



## **eVADEMECUM – Virusnachweis**

- 1. Methoden für den Virusnachweis: Übersicht und allgemeine Angaben**
- 2. Virus-Isolierung auf Zellkulturen mit anschliessender Identifikation**
- 3. Virus-Antigennachweis mittels Immunfluoreszenz**
- 4. Nachweis von Viren mittels Immunchromatographie**
- 5. Virus-Genomnachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**

### **1. Methoden für den Virusnachweis: Übersicht und allgemeine Angaben**

Für den Virusnachweis stehen uns folgende Methoden zur Verfügung:

- Isolierung auf Zellkulturen mit anschliessender Identifikation
- Antigennachweis mittels Immunfluoreszenz (IF)
- Antigennachweis mittels Immunchromatographie
- Antigennachweis mittels ELISA
- Genomnachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)
- Nachweis Reverser Transkriptase-Aktivität

Der Zeitbedarf für eine Untersuchung bis zur Verfügbarkeit eines Untersuchungs-Resultates ist unterschiedlich und abhängig von der Methode. In den nachfolgenden Kapiteln ist bei jeder Methode ein ungefährer Zeitbedarf bis zum Vorliegen eines Untersuchungs-Resultats nach Eintreffen der Probe im Labor angegeben.

Der Auftraggeber hat das Recht, eine Methode vorzuschlagen. Die gewählte Methode unterziehen wir einer Plausibilitätsprüfung. Wenn eine andere Methode eine schnellere oder kostengünstigere Alternative bei vergleichbarer Sensitivität und diagnostischer Aussagekraft darstellt, so führen wir die Probe einer andern als der gewünschten Untersuchungsmethodik zu und kommentieren dies aber in einer Fussnote.

### **2. Virus-Isolierung auf Zellkulturen mit anschliessender Identifikation**

Mit den im Labor routinemässig verwendeten Zellarten erfassen wir ein breites Spektrum medizinisch relevanter Viren. Die Virusisolierung auf Zellkulturen ist daher die Methode der Wahl, wenn der Erreger nicht bekannt ist und eine breite Virussuche angestrebt wird. Ebenso kann die Frage nach der Infektiosität und Vermehrungsfähigkeit der Viren nur durch Anzucht auf Zellkulturen beantwortet werden. Die Virusisolierung auf Zellkulturen hat damit auch im Zeitalter der molekularen Diagnostik ihren unbestrittenen Stellenwert.

Eine ganze Reihe von medizinisch relevanten Viren können jedoch nicht oder nur mit grossem Aufwand auf Spezialzellen, die im Routinelabor üblicherweise nicht vorhanden sind, angezüchtet werden. Die bekanntesten Beispiele sind die Hepatitis-, Papilloma-, Parvo-, Rota- und Noroviren. Für den Nachweis dieser Viren müssen serologische oder molekulare Techniken angewendet werden.



## Institut für Medizinische Virologie

Andererseits könnten aber auch gefährliche, seltene Viren unerkannt in Zellkulturen angezüchtet und damit angereichert werden. Unsere Vorsichtsmassnahmen im Labor im Umgang mit klinischem Material und infizierten Zellkulturen sind auch im Routinebetrieb auf diesen Fall ausgerichtet. Angaben zur Anamnese des Patienten helfen uns, das Risiko während der Untersuchung abzuschätzen.

Der Erfolg einer Virusisolierung auf Zellkulturen ist von vielen Faktoren abhängig:

- Eine mikrobielle Begleitflora im Untersuchungsmaterial (Stuhl, Rachenabstrich) kann den Nachweis auf Zellkulturen stören und erfordert einen erhöhten Einsatz von Antibiotika und Fungistatika. Trotz dieser Massnahmen gelingt die Kultur nicht immer.
- Toxische Proben (Stuhl, Autopsiematerial) beeinträchtigen die Lebensfähigkeit der Zellen und reduzieren deren Fähigkeit zur Virusvermehrung.
- Im Liquor, in Augenkammer- und Fruchtwasser sind Viren oft in zu geringer Konzentration vorhanden, so dass ein Virusnachweis auf Zellkulturen nicht genügend empfindlich ist. Die Methode der Wahl ist hier der Genomnachweis mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

