


Virologisches Institut	Testverfahren, Probenmaterial & Störfaktoren – Version J Freigegeben ab: 08.09.2022	Universitätsklinikum Erlangen 
-----------------------------------	---	--


Ligandenassay (ELISA, ELFA, CLIA, CMIA)

Prinzip	Virale Antigene bzw. Antikörper liegen an eine Festphase (z.B. Mikrotiterplatte) gebunden vor. Im Patientenmaterial enthaltene viruspezifische Antikörper/Antigene binden an diese Festphasenproteine. Der so entstandene Antigen-Antikörperkomplex wird mit Hilfe eines enzym- oder fluoreszenzmarkierten Konjugats (z.B. ein Zweitantikörper) nachgewiesen, wobei die bei der Reaktion detektierbare Farbintensität im linearen Messbereich des Tests proportional zur Konzentration der Antigene/Antikörper im Untersuchungsmaterial ist.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> • ikterische, lipämische, hämolytische, bakteriell kontaminierte oder hitzeinaktivierte Proben • Rheumafaktoren, Autoantikörper → falsch positive IgM-Nachweise • Blut im Liquor → verfälschte Serum-Liquor Quotienten von Antikörpern • unsachgemäße Probenlagerung vor der Analyse • mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben • in der Probe enthaltene Präzipitate

Erreger & geeignetes Untersuchungsmaterial

	Plasma	Serum	Liquor
Adenovirus (IgG, IgA)	x	x	
CMV (IgG, IgM)	x	x	x
CMV IgG-Avidität	x	x	
EBV (VCA-IgG, VCA-IgM, EBNA-IgG)	x	x	
Enterovirus (IgG, IgM)	x	x	
FSME (IgG, IgM)	x	x	x
Hep.-A-Virus (IgG, IgM)	x	x	
Hep.-B-Virus (HBcAk, HBc IgM, HBcAg, HBcAk, HBsAg, HBsAk)	x	x	
Hep.-C-Virus (Ak)	x	x	
Hep.-D-Virus (Ak)		x	
Hep.-E-Virus (IgG, IgM)	x	x	
HSV 1/2 (IgG, IgM)	x	x	x
HIV 1/2 (Ak)	x	x	
HIV 1 p24 Ag	x	x	
HTLV 1-2 (Ak)	x	x	
Masern (IgG, IgM)	x	x	
Mumps (IgG, IgM)	x	x	
Rubellavirus (IgG, IgM)	x	x	
SARS-CoV-2 (IgG)	x	x	
VZV (IgG, IgM)	x	x	x
WNV (IgG, IgM)	x	x	

° Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

Virologisches Institut	<p style="text-align: center;">Testverfahren, Probenmaterial & Störfaktoren – Version J</p> <p style="text-align: center;">Freigegeben ab: 08.09.2022</p>	<p style="text-align: center;">Universitätsklinikum Erlangen</p> 
---------------------------	--	---

Immunoblot

Prinzip	Virale Antigene werden entsprechend ihrem Molekulargewicht elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend auf eine Nitrozellulosemembran transferiert (klassischer Immunoblot) oder als separate Banden auf eine Trägermembran aufgebracht. Dadurch wird eine sichere Identifizierung von spezifischen Antikörpern gegen definierte Antigene des Virus ermöglicht. Die Teststreifen werden mit dem Patientenserum inkubiert, wobei sich im Probenmaterial vorhandene Antikörper an die Antigene auf den Teststreifen anlagern. Ungebundene Antikörper werden in einem Waschschrift entfernt. Durch Zugabe eines enzymgekoppelten zweiten Antikörpers, der an den Antigen-Antikörper-Komplex bindet, wird eine Farbreaktion ausgelöst, die als dunkle Bande(n) auf dem Teststreifen sichtbar wird.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> • unsachgemäße Probenlagerung vor der Analyse • mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben • ikterische, lipämische, hämolytische, bakteriell kontaminierte oder hitzeinaktivierte Proben können zu falsch positiven Ergebnissen führen • Rheumafaktoren, Autoantikörper → falsch positive IgM-Nachweise
Erreger	Bunyavirus IgG/IgM, HCV Ak, HEV IgG/IgM, HTLV 1/2 Ak, HSV 1/2 IgG, Parvovirus B19 IgG/IgM, tropische Viren [°]
Untersuchungsmaterial	Serum, Plasma

