

## F. Aktivitäten in Klinischer Diagnostik Activities in Clinical Diagnostics



### Mitarbeiter(innen)/Staff

#### Ärztliche Koordination

##### Medical Coordination

- Dr. med. Klaus Korn, Leiter der Sektion
- PD Dr. med. Antje Knöll, stellvertretende Leiterin
- Dr. med. Philipp Steininger, Assistenzarzt

Tel +49 (0)9131 85 2 2762

Fax: +49 (0)9131 85 2 6485

E-mail: klaus.korn@uk-erlangen.de

Homepage:

<http://www.virologie.uk-erlangen.de>

#### Wissenschaftliche Beratung

##### Scientific Advisors

- Prof. Dr. med. Klaus Überla
- Prof. Dr. med. Armin Ensser
- Prof. Dr. rer. nat. Thomas Gramberg
- PD Dr. med. Frank Neipel

#### Qualitätsmanagementbeauftragte

##### Quality Manager

- Dr. rer. physiol. Angela Nagel

### Medizinisch-technische Assistentinnen

##### Medical Technicians

- Bartlime, Ariane
- Dormann, Monika
- Faust, Nadja (bis 06/2017)
- Fey, Tanja
- Finze, Nathaly
- Holzenleuchter, Karin
- Fischer, Anna-Maria
- Moestel, Regina
- Moschik, Brigitte
- Paatz, Christiane
- Peter, Corinna
- Rausch, Christina
- Schefler, Eugenia (bis 07/2018)
- Schneider, Grit
- Sommerer-Lobensteiner, Melanie
- Zank, Anke
- Ziegler, Christine

#### Verwaltung/Pforte

##### Administration

- Lindenberger, Anita
- Misir, Hülya
- Murrmann, Susanne

## Untersuchungsspektrum/Spectrum of Laboratory Tests

- **Neutralisationstest** zum Nachweis von Antikörpern gegen  
**Neutralization assay** for the detection of antibodies against  
 Coxsackieviren B1-B6  
 Poliovirus Typ 1 und 3
  
- **Indirekte Immunfluoreszenz** zum Antikörpernachweis  
**Indirect immunofluorescence** for antibody detection  
 Epstein-Barr-Virus-Capsid-Antigen IgA-Antikörper  
 Humanes Herpesvirus Typ 6 (IgG-Antikörper, IgM-Antikörper)  
 Humanes Herpesvirus Typ 7 (IgG-Antikörper, IgM-Antikörper)  
 Humanes Herpesvirus Typ 8 (IgG-Antikörper)
  
- **Antigennachweise** mit monoklonalen Antikörpern in der Immunfluoreszenztechnik aus Zellkulturmaterial  
**Antigen detection** *via* immunofluorescence with monoclonal antibodies from cell culture material  
 Herpes-simplex-Virus (einschl. Typendifferenzierung)  
 Adenoviren  
 Enteroviren (gruppenspezifisch)  
 Coxsackie-Viren A9, A24, B1-B6  
 Echoviren 4, 6, 9, 11, 30  
 Enterovirus 70 und 71  
 Poliovirus 1-3  
 Masernvirus  
 Mumpsvirus  
 Rubellavirus  
 Varizella-Zoster-Virus
  
- **ELISA- (ELFA-, CLIA-, CMIA-)Tests** für den Antikörpernachweis gegen:  
**ELISA (ELFA, CLIA, CMIA) tests** for the detection of antibodies against:  
 Adenoviren (IgG- und IgA-Antikörper)  
 Cytomegalovirus (IgG- und IgM-Antikörper, IgG-Aviditätstestung)  
 Epstein-Barr-Virus (anti-VCA-IgG, anti-VCA-IgM, anti-EBNA-IgG)  
 Herpes-simplex-Virus (IgG- und IgM-Antikörper)  
 Varizella-Zoster-Virus (IgG- und IgM-Antikörper)  
 Parvovirus B19 (IgG- und IgM-Antikörper)  
 HIV-1 und HIV-2  
 HTLV-I/II (menschliche T-Zell-Leukämie-Viren)  
 Enteroviren (IgG- und IgM-Antikörper)  
 FSME-Virus (IgG- und IgM-Antikörper)  
 Mumpsvirus (IgG- und IgM-Antikörper)  
 Masernvirus (IgG- und IgM-Antikörper)  
 Rubellavirus (IgG- und IgM-Antikörper)

