

Virologische Diagnostik von Hantavirusinfektionen

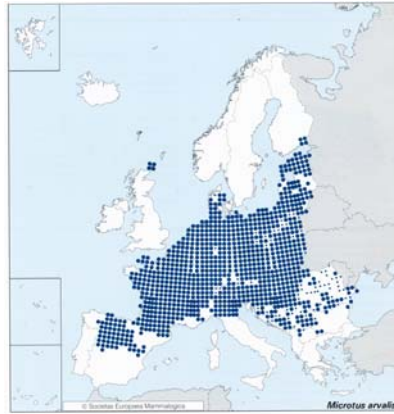
Jörg Hofmann
Institut für Medizinische Virologie
Charite Universitätsklinikum Berlin
Nationales Konsiliarlabor für Hantaviren



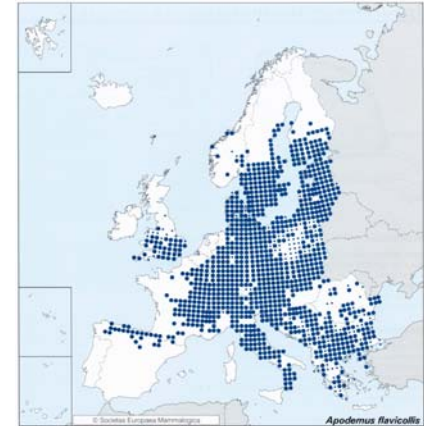
Gerrit Dou, Der Arzt. 1653, (Wien, Kunsthistorisches Museum)

In Deutschland kommen 3 (4) Träger von humanpathogenen Hantaviren vor

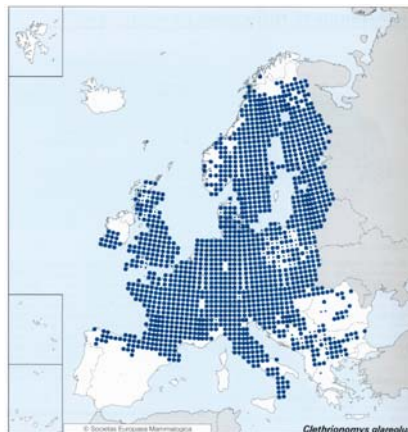
Feldmaus
(*M. arvalis*)



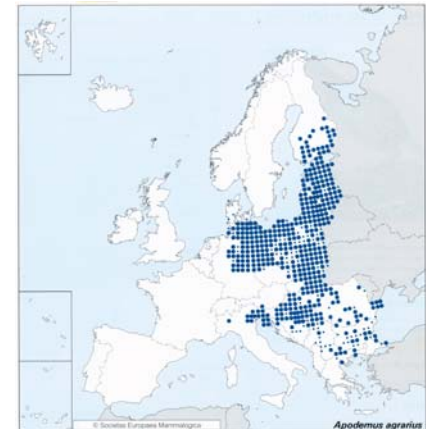
Gelbhalsmaus
(*A. flavicollis*)



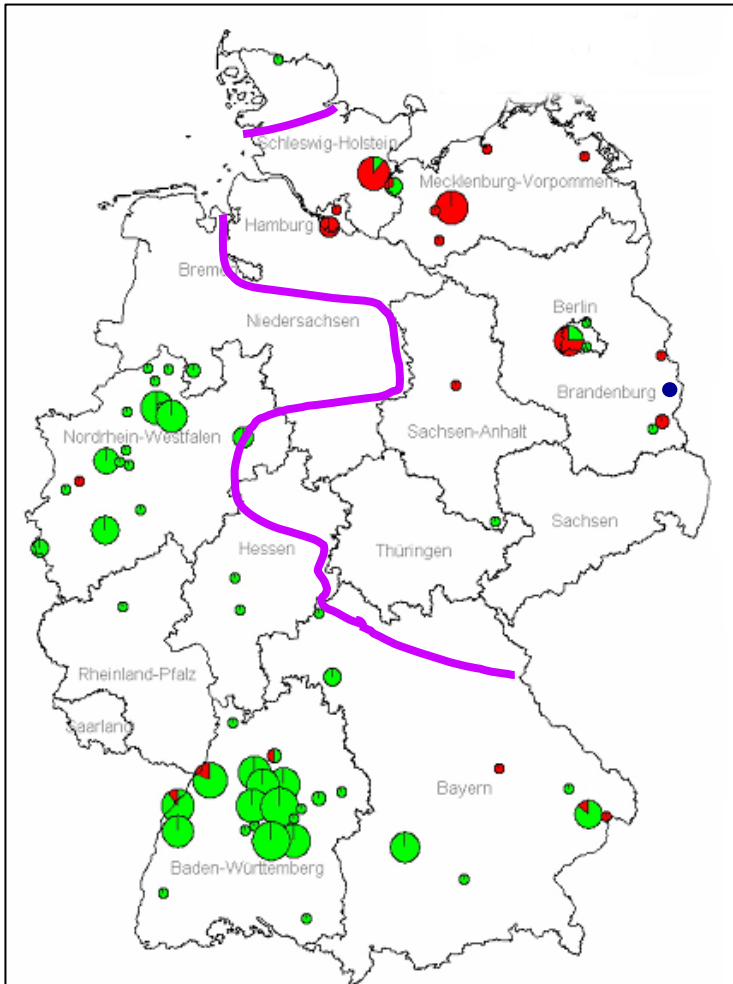
Rötelmaus
(*C. glareolus*)



