



ROBERT KOCH INSTITUT



NRZ/KL-RKI NETZWERKTREFFEN – 16. & 17. NOVEMBER 2023

**Vorstellung aller NRZ und KL
und der infektionsepidemiologischen
Fachgebiete des RKI sowie
Abstracts zu den Kurzvorträgen**

Vorwort

Sehr geehrte Leiterinnen und Leiter der Nationalen Referenzzentren (NRZ) und Konsiliarlabore (KL) in Deutschland, sehr geehrte Gäste,

in den Jahren der COVID-19 Pandemie traten Treffen der NRZ und KL sowie Forschungsaktivitäten zu anderen Infektionskrankheiten zu Gunsten der Bewältigung der pandemischen Lage vielfach in den Hintergrund. Ein direkter Austausch zwischen den Akteuren in den Laboren und den epidemiologischen Fachgebieten des RKI konnte in dieser Zeit nur eingeschränkt stattfinden. Nun rücken Fragestellungen zu anderen Public Health-relevanten Infektionserregern als SARS-CoV-2 und den durch sie verursachten Erkrankungen wieder stärker in den Vordergrund. Klimawandel und die Migration stellen neue und altbekannte Herausforderungen dar.

Um den Austausch und die Vernetzung der Partner im Bereich der Identifizierung der Erreger (Diagnostik), der Ermittlung therapeutischer Optionen (Therapie), der Prävention, Surveillance und Forschung (Infektionsepidemiologie) sowie der Umsetzung der Erkenntnisse auf dem Feld der öffentlichen Gesundheitspflege (ÖGD) zu fördern, haben wir mit dem heutigen Treffen ein Forum geschaffen.

Dieses Netzwerktreffen soll die persönlichen Bezüge stärken und einen aktuellen Gedankenaustausch der Ansprechpersonen aufseiten der NRZ/KL und der jeweiligen epidemiologischen Fachgebiete der Abteilung für Infektionsepidemiologie des RKI ermöglichen. Es wird viel Raum für Diskussionen geben, so dass gemeinsame Herausforderungen und Potenziale erkannt und Lösungen sowie neue Forschungsansätze in der Diagnostik und Surveillance von Infektionserregern erarbeitet werden können.

Das Ihnen vorliegende Booklet zum Treffen beinhaltet die Vorstellung aller beteiligten Akteure und die Abstracts zu den Vorträgen, die im Rahmen des Netzwerktreffens gehalten werden.

Wir freuen uns auf einen interessanten Austausch miteinander!

O. Hamouda, M. Mielke, U. Wieland, V. Kempf, J. Seifried, H. Buck, N. Litzba

Inhalt

Vorwort.....	1
Inhalt.....	3
Infektionsepidemiologische Fachgebiete am Robert Koch-Institut	
ÖGD-Kontaktstelle Krisenmanagement, Ausbruchsuntersuchungen und Trainingsprogramme (Fachgebiet 31).....	7
Surveillance und elektronisches Melde- und Informationssystem (DEMIS) ÖGD Kontaktstelle (Fachgebiet 32).....	9
Impfprävention (Fachgebiet 33).....	12
HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen (Fachgebiet 34).....	16
Gastrointestinale Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen (Fachgebiet 35).....	22
Respiratorisch übertragbare Erkrankungen (Fachgebiet 36).....	24
Nosokomiale Infektionen, Surveillance von Antibiotikaresistenz und -verbrauch (Fachgebiet 37)	27
Geschäftsstelle des Wissenschaftlichen Beirats für Public Health Mikrobiologie und der Nationalen Referenzzentren und Konsiliarlabore in Deutschland	30
Nationale Referenzzentren	
Nationales Referenzzentrum für Borrelien.....	35
Nationales Referenzzentrum für Clostridium difficile.....	42
Nationales Referenzzentrum für Coronaviren	45
Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger.....	50
Nationales Referenzzentrum für Helicobacter pylori	54
Nationales Referenzzentrum für Hepatitis-B- und -D-Viren	57
Nationales Referenzzentrum für Hepatitis-C-Viren	63
Nationales Referenzzentrum für Influenzaviren.....	67
Nationales Referenzzentrum für Invasive Pilzinfektionen.....	69
Nationales Referenzzentrum für Masern, Mumps, Röteln	74
Nationales Referenzzentrum für Meningokokken und Haemophilus influenzae	79
Nationales Referenzzentrum für Mykobakterien.....	86
Nationales Referenzzentrum für Papillom- und Polyomaviren.....	92
Nationales Referenzzentrum für Poliomyelitis und Enteroviren.....	96
Nationales Referenzzentrum für Retroviren	100
Nationales Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger.....	104
Nationales Referenzzentrum für Staphylokokken und Enterokokken	109
Nationales Referenzzentrum für Streptokokken	114
Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen	115
Nationales Referenzzentrum für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien	120
Nationales Referenzzentrum für tropische Infektionserreger.....	125