■ **Immunchromatografische Schnelltests**

**Rapid immunochromatographic tests** for the detection of antibodies/antigens für den Antikörpernachweis gegen Dengue-Virus Typ 1-4 (IgG- und IgM-Antikörper) zum Nachweis von Denguevirus-NS1-Antigen zum Nachweis (Bestätigung und Differenzierung) von Antikörpern gegen HIV-1 und HIV-2

■ **ELISA-/CLIA-/CMIA-Tests** in der **Hepatitis-Serologie** für folgende Parameter:

**ELISA/CLIA/CMIA tests** in **hepatitis serology**

Hepatitis-A-Virus-Antikörper

Hepatitis-A-IgM-Antikörper

HBs-Antigen

HBs-Antigen (quantitativ)

HBe-Antigen

HBs-Antikörper

HBc-Antikörper

HBc-IgM-Antikörper

HBe-Antikörper

Hepatitis-C-Virus-Antikörper

Hepatitis-Delta-Antikörper

■ **Immunoblot-Tests** zum Antikörpernachweis für folgende Viren:

**Immunoblot assays** for antibody detection against the following viruses:

Bunya-/Hantaviren (IgG, IgM für Hantaan-Virus, Puumala-Virus, Dobrava-Virus, Seoul-Viren und Sandfliegenfieber-Virus Toscana)

Hepatitis-C-Virus

Hepatitis-E-Virus (IgG- und IgM-Antikörper)

Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2 (typspezifische Antikörper)

HTLV-1 (menschliches T-Zell-Leukämie-Virus Typ 1) und HTLV-2

Parvovirus B19 (IgG- und IgM-Antikörper)

Tropische Fieber-Viren (IgG und IgM für Chikungunya-, Dengue- und Zikavirus)

■ **Standard-Zellkulturen** für die Anzucht von Viren

**Standard cell cultures** for virus isolation

HeLa-Zellen

Vero-Zellen

RD-Zellen

Hep2-Zellen

Humane Vorhautfibroblasten

■ **Nachweis viraler Nukleinsäure** mittels **PCR** oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationsmethoden für folgende Erreger:

**Detection of viral nucleic acids** using **PCR** or other nucleic acid amplification methods

Herpes simplex-Viren Typ 1 und 2

Varizella-Zoster-Virus

Cytomegalovirus

Epstein-Barr-Virus

Humanes Herpesvirus Typ 6 und 7

Humanes Herpesvirus Typ 8 (Kaposi-Sarkom-assoziiertes-Herpesvirus)

Adenoviren

Parvovirus B19  
Humane Papillomviren  
Polyomaviren BK und JC  
Merkelzell-Polyomavirus  
Trichodysplasia spinulosa-Virus  
Orthopoxviren  
Parapoxviren  
Picornaviren (Polio-, Coxsackie A/B-, Echo-, Rhinoviren)  
Influenzaviren A und B  
Spezifischer Nachweis der Hämagglutinin-Gene von Influenza A H1N1pdm2009, saisonaler Influenza A H3 sowie aviärer Influenza A H5 und H7  
Parainfluenzaviren 1-4  
Respiratory-Syncytial-Virus  
Enteroviren  
Parechoviren  
Rhinoviren  
Metapneumoviren  
Coronaviren (OC43, 229E, NL63 und HKU1, MERS-Coronavirus)  
Mumpsvirus  
Rubellavirus  
Astroviren  
Noroviren Genogruppe 1 und 2  
Rotaviren  
Chikungunya-Virus  
Denguevirus  
FSME-Virus  
West-Nil-Virus  
Zikavirus  
HIV-1 und HIV-2  
HTLV-1 und HTLV-2  
Hepatitis-A-Virus  
Hepatitis-B-Virus  
Hepatitis-C-Virus  
Hepatitis-Delta-Virus  
Hepatitis-E-Virus

