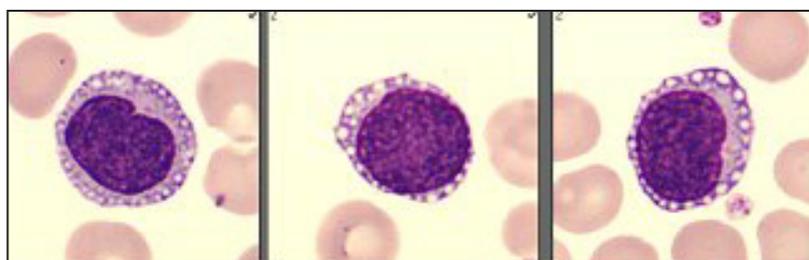


Fig. 6: Lymphoplasmozytoide Zellen mit randständigen Vakuolen. Funktion: Produktion von Immunglobulinen

Abb. 6: Lymphoplasmozytoide Zellen: Die Zelle ist mittelgroß, der Kern liegt meist exzentrisch und die Kernstruktur ist kondensiert. Das Zytoplasma ist basophil und kann randständig Vakuolen aufweisen.

Mit zunehmender Differenzierung zur Plasmazelle wird das Zytoplasma stärker basophil und das Chromatin verklumpt. Diese Zellen gehören wie die Plasmazellen zu den aktivierten B-Lymphozyten, sie produzieren Immunglobuline und haben ihre Teilungsfähigkeit verloren. **DIFF-Scattergramm x-Serie:** Lymphoplasmozytoide Zellen haben ein erhöhtes Fluoreszenzsignal und liegen im Bereich der »Hochfluoreszierenden Lymphozyten« (HFL-Bereich). Ursache ist der erhöhte RNA-Anteil in den Ribosomen des Plasmas, der für die Immunglobulinproduktion benötigt wird. Werden mehr als 1% der Lymphozyten im HFL-Bereich gefunden, wird der Warnhinweis auf atypische Lymphozyten generiert. Auf der Seite »Zusatzinfo-W« der xE-2100 Software kann die Anzahl der HFL (Other) in Prozent- und Absolut-Werten abgelesen werden. (Abb. 11)

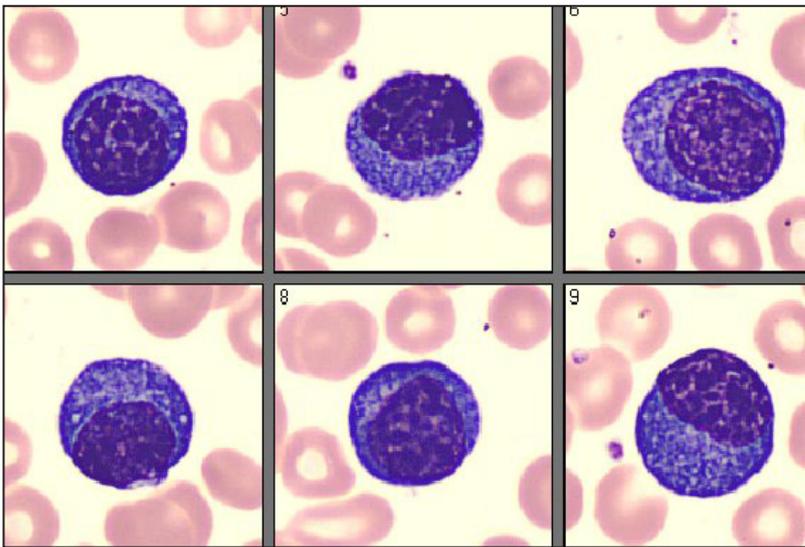


Fig. 7: Plasmazellen, sie fallen durch ihr dunkelblaues Zytoplasma und ihre dichte schollige Chromatinstruktur auf. Funktion: Produktion von Immunglobulinen

Abb. 7: Plasmazellen: Die Plasmazelle ist eine markante Zelle, die sich morphologisch meist eindeutig zuordnen lässt. Ihr Kernchromatin ist stark verdichtet und weist unregelmäßige Aufhellungszonen auf. Die in der Literatur häufig beschriebene Radspeichenstruktur ist nicht immer zu sehen. Der Kern liegt exzentrisch und das Zytoplasma färbt sich immer tiefblau an, häufig sieht man um den Kern herum eine Aufhellungszone.