Konsiliarlabore

Konsiliarlabor für Adenoviren.....	131
Konsiliarlabor für Bacillus anthracis.....	134
Konsiliarlabor für Bartonellen.....	136
Konsiliarlabor für Bordetellen.....	142
Konsiliarlabor für Bornaviren.....	146
Konsiliarlabor für Brucella.....	149
Konsiliarlabor für Chlamydien.....	155
Konsiliarlabor für Coxiella burnetii.....	159
Konsiliarlabor für Cytomegalievirus (CMV).....	161
Konsiliarlabor für Dermatophyten.....	167
Konsiliarlabor für Diphtherie.....	169
Konsiliarlabor für Echinokokken.....	174
Konsiliarlabor für elektronenmikroskopische Diagnostik von Krankheitserregern (EM-Erregerdiagnostik).....	177
Konsiliarlabor für Filoviren.....	180
Konsiliarlabor für Francisella tularensis.....	184
Konsiliarlabor für Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME).....	188
Konsiliarlabor für Gonokokken.....	192
Konsiliarlabor für Hämolytisch-Urämisches Syndrom (HUS).....	195
Konsiliarlabor für Hantaviren.....	197
Konsiliarlabor für Hepatitis-A-Virus (HAV) und Hepatitis-E-Virus (HEV).....	202
Konsiliarlabor für Herpes-simplex-Virus (HSV) und Varicella-Zoster-Virus (VZV).....	206
Konsiliarlabor für humanpathogene Vibrionen.....	210
Konsiliarlabor für Kryptokokkose und seltene Systemmykosen.....	214
Konsiliarlabor für Legionellen.....	217
Konsiliarlabor für Leptospirose.....	221
Konsiliarlabor für Listerien.....	222
Konsiliarlabor für Mukoviszidose-Bakteriologie.....	225
Konsiliarlabor für Mykoplasmen.....	229
Konsiliarlabor für Neurotoxin-produzierende Clostridien (Botulismus, Tetanus).....	233
Konsiliarlabor für Noroviren.....	238
Konsiliarlabor für Parvoviren.....	242
Konsiliarlabor für Pockenviren.....	244
Konsiliarlabor für respiratorische Syncytialviren (RSV), Parainfluenzaviren, Metapneumoviren.....	247
Konsiliarlabor für Rotaviren.....	249
Konsiliarlabor für Tollwut.....	253
Konsiliarlabor für <i>Treponema</i>	256
Konsiliarlabor für <i>Tropheryma whipplei</i>	259
Konsiliarlabor für <i>Yersinia pestis</i>	265

Impressum

Infektionsepidemiologische Fachgebiete am Robert Koch-Institut

ÖGD-Kontaktstelle | Krisenmanagement, Ausbruchsuntersuchungen und Trainingsprogramme (Fachgebiet 31)