■ **Genotypisierungen und Tropismusbestimmungen**

**Genotyping and testing of viral tropism**

Adenovirus-Typisierung (Sequenzanalyse)  
Enterovirus-Typisierung (Sequenzanalyse)  
HBV-Genotypisierung (Sequenzanalyse)  
HCV-Genotypisierung (Sequenzanalyse)  
HIV-1- und HIV-2-Subtypisierung (Sequenzanalyse)  
Bestimmung des Korezeptor-Tropismus von HIV-1 durch Sequenzanalyse  
HPV-Typisierung (typspezifische PCR und Sequenzanalyse)

## ■ Untersuchungen zum Nachweis von Resistenzen gegen Virostatika

### Antiviral drug resistance testing

Genotypische Resistenzbestimmung für HIV-1 durch Sequenzierung und Analyse des Mutationsprofils

- Proteaseinhibitoren
- Reverse Transkriptase-Inhibitoren
- Integrase-Inhibitoren
- Fusionsinhibitoren

Genotypische Resistenzbestimmung für HBV durch Sequenzierung und Analyse des Mutationsprofils

Genotypische Resistenzbestimmung (Ganciclovir) für CMV durch Sequenzierung des UL97-Gens und Analyse des Mutationsprofils

Genotypische Resistenzbestimmung (Aciclovir) für HSV-1 durch Sequenzierung des Thymidinkinase-Gens und Analyse des Mutationsprofils

**Auf Anfrage stellen wir Ihnen gerne unsere „Hinweise für die Einsender“ und ein ausführliches Leistungsspektrum zur Verfügung.**

## Probenaufkommen und besondere Entwicklungen

In den Jahren 2017 und 2018 ist die Zahl der bearbeiteten Proben nach einer Steigerung um über 50% in 2016 nochmals um 10% (2017) bzw. 5% (2018) gegenüber dem jeweiligen Vorjahr angestiegen. Für diesen weiteren Anstieg sind im Wesentlichen noch die in den Vorjahren bereits begonnenen Entwicklungen (ab November 2015 Untersuchungen von Wangenschleimhaut-Abstrichen von Neugeborenen im Rahmen einer Studie zur Häufigkeit der konnatalen CMV-Infektion; ab Mai 2015 teilweise und ab Mai 2016 komplette Übernahme der serologischen Untersuchungen (vor allem Hepatitis- und HIV-Serologie) aus dem Zentrallabor des Universitätsklinikums) verantwortlich. Darüber hinaus war die Influenza-Saison 2017/2018 durch eine deutliche Steigerung der Einsendungen im Vergleich zu den vorhergehenden Jahren geprägt.

### ■ Qualitätskontrolle und Akkreditierung

Im Bereich der Qualitätskontrolle haben wir uns auch in den Jahren 2017 und 2018 am kompletten Programm der Ringversuche zur Virusserologie und Nukleinsäure-Diagnostik durch die nationale Organisation

INSTAND e.V. beteiligt und auch an Pilot-Ringversuchen für neue Testparameter wie beispielsweise der Multiplex-Testung für respiratorische Viren mitgearbeitet. Darüber hinaus sind wir auch weiterhin als Referenzlabor an der Vortestung für die Ringversuche im Bereich HIV und HTLV, für die HEV-PCR und Norovirus-PCR tätig. Nach der Begehung für die erfolgreiche dritte Reakkreditierung nach DIN EN ISO 15189:2014 im November 2016 fand im Mai 2018 eine Überwachungs-Begehung durch einen Fachgutachter statt. Dabei wurde unserem Diagnostik-Labor erneut eine hervorragende Arbeit bescheinigt.

