

Internationaler Workshop: “Electron Microscopy (EM) in Infectious Diseases and Pathogen Research (Glienicke-Workshop 2008)”

Im Zweijahresrhythmus organisieren das Konsiliarlaboratorium für EM-Erregerdiagnostik und der gleichnamige Arbeitskreis der DGE (AK-EMED) ein internationales Symposium zur EM-Erregerdiagnostik und -Pathogenforschung. Die meisten dieser Treffen fanden bisher im Glienicker Jagdschloss in Berlin statt, was der Veranstaltungsreihe den Namen Glienicke-Workshop einbrachte. Wie bereits vor zwei Jahren war jedoch auch am 6. und 7. November 2008 das Robert Koch-Institut (RKI) der Gastgeber.

Das Symposium mit 24 wissenschaftlichen Vorträgen und über 80 Teilnehmern wurde mit einem Grußwort von Herrn Prof. Dr. Drs. Jörg Hacker, dem Präsidenten des RKI, eröffnet. Herr Hacker unterstrich in seiner Ansprache die Bedeutung der Elektronenmikroskopie für die Lebenswissenschaften sowie die Rolle Berlins als eine der Wiegen der Elektronenmikroskopie. Den Schwerpunkt der Präsentationen des ersten Tages bildeten Fall- und Forschungsberichte aus medizinischen und veterinärmedizinischen EM-Labors sowie Vorträge über Weiterentwicklungen und neuartige Verfahren zur EM-Diagnostik. Den Anfang machte Atanu Basu (NIV, Puna, Indien), der in seinem Plenarvortrag über den Einsatz der EM bei der Suche nach viralen Erregern von Epidemien in seinem Land referierte. Von besonderem Interesse waren seine Arbeiten zur Diagnostik des Chikungunyavirus, eines von Mücken übertragenen Alphavirus, das infolge der Klimaerwärmung bereits in Norditalien auftritt und dort zu Erkrankungen geführt hat. Alan Curry (HPA, Manchester, England) stellte seine Untersuchungen parasitärer Infektionen von AIDS-Patienten vor. Die durch HIV verursachte Immundefizienz erlaubt es Sporozoen, insbesondere Mikrosporidien-Arten, Menschen zu infizieren. Vor dem Auftreten von AIDS sind diese Infektionen nur sehr selten beobachtet worden. Mit Schnittpräparaten ist eine weitreichende Differenzierung dieser Erreger aufgrund morphologischer Unterschiede möglich. Antonio Lavazza (IZS, Brescia, Italien) unterstrich in seiner Präsentation die Rolle der Immuno-EM bei der Diagnostik von Enteroviren in der Veterinärmedizin. Anschließend referierten Josef Manor (Sheba Medical Centre, Tel-Hashomer, Israel), Christina Johnsen, (Staten Serum Institute, Kopenhagen, Dänemark) und Hazel Appleton (HPA, London, England) über den Einsatz und die Einbindung der EM-Diagnostik in die Plattformen ihrer Institute. In

einer bemerkenswerten Präsentation berichtete Charles Humphrey (CDC, Atlanta, USA) über die Zunahme des Einsatzes des EMs zur Qualitätssicherung biologischer Präparate, insbesondere von VLPs (Virus Like Particles) zur Impfstoffproduktion. Ein Highlight der Präsentation waren EM-Aufnahmen des Mimivirus. Das in Amöben (*Acanthamoeba polyphaga*) gefundene und zunächst für ein Bakterium gehaltene Virus ist mit 400 nm das größte bekannte Virus.

Die Wichtigkeit der Beherrschung konventioneller Techniken bei der Durchführung von Negativkontrastierungen betonte Hans Gelderblom (RKI, Berlin) in seinem Übersichtsvortrag. Der Einsatz moderner Methoden, wie der Tomographie, kann darüber hinaus die Diagnostik sicherer machen und ihr Spektrum wesentlich erweitern - wie Roland Fleck (NIBSC, Hertfordshire, England) in seinem Vortrag darlegte.

Mit der Diagnostik und der Morphogenese von Pockenviren beschäftigte sich Susanne Richter (AGES, Mödling, Österreich) in ihrem Vortrag. Im Rahmen der Präsentation wurden auch technische und qualitative Aspekte von mikrowellenunterstützten Einbettungsprotokollen verglichen und diskutiert. Die EM-Diagnose der im Vergleich zu den Pocken sehr viel kleineren, aber hochinfektösen Parvoviren (bei Hunden und Katzen) stand im Zentrum des Vortrages von Guisy Cardeti (IZSLT, Rome, Italy). Josef Schröder (Universitätsklinikum Regensburg) präsentierte den klinischen Fall einer fatalen Adenovirusinfektion bei einem lebertransplantierten Kleinkind.

Technische Aspekte der Sensitivitätserhöhung und die Möglichkeiten der Kombination von bildgebenden Verfahren und der Spektroskopie zur Diagnostik von Erregern auf dem Niveau einzelner Partikel beleuchtete Michael Laue (RKI, Berlin) in seiner Präsentation. Zum Abschluss des ersten Workshoptages, der mit einem gemeinsamen Abendessen ausklang, präsentierten Anke Dutschke (Zeiss), Wim Busing (FEI), Matthias Rodewald (Jeol), Robert Steffen (Hitachi) und Martin Bartels (Olympus SIS) neuartige technische Ansätze und Lösungen ihrer Firmen mit Bezug zur EM-Diagnostik.

Bei den Präsentationen des zweiten Workshoptages stand der Einsatz des EMs zur Erforschung der Erreger-Wirt-Interaktionen im Vordergrund. Neben Techniken zur Markierung einzelner Proteine mittels Immuno-EM wurde vorrangig über Tomographieverfahren referiert.

So zeigte Montserrat Barcena (Universität Leiden, Niederlande) am Beispiel von Coronaviren die Möglichkeiten, aber auch die Grenzen auf, die die Kryotomographie derzeit bei der Strukturaufklärung von Viruspartikeln bietet. Larissa Kolesnikova (Philipps-Universität, Marburg) beschäftigt sich seit längerem mit der Ausschleusung von Marburg-Virus und stellte neueste Erkenntnisse über die unterschiedlichen Mechanismen bei polar und unpolar aufgebauten Zellen vor. In einem sich nahtlos anschließenden Vortrag berichtete Christel Schmetz (BNI, Hamburg) von der ersten nach Europa eingebrachten Marburg Virus Infektion beim Menschen.

Humane endogene Retroviren (HERVs) gehören zum Erbe menschlicher Zellen. Bei den bekannten Elementen handelt sich um defekte Viren, die im Gegensatz zu tierischen endogenen Retroviren offenbar keine pathogenen Eigenschaften besitzen. Norbert Bannert (RKI, Berlin) zeigt aber, dass eine Reversion bestimmter Mutationen dazu führen kann, dass die Viren wieder intakte Partikel produzieren.

Eine erfolgreiche Immunmarkierung hängt von zahlreichen Faktoren ab. Stefanie Deike (Universität Giessen, Giessen) teilte Ihre Erfahrungen mit der Tokuyaschu Technik mit und gab viele wertvolle Hinweise. Für ihre Versuche hatte sie Rabiesvirus und Pestivirus verwendet.

Sehr spannend machte es Andreas Kurth (RKI, Berlin) in seinem Vortrag über die Entdeckung neuer Viren in Fledermäusen. Bekannt dafür, dass sie Tollwut übertragen können, fand er in seinen Untersuchungen vornehmlich bisher neuartige virale Partikel.

Obwohl Denguefieber die Forschung bereits seit 50 Jahren beschäftigt ist über den Pathomechanismus der mit der Krankheit assoziierten Thrombozytopenie kaum etwas bekannt. Atanu Basu (NIV, Pune, Indien) stellte nun Forschungsergebnisse vor, die auf eine direkte Interaktion der Flaviviren mit den Thrombozyten hinweisen.

Paul Walther (Universität Ulm) veranschaulichte Transportprozesse von unreifen Cytomegalieviren aus dem Zellkern an Hochdruck gefrorenen Proben mit Hilfe der STEM Tomographie.

Reihard Rachel stellte die Ultrastruktur und die Zell-Zell Interaktionen von zwei extrem thermophilen Archaeen vor. Er hatte hierzu 3-D Rekonstruktionen von Serienschnitten von gefriersubstituiertem Material sowie die Kryotomographie verwendet.

Welche verblüffend detaillierten Informationen man mit Hilfe der Tomografie auch aus „normalen“ Negativkontrastpräparaten gewinnen kann, zeigte Jan Mast (CODA-

CERVA, Ukkel, Belgien) auf sehr beeindruckende Weise am Nukleokapsid von Herpesviren.

Als Inspekteur für bioterroristische Waffen war Barry Dowsett (Porton Down, UK) im Auftrag der UN im Irak unterwegs. Er berichtete von seiner abenteuerlichen Mission, die viel detektivisches Gespür und Kombinationsvermögen verlangte

Ergänzend zu den Vorträgen wurde an einem der Transmissionselektronenmikroskope in ZBS 4 die Erstellung von Tomogrammen demonstriert.

Ringversuche zur Qualitätssicherung der EM-Erregerdiagnostik und „Basic Lab Course on Diagnostik EM in Infectious Diseases“

Die 21. Runde des vom RKI organisierten und finanzierten Ringversuchs zur EM-Virusdiagnostik (EQA-EMV) wurde am 9. Juli 2008 an 106 Labore weltweit verschickt. Die Eignung und Güte der eingesetzten Proben wurde durch die Resultate von sechs Referenzlaboren bestätigt. Mit einem Rücklauf von 83 Ergebniseinsendungen und 79 % korrekten Diagnosen war der Ringversuch erneut sehr erfolgreich. Für April/Mai 2009 ist der nächste (EQA-22) geplant.

Am 3. und 4. April 2008 fand der 15. Grundkurs zur EM-Diagnostik (Basic Lab Course) mit insgesamt 17 Teilnehmern am RKI statt. In diesen Kursen werden theoretische und praktische Grundlagen und Prinzipien der EM-Erregerdiagnostik mittels Negativkontrastierung vermittelt. Anfragen zu den Ringversuchen und dem Grundkurs bitte an das Konsiliarlabor am RKI (BannertN@rki.de) richten. Hinweise zu aktuellen Veranstaltungen können den Webseiten des Konsiliarlabors (www.rki.de) oder der AK-EMED (www.dge-homepage.de) entnommen werden.

*Norbert Bannert,
Robert Koch-Institut
Zentrum für Biologische Sicherheit 4
Nordufer 20
13353 Berlin*

*Bärbel Hauröder
ZInstSanBw Koblenz
Elektronenmikroskopie
Andernacherstr. 100
56070 Koblenz*



Teilnehmer Glienicke Workshop 2008

Foto: Hans-Günther Bredow, RKI