Ligandenassay (ELISA, ELFA, CLIA, CMIA)

Prinzip	Virale Antigene bzw. Antikörper liegen an eine Festphase (z.B. Mikrotiterplatte) gebunden vor. Im Patientenmaterial enthaltene virusspezifische 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	• 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	
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, HBeAg, HBeAk, HBsAg, HBsAk)	x	x	
Hep.-C-Virus (Ak)	x	x	
Hep.-D-Virus (Ak)	x	x	
Hep.-E-Virus (IgG, IgM)	x	x	
HSV 1/2 (IgG, IgM)	x	x	x
HIV 1/2 (Ag+Ak)	x	x	
HTLV 1-2 (Ak)	x	x	
Masern (IgG, IgM)	x	x	
Mumps (IgG, IgM)	x	x	
Parvovirus B19 (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	x

° Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

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 Waschschritt 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	• 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 *(im Fall des NS1Ag-Nachweis Virusantikörper)* gebunden. In einer reaktiven Probe werden die Antikörper *(bzw. das NS1Ag)* während der chromatographischen Wanderung über die Membran von den im Testbereich immobilisierten Antigenen *(Antikörpern)* gebunden. Das mit kolloidalem Gold gekoppelte Konjugat lagert sich an die gebundenen Antikörper *(bzw. das gebundene Antigen)* an und führt zur Ausbildung von sichtbaren Banden auf der Membran.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	• 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	• 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]						
SARS-CoV-2 RNA	(x)					x	x	x	x[1]	(x)	(x)				
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												
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	x	x	x	x	x	x	x	x	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]						

	EDTA-Blut	**Plasma**	**Serum**	**Liquor**	**Knochenmark**	**BAL**	**Trachealsekret**	**Gurgelwasser**	**Abstrich**	**Urin**	**Stuhl**	**Punktate, Bläscheninhalt**	**Biopsie**	**Kammerwasser**	**Fruchtwasser**
Influenzavirus A/B RNA						x	x	x	x[1]						
JC-Virus DNA		x	x	x		x				x			x		
Masern RNA									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 (Entero-, 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	x[1]	x		*	x		x
Trichodysplasia spinulosa Polyomavirus DNA°		(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							x					

* Amnionflüssigkeit, # Nabelschnurblut, Abstriche: [1] Nase/Rachen, [2] Haut-/Schleimhautläsionen, [3] Cervix, [4] Bindehaut

° 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-assistierten Vergleich mit Virus-Wildtyp-Sequenzen.
Einflussgrößen/ Störfaktoren	• 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**
Adenovirus Genotypisierung	x			x		x	x	x	x	x	x		x		
CMV genotypische Resistenztestung (UL97)	x			x		x	x			x			x		
HAV Genotypisierung			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				
Picornavirus Genotypisierung		x	x	x		x	x	x	x		x	x	x		
HSV-1 genotypische Resistenztestung°				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 Korezeptor-Tropismusbestimmung	x	x		x											
HIV-1 Korezeptor-Tropismusbestimmung, proviral	x														
HIV-2 genotypische Resistenztestung Protease, reverse Transkriptase°	x	x													

° Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs

Indirekte Immunfluoreszenz

Prinzip	Bei der indirekten Immunfluoreszenz zum Antikörpernachweis werden auf einen Objektträger aufgebrachte 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	• 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	HHV-6 IgG/IgM, HHV-7 IgG/IgM°, HHV-8 IgG
Untersuchungsmaterial	Serum, Plasma

° Untersuchung außerhalb des Akkreditierungsbereichs