### ■ Der besondere Fall

#### ***Bornavirus als Ursache einer fatalen Enzephalitis bei einem jungen Mann.***

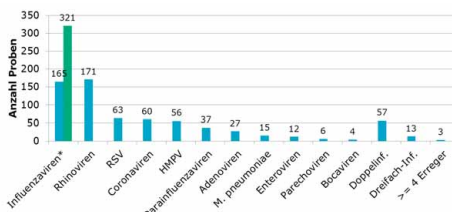
Nachdem im Herbst 2016 in der Neurologischen Universitätsklinik zwei Fälle von Enzephalitis mit tödlichem Ausgang bei jungen Patienten aufgetreten waren, bei denen sich trotz umfangreicher Diagnostik keine Ursache finden ließ, haben wir Mitte 2017 eine ungezielte Suche nach möglichen Krankheitserregern mittels Next Generation Sequencing aus formalin-

fixiertem Hirngewebe der beiden Patienten initiiert. Dabei fanden wir bei einem der beiden Patienten eine große Anzahl (etwa 10.000) Genomfragmente, die dem Virus der Bornaschen Erkrankung (klassisches Bornavirus, BoDV-1) zuzuordnen waren. Die Diagnose einer Bornavirus-Infektion konnte auch durch den RNA-Nachweis im Liquor mittels real-time-PCR, den Antigennachweis im Hirngewebe sowie den Nachweis einer Serokonversion für Bornavirus-Antikörper in zwei Serumproben des Patienten bestätigt werden. Dieser Fall wurde im Oktober 2018 im *New England Journal of Medicine* publiziert. In der gleichen Ausgabe wurde auch über ein Cluster von drei Bornavirus-Erkrankungen (zwei davon ebenfalls mit tödlichem Verlauf) bei Patienten berichtet, die Organe desselben Spenders transplantiert bekommen hatten. Inzwischen sind retrospektiv noch einige weitere Fälle von Bornavirus-Infektionen bei Patienten diagnostiziert worden, die seit den 1990er-Jahren an unklarer Enzephalitis verstorben sind. Die tatsächliche Häufigkeit solcher Erkrankungsfälle und auch die Frage, ob und ggf. wie häufig es auch weniger schwere oder asymptomatische Bornavirus-Infektionen gibt, muss jedoch noch geklärt werden.

#### ■ Epidemiologische Aspekte

**Respiratorische Viren.** Die Einsendungen zum Nachweis respiratorischer Viren haben seit unserer Einführung der Multiplex-Testung für ein breites Panel von respiratorischen Viren im Jahr 2013 kontinuierlich zugenommen und im Jahr 2018 wurden erstmals mehr als 2.000 Proben mit der Multiplex-PCR getestet. Um in den Wintermonaten gerade für die Notaufnahmen ein schnelleres Feedback für positive Influenza-Ergebnisse zu erreichen, haben wir seit der Saison 2017/2018 zusätzlich einen Influenza/RSV-real-time-PCR-Test eingeführt, der im Gegensatz zur batchweisen einmal täglichen Abarbeitung des Multiplex-Tests und der *in-house*-Influenza-PCR als *random-access*-Test eine

umgehende Testung der eingehenden Proben ermöglicht. Mit beiden Tests zusammen sowie einem kleinen Anteil an *in-house*-PCR-Testung kamen wir für 2018 auf gute 3.000 Proben mit einer Positivrate von 33% im gesamten Jahr. Eine Aufschlüsselung nach den einzelnen Erregern zeigt die Abbildung 1. In der Saison 2017/2018 fiel eine starke Dominanz von Influenza-B-Viren (insgesamt 321 Nachweise) auf. Daneben war, wie in den Jahren 2014 und 2016, auch in 2018 wieder eine relativ hohe Zahl von Metapneumovirus (HMPV)-Infektionen zu verzeichnen (56 Fälle im Vergleich zu 18 Fällen im Jahr 2017).



**Abb. 1:** Ergebnisse der Untersuchungen auf respiratorische Viren im Jahr 2018. Positive Proben insgesamt: 1012/3048 (33,2%).