Eine unsachgemässe Probenentnahme oder ein Transport können die Vermehrungsfähigkeit der Viren beeinträchtigen. Labile Viren, wie z.B. die respiratorischen Viren, werden sehr rasch inaktiviert. **Nur mit einer klinischen Probe von guter Qualität ist auch eine gute Diagnostik möglich.** Zur optimalen Konservierung ist ein schneller Transport mit Kühlung zu empfehlen. Eine Lagerung soll wenn immer möglich vermieden werden; wenn dies nicht vermeidbar ist so soll diese bei +4°C erfolgen und 72 Std. nicht überschreiten.

Für virologische Untersuchungen können die meisten klinischen Materialien nativ entnommen und eingeschickt werden. Abstriche und kleine Biopsien müssen aber in einem speziellen Virustransportmedium aufgenommen werden. Urin soll wenn möglich in ein spezielles Urin-Virustransportmedium aufgenommen werden, kann aber nativ eingeschickt werden, sofern die Probe am gleichen Tag im Labor ankommt.

Für Probenentnahme und Transport stellt das Institut die Virustransportmedien und eine Probenversandpackung mit diversen Entnahmegefässen und Kühlelement unentgeltlich zur Verfügung. Diese können jederzeit bei uns angefordert werden:

- Telefon: 044 / 634 29 31

### **Zeitbedarf:**

Der Zeitbedarf für eine Virusisolierung auf Zellkulturen bis zum Vorliegen eines Untersuchungsergebnisses ist je nach Virus, Kulturmethode und Befund unterschiedlich lange:

- Bei negativem Befund wird die Standardkultur in der Regel nach 10 Tagen, im Falle von HSV nach 7 Tagen und im Falle von CMV nach 14 Tagen abgebrochen. Kurzkulturen (= Shell Vial Assays) haben Inkubationszeiten von 2-5 Tagen.



## **Institut für Medizinische Virologie**

- Bei positivem Befund wird sofort ein Bericht erstellt. Diagnostisch relevante positive Resultate werden zusätzlich auch telefonisch übermittelt. Wird für die Identifikation eines nachgewiesenen Virus oder für die Verifikation eines unsicheren Virusnachweises längere Zeit benötigt, so wird der Auftraggeber informiert.

### **3. Virus-Antigennachweis mittels Immunfluoreszenz**

Dieser Test eignet sich vor allem zum schnellen Direktnachweis von Herpes Simplex- oder Varizella Zoster Virus-infizierten Zellen aus **Bläschen/Vesikel** oder Erosionen. Dazu wird mit einem Tupfer Bläscheninhalt und Material von der Vesikelbasis auf einen sauberen Glasobjektträger aufgetragen, luftgetrocknet und ohne weitere Behandlung in einer Schutzhülle ins Labor geschickt.

Einschränkungen und Alternativen:

- Vom eingetrockneten Material auf den Glasobjektträgern kann keine Virus-Isolierung auf Zellkulturen durchgeführt werden.
- Wird das mit dem Tupfer entnommene Material in ein Virustransportmedium übertragen, kann wegen der grossen Verdünnung kein Virus-Direktnachweis mittels Immunfluoreszenz durchgeführt werden. Mit Virusmaterial in Transportmedium wird die Virusisolierung auf Zellkulturen versucht oder der Genomnachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt.
- Mit dem eingetrockneten Material auf Glasobjektträgern kann notfalls auch ein Genomnachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt werden.

Mittels **Augen-Impressionsfiltern** und Immunfluoreszenz können HSV- oder VZV infizierte Zellen der Cornea oder Konjunktiva nachgewiesen werden.

**Zeitbedarf:** Das Resultat ist innerhalb kurzer Zeit (1-2 Stunden) verfügbar und wird in jedem Fall telefonisch übermittelt. Damit ersetzt diese Methode die früher für ähnliche Fragestellungen angeforderte Elektronenmikroskopie.