Dr. Ute Rexroth

Leitung

Dr. Ute Rexroth

Institut

ÖGD-Kontaktstelle | Krisenmanagement, Ausbruchsuntersuchungen und Trainingsprogramme (FG 31), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

rexrothu@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3259

Stellvertretung

Dr. Katharina Alpers, Dr. Maria an der Heiden

Institut

ÖGD-Kontaktstelle | Krisenmanagement, Ausbruchsuntersuchungen und Trainingsprogramme (FG 31), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

alpersk@rki.de, anderheidenma@rki.de

Das Fachgebiet ist zuständig für infektionsepidemiologisches Krisenmanagement, Ausbruchsuntersuchungen und Trainingsprogramme und enthält die Geschäftsstelle der ÖGD-Kontaktstelle.

Als ÖGD-Kontaktstelle ist das Fachgebiet Ansprechpartner für Themen der Infektionsepidemiologie für Gesundheitsbehörden auf Bundeslandebene in Deutschland sowie für die internationalen Gesundheitsbehörden der Europäischen Union (EU) und der Weltgesundheitsorganisation (WHO).

Das Fachgebiet unterstützt den ÖGD bei Krisenplanung und -management im Bereich der Infektionsepidemiologie und ist für das RKI-Lagezentrum verantwortlich. Es entsendet Ausbruchsteams in den ÖGD und trägt auch außerhalb von Krisen zum besseren Erkennen und Bewerten (Internationale Meldungen, Epidemic Intelligence) und Bewältigen (Krisenplanung, Krisenmanagement) bei. Dabei liegen besondere Schwerpunkte auf dem Infektionsschutz im Reiseverkehr und im Bereich Migration und sozial vulnerabler Gruppen.

Diverse Lehraktivitäten fördern die Vernetzung und den Erfahrungsaustausch und tragen gewonnene wissenschaftliche Erkenntnisse in die Breite. In der Postgraduiertenausbildung für angewandte Epidemiologie (PAE) werden Wissenschaftler/-innen im Bereich der Infektionsepidemiologie ausgebildet, um epidemiologische Methoden für den Infektionsschutz im Öffentlichen Gesundheitsdienst (ÖGD) einzusetzen. Das Programm besteht seit 1996.

Das Fachgebiet bringt seine Expertise im Rahmen zahlreicher durch Auswärtiges Amt, BMG und WHO-geförderter Projekte für internationale Partnerländer ein.

Wichtige Publikationen

- Kuehne A, Gillesberg Raiser S, Dörre A, Mertens E, Charles T, Siffczyk C, Aktuna G, Zunk J, Alpers K: „Trainingsprogramme in angewandter Epidemiologie für den öffentlichen Gesundheitsdienst in Deutschland – Bestandsaufnahme und Ausblick“ Public Health Forum, vol. 31, no. 4, 2023, pp. 362-366. <https://doi.org/10.1515/pubhef-2023-0128>
- Milde-Busch A, Zeitlmann N, Mücke I, Gilsdorf A, Rexroth U, An der Heiden M; EpiLag-Working Group. Ten years of weekly epidemiological teleconference, (EpiLag) – an effective and time-efficient tool for infectious disease event information, Germany, 2009-2018. *Epidemiol Infect.* 2021 Apr 12;149:e115. doi: 10.1017/S095026882100073X. PMID: 33843539; PMCID: PMC8161418.
- Halm A, Grote U, An der Heiden M, Hamouda O, Schaade L, Rexroth U; RKI-Lagezentrums-Gruppe. Das Lagemanagement des Robert Koch-Instituts während der COVID-19-Pandemie und der Austausch zwischen Bund und Ländern. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2021 Apr;64(4):418-425. German. doi: 10.1007/s00103-021-03294-0. Epub 2021 Mar 5. PMID: 33666683; PMCID: PMC7933910.

Surveillance und elektronisches Melde- und Informationssystem (DEMIS) | ÖGD Kontaktstelle (Fachgebiet 32)



Michaela Diercke

Leitung

Michaela Diercke

Institut

Surveillance und elektronisches Melde- und Informationssystem (DEMIS) | ÖGD Kontaktstelle (FG 32), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

dierckem@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3686

Stellvertretung

Dr. Jakob Schumacher

Institut

Surveillance und elektronisches Melde- und Informationssystem (DEMIS) | ÖGD Kontaktstelle (FG 32), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

schumacherj@rki.de

Telefon

+49 30 18754-5105

Das Fachgebiet Surveillance ist vor allem zuständig für die Umsetzung des Meldewesens nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG). Ebenfalls koordiniert es die Neu- und Weiterentwicklung von Surveillance-Methoden und -Instrumenten und ist für die Organisation des RKI-Lagezentrums verantwortlich. Das Fachgebiet ist Ansprechpartner für den öffentlichen Gesundheitsdienst (ÖGD) auf Kreis- und Bundeslandebene in Deutschland sowie für die internationalen Gesundheitsbehörden der Europäischen Union (EU) und der Weltgesundheitsorganisation (WHO).

Aufgaben

Meldewesen nach IfSG und (Weiter-)Entwicklung von Surveillance-Systemen

- Deutsches Elektronisches Melde- und Informationssystem für den Infektionsschutz (DEMIS), seit 2016 (www.rki.de/demis)
- Qualitätsmanagement und Evaluation der Surveillance meldepflichtiger Sachverhalte
- Fortlaufende epidemiologische Analyse der Meldedaten
- Früherkennung und Verhinderung der Weiterverbreitung von Infektionen
- Weiterentwicklung der Falldefinitionen, Übermittlungs- und Auswertungskriterien (www.rki.de/falldefinitionen)
- Berichterstattung (z. B. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten, Epidemiologisches Bulletin, SurvStat@RKI) und wissenschaftliche Veröffentlichungen
- Neu- und Weiterentwicklung von Surveillance-Methoden und -werkzeugen, z. B. syndromische Surveillance in Notaufnahmen, Mortalistätssurveillance
- Empfehlungen zur Surveillance von Infektionskrankheiten
- Nationale Kooperation im Rahmen der ÖGD-Kontaktstelle
- Ansprechpartner für den ÖGD auf Kreis- und Bundeslandebene in Deutschland, Bereitstellung von Informationsmaterialien (z. B. Infobriefe, Musterbelehrungsbögen)
- Koordinierung der Bund-Länder-Arbeitsgruppe Surveillance für Infektionskrankheiten und der Bund-Länder-Informationsverfahren
- ÖGD-Feedbackgruppe mit Vertretern aus der Kreis- und Bundeslandebene für einen besseren Austausch aller Ebenen des ÖGD und die Anpassung von RKI-Veröffentlichungen (z. B. Ratgeber) an die Bedürfnisse der Gesundheitsämter
- Internationale Netzwerke und Frühwarnsysteme
- National Focal Point Surveillance
- Internationale Kooperation im Rahmen des Europäischen Netzes für die epidemiologische Überwachung (TESSy) des ECDC

Laufende Projekte

- Kollaborationsplattform Agora für den Öffentlichen Gesundheitsdienst (ÖGD) (www.rki.de/agora)
- European monitoring of excess mortality for public health action (Euro-Momo), fortlaufend (www.euromomo.eu)
- Routinedaten aus dem Gesundheitswesen in Echtzeit (SUMO), seit 2018 (www.rki.de/sumo)
- Abwassersurveillance (www.rki.de/abwassersurveillance)
- Joint Action Union and National Capacity Building 4 IntegraTED Surveillance (UNITED4Surveillance), 2023 bis 2025 (<https://united4surveillance.eu/>)

Wichtige Publikationen

- Koppe U, Schilling J, Stecher M, Ruthrich MM, Marquis A, Diercke M, et al. Disease severity in hospitalized COVID-19 patients: comparing routine surveillance with cohort data from the LEOSS study in 2020 in Germany. *BMC Infect Dis.* 2023;23(1):89.
- Heese H, Marquis A, Diercke M, Markus I, Bohm S, Metz J, et al. Results of the enhanced COVID-19 surveillance during UEFA EURO 2020 in Germany. *Epidemiol Infect.* 2022;150:1-18.
- Sievers C, Zacher B, Ullrich A, Huska M, Fuchs S, Buda S, et al. SARS-CoV-2 Omicron variants BA.1 and BA.2 both show similarly reduced disease severity of COVID-19 compared to Delta, Germany, 2021 to 2022. *Euro Surveill.* 2022;27(22).
- Schlump C, Thom J, Boender TS, Wagner B, Diercke M, Kocher T, et al. [Using emergency department routine data for the surveillance of suicide attempts and psychiatric emergencies]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2022;65(1):30-9.
- Ullrich A, Schranz M, Rexroth U, Hamouda O, Schaade L, Diercke M, et al. Impact of the COVID-19 pandemic and associated non-pharmaceutical interventions on other notifiable infectious diseases in Germany: An analysis of national surveillance data during week 1-2016 – week 32-2020. *Lancet Reg Health Eur.* 2021;6:100103.

ABSTRACT

Implementierung der integrierten genomischen Surveillance am Robert Koch-Institut

Diercke M, Kremer K, Tittmann B, Sievers C

Die integrierte genomische Surveillance (IGS) wird benötigt, um öffentliche Gesundheitssysteme zu unterstützen, die Risiken von Krankheitserregern besser erkennen, charakterisieren und bewerten zu können. Für die Umsetzung der IGS muss die Meldung von Surveillance- und genomischen Daten vereinheitlicht werden, damit diese miteinander verknüpft werden können. Mit DEMIS können in Zukunft Genomsequenzdaten an das RKI direkt übermittelt werden, um sie im Folgenden mit den nach IfSG übermittelten Falldaten zu verknüpfen. Des Weiteren ist es notwendig, Analyseergebnisse der IGS mit dem öffentlichen Gesundheitsdienst (ÖGD) zu teilen, um zum Beispiel Unterstützung bei Ausbruchuntersuchungen oder Maßnahmen im Rahmen des Infektionsschutzes zu ermöglichen. Dies schließt die Nationalen Referenzzentren und Konsiliarlabore, die Landesstellen und die Gesundheitsämter mit ein.

Impfprävention (Fachgebiet 33)



PD Dr. Ole Wichmann

Leitung

PD Dr. Ole Wichmann

Institut

Impfprävention (FG 33), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

WichmannO@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3468

Stellvertretung

Dr. Thomas Harder

Institut

Impfprävention (FG 33), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

HarderT@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3565

Das Fachgebiet 33 ist am RKI zuständig für die Überwachung und Kontrolle von impfpräventablen Krankheiten in Deutschland, die entsprechende weitergehende (epidemiologische) Forschung zu impfpräventablen Erkrankungen und Impfeffekten sowie die Kommunikation bzw. Information der Fachöffentlichkeit zu den aktuellen Impfeempfehlungen und zum Nutzen von Impfungen generell. Im Fachgebiet ist darüber hinaus die Geschäftsstelle der Ständigen Impfkommission (STIKO) sowie die Geschäftsstelle der Nationalen Verifizierungskommission zur Masern- und Rötelnelimination in Deutschland (NAVKO) angesiedelt. Die Aufgaben des Fachgebietes umfassen daher mehrere wichtige Schwerpunkte:

- Analyse und Bewertung von Surveillance- und anderer Daten zu impfpräventablen Erkrankungen mit gemeinsamer Analyse von Daten der genomischen und der epidemiologischen Surveillance zur Einschätzung von Transmissionsketten und der Ausbreitung von spezifischen Sero- oder Genotypen (z. B. Meningokokken, Masern, Röteln)
- Konstante Evaluierung und Optimierung der Surveillance impfpräventabler Erkrankungen in Zusammenarbeit mit den anderen Fachgebieten des RKI und den FachkollegInnen der Bundesländer (z. B. Mitarbeit bei der Überarbeitung von Falldefinitionen und Ratgebern)

- Beratung und Unterstützung bei der Durchführung von Untersuchungen zur Eindämmung von Infektionsgeschehen (z. B. Ausbruchsuntersuchungen) und Erarbeitung von Empfehlungen hinsichtlich der Surveillance von impfpräventablen Erkrankungen (z. B. Maßnahmenkataloge, SOPs)
- Untersuchung der Effekte von Impfungen auf die Epidemiologie und Krankheitslast der impfpräventablen Erkrankungen und mögliche Effekte verschiedener Sero- oder Genotypen impfpräventabler Erreger auf die Wirksamkeit von Impfungen
- Erhebung, Analyse und Interpretation von Daten zur Inanspruchnahme von Impfungen in der Bevölkerung und in speziellen Zielgruppen (z. B. Schwangere oder Personen mit chronischen Grundliden). Hierzu werden Daten der jährlichen Schuleingangsuntersuchungen der Bundesländer sowie Daten der Kassenärztlichen Vereinigungen aufbereitet und ausgewertet und die Ergebnisse in jährlichen Berichten vorgestellt und verglichen.
- Analyse und Bewertung von Daten zur Seroprävalenz bzw. zum Immunstatus in der Bevölkerung in Bezug auf impfpräventable Erreger
- Koordination bzw. Teilnahme an wissenschaftlichen Projekten im Bereich der Impfprävention, insb. epidemiologische Studien zur Erfassung der Impfeffektivität, Krankheitslast oder Risikofaktoren als Grundlage oder Evaluation von STIKO-Empfehlungen
- Mathematische Modellierungen zur Abschätzung der voraussichtlichen epidemiologischen und gesundheitsökonomischen Effekte neuer Impfungen bzw. unterschiedlicher Impfstrategien als Grundlage für STIKO-Entscheidung
- Unterstützung der Ständigen Impfkommision (Geschäftsstelle) bei der Entwicklung von evidenzbasierten Impfeempfehlungen und entsprechenden Präventionsstrategien unter Berücksichtigung der Standardvorgehensweise (SOP), zum Beispiel durch die Erststellung von Systematischen Reviews zur Wirksamkeit und Sicherheit von Impfungen sowie durch die Zusammentragung von Daten zu diversen anderen für die Entscheidungsfindung relevanten Fragenstellungen
- Weiterentwicklung von Methoden der Evidenzbasierten Medizin zur Anwendung im Impfbereich bzw. durch die STIKO, insb. im Bereich Leitlinien-Entwicklung und Decision-Making
- Begleitkommunikation der STIKO-Impfeempfehlungen u. a. mittels Kernbotschaften, Pressemitteilungen und Hintergrundgesprächen mit JournalistInnen
- Beantwortung von Anfragen aus dem ÖGD und der Fachöffentlichkeit rund um die Kommissionsarbeit der STIKO bzw. Auslegung von den STIKO-Empfehlungen
- Erarbeitung und regelmäßige Aktualisierungen von Informations- und Aufklärungsmaterialien für die Fachöffentlichkeit (z. B. FAQ, Faktenblätter, Aufklärungsvideos, Faktensandwiches für die Aufklärung von Impfmythen, Poster, Pocket-Book der STIKO-Empfehlungen) sowie Koordination, Weiterentwicklung und Pflege der STIKO-App (aktuell > 600.000 NutzerInnen)
- Erarbeitung von Strategien zur Verbesserung der Impfprävention und Unterstützung der Impfsaktivitäten der Bundesländer sowie Verbesserung des Informationsstandes der Fachöffentlichkeit und der Bürgerinnen und Bürger über Nutzen und Risiko von Schutzimpfungen
- Koordination der jährlichen Influenzaimpfkampagne in Kooperation mit der BZgA
- Durchführung der jährlichen Onlinebefragung von Klinikpersonal zur Influenza- und COVID-19-Impfung (OKaPII)
- Evaluation von Impfpflichten und anderen Maßnahmen zur Steigerung von Impfquoten in Deutschland (z. B. Masernschutzgesetz)
- Durchführung, Koordination und Beratung von wissenschaftlichen Projekten im Bereich der Impfsakzeptanz und Behavioral Insights, aktuell zum Beispiel Durchführung einer Interventionsstudie zur Steigerung der HPV-Impfquoten in Deutschland (InveST-HPV)