**FSME.** Die Diagnostik der FSME stützt sich im Gegensatz zu den anderen bei uns relevanten viralen ZNS-Infektionen wie Enterovirus- und Herpesvirus-Infektionen nicht primär auf den direkten Erregernachweis mittels PCR im Liquor, sondern auf den serologischen Nachweis von IgM- und IgG-Antikörpern im Serum sowie gegebenenfalls einer virus-spezifischen intrathekalen Antikörperproduktion. Bei etwa 3-10 Fällen von serologisch gesicherter FSME-Erkrankung pro Jahr war es uns auch bisher in keinem Fall gelungen, FSME-RNA im Liquor nachzuweisen. Dies gelang uns erstmals im August 2016, wobei bei diesem Patienten zugleich die FSME-Antikörpertests negativ waren. Zweifel hinsichtlich der Spezifität des PCR-Befundes konnten dadurch entkräftet werden, dass eine Liquorprobe des Patienten in einem anderen Labor sowie eine Folgeprobe in unserem Labor ebenfalls

positiv auf FSME-RNA getestet wurden. Als Ursache für diese Diskrepanz kristallisierte sich heraus, dass der Patient mit dem B-Zell-depletierenden Antikörper Rituximab behandelt worden war, so dass eine Immunantwort auf die FSME-Infektion offensichtlich nicht zustande kam. In den folgenden 12 Monaten konnten wir die gleiche Konstellation aus positivem FSME-RNA-Nachweis und fehlender FSME-Antikörper-Reaktion bei zwei weiteren Patienten beobachten, die beide ebenfalls mit Rituximab behandelt worden waren. Bei allen „normalen“ FSME-Fällen blieben die PCR-Testungen weiterhin negativ, auch in solchen Fällen, die offensichtlich sehr früh diagnostiziert wurden, weil sie initial nur einen positiven IgM-Antikörperrnachweis hatten und eine IgG-Serokonversion erst später nachgewiesen wurde. Diese Besonderheit gilt es daher zu berücksichtigen, wenn Patienten nach Rituximab-Therapie mit der Symptomatik einer Meningitis oder Enzephalitis auffällig werden.

**Enteroviren und Parechoviren.** Im Jahr 2017 erhielten wir seit dem Start im Jahr 2005 die dritthöchste Anzahl von Proben im Rahmen des LaNED-Labornetzwerks für die Enterovirus-Diagnostik. Die Positivrate war mit 27,4% jedoch deutlich niedriger als in den Jahren 2008 (57,7%) und 2013 (66,7%), in denen wir die bisher höchsten Zahlen an Einsendungen hatten. Von den nachgewiesenen Virustypen dominierte 2017 Echovirus 18, was hauptsächlich durch einen Ausbruch in einer Kindertagesstätte bedingt war. Neben den dort betreuten Kindern erkrankten in diesem Rahmen auch einzelne Erwachsene. 2018 waren die Zahl der Einsendungen und auch die Positivrate mit 20,4% nochmals niedriger. Auffällig war, dass nach Echovirus 30, einem in früheren Jahren schon häufig gefundenen Erreger, mit Coxsackievirus A6 ein Virus der Spezies A an zweiter Stelle in der Häufigkeit rangierte, das bisher hauptsächlich als Erreger der Hand-, Fuß-, Mundkrankheit und weniger

als Meningitis-Erreger in Erscheinung getreten ist.

Darüber hinaus fanden wir 2018 in unseren Einsendungen erstmals eine Häufung von Parechovirus-Infektionen mit insgesamt 10 Fällen bei Kindern von unter 2 Jahren. Die ersten Fälle betrafen Neugeborene mit einem relativ schweren Erkrankungsbild im Sinne einer Neugeborenen-Sepsis, was zu einer gewissen Beunruhigung führte. Dass es sich hier nicht um einen nosokomialen Ausbruch handelte, war schon deshalb offensichtlich, weil die Kinder alle bereits krank in die Klinik kamen. Zudem konnten wir durch Sequenzanalysen auch rasch nachweisen, dass schon bei den initialen Fällen zwei verschiedene Parechovirus Typen (PeV3 und PeV5) nachweisbar waren und auch innerhalb eines Typs die Sequenzen bis auf jeweils zwei Fälle deutliche Unterschiede aufwiesen. Einige Wochen später kamen dann noch zwei Fälle von Parechovirus-1-Infektionen hinzu, die sich in ihrer Sequenz ebenfalls deutlich unterschieden. Interessanterweise waren diese beiden Kinder mit 10 bzw. 19 Monaten deutlich älter als die Kinder mit Parechovirus 3- und Parechovirus-5-Infektionen, die alle weniger als 3 Monate alt waren (9-73 Tage bei stationärer Aufnahme). Glücklicherweise sind alle Fälle letzten Endes gutartig und ohne Folgeschäden verlaufen.

**Hantaviren.** Verglichen mit Regionen wie der Schwäbischen Alb, dem Bayerischen Wald oder dem Spessart sind Hantavirus-Infektionen in unserem Einzugsgebiet eine Seltenheit. Lediglich in den Jahren, wo deutschlandweit über 2.000 Fälle registriert wurden (2010 und 2012), wurden auch bei uns zwischen 5 und 10 Fällen diagnostiziert. Insofern war das Jahr 2017 – bundesweit mit etwas über 1.700 Fällen das Jahr mit der bisher dritthöchsten Zahl an Meldungen – mit insgesamt 13 Fällen von Hantavirus-Infektionen auch für uns sehr ungewöhnlich. Alle Fälle traten zwischen Anfang April und Ende August auf, wobei

zwei Häufungen mit vier bzw. fünf Fällen zwischen dem 25.04. und 05.05. sowie zwischen dem 21.07. und 08.08. auffielen. Wie bei Hantavirus-Infektionen üblich überwog das männliche Geschlecht mit 11 der 13 Fälle deutlich. Die Altersverteilung war aber mit 9 Personen unter 45 Jahren anders als deutschlandweit, wo die höchste

Inzidenz 2017 bei den 50-59-Jährigen beobachtet wurde. Im Jahr 2018 lag die Zahl der diagnostizierten Hantavirus-Fälle dann wieder bei nur noch zwei, wobei diese auffälligerweise beide erst spät im Jahr (Mitte November und Mitte Dezember) auftraten.

## Trends and particular events in viral diagnostics

In the years 2017 and 2018, the number of samples submitted to our diagnostic laboratory increased by a further 10% and 5%, respectively after the largest-ever increase of more than 50% in the year 2016. This further increase was still mainly due to the two changes that had already started earlier (from November 2015 onwards testing of buccal swab samples from newborns for a study on congenital CMV infection, from May 2015 partial and from May 2016 complete takeover of the infectious disease serology (mainly tests for hepatitis viruses and HIV) from the central clinical chemistry laboratory of the university hospital). Furthermore, the 2017/2018 influenza season was characterized by an extraordinarily high number of samples compared to previous years.

### ■ Quality control and accreditation

Also in 2017 and 2018, we continuously participated in the complete quality control program of the national QC organization INSTAND e.V., both for serology and for detection of viral nucleic acids. Additionally, we were also active in a number of pilot trials for quality control like multiplex testing for respiratory viruses. Furthermore, we continued to work as a reference laboratory for the pretesting of samples for the QC trials in HIV and HTLV serology as well as for the PCR programmes for HIV-1, HIV-2, hepatitis E virus and norovirus.

After the successful third re-accreditation of our diagnostic laboratory according to DIN EN ISO 15189:2014 in November 2016, we

had one interim inspection in May 2018, when the auditor again complimented our laboratory for its excellent work.

### ■ A case of particular interest

#### *Borna disease virus as cause of fatal encephalitis in a young man.*

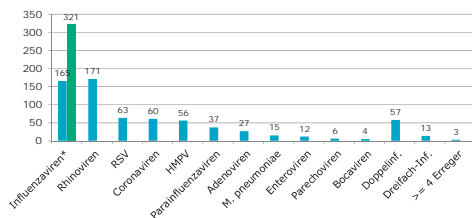
In autumn of 2016, two fatal cases of encephalitis occurred in young men in our university hospital, where no underlying cause could be found despite of extensive diagnostic efforts. Therefore, we started a search for potential pathogens in formalin-fixed brain tissue of both patients using next-generation sequencing. Introducing this approach, we found a large number (about 10,000) genome fragments corresponding to Borna disease virus (BoDV-1). The diagnosis of Bornavirus infection could be further confirmed by the detection of viral RNA in the CSF using real-time PCR, immunohistochemical detection of Bornavirus antigen in brain tissue and demonstration of seroconversion for Bornavirus antibodies in two serum samples from the patient. This case report was published in October 2018 in the New England Journal of Medicine. In the same issue, another report was published describing a cluster of three cases of Bornavirus encephalitis (two of them fatal) in patients who had received solid organ transplants from the same donor. Meanwhile, a number of other cases of Bornavirus infection have been diagnosed retrospectively in patients who died from encephalitis during the last 25 years. The actual frequency of such cases as well as the question if there are also less severe or



asymptomatic Bornavirus infections in humans still has to be investigated.