[°] Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

Immunchromatographie

Prinzip	An eine Membranfestphase sind Virusantigene (<i>im Fall des NS1Ag-Nachweis Virusantikörper</i>) gebunden. In einer reaktiven Probe werden die Antikörper (<i>bzw. das NS1Ag</i>) während der chromatographischen Wanderung über die Membran von den im Testbereich immobilisierten Antigenen (<i>Antikörpern</i>) gebunden. Das mit kolloidalem Gold gekoppelte Konjugat lagert sich an die gebundenen Antikörper (<i>bzw. das gebundene Antigen</i>) an und führt zur Ausbildung von sichtbaren Banden auf der Membran.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> • mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Probe • ikterische, lipämische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben
Erreger	Denguevirus IgG [°] /IgM [°] /NS1Ag [°] , HIV 1/2 Ak-Bestätigungstest
Untersuchungsmaterial	Serum, Plasma

[°] Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

Nukleinsäurenachweis

Prinzip	Spezifischer Nachweis geringster Mengen an Virus-DNA oder -RNA durch eine enzymatisch regulierte exponentielle Vermehrung eines oder mehrerer genau definierter Virusgenom-Abschnitte.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> • zu lange Transportzeit bzw. unsachgemäße Probenlagerung vor der Analyse → Gefahr der Nukleinsäure-Degradation und somit falsch negativer Ergebnisse • PCR-Inhibitoren, z.B. Heparin, Hämoglobin • mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Probenextrakte • Enzyme wie RNAsen o.ä. können zum Abbau der Virus-Nukleinsäure führen

Erreger & geeignetes Untersuchungsmaterial

	EDTA-Blut	Plasma	Serum	Liquor	Knochenmark	BAL	Trachealsekret	Gurgelwasser	Abstrich	Urin	Stuhl	Punktate, Bläscheninhalt	Biopsie	Kammerwasser	Fruchtwasser
Adenovirus DNA	x			x		x	x	x	x ⁴	x	x		x		
Astrovirus RNA											x				
BK-Virus DNA		x	x							x					
Bocavirus DNA						x	x	x	x ¹						
Bornavirus RNA			x	x									x		
Denguevirus RNA		x	x							x					
Chikungunyavirus RNA		x	x							x					
Coronaviren RNA						x	x	x	x ¹						
CMV DNA	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
EBV DNA	x			x	x	x			x	x	x	x	x	x	
FSME Virus RNA°		x	x	x						x					
Hep.-A-Virus RNA			x								x				
Hep.-B-Virus DNA		x	x										(x)		
Hep.-C-Virus RNA		x	x										(x)		
Hep.-D-Virus RNA		x	x										(x)		
Hep.-E-Virus RNA		x	x								x				
HSV 1/2 DNA	x			x		x	x	x	x ²			x	x	x	
HIV 1 RNA	x	x		x											
HIV 2 RNA	x	x													
HIV 1/2 DNA	x														
HTLV 1/2 DNA	x														
HHV-6 DNA	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
HHV-7 DNA	x			x											
HHV-8 DNA	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x		
Hum. Metapneumovirus A/B RNA						x	x	x	x ¹						
Influenzavirus A/B RNA						x	x	x	x ¹						
JC-Virus DNA		x	x	x		x				x			x		

	EDTA-Blut	Plasma	Serum	Liquor	Knochenmark	BAL	Trachealsekret	Gurgelwasser	Abstrich	Urin	Stuhl	Punktate, Bläscheninhalt	Biopsie	Kammerwasser	Fruchtwasser
Masern RNA		x		x					x ¹	x					
Mumps RNA				x					x ¹	x					
Mycoplasma pneumoniae DNA						x	x	x	x ¹						
Noroviren RNA											x				
Ortho- und Parapoxviren DNA (inkl. Affenpocken)	x								x ²			x	x		
Papillomvirus DNA									x ^{2,3}				x		
Parainfluenzavirus RNA						x	x	x	x ¹						
Parechovirus RNA				x		x	x	x	x ¹						
Parvovirus B19 DNA	x,#		(x)	x	x								x		x
Picornavirus (Enter-, Rhino-) RNA		x	x	x		x	x	x	x ¹		x	x	x		
RSV RNA						x	x	x	x ¹						
Rotavirus RNA											x				
Rubellavirus RNA	#						x	x		x		*	x		x
SARS-CoV-2 RNA	(x)					x	x	x	x ¹		(x)				
Trichodysplasia spinulosa Polyomavirus DNA ^o		(x)	(x)							(x)			x		
VZV DNA	x			x		x	x	x	x			x	x	x	
West-Nil-Virus RNA	x	x	x	x						x					
Zikavirus RNA			x							x					