Brandmaus
(*A. agrarius*)



HFRS in Deutschland



Retrospektive Serotypisierung
von 247 HFRS-Fällen 1998-2002

- DOBV-Infektionen (19 %)
- PUUV-Infektionen (81 %)
- TULV-Infektion (1. Fall)

2010: Überprüfung 4 Dobravainfektionen
in Süddeutschland:
Einsendungen aus Greifswald und
Rostock an Labor Enders

Daten erhoben von: Berlin (Charité), Hamburg (BNI), Stuttgart (Labor Enders)

Säulen der Hantavirus – Diagnostik

Serologisch

IgM, IgG – EIA

Immunblot

Immunfluoreszenz

FRNT (Typisierung)

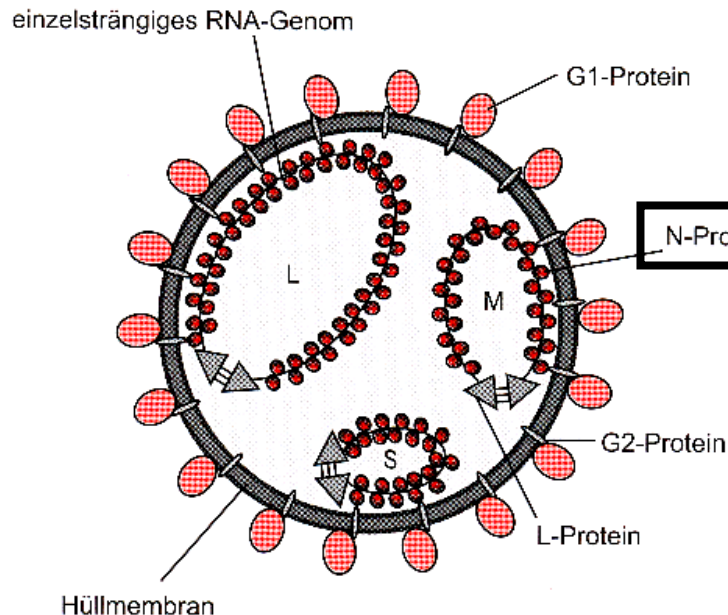
Schnellteste

Molekularbiologisch

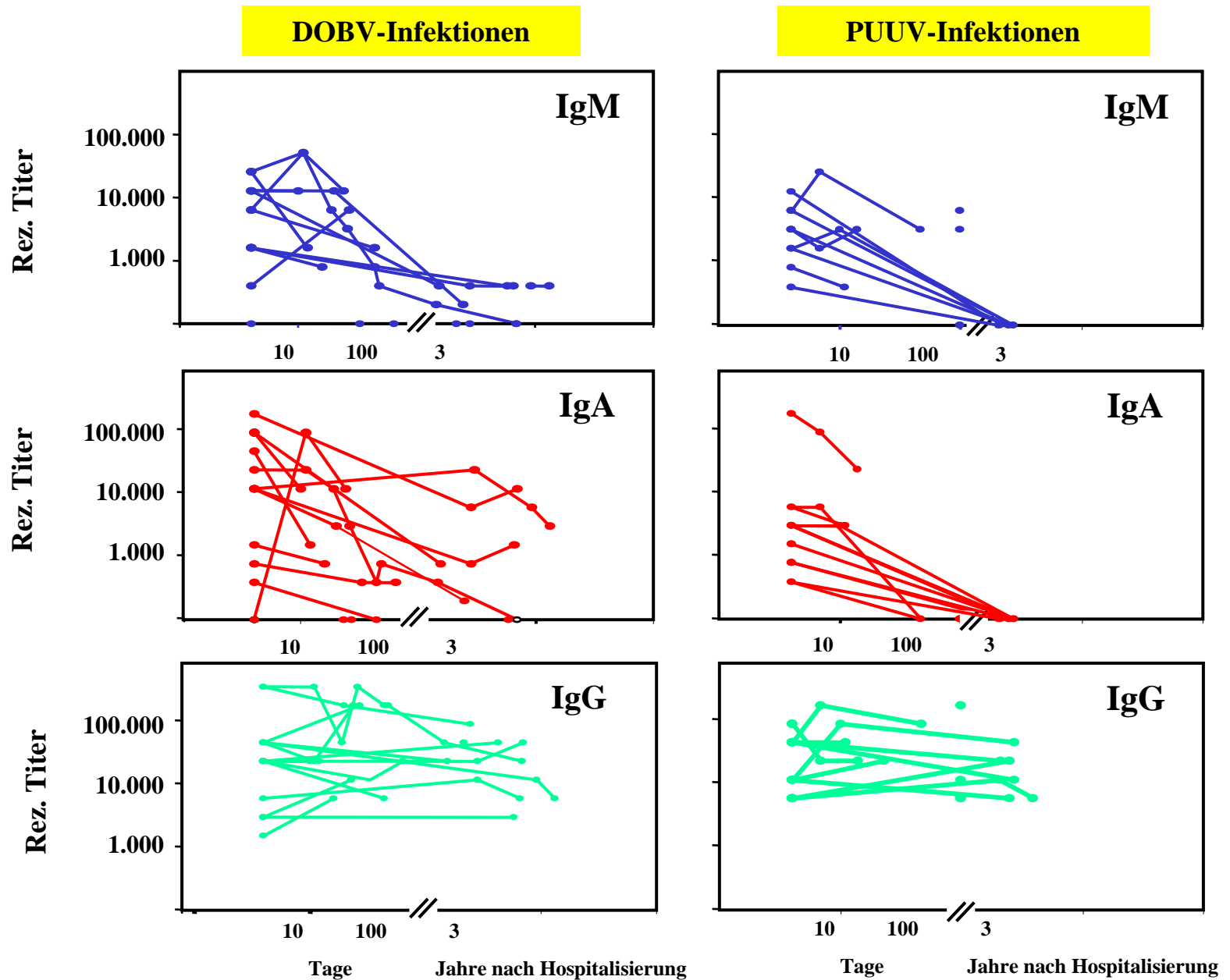
RT-PCR (S- oder L-Gen)

Virusisolation

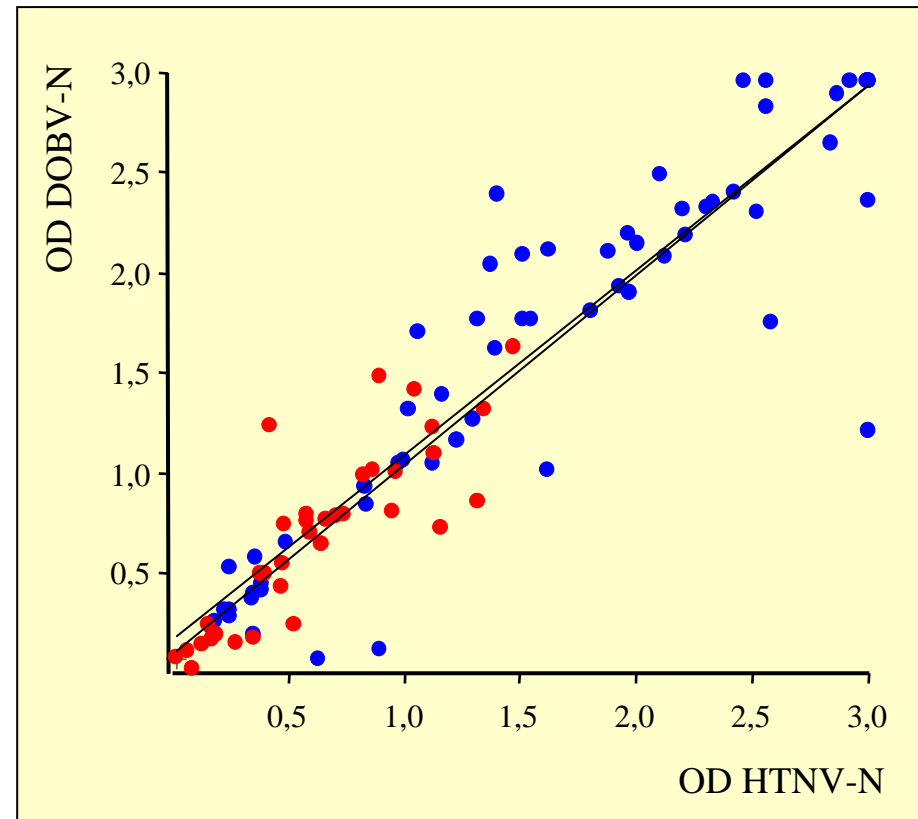
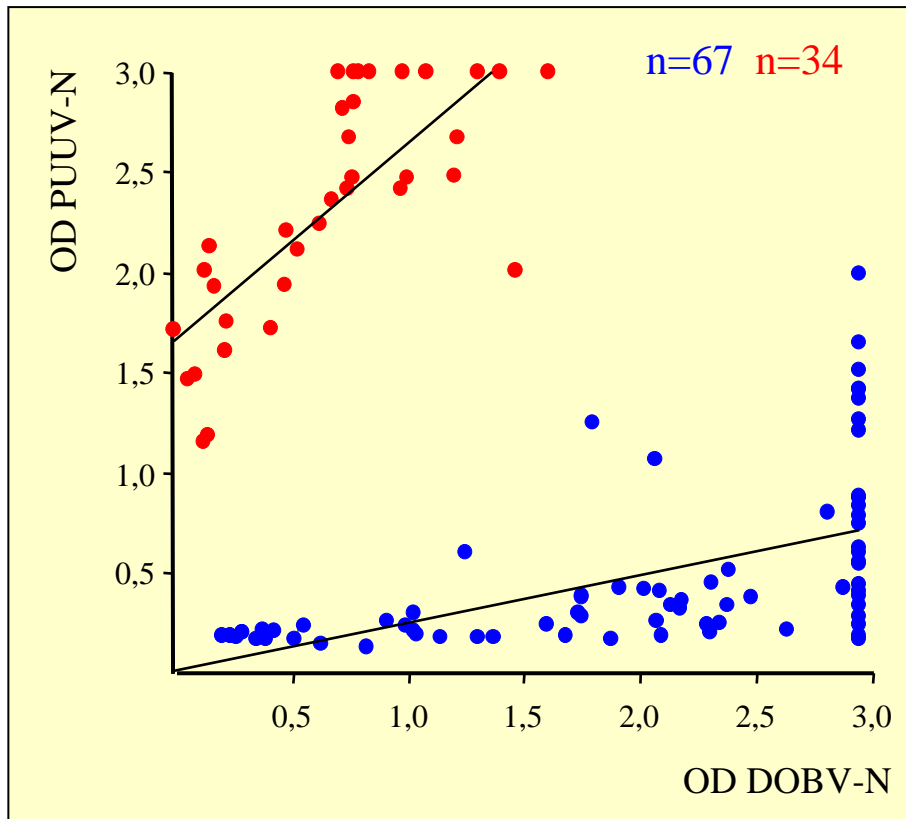
BSL 3 erforderlich!



Humorale Antwort in der akuten und Rekonvaleszenzphase (n = 34)

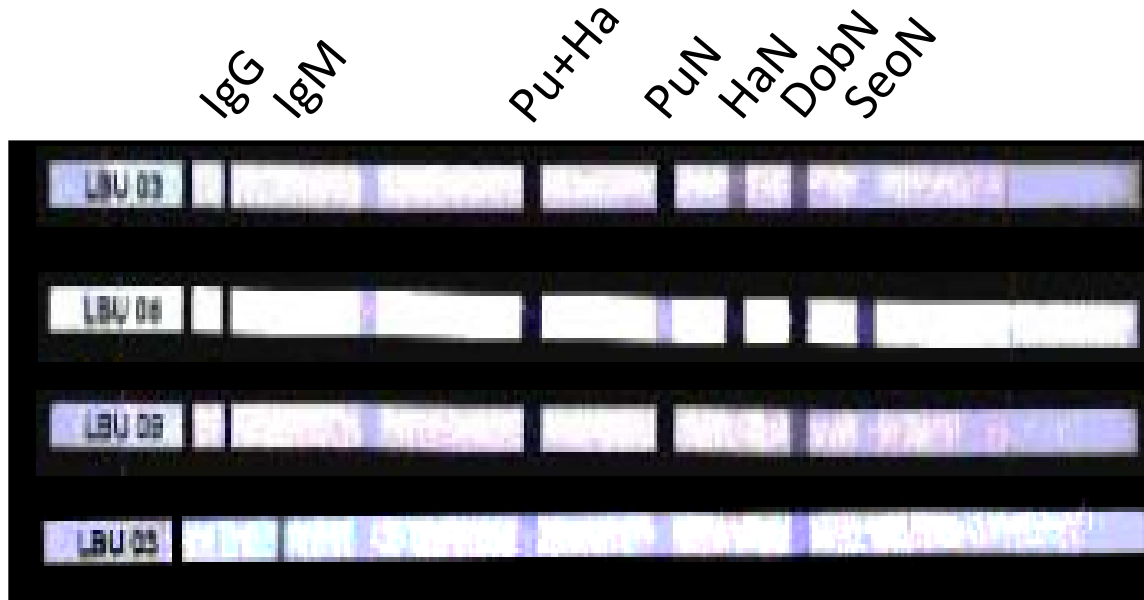


Kreuzreaktivität zwischen HTNV-N, DOB-N und PUUV-N im IgG-ELISA



HFRS Patienten

Immunoblot - pitfalls

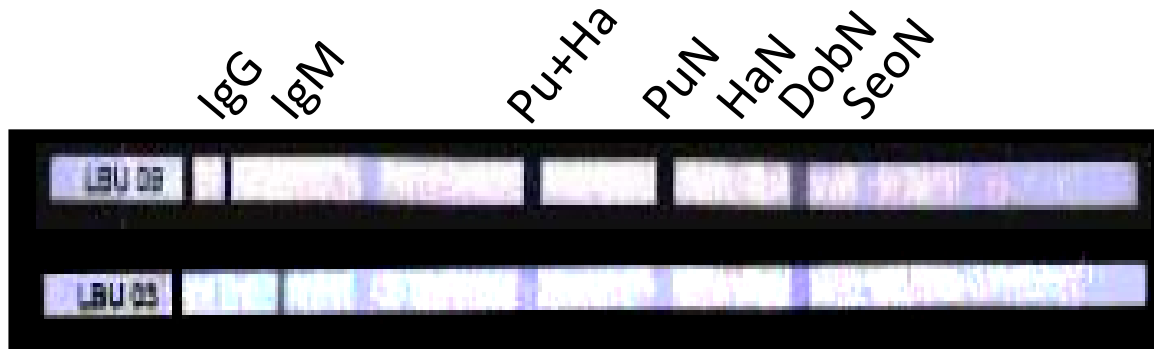


FrISChe PUU-Infektion

Alte Dobrava-Infektion

FrISChe PUU-Infektion

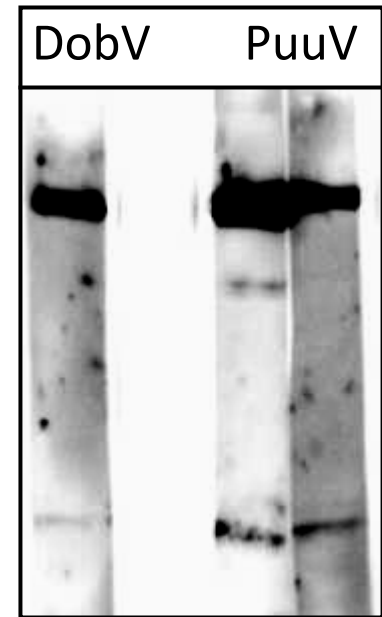
FrISChe PUU-Infektion



in house EIA

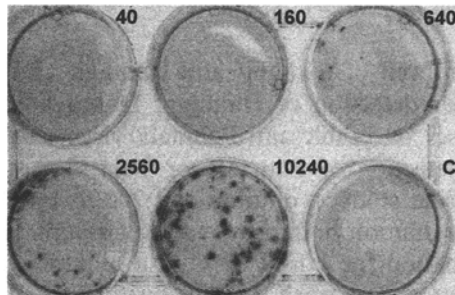
Dob IgG	< 1:400
Dob IgM	1:400
Puu IgG	1:6400
Puu IgM	1:1600

in house WB IgM

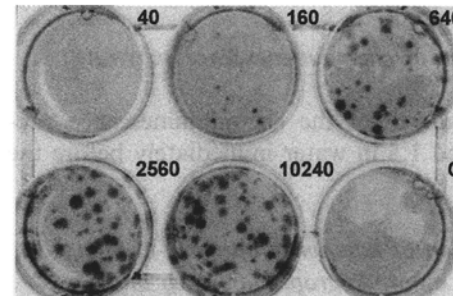


Neutralisationstest zur Typisierung von Hantavirusinfektionen

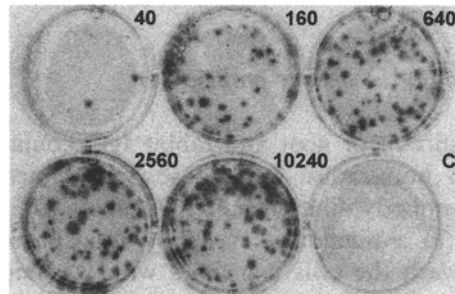
Identifizierung einer PUUV-Infektion



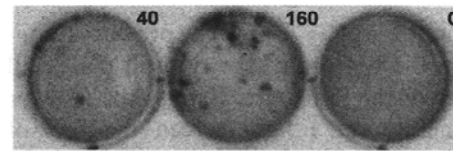
PUUV
(2560)



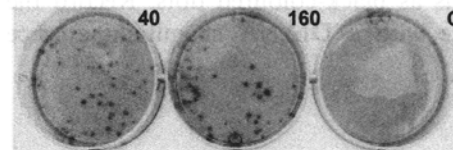
HTNV
(160)



TULV
(40)



DOBV
(40)



SEOV
(<40)

Heider et al. (2001)

Serotypisierung mittels c-FRNT

PUUV- positive Seren

c-FRNT (reziproke Endpunkttiter)

	HTN	DOB	SEO	PUU	TUL
Akute Phase	640	160	< 40	640	640
Rekonvaleszenz	40	< 40	< 40	2560	640
Akute Phase	640	40	< 40	640	160
Rekonvaleszenz	40	< 40	< 40	2560	40

Heider et al. 2001; Rasche et al., 2004

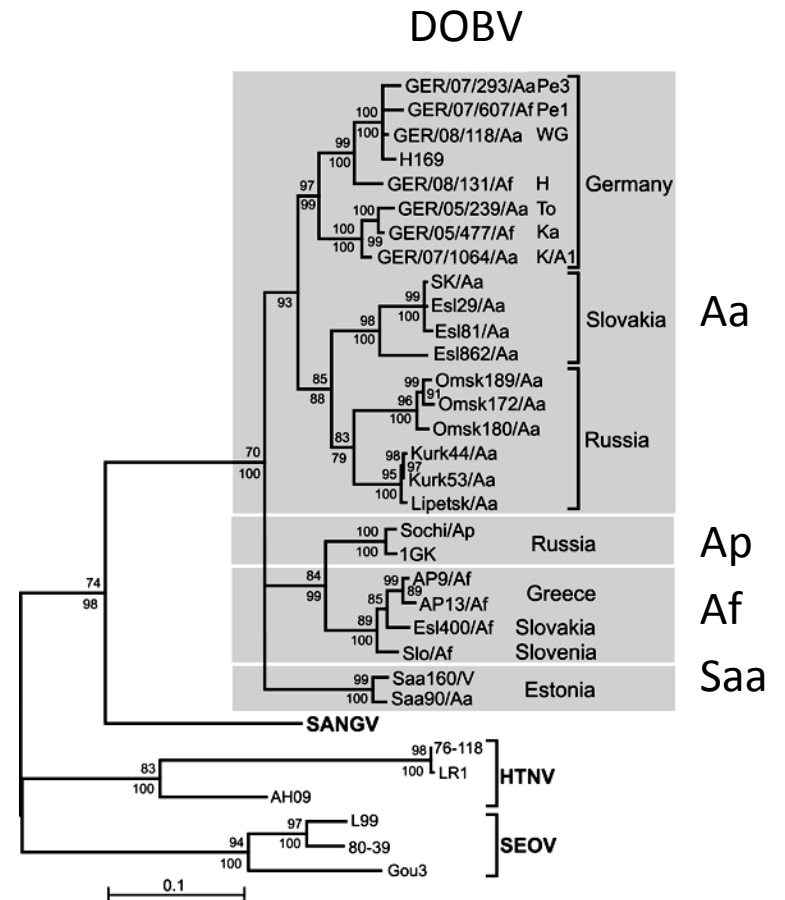
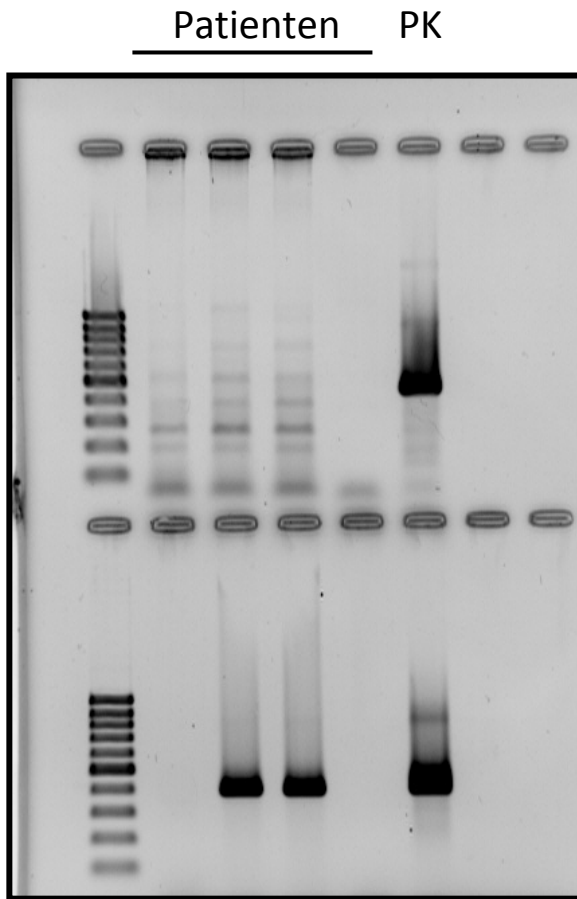
Serotypisierung mittels c-FRNT

DOBV- positive Seren

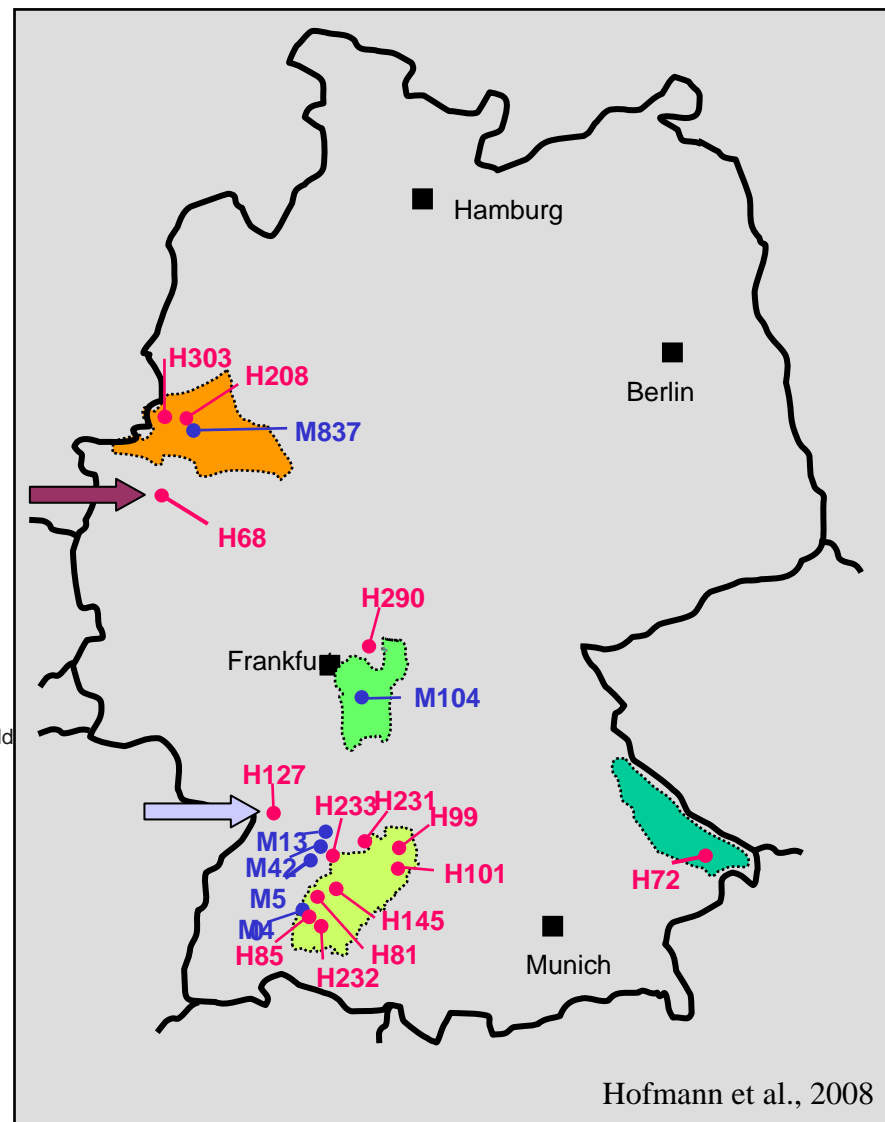
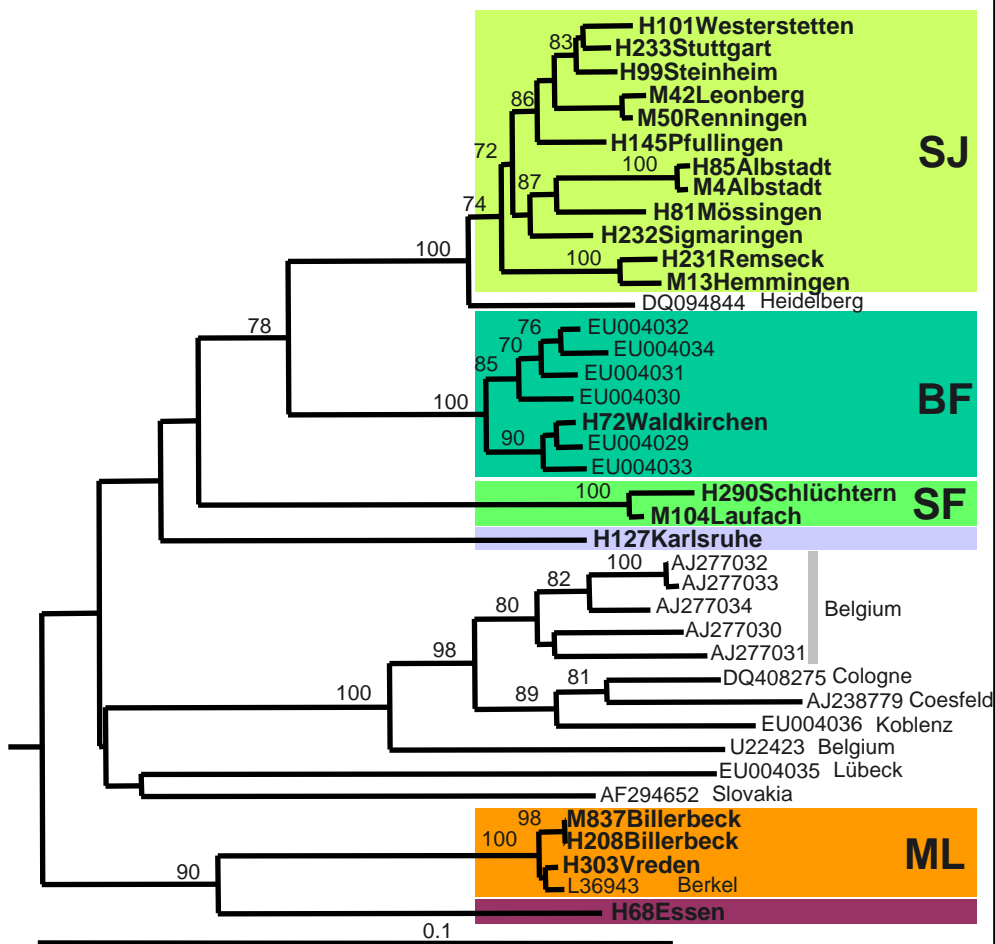
c-FRNT (reziproke Endpunkttiter)

	HTN	DOBV	SEO	PUU	TUL
Akute Phase	40	160	< 40	40	<40
Rekonvaleszenz	160	640	160	40	40
Akute Phase	40	2560	< 40	< 40	40
Rekonvaleszenz	< 40	160	< 40	< 40	< 40

Nachweis von viralem Genom und Genotypisierung



Phylogenetische Analyse der Puumalavirus-Isolate



Ringversuche zum Nachweis von Hantaviren: Differenzierung von akuten und alten Infektionen mit Schwerpunkt Dobrava- und Puumalaviren

**Heinz Zeichhardt^{1,2}, Detlev Krüger⁴, Jörg Hofmann⁴, Vanessa Lindig^{1,3} und
Hans-Peter Grunert^{1,2,3}**

¹Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Institut für Virologie, Berlin

²INSTAND e.V. Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V.
WHO Collaborating Center for Quality Assurance and Standardization in Laboratory Medicine, Düsseldorf

³Institut für Biotechnologische Diagnostik der GBD, Berlin

Collaborating Centers of International Consortium for Blood Safety (ICBS), New York

und

⁴Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Institut für Medizinische Virologie, Helmut-Ruska-Haus, Berlin
Konsiliarlaboratorium für Hantaviren

März 2009	Akute PuuV	negativ	Akute DobV	
ohne Differenzierung	96,5% (55/57)	96,6% (56/58)	82,5% (47/57)	
mit Differenzierung				
Sept. 2009	Akute PuuV	negativ	Akute DobV	Alte DobV
ohne Differenzierung	94,6% (53/56)	100% (54/54)	85,5% (47/55)	80% (44/55)
mit Differenzierung	86,5% (45/52)	100% (51/51)	61,5% (32/52)	59,6% (31/52)
März 2010	Alte DobV	Alte PuuV	Alte DobV	Akute PuuV
ohne Differenzierung	85,9% (55/64)	98,4% (63/64)	98,4% (63/64)	100% (64/64)
mit Differenzierung	81,1% (43/54)	98,4% (63/64)	98,4% (63/64)	100% (64/64)

März 2009	Akute PuuV	negativ	Akute DobV	
ohne Differenzierung	96,5% (55/57)	96,6% (56/58)	82,5% (47/57)	
mit Differenzierung				
September 2009	Akute PuuV	negativ	Akute DobV	Alte DobV
ohne Differenzierung	94,6% (53/56)	100% (54/54)	85,5% (47/55)	80% (44/55)
mit Differenzierung	86,5% (45/52)	100% (51/51)	61,5% (32/52)	59,6% (31/52)
März 2010	Alte DobV	Alte PuuV	Alte DobV	Akute PuuV
ohne Differenzierung	85,9% (55/64)	98,4% (63/64)	98,4% (63/64)	100% (64/64)
mit Differenzierung	81,1% (43/54)	98,4% (63/64)	98,4% (63/64)	100% (64/64)

März 2009	Akute PuuV	negativ	Akute DobV	
ohne Differenzierung	96,5% (55/57)	96,6% (56/58)	82,5% (47/57)	
mit Differenzierung				
September 2009	Akute PuuV	negativ	Akute DobV	Alte DobV
ohne Differenzierung	94,6% (53/56)	100% (54/54)	85,5% (47/55)	80% (44/55)
mit Differenzierung	86,5% (45/52)	100% (51/51)	61,5% (32/52)	59,6% (31/52)
März 2010	Alte DobV	Alte PuuV	Alte DobV	Akute PuuV
ohne Differenzierung	85,9% (55/64)	98,4% (63/64)	98,4% (63/64)	100% (64/64)
mit Differenzierung	81,1% (43/54)	98,4% (63/64)	98,4% (63/64)	100% (64/64)

Ringversuch September 2009

Mit "richtig" bewertete Angaben zum Infektionsstatus - aufgeschlüsselt nach Angaben ohne und mit Serotypdifferenzierung

September 2009	Probe 70005		Probe 70006		Probe 70007		Probe 70008	
Endbefund zum Infektionsstatus	ohne Differenzierung des Serotyps	mit Differenzierung des Serotyps	ohne Differenzierung des Serotyps	mit Differenzierung des Serotyps	ohne Differenzierung des Serotyps	mit Differenzierung des Serotyps	ohne Differenzierung des Serotyps	mit Differenzierung des Serotyps
Probeneigenschaft	frische/akute Hantavirus-Infektion	frische/akute Puumalavirus-Infektion	negativ	negativ	frische/akute Hantavirus-Infektion	frische/akute Dobravavirus-Infektion	alte Hantavirus-Infektion	alte Dobravavirus-Infektion
mit "richtig" bewertete Angaben zum Infektionsstatus (unabhängig von der verwendeten Methode)								
	94,6%(53/56)	86,5%(45/52)	100%(54/54)	100%(51/51)	85,5%(47/55)	61,5%(32/52)	80,0%(44/55)	59,6%(31/52)
mit "richtig" bewertete Angaben zum Infektionsstatus (in Abhängigkeit der verwendeten Methode / Methodenkombinationen)								
ELISA (allein)	87,5% (7/8)	83,3% (5/6)	100% (8/8)	100% (6/6)	75,0% (6/8)	16,7% (1/6)	25,0% (2/8)	0% (0/6)
IFT (allein)	100% (5/5)	80,0% (4/5)	100% (4/4)	100% (4/4)	60,0% (3/5)	0% (0/5)	60,0% (3/5)	0% (0/5)
Blot (allein)	100%(26/26)	92,3%(24/26)	100%(26/26)	100%(26/26)	92,3%(24/26)	88,5%(23/26)	96,2%(25/26)	88,5% (23/26)
ELISA + IFT	100% (2/2)	100% (2/2)	100% (2/2)	100% (2/2)	100% (2/2)	0% (0/2)	100% (2/2)	50,0% (1/2)
ELISA + RT	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
ELISA + Blot	100% (6/6)	83,3% (5/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (6/6)	83,3% (5/6)	100% (6/6)	83,3% (5/6)
IFT + Blot	66,7% (2/3)	50,0% (1/2)	100% (3/3)	100% (2/2)	66,7% (2/3)	50,0% (1/2)	100% (3/3)	50,0% (1/2)
ELISA + IFT + Blot	100% (4/4)	75,0% (3/4)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)	50,0% (2/4)	75,0% (3/4)	25,0% (1/4)

Wir suchen immer:

Proben aus der ganz frühen Phase der Infektion

Seropositive Proben > 500µl

Nationales Konsiliarlabor für Hantaviren, Institut für
Virologie, Charité Universitätsmedizin Berlin.
Charitéplatz 1, 10117 Berlin

Tel.: 030 450 525 084 oder 030 450 525 141

hanta-konsiliar@charite.de