### ■ Epidemiological aspects

**Respiratory viruses.** Since the introduction of multiplex PCR for a broad spectrum of respiratory viruses in 2013, the number of samples submitted for this assay has continuously increased and reached 2,000 samples per year in 2018. In addition to this multiplex testing, which is carried out in a batchwise mode once daily, we have introduced a random-access test for influenza and RSV in the 2017/2018 influenza season to enable a faster feedback especially for the emergency departments. With these two assays and some in-house PCR testing for influenzaviruses, we reached over 3,000 samples with a positivity rate of 33% in 2018. Figure 1 shows the distribution of the detected pathogens. In the 2017/2018 season, there was a clear dominance of influenza B viruses with a total of 321 positive samples. Besides this, we also observed a relatively high number of metapneumovirus (HMPV) infections (56 cases compared to 18 cases in 2017), similar to the years 2014 and 2016.



**Figure 1:** Results of PCR testing for respiratory viruses in 2018.

Total number of positive samples: 1012/3048 (33.2%)

**Tick-borne encephalitis.** In contrast to most other important pathogens of viral CNS infections like enteroviruses and herpesviruses, diagnosis of tick-borne encephalitis (TBEV) does not primarily rely on the detection of viral nucleic acid in CSF, but rather on the detection of IgM and IgG antibodies in serum and eventually also the detection of TBEV-specific intrathecal

antibody synthesis. Actually, we never succeeded in the detection of TBEV RNA in CSF among the 3-10 patients with serologically confirmed TBE that we observe per year. The first detection of TBEV RNA in a CSF sample was in August 2016, and this was in a patient with negative antibody tests for TBEV. Doubts about the specificity of the PCR result could be disproved by the fact that a CSF sample from the same patient was tested positive for TBEV RNA in another laboratory and that a follow-up CSF sample in our lab was also positive for TBEV RNA. The reason for this discrepancy between virus detection and the lack of antibody production obviously was treatment with rituximab, a B cell-depleting monoclonal antibody. In the following 12 months, we found the same combination of positive TBEV RNA and negative antibody response in two other patients, who had both also been treated with rituximab. Among the “normal” TBE cases, PCR testing of the CSF remained negative, even in cases that were diagnosed early and had only IgM antibodies detectable in the first serum sample and IgG seroconversion was detected later on. This particularity has to be kept in mind when patients after treatment with rituximab present with symptoms of meningitis or encephalitis.

**Enteroviruses and parechoviruses.** In 2017, we received the third highest number of samples for enterovirus detection in the LaNED laboratory network since the start of this project in 2005. However, the positivity rate of 27.4% was rather low compared to the two years with the highest number of samples (2008: 57.7% and 2013: 66.7%). Among the virus types detected in 2017, echovirus 18 was most frequent. This was mainly due to an outbreak in a kindergarten, which included also a few adults who developed symptoms of meningitis. In 2018, the number of samples was somewhat lower and also the positivity rate further decreased to 20.4%. With respect to the distribution of virus types, it was remarkable that the

second most frequent type after echovirus 30, which has been frequently detected in previous years, was now Coxsackievirus A6. This serotype has up to now been noticed mainly as a cause of hand-, foot- and mouth disease, but not as a cause of viral meningitis.

Another peculiarity in 2018 was the observation of a cluster of parechovirus infections with a total number of 10 cases in children less than 2 years of age. The first cases were in newborns with relatively severe sepsis-like illness, which led to some degree of concern. However, since all newborns were already sick when they were admitted to the hospital, it was clear that this was not a nosocomial outbreak. Furthermore, we rapidly found out by sequencing that already among these initial cases two parechovirus types (PeV3 and PeV5) were circulating and that also within each type, the sequences were significantly different from each other except for two cases among each type. A few weeks later, we found two cases in which parechovirus 1 was detected, both again clearly different from each other. Interestingly, the two PeV1 cases were 10 and 19 months old and thus a lot older than the PeV3 and PeV5 cases, which were all younger than 3 months (9 and 73 days when admitted to the hospital). Fortunately, the clinical course in all patients was finally rather benign and no sequelae were observed.