Manchmal sind zytoplasmatische Vakuolen als Speicherorganellen für gebildete Immunglobuline erkennbar (Russel bodies). Die Plasmazellen sind auf die Antikörperproduktion spezialisiert und haben neben den Lymphoplasmozytoiden Zellen auch keine Teilungsfähigkeit mehr. Aus diesem Grund enthalten diese Zellen auch niemals Nukleolen. **Im DIFF-Scattergramm der X-Serie** sind diese Zellen zusammen mit den Lymphoplasmozytoiden Zellen im »hochfluoreszierenden« Lymphozyten-Bereich zu finden (siehe auch Lymphoplasmozytoide Zellen und Abb. 6).

Abb. 8–10: aktivierte T-Lymphozyten: Die Benennung von Lymphoid oder Pfeifer-Zellen unterliegen morphologischen Kriterien. Eine genaue Zuordnung, zu welchem Typ die Zelle gehört, ist morphologisch nicht möglich. In Anwesenheit von feiner Granulation kann man diese Zelle morphologisch der zytotoxischen T-Zelle zuordnen. Zellen mit einem blastären Charakter (Immunoblasten) werden oft als Virozyten beschrieben. Ein Unterschied dieser Zellen zwischen B- und T- Immunoblasten ist morphologisch nicht möglich. Dadurch ist der Begriff Virozyt nicht eindeutig zu definieren. Aktivierte T-Lymphozyten sind nicht an der Immunglobulinproduktion beteiligt. **Im DIFF-Scattergramm der x-Serie** liegen diese Zellen daher im Bereich der Lymphozyten mit geringfügig erhöhter Fluoreszenzanzfärbung. Da die Kerngröße im Vergleich zu normalen Lymphozyten verändert ist, kann das Seitwärtsstreulichtsignal etwas stärker sein, so dass diese Zellen im Scattergramm nach rechts, in Richtung der Monozyten, wandern. Liegen ausreichend Zellen zwischen der Lymphozyten- und Monozytenwolke, wird der Warnhinweis auf abnormale Lymphozyten »abn. Ly/L-BI?« generiert.

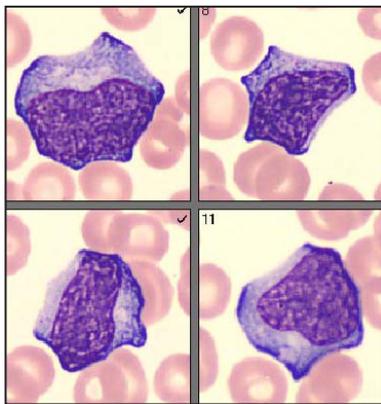


Fig. 8: Immunoblasten: Das Kernchromatin hat blastären Charakter. Im typischen Bild legen sich ihre Plasmaausläufer im Ausstrichpräparat um die Erythrozyten.

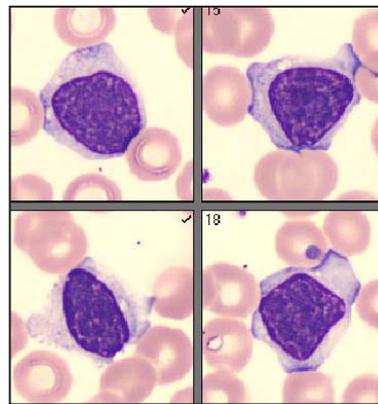


Fig. 9: Lymphoidzellen: Zelle mit verbreitertem Zytoplasmasaum. Im Gegensatz zu den Immunoblasten fehlt der blastäre Charakter. Der Begriff Lymphoidzelle wird jedoch auch häufig als Sammelbegriff für abnormale Lymphozyten verwendet.