### **4. Nachweis von Viren mittels Immunchromatographie**

Zum Nachweis von Rota- und/oder Adenoviren wird ein kombinierter immunchromatographischer Lateral-Flow Test („Schnelltest“) eingesetzt, bei dem jeweils gegen die beiden Viren gerichtete monoklonale Antikörper an rote (Rotavirus-spezifisch) oder blaue (Adenovirus-spezifisch) Latexpartikel gekoppelt sind. Als Material eignet sich Nativstuhl bei akuter Diarrhöe. Der Test hat eine eingeschränkte Sensitivität, was bei der hohen Konzentration von Viren in diarrhöischem Stuhl in Kauf genommen werden kann.

**Zeitbedarf:** Das Resultat ist innerhalb kurzer Zeit (1-2 Stunden) verfügbar.

### **5. Virus-Genomnachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**



## **Institut für Medizinische Virologie**

Das Spektrum der verfügbaren, akkreditierten PCR-Untersuchungen ist aus dem Auftragsformular ersichtlich. Weitere PCR-Nachweisverfahren werden laufend entwickelt und in die Routinediagnostik übernommen. Neben den Routine-Analysen sind auch PCR-Untersuchungen für spitalhygienische Abklärungen, neu auftauchende Viruskrankheiten oder bioterroristische Ereignisse verfügbar.

Für aktuelle Informationen und Rückfragen nehmen Sie bitte Kontakt mit uns auf:

- Telefonisch: 079 / 662 89 97

Die meisten PCR-Untersuchungen werden nur in qualitativer Form durchgeführt. Die Resultate werden als positiv oder negativ ausgewiesen. Die Validität des Resultats wird durch die in jedem Lauf mitgeführten Kontrollen sichergestellt.

Quantitative PCR-Untersuchungen (Anzahl Genomkopien/ml oder IE/ml) werden grundsätzlich nur für Blutproben durchgeführt. Die Verlässlichkeit der Mengenangabe wird periodisch durch die Teilnahme an internationalen Ringversuchen und anhand von internen Standards sichergestellt. Die Messunsicherheit der jeweiligen Analyse kann im Labor nachgefragt werden. In speziellen Fällen und nach Absprache können auch mit andern Untersuchungsmaterialien quantitative Untersuchungen durchgeführt werden.

### **Untersuchungsmaterial:**

Eine Mindestmenge von 0.5 ml Untersuchungsmaterial sollte nach Möglichkeit nicht unterschritten werden. Untersuchungen mit kleineren Mengen sind zwar möglich, vermindern aber die Sensitivität und verunmöglichen eine allfällig nötige Wiederholung der Analyse. PCR-Untersuchungen von Blut oder Knochenmark verlangen antikoaguliertes Material. EDTA oder Citrat sind die meist-verwendeten Antikoagulantien und unbedenklich für eine PCR-Analyse. Heparin hemmt die PCR-Reaktion; quantitative Resultate werden durch Heparin ev. vermindert und qualitative Resultate falsch negativ. Aus diesem Grund wird Heparin-haltiges Untersuchungsmaterial in der Regel zurückgewiesen.

### **Zeitbedarf:**

Die Resultate der meisten PCR-Untersuchungen liegen innerhalb von 1-3 Tagen vor. Resultate von selteneren Untersuchungen liegen spätestens innert Wochenfrist vor. Untersuchungen für Viruskrankheiten, bei denen antivirale Substanzen für Therapien zur Verfügung stehen, haben in jedem Fall Vorrang.

### **Spezialuntersuchungen des Nationalen Referenzzentrums für Retroviren (NZR):**

Für einige HIV-Untersuchungen des NZR gelten spezielle Anforderungen betreffend Art und Volumen des Untersuchungsmaterials sowie betreffend Lagerung und Transport desselben. Diese Anforderungen werden einschlägigen Auftraggebern in spezifischen Fachinformationen mitgeteilt.

Für fachspezifische Informationen und Rückfragen betreffend HIV-Diagnostik nehmen Sie bitte Kontakt mit uns auf:

- Telefonisch: 044 / 634 38 06 PD Dr. Jürg Böni, Leiter NZR