■ **Hantaviruses.** Compared to regions like the Swabian Alb or the Bavarian forest, hantavirus infections are quite rare in our area. Only in those years when extraordinarily high numbers of more than 2,000 cases were reported in Germany (2010 and 2012), we also had a handful of cases in our submissions. Insofar, the number of 13 hantavirus cases that we observed in 2017 was very remarkable. All of the cases occurred between April and August, with two clusters of four and five cases between April 25 and May 5, and between July 21 and August 8, respectively.

As usual in hantavirus infections, there was a strong preponderance for males with 11 out of the 13 cases. The age distribution, however, was quite different from that found in Germany as a whole, since 9 of the 13 patients were younger than 45 years, whereas in the nationwide reporting, the highest incidence was observed in the age group of 50-59 years. In 2018, the number of hantavirus cases diagnosed declined to two again, and interestingly both of these cases occurred unusually late in the year (mid-november and mid-december).

---

### Ausgewählte Publikationen/ Selected References

- Korn, K., Coras, R., Bobinger, T., Herzog, S.M., Lücking, H., Stöhr, R., Huttner, H.B., Hartmann, A., Ensser, A. (2018). Fatal Encephalitis Associated with Borna Disease Virus 1. *N Engl J Med.* 379(14): 1375-1377. doi:10.1056/NEJMc1800724.
- Ruegamer, T., Hoffmann, R., Rohrhofer, A., Audebert, F., Salzberger, B., Korn, K., Schuster, P., Eichler, J., Schmidt, B. (2018). Inhibition of HIV-1 infection by human pegivirus type 1-derived peptides is affected by human pegivirus type 1 genotype and HIV-1 coreceptor tropism. *AIDS.* 32(14): 1951-1957. doi:10.1097/QAD.0000000000001926.
- Steininger, P.A., Bobinger, T., Dietrich, W., Lee, D.H., Knott, M., Bogdan, C., Korn, K., Lang, R. (2017). Two Cases of Severe Tick-Borne Encephalitis in Rituximab-Treated Patients in Germany: Implications for Diagnosis and Prevention. *Open Forum Infect Dis.* 4(4): ofx204. doi: 10.1093/ofid/ofx204.
- Bartenhagen, C., Fischer, U., Korn, K., Pfister, S.M., Gombert, M., Chen, C., Okpanyi, V., Hauer, J., Rinaldi, A., Bourquin, J.P., Eckert, C., Hu, J., Ensser, A., Dugas, M., Borkhardt, A. (2017). Infection as a cause of childhood leukemia: virus detection employing whole genome sequencing. *Haematologica.* 102(5): e179-e183. doi:10.3324/haematol.2016.155382.
- Steininger, P.A., Strasser, E.F., Ziehe, B., Eckstein, R., Rauh, M. (2017). Change of the metabolomic profile during short-term mononuclear cell storage. *Vox Sang.* 112(2):

163-172.

doi: 10.1111/vox.12482.

- Goerig, N.L., Frey, B., Korn, K., Fleckenstein, B., Überla, K., Schmidt, M.A., Dörfler, A., Engelhorn, T., Eyüpoglu, I., Rühle, P.F., Putz, F., Semrau, S., Gaipl, U.S., Fietkau, R. (2016). Frequent occurrence of therapeutically reversible CMV-associated encephalopathy during radiotherapy of the brain. *Neuro Oncol.* 18(12): 1664-1672.
- Böttcher, S., Obermeier, P.E., Neubauer, K., Diedrich, S., Laboratory Network for Enterovirus Diagnostics. (2016). Recombinant Enterovirus A71 Subgenogroup C1 Strains, Germany, 2015. *Emerg Infect Dis.* 22(10): 1843-1846.  
doi: 10.3201/eid2210.160357.