* Amnionflüssigkeit, # Nabelschnurblut, Abstriche: ¹ Nase/Rachen, ² Haut-/Schleimhautläsionen, ³ Cervix, ⁴ Bindehaut
^o Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

Genotypisierung/Empfindlichkeitstestung

Prinzip	Nach Amplifikation der Virusnukleinsäure (s. oben) wird die Sequenz der gewonnenen DNA (Verfahren nach Sanger) automatisiert ermittelt. Die Auswertung der Sequenz (Virustypisierung, Mutationsanalyse zur Empfindlichkeitsbestimmung) erfolgt im Anschluss durch computer-assistierte Vergleich mit Virus-Wildtyp-Sequenzen.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> mehrfaches Auftauen und Einfrieren der PCR-Amplifikate schlechte Sequenzqualität erschwert Auswertung/ Zuordnung/ Interpretation Proben mit geringen Viruskonzentrationen: ggf. sind keine Genomabschnitte für die Sequenzanalyse amplifizierbar

Erreger & geeignetes Untersuchungsmaterial

	EDTA-Blut	Plasma	Serum	Liquor	Knochenmark	BAL	Trachealsekret	Gurgelwasser	Nasenrachenabstrich, Abstrich	Urin	Stuhl	Punktate, Bläscheninhalt	Biopsie	Kammerwasser	Fruchtwasser
CMV genotypische Resistenztestung (UL97)	x			x		x	x			x			x		
HBV Genotypisierung		x	x												
HBV genotypische Resistenztestung		x	x												
HCV Genotypisierung		x	x												
HEV Genotypisierung		x	x								x				
Parechovirus Genotypisierung		x	x	x					x		x				
HSV-1 genotypische Resistenztestung ^o				x		x	x	x	x			x	x		
HIV-1 genotypische Resistenztestung Protease, reverse Transkriptase	x	x		x											
HIV-1 genotypische Resistenztestung Integrase	x	x		x											
HIV-1 genotypische Resistenztestung T20 ^o	x	x													
HIV-1 Korezeptor-Tropismusbestimmung	x	x													
HIV-1 Korezeptor-Tropismusbestimmung, proviral	x														
HIV-2 genotypische Resistenztestung Protease, reverse Transkriptase ^o	x	x													

^o Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

Virologisches Institut	<p style="text-align: center;">Testverfahren, Probenmaterial & Störfaktoren – Version J</p> <p style="text-align: center;">Freigegeben ab: 08.09.2022</p>	<p style="text-align: center;">Universitätsklinikum Erlangen</p> 
---------------------------	--	---

Indirekte Immunfluoreszenz

Prinzip	Bei der indirekten Immunfluoreszenz zum Antikörpernachweis werden auf einen Objektträger aufgebraute infizierte Zellen mit Patientenserum inkubiert. Im Patientenmaterial vorhandene Antikörper binden an die infizierten Zellen. Durch Zugabe eines weiteren fluoreszenzmarkierten Antikörpers, der gegen humanes Immunglobulin gerichtet ist, werden die an die Zellen gebundenen Antikörper aus dem Probenmaterial sichtbar gemacht. D.h. wenn Antikörper im Patientenmaterial vorhanden sind, leuchten die infizierten Zellen durch das gebundene fluoreszenzmarkierte Konjugat auf.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> • Autoantikörper können zu falsch positiven Ergebnissen führen • mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben • kontaminierte Proben • hämolytische, ikterische, mikrobiell kontaminierte oder hitzeinaktivierte Proben können zu falsch positiven Ergebnissen führen
Erreger	EBV VCA IgA, HHV-6 IgG/IgM, HHV-7 IgG/IgM ^o , HHV-8 IgG
Untersuchungsmaterial	Serum, Plasma

^o Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs