

Morphologisch Virus-Diagnostik

Autor(en): **Gonzague, S. Kistler**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche**

Band (Jahr): **33 (1977)**

PDF erstellt am: **27.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-308116>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Elektronenmikroskopische Abteilung, Anatomisches Institut der Universität Zürich

MORPHOLOGISCHE VIRUS-DIAGNOSTIK

GONZAGUE S. KISTLER

Zusammenfassung

Morphologische Virusdiagnostik beruht auf dem Nachweis makroskopisch, lichtmikroskopisch und/oder ultrastrukturell feststellbarer Veränderungen an Organen, Geweben und Zellen. Zytopathogene Veränderungen können dabei durch die Virus-Replikation direkt bedingt oder aber sekundärer Natur sein. Für den Nachweis von Viruspartikeln und viralen Antigenen stehen heute verschiedene morphologische Methoden unterschiedlicher Spezifität zur Verfügung, die anhand einiger Beispiele demonstriert werden. Die morphologischen Charakteristika der Viren einiger wichtiger Gruppen werden tabellarisch zusammengefasst.

Summary

Morphological virus diagnosis is based on the detection of pathological changes in organs, tissues and cells at the macroscopic, lightmicroscopic and/or ultrastructural levels. Cytopathic effects may be caused directly by virus replication or be secondary in nature. A number of morphological methods with different degrees of specificity are available for the demonstration of virus particles and viral antigens. Examples are presented and the most important morphological characteristics of the viruses of the major groups are summarized.

1. Einleitung

Dem klinischen und experimentierenden Virologen stehen für den Nachweis eines viralen Infektes eine Vielzahl direkter und indirekter Methoden zur Verfügung. Diese reichen von der klinischen Beobachtung (Epidemiologie, Inkubationszeit, Organmanifestation, Verlauf usw.) über immunologische Verfahren (Komplementbindungs-Reaktion, Hämagglutinations-Hemmtest, Neutralisationstest, Immunopräzipitation, Immunofluoreszenz usw.) bis zur morphologischen Untersuchung (licht- und elektronenmikroskopische Histo- bzw. Zytopathologie, ultrastrukturelle Virologie) und zur Virus-Isolation (Zell- oder Organkultur, Hühn-

chen-Embryo, grössere Versuchstiere). Die Spezifität dieser Methoden ist dabei recht unterschiedlich. So kann beispielsweise ein "rubelliformes" Exanthem nicht nur bei einem Rötelninfekt, sondern auch bei andern viralen Erkrankungen und bei nicht-virusbedingten Allergien auftreten. Das in einer Läsion nachgewiesene Virus ist eventuell nicht der Erreger, welcher eine in Frage stehende Grundkrankheit ausgelöst hat. Schliesslich bedürfen empfindliche Nachweismethoden für Viren, virale Antigene oder virale Antikörper strenger Kontrollen zur Ausschaltung von technischen Artefakten. Zur Sicherung der Diagnose werden daher häufig mehrere Nachweisverfahren parallel verwendet und einzelne Untersuchungen im Verlaufe einer wahrscheinlich virusbedingten Erkrankung wiederholt (z.B. Messung eines Titeranstieges virus-spezifischer Immunglobuline im Serum).

Morphologische Virusdiagnostik im weitesten Sinne spielt sich auf verschiedenen Ebenen ab. Diese reichen von der Feststellung makroskopisch sichtbarer Infektzeichen (Abb. 2, Exanthem, Pusteln, Warzen usw.) über lichtoptisch zu beobachtende, histo- und zytopathologische Veränderungen (Infiltrate, Zellproliferation, Einschlusskörperchen usw., Abb. 3, 4) bis zum elektronenmikroskopischen Nachweis von intra- und extrazellulären Viruspartikeln (Abb. 7 - 9) und von strukturellen Veränderungen an Zellen und deren Organellen (zytopathische Effekte, Fusion oder Proliferation von Membranen des endoplasmatischen Retikulum usw.). Hinzu kommt der Nachweis funktioneller Aenderungen an und/oder in infizierten Zellen, die sich eventuell morphologisch erfassen lassen (Verschiebungen im Enzym-Muster, Verlust der Kontakt-Inhibition bei transformierten Zellen in vitro usw.). Im folgenden sollen einige der für die morphologische Diagnostik wichtigen Eigenschaften viraler Erreger zusammengefasst und anhand weniger Beispiele dokumentiert werden. In Anbetracht der Grösse des Forschungsgebietes kann diese Uebersicht dabei keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben.

2. Definitionen, Klassifikation

Viren (Synonym: Viria) sind makromolekulare Komplexe, deren spezifische, chemische und morphologische Eigenschaften die Grundlage der modernen Virus-Klassifikation bilden (STARKE und HLINAK, 1972; MELNICK, 1975). Ihr Genom besteht aus einer einzelnen Nu-

Abb. 1. Klassifikation von Viren aufgrund der Form ihres Nukleokapsids (nach Starke und Hlinak, 1972):

1a) Virus mit isometrischer Nukleokapsid-Symmetrie.

Beispiel: Herpesvirus im Negativkontrast.

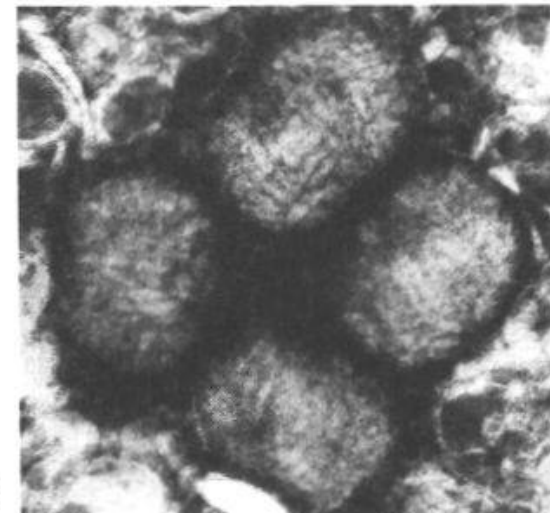
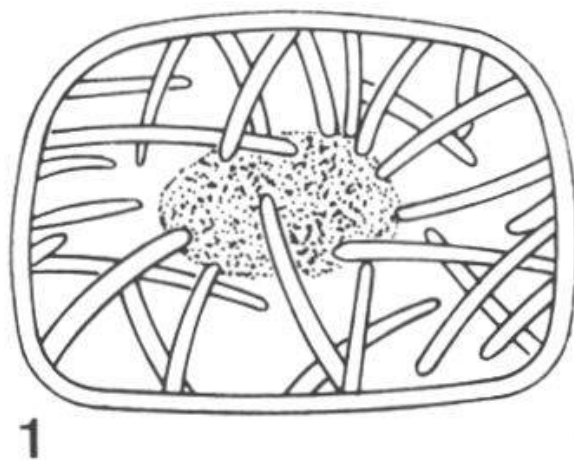
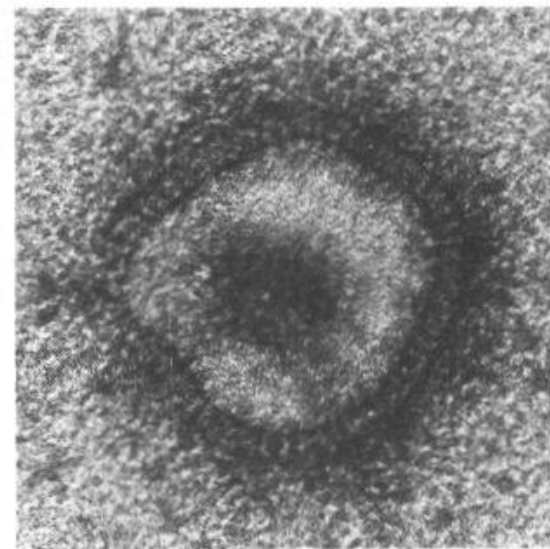
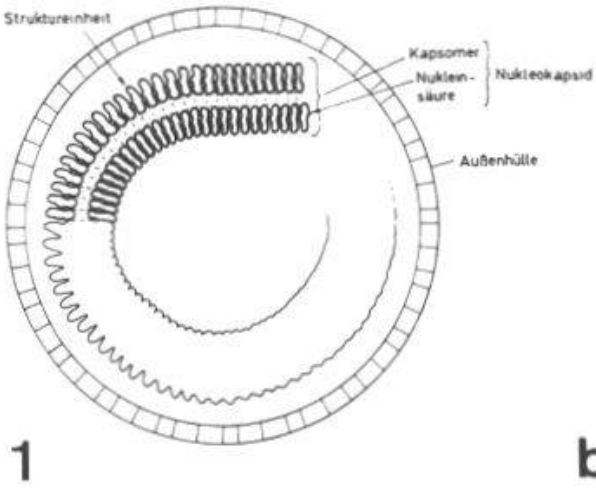
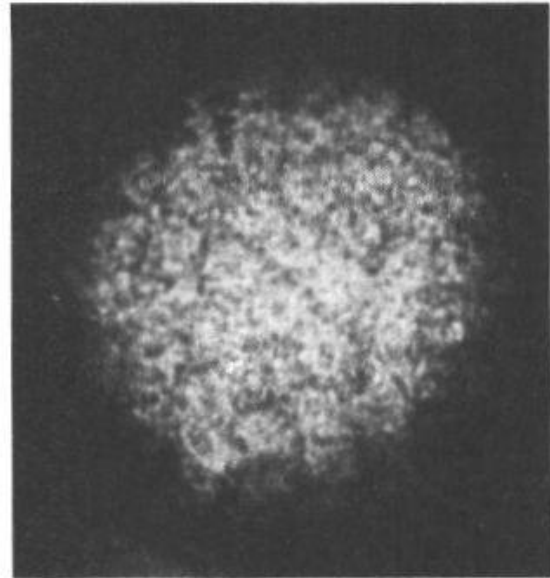
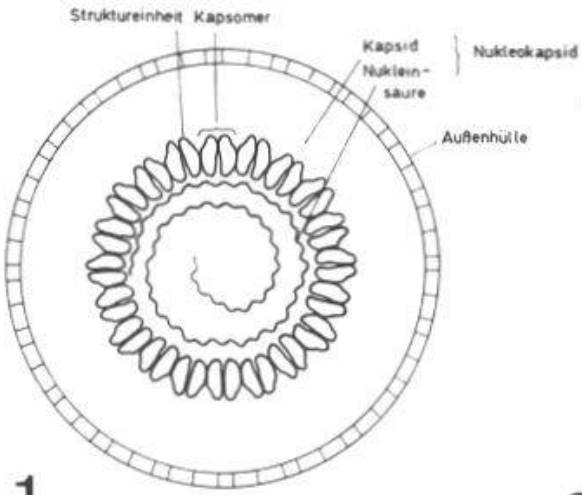
1b) Virus mit helikaler Nukleokapsid-Symmetrie.

Beispiel: Influenza-Virus im Negativkontrast.

1c) Virus mit komplexer Nukleokapsid-Symmetrie.

Beispiel: Molluscum-contagiosum-Virus (Pockenvirusgruppe) Negativkontrast.

Negativ-Kontrastierung mittels Phosphorwolframsäure (PWS) 2 %, pH 6.5



kleinsäure (DNS oder RNS), die ein- oder doppelsträngig im Partikel eingebaut ist, linear oder zirkulär angeordnet sein kann und in der Regel ein definiertes Molekulargewicht aufweist. Viren mit ähnlichen Charakteristika werden bestimmten Gruppen zugeordnet (Pocken-, Herpes-, Orthomyxo-, Oncornavirus-Gruppe usw.), die sich ihrerseits wiederum in Untergruppen unterteilen lassen (Pockengruppe z.B. mit 6 Untergruppen). Eine weitere Klassifikation erfolgt durch Familien sowie durch Typen und Subtypen (z.B. Herpes simplex hominis mit 2 Subtypen je nach Prädilektionsstelle für den Infekt: orale und genitale Stämme). Für verschiedene Viren, so beispielsweise für den Erreger der Hepatitis B (Australia-Antigen-positive Hepatitis) steht die Klassifikation jedoch noch aus. Die heutige Gruppierung einiger wichtiger tierischer und menschlicher Viren ist in den Tabellen I und II zusammengefasst.

3. Virus-Aufbau

Die Nukleinsäure (= Kern, Nukleoid) eines Virus ist in eine schützende Proteinhülle (= Kapsid) eingeschlossen, die aus einer für jede Virusgruppe konstanten Zahl von Untereinheiten (Kapsomeren) besteht. Die Kapsomeren ihrerseits bilden in ihrer Gesamtheit mit der Nukleinsäure zusammen das sog. Nukleokapsid, dessen Durchmesser als Klassifikationsmerkmal dient (Tabellen I und II). Der ultrastrukturelle Nachweis der Kapsomeren gelingt am besten im negativ-kontrastierten Präparat (Abb. 1a).

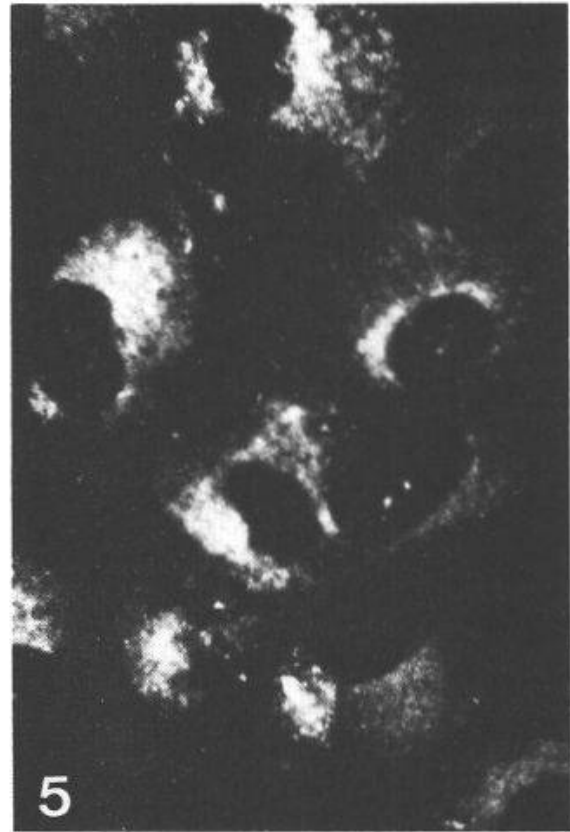
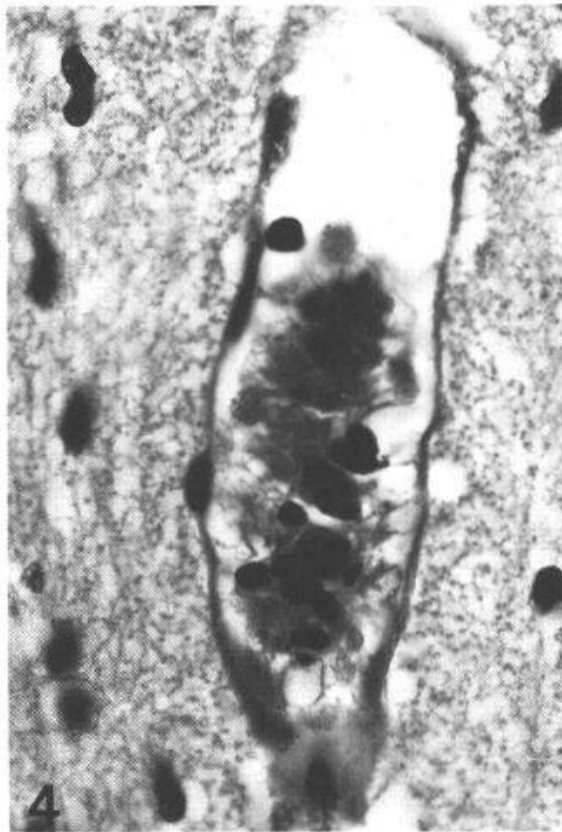
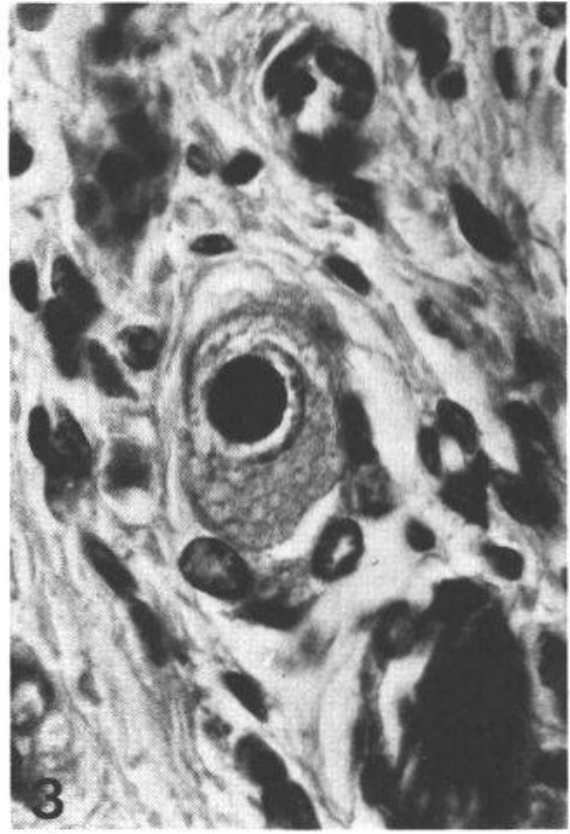
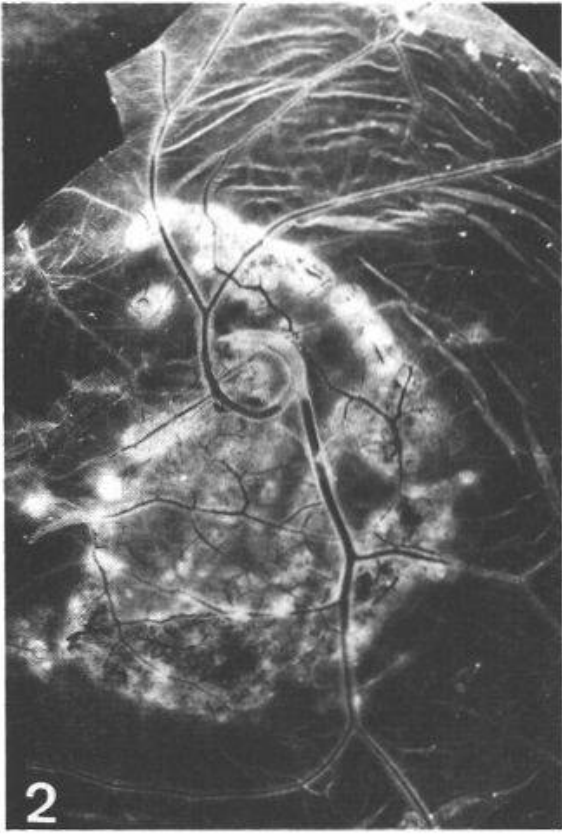
Je nach der Form des Nukleokapsids lassen sich Viren in drei Kategorien einteilen: Bei Viren mit isometrischer Nukleokapsid-Symmetrie (Abb. 1a) sind die Kapsomeren in Form eines Ikosaeders angeordnet (z.B. Parvo-, Papova-, Herpes-, Picorna- und Toga-Viren). Bei Viren mit helikaler (schraubenförmiger) Symmetrie des Nukleokapsids (Abb. 1b) weist dieses keine typischen Kapsomeren auf; hier windet sich die Nukleinsäure, in stabilisierende Protein-Einheiten eingebettet, um einen zentralen Hohlraum (z.B. Viren der Orthomyxo-, Paramyxo-

Abb. 2. Vacciniavirus-Pusteln, Chorioallantoismembran des Hühnchenembryo, 72 h nach Infektion. Makroaufnahme.

Abb. 3. Kern-Einschlusskörper (sog. Eulenaugen-Kern) in Schilddrüsenzelle eines Neugeborenen mit kongenitaler Zytomegalie.

Abb. 4. Thrombus aus pyknotischen Zellkernen, Zellfragmenten und fibrillärem Material in Grosshirnvenule eines menschlichen Feten mit virologisch gesichertem Röteln-Infekt. Grosse Abschnitte der Gefässwand sind von Endothelzellen entblösst. Diese Gefäss-Schädigung ist nicht röteln-spezifisch; sie lässt sich bei verschiedenen intra-uterinen Virus-Infekten häufig nachweisen.

Abb. 5. Affennieren-(Vero)Zellkultur nach Inokulation von Rötelnvirus. Indirekte Immunofluoreszenz unter Verwendung eines menschlichen Antiserums. Zytoplasmatische Antigendepots bei ausgespartem Kern.



und Rhabdovirus-Gruppe). Die Länge der Helix kann dabei beträchtlich schwanken; ihr Durchmesser hingegen sowie die Zahl der Proteineinheiten auf den einzelnen Windungen sind für das jeweilige Virus konstant und können deshalb zur genaueren Identifikation des Partikels herangezogen werden. Viren mit komplexer Symmetrie des Nukleokapsids können sowohl beide Symmetrie-Formen gleichzeitig aufweisen (Bakteriophagen) oder, wie die Viren der Pockengruppe, noch komplizierter gebaut sein (Abb. 1c).

Das Nukleokapsid kann mit dem kompletten, reifen, infektiösen Viruspartikel (= Virion) identisch sein (z.B. Abb. 9; Parvo-, Papova-, Adeno-, Picorna- und Reoviren). Andere Viren besitzen eine äussere Hülle (= envelope, vgl. Abb. 8), die bei der Reifung des Partikels an intrazytoplasmatischen Membranen (Kernmembran, endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Komplex) oder an der Zellmembran um das Nukleokapsid gelegt wird (Tabellen I und II). Nebst Proteinen und Mucopolysacchariden enthält diese verformbare Hülle reichlich Lipide, die das Virion im Gegensatz zu "nackten" Partikeln ätherempfindlich machen. Eine Ausnahme bildet die komplexe, mehrschichtige Hülle der Viren der Pockengruppe, die in der zytoplasmatischen Grundsubstanz entsteht. Die meisten Viren mit einer äusseren Hüllmembran enthalten RNS als genetische Substanz. Innerhalb der Kategorie der DNS-Viren besitzen nur die Herpesviren eine Hülle, welche die im Kern synthetisierten, nackten Nukleokapside von der inneren Kernmembran erhalten (Tabellen I und II). Bei Viria verschiedener Gruppen trägt die Aussenfläche der Hülle eine Vielzahl feinsten, regelmässig angeordneter Fortsätze (= spikes), die Hämagglutininen entsprechen (z.B. Orthomyxo- und Paramyxovirus-Gruppe). Auch Hämolytine (z.B. bei Paramyxoviren) und Enzyme (z.B. Neuraminidase) werden in die Hülle eingebaut. Auch diese Oberflächen-Differenzierungen der Virushülle sind am besten im negativ-kontrastierten Präparat zu erkennen (Abb. 1b).

4. Virusgrösse

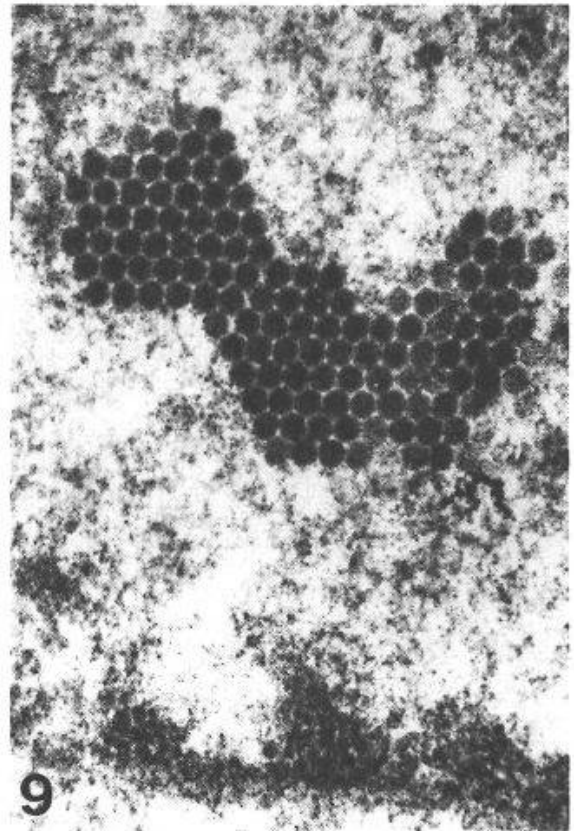
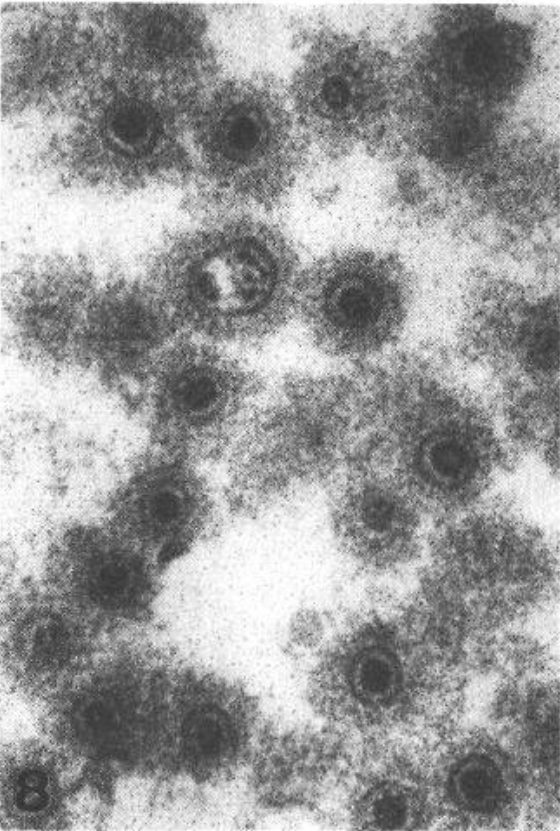
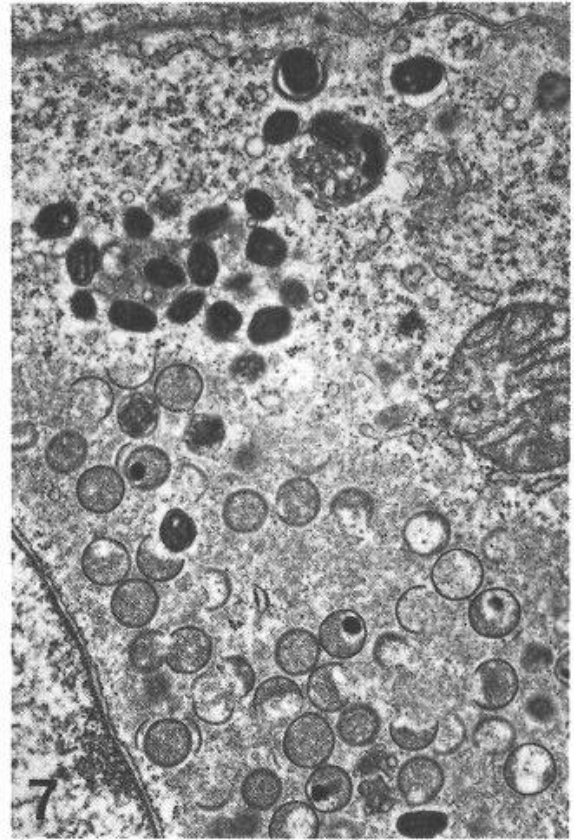
Mit Grössen von ca. 20 nm (Parvo- und Picornaviren) bis zu ca. 200 - 300 nm (Paramyxo- und Pockenviren) nehmen Viria eine Mittelstellung zwischen den Makromolekülen und den

Abb. 6. Tubuloretikulärer Komplex in Endothelzelle einer Lungenkapillare. Menschlicher Fet mit gesichertem Rötelninfekt. Diese Proliferation des endoplasmatischen Retikulum wird praktisch in jedem Fall von intra-uterinen Röteln nachgewiesen, ist für dieses Virus jedoch nicht spezifisch.

Abb. 7. Virusmatrix mit reifen und unreifen Vacciniaviren in Hepatozyt eines Hühnchenembryos. Beachte die unterschiedliche Morphologie der verschiedenen Reifungsformen.

Abb. 8. Immuno-Agglutination von Rötelnviren aus Zellkulturüberstand mit spezifischem Antiserum, Agareinbettung, Dünnschnitt.

Abb. 9. Papilloma-Viren (Papova-Gruppe) im Kern einer Stratum-spinosum-Zelle, Larynxpapillom bei 10-jährigem Kind.



kleinsten Mikroorganismen ein (Tabellen I und II). Viren der verschiedenen Gruppen zeichnen sich also durch gewaltige Dimensionsunterschiede aus. Innerhalb einer Population kann auch das Volumen einzelner Viruspartikel stark variieren. Viren der Pocken- und Myxovirusgruppe werden in den letzten Phasen ihrer Entwicklung in der Regel kleiner, da es zur Kondensation ihrer Strukturkomponenten kommt; andererseits führt die Umhüllung von Nukleokapsiden durch eine oder mehrere Hüllen zu einer beträchtlichen Volumenzunahme (z.B. Viren der Herpesgruppe). Die Partikelgröße hängt zudem stark von der Präparationsmethode ab (Dünnschnitt, Negativ- oder Positivkontrast, Bedampfung), wobei kleinere Viren ohne Hülle (z.B. Parvo- oder Picornaviren) weniger artefaktempfindlich sind als grosse mit Hülle (z.B. Paramyxoviren). Da auch die Dicke eines elektronenmikroskopischen Schnittpräparates eine Rolle spielt und je nach Verfahren Oberflächendifferenzierungen besser oder schlechter hervortreten, sollten Größenbestimmungen wenn möglich unter Einsatz verschiedener Präparationsverfahren durchgeführt werden (vgl. auch STARKE und HLINAK, 1972).

5. Virus-Replikation

Die Nukleinsäure (DNS oder RNS) stellt das infektiöse Agens des Virion dar. Sie enthält nicht nur die Information für die eigene Reproduktion, sondern auch diejenige für die Bildung spezifischer viraler Produkte (Eiweisse zur Steuerung der Virusreplikation, Strukturproteine usw.). DNS-Viren synthetisieren virale Proteine über eine spezifische Boten-RNS, während bei RNS-Viren diese "messenger"-Funktion von der RNS selber auf direktem oder indirektem Wege erfüllt wird. Die komplexen Einzelschritte der Replikation sind je nach Virusgruppe sehr verschieden und mit konventionellen morphologischen Methoden nur teilweise erfassbar. Die Virusreplikation verläuft in verschiedenen Phasen, die sich wie folgt abgrenzen lassen (vgl. STARKE und HLINAK, 1972):

Adsorption des Virion an die Wirtszelle. Das Haften des Partikels an der Zelloberfläche kommt durch Brown'sche Molekularbewegung sowie durch elektrostatische und zwischenmolekulare Kräfte zustande, ist also temperaturunabhängig. Die Adsorption wird bei verschiedenen Viren zudem durch entsprechende Haftstrukturen (Rezeptoren) erleichtert. Das Vorhandensein (oder Fehlen) aktiver Virusrezeptoren an der Oberfläche von Zellen erklärt den in vivo bei verschiedenen Viren beobachteten Tropismus bzw. die Bevorzugung bestimmter Zelltypen und Gewebe (z.B. Virusinfekte des Respirationstraktes). In-vitro-Kultivation von Zellen führt oft zu einer Demaskierung zahlreicher Rezeptoren und damit zu einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Virustypen. Am elektronenmikroskopischen Präparat ist es häufig unmöglich festzustellen, ob Viruspartikel an der Zelloberfläche sich in der

Klassifikation tierischer Viria mit DNS-Genom

Virus-Gruppe	Durchmesser Virion (nm)	Virushülle (envelope)	Nukleokapsid-Synthese	Kapsid-Symmetrie	Anzahl Kapsomere	Nukleinsäure Konfiguration	MG (x10 ⁶)
Parvo-(Picodna)	18-22	keine	Kern	isometr.	32	einstrangig	1.4
Papova-	43-53	keine	Kern	isometr.	72	Doppelstrang	3.5
Adeno-	70-90	keine	Kern	isometr.	252	Doppelstrang	23
Herpes-	100 (Kern) 150 (Zytopl.)	ex Kern-membran	Kern	isometr.	162	Doppelstrang	54-92
Pocken-	230x300	komplexe Hüllen	Zytoplasma	komplex	--	Doppelstrang	160

Tabelle 1. Morphologische und biochemische Charakteristika einiger Viren mit DNS-Genom. nm = Nanometer; Molekulargewicht in Daltons (aus Melnick, 1975).

Klassifikation tierischer Viria mit RNS-Genom

Virus-Gruppe	Durchmesser Virion (nm)	Virushülle (envelope)	Nukleokapsid-Synthese	Kapsid-Symmetrie	Anzahl Kapsomere	Nukleinsäure Konfiguration	MG (x10 ⁶)
Picorna-	20-30	keine	Zytoplasma	isometr.	32	einstrangig	2-2.8
Orbi- Reo-	60-80 75-80	keine	Zytoplasma	isometr.	32 92	Doppelstrang	15 15
Alpha- Flavi-	40-70 40-50	Zellmembr. o/ intrazytoplasm. Membranen	Zytoplasma	isometr.	32 ?	einstrangig	3 3
Orthomyxo-	90-120	Zellmembran	Kern Zytoplasma	helikal	-	einstrangig	2-4
Paramyxo-	150-300	Zellmembran	Zytoplasma Kern	helikal	-	einstrangig	4-8
Rhabdo-	70x175	Zellmembran	Zytoplasma	helikal	-	einstrangig	3-4
Oncorna-	ca. 100	Zellmembran	Zytoplasma	?	-	einstrangig	10-13
Arena-	50-150	Zellmembran	Zytoplasma	?	-	einstrangig	3.2
Corona-	70-120	Intrazytoplasm. Membranen	Zytoplasma	?	-	einstrangig	?