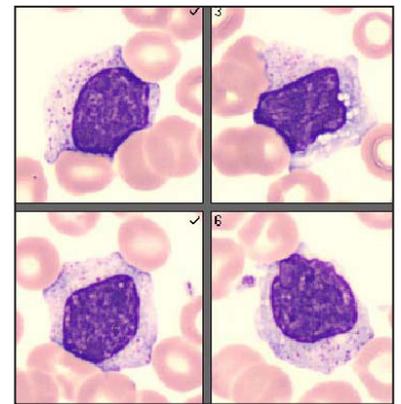


Fig. 10: Zytotoxischer T-Lymphozyt. Feine Granulation des Zytoplasmas

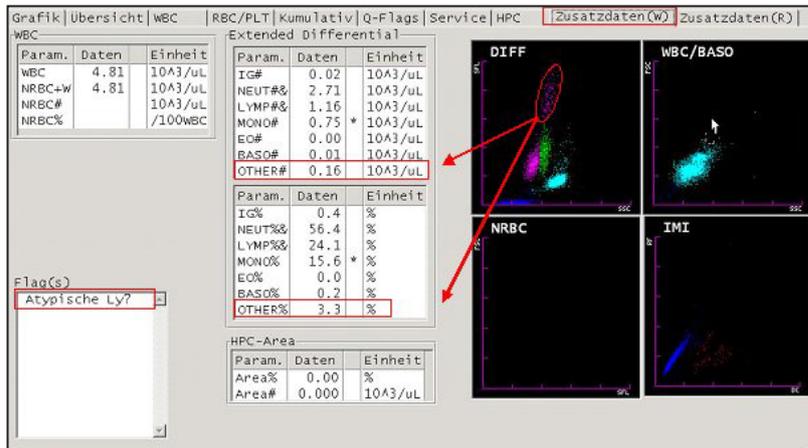


Fig. 11: Ausschnitt xE-2100 Software, Zusatzinfo-W (Research Daten). Weiteres Befundbeispiel: Im Bereich der »hochfluoreszierenden« Lymphozyten = »Other« wurden 160 Zellen pro uL gefunden. Bei Patienten ohne hämatologische Erkrankung (keine Blasten) entspricht diese Zellzahl dem Anteil an »aktivierten« B-Lymphozyten, wie Plasmazellen oder Lymphoplasmozytoide Zellen, die zur Immunglobulinproduktion fähig sind.

Zusammenfassung

Das automatische Differenzialblutbild von Patienten mit einer infektiösen Mononukleose zeigt nicht immer, aber häufig eine Leukozytose. Eine Thrombozytopenie ist manchmal zu beobachten. Eine vermehrte Anzahl von »aktivierten« Lymphozyten wird in der Regel vom Hämatologieautomaten erkannt und mit den Warnhinweisen »Abn. Lymph/L-Blast« und/oder »Atyp. Lymph« markiert.

Immunglobulinproduzierende Zellen wie die Plasmazelle oder die Lymphoplasmozytoide Zelle liegen im Bereich der Atypischen Lymphozyten, alle nicht aktivierten B-Lymphozyten sowie alle T-Lymphozyten liegen im »normalen« Lymphozytenbereich. Je nach Kerngröße und Granulation kann der Warnhinweis »Abn. Lymph/L-Blast« generiert werden.

Grundsätzlich gilt, dass B-Lymphozyten bei der EBV-Infektion vermehrt im Gewebe (Lymphknoten) und nur zum geringen Teil im peripherem Blut ihre Aufgaben übernehmen. Daher wird bei dieser Erkrankung nicht bei jedem Differenzialblutbild der Warnhinweis »Atypische Lymphozyten« ausgelöst. In einigen Fällen findet man sogar keine Auffälligkeiten im Blutbild, häufig dann, wenn der Patient sich noch in der ersten Phase der Infektion (Inkubationsphase) befindet. Generell ist zu empfehlen, dass unklar erhöhte Lymphozytenzahlen bei Erwachsenen morphologisch im Ausstrichpräparat beurteilt werden sollten.

Literatur:

- Thomas L: Zelluläre und humorale Immunität. In: Thomas L (ed.) *Labor und Diagnose*. 5. Auflage, TH Books (Frankfurt/Main), 733, 1998
- Fuchs R: Lymphozyten. In: Fuchs R, Thomalla J *Manual Mikroskopierkurs Hämatologie 2005*. St.-Antonius Hospital (Eschweiler) 29, 2005
- Fuchs R: Mononukleose. In: Fuchs R, Thomalla J *Manual Mikroskopierkurs Hämatologie 2005*. St.-Antonius Hospital (Eschweiler) 103, 2005
- Küppers R, B cells under influence: transformation of B cells by Epstein-Barr-Virus. *Nature Reviews Immunology* 3: 801-812. 2003