Tabelle II. Morphologische und biochemische Charakteristika einiger Viren mit RNS-Genom. nm = Nanometer; Molekulargewicht in Daltons (aus Melnick, 1975).

Adsorptionsphase befinden oder kurz zuvor aus benachbarten Zellen abgegeben wurden. Unter kontrollierten experimentellen Bedingungen (Zeit, Temperatur) an der Zell- oder Organkultur lässt sich die Adsorptionsphase jedoch ultrastrukturell gut erfassen.

Virus-Penetration: Das Eindringen eines Virion in die Wirtszelle erfolgt in der Regel durch Phagozytose (sog. Viropexis) oder durch Fusion der Virushülle mit der Zellmembran und ist energie- und temperaturabhängig. Bei der Phagozytose zerfällt die Membran der das Virus enthaltenden Vesikel in der zytoplasmatischen Grundsubstanz, wobei auch allfällige virale Hüllen aufgelöst werden. Dieser vermutlich durch zelluläre Enzyme verursachte Abbau führt auch zu einer Auflösung des Nukleokapsids und damit zur Freisetzung der infektiösen Nukleinsäure. Bei verschiedenen Viren (z.B. bei Reoviren) erfolgt der Zerfall des Kapsids bereits innerhalb des Phagozytosebläschens. Bei anderen (z.B. bei Pockenviren) sind zum Abbau der komplexen Hüllen mehrere Schritte notwendig; diese beginnen bereits im Phagozytosebläschen und werden nach dessen Zerfall in der zytoplasmatischen Grundsubstanz beendet. Unter kontrollierten Bedingungen sind die einzelnen Schritte der Virus-Penetration ultrastrukturell durchaus zu verfolgen. Eine eingehende Beschreibung der bei der Virus-Adsorption und -Penetration ablaufenden Prozesse findet sich bei LONBERG-HOLM und PHILIPSON (1974).

Eklipse: Diese je nach Virus unterschiedlich lange Phase des Replikationszyklus ist in ihren einzelnen Schritten sehr verschieden und mit konventionellen morphologischen Methoden – zumindest in ihren Anfangsstadien – nicht erfassbar. Der Replikation der Nukleinsäure geht die Synthese von spezifischen Virus-Proteinen (sog. early proteins) voraus; anschliessend werden die Strukturproteine aufgebaut. Endphasen der Eklipse können durch Anhäufungen von viraler Nukleinsäure und spezifischer Proteine ultrastrukturell erkennbar sein (z.B. Aufbau von Virus-Matrizes).

Maturation: Unmittelbar an die letzten Phasen der Eklipse schliesst sich in der Regel das Zusammenfügen der einzelnen Viruskomponenten (Nukleinsäure, Strukturproteine) zum morphologisch erfassbaren Virus an. Dieser Vorgang kann entweder im Kern oder im Zytoplasma vor sich gehen. Bei Viren mit Hülle (envelope) transportiert die Zelle das noch immature Partikel oft über längere Strecken (z.B. Herpes-Nukleokapside in der Kernmatrix → Verlagerung an die innere Kernmembran und Umhüllung → Transport in Zisternen des endoplasmatischen Retikulum → und ev. 2. Umhüllung). Bei der Reifung entstehen oft Defekte oder aberrante Partikel; auch können einzelne Strukturkomponenten im Ueberschuss gebildet werden und in der Zelle nachweisbar sein (Abb. 7).

Liberation: Die Freisetzung kompletter, reifer, infektiöser Partikel aus der Wirtszelle kann entweder "explosionsartig" oder mehr oder weniger kontinuierlich verlaufen. Im ersteren

Falle wird die Zelle regelmässig zerstört; langsame Ausschleusung von Virionen kann unter Umständen mit einem Ueberleben der Zelle über längere Zeit (oder definitiv) kompatibel sein (z.B. Knospung von Oncornaviren an der Oberfläche morphologisch intakter Zellen).

6. Zytopathologie des viralen Infektes

Die einen Virusinfekt begleitenden, teils spezifischen, teils unspezifischen zytopathischen Veränderungen lassen sich im wesentlichen auf eine Umstellung des Zellstoffwechsels in Richtung Virusproduktion zurückführen. Die Synthese zellspezifischen Materials (Enzyme, Strukturproteine usw.) wird gehemmt; je nach Bildungsort der Viruspartikel entstehen im Kern oder im Zytoplasma Zerstörungsherde (fokale Lyse). Die Zellmembran und die Membranen der Organellen werden unkontrolliert durchlässig, was zur Schwellung sowohl der Zelle als Ganzes als auch einzelner Kompartimente führt. Parallel dazu geht die Synthese virus-spezifischer Produkte, die sich im Kern und/oder Zytoplasma anhäufen. Der Zelltod erfolgt häufig durch die Freisetzung lysosomaler Enzyme als Folge der Membranschädigung dieser Organellen. Der zeitliche Ablauf und die Sequenz dieser Prozesse sind dabei je nach Virus verschieden und in vielen Fällen vom nicht-virusbedingten Zelluntergang nicht zu unterscheiden. Eine umfassende Darstellung licht- und elektronenmikroskopisch erfassbarer Veränderungen an virus-infizierten Zellen *in vivo* findet sich z.B. bei DALTON und HAGUENAU (1973), NASEMANN (1974) und CHEVILLE (1975). Verschiedene Viren können im Organismus zu infekt-assoziierten, pathologischen Veränderungen führen, die nicht mit der Bildung maturer Partikel einhergehen. Ein typisches Beispiel dafür sind intravasale Emboli und Thromben (Abb. 4) und die sog. tubuloretikulären Komplexe des endoplasmatischen Retikulum, die bei verschiedenen Virus-Infekten (z.B. Röteln, Zytomegalie) bevorzugt in Endothelzellen menschlicher Embryonen und Feten nachgewiesen werden (Abb. 6) und deren pathophysiologische Bedeutung nach wie vor unklar ist (KISTLER und GROSCURTH, 1973; KISTLER, 1975). Ferner können nicht-virusbedingte (z.B. toxische) Schädigungen einer Zelle ebenso wie agonale oder postmortale Prozesse zur Bildung von intra- und extrazellulären Strukturen führen, die im elektronenmikroskopischen Präparat Viruspartikel vortäuschen (HAGUENAU, 1973). Aehnliche Artefakte werden auch in inadäquat fixierten Geweben (häufig z.B. in Autopsie-Material) beobachtet.

7. Morphologische Methoden für den Virusnachweis

Im lichtmikroskopischen Präparat sind Veränderungen bei einzelnen viralen Infekten so typisch, dass sie als pathognomonisch bezeichnet werden dürfen. Dies gilt nicht nur für zytopathogene Effekte in der Zellkultur oder im bebrüteten Hühnerei, sondern auch für solche, die

im Schnittpräparat zu beobachten sind (Abb. 3). Verschiedene Spezialfärbungen erleichtern zudem die Suche nach nukleären und/oder zytoplasmatischen Einschlusskörperchen (MAYR et al., 1974). Die Mehrzahl viraler Infekte ist jedoch mit der klassischen, lichtmikroskopischen Technik nicht eindeutig zu erfassen. Im Gegensatz dazu zeichnen sich die Immuno-fluoreszenz-Verfahren für den Nachweis viraler Antigene in infizierten Zellen oder Geweben (GOLDMAN, 1968) durch eine hohe Spezifität aus (Abb. 5).

Auf der ultrastrukturellen Ebene werden zur Virusdiagnostik nebst der routinemässigen Transmissions-Elektronenmikroskopie eine ganze Batterie von Spezialmethoden mit zahlreichen Modifikationen eingesetzt. Einzelne Verfahren wie die Dünnschnitt-Technik (Abb. 7) oder der Negativ- bzw. Positivkontrast (KAY, 1967) und die Immuno-Virusagglutination (ALMEIDA und WATERSON, 1969) sind relativ einfach durchzuführen (Abb. 1 und 8). Mit diesen Techniken lassen sich Viruspartikel oder Antigen-Partikel (so z.B. das HB_s-Antigen der Hepatitis B) feststellen. Andere Verfahren (wie z.B. die Immuno-Elektronenmikroskopie mittels Ferritin oder Enzymen), die aus dem Instrumentarium des experimentellen Virologen nicht mehr wegzudenken sind, erlauben darüber hinaus auch den Nachweis nicht-partikulärer, viraler Antigene (FELDMAN et al., 1976), sind aber wegen des z.T. erheblichen technischen Aufwandes zu diagnostischen Zwecken nicht allgemein einsetzbar. Verschiedene Methoden, wie z.B. die Immuno-Rasterelektronenmikroskopie und die Raster-Transmissionselektronenmikroskopie, befinden sich erst in ihren Anfangsstadien.

Almeida J.D. and Waterson A.P.: The morphology of virus-antibody interaction. *Adv. Virus Res.* 15, 307-338, 1969.

Chevillat N.F.: Cytopathology in viral diseases. *Monographs in Virology, Volume 10* (J.L. Melnick, ed.), S. Karger, Basel, 1975.

Dalton A.J. and Hagenau F. (eds): *Ultrastructure of animal viruses and bacteriophages. Ultrastructure in biological systems, Volume 5*, Academic Press, New York and London, 1973.

Feldmann G., Druet P., Bignon J. and Avrameas S. (eds.): *Immuno-enzymatic techniques. Insem Symp. 2*, North-Holland/American/Elsevier, 1976.

Goldman M.: *Fluorescent antibody methods*. Academic Press, New York and London, 1968.

Hagenau F.: "Viruslike" particles as observed with the electron microscope. In: *Ultrastructure of animal viruses and bacteriophages*. A.J. Dalton and F. Hagenau (eds.). *Monographs in Virology, Volume 9* (J.L. Melnick, ed.) S. 391-397, S. Karger, Basel, 1974.

Kay D. (ed.): *Techniques for Electron Microscopy*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1967.

Kistler G. und Groscurth P.: Intrazisternale Tubuluskomplexe in Zellen menschlicher Keimlinge mit Röteln-Embryopathie. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.* 14, 77-82, 1973.

Kistler G.: Zytoplasmatische tubuloretikuläre Komplexe und Kernsphäeridien in Zellen rötelninfizierter menschlicher Embryonen und Feten. *Beitr. Path.* 155: 101-138, 1975.

Lonberg-Holm K. and Philipson L.: Early interaction between animal viruses and cells. *Monographs in Virology, Volume 9* (J.L. Melnick, ed.). S. Karger, Basel, 1974.

- Mayr A., Bachmann P.A., Bibrack B., Wittmann G.: Virologische Arbeitsmethoden, Band I, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, S. 219-225, 1974.
- Melnick J.L.: Taxonomy of viruses, 1975. Progr. med. Virol. 20, 208-211, S. Karger, Basel, 1975.
- Nasemann T.: Viruskrankheiten der Haut, der Schleimhäute und des Genitales: Klinik, Differentialdiagnose, Therapie, allgemeine Grundlagen der Virologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974.
- Starke G. und Hlinak P.: Grundriss der allgemeinen Virologie. Grundbegriffe der modernen Biologie, Band 8, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1972.

Adresse des Autors: PD Dr. G.S. Kistler, Elektronenmikroskopische Abteilung, Anatomisches Institut der Universität, Gloriastrasse 19, CH-8006 Zürich (Schweiz)