- Unterstützung der Nationalen Verifizierungskommission (Geschäftsstelle der NAVKO) bei der Erstellung von Berichten an die Europäischen WHO-Region zum Status der Elimination der Masern und Röteln in Deutschland
- Unterstützung von anderen nationalen Impfkommisionen in der WHO EURO Region (insb. in Ländern mit mittleren Einkommen, MICs) bei der Durchführung systematischer Reviews und Erarbeitung von evidenzbasierten Impfpfehlungen in der Europäischen WHO-Region (SENSE) und Erarbeitung eines globalen Registers für systematische Übersichtsarbeiten zur Stärkung nationaler Impfprogramme und –entscheidungsprozessen (SYSVAC)
- Koordinierende Ansprechpartner für internationale Organisationen wie ECDC und WHO zu impfpräventablen Erkrankungen und Impfquoten in Deutschland sowie zur nationalen Impfstrategie. Regelmäßige internationale Berichterstattung an WHO/Unicef. Vertretung in internationalen Netzwerken (z. B. EU Netzwerk Nationaler Impfkommisionen) und Gremien

Wichtige Publikationen

Ständige Impfkommision: Empfehlungen der Ständigen Impfkommision (STIKO) beim Robert Koch-Institut 2023. *Epid Bull* 2023;4:3- 68 | DOI 10.25646/10829.4

Vanessa Piechotta, Waldemar Siemens, Iris Thielemann, Markus Toews, Judith Koch, Sabine Vygen-Bonnet, Kavita Kothari, Kathrin Grummich, Cordula Braun, Philipp Kapp, Valérie Labonté, Ole Wichmann, Joerg J Meerpohl, Thomas Harder: Safety and effectiveness of vaccines against COVID-19 in children aged 5-11 years: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health*, 2023 Jun;7(6):379-391. doi: 10.1016/S2352-4642(23)00078-0. Epub 2023 Apr 18.

Badenschier F, Berger A, Dangel A, Sprenger A, Hobmaier B, Sievers C, Prins H, Dörre A, Wagner-Wiening C, Külper-Schick W, Wichmann O, Sing A. Outbreak of imported diphtheria with *Corynebacterium diphtheriae* among migrants arriving in Germany, 2022. *Euro Surveill*. 2022 Nov;27(46):2200849. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.46.2200849

Stoliaroff-Pepin A, Peine C, Herath T, Lachmann J, Hellenbrand W, Perriat D, Dörre A, Nitsche A, Michel J, Grossegeisse M, Hofmann N, Rinner T, Kohl C, Brinkmann A, Meyer T, Stern D, Treindl F, Dorner BG, Hein S, Werel L, Hildt E, Gläser S, Schühlen H, Isner C, Peric A, Ghouzi A, Reichardt A, Janneck M, Lock G, Huster D, Grünewald T, Schaade L, Wichmann O, Harder T. Vaccine effectiveness against severe COVID-19 during the Omicron wave in Germany: results from the COViK study. *Infection*. 2023 Aug;51(4):1093-1102. doi: 10.1007/s15010-023-02012-z.

Teresa M Nygren, Antonia Pilic, Merle M Böhmer, Christiane Wagner-Wiening, Ole Wichmann, Thomas Harder, Wiebke Hellenbrand: Tick-borne encephalitis vaccine effectiveness and barriers to vaccination in Germany. *Sci Rep*. 2022 Jul 9;12(1):11706. doi: 10.1038/s41598-022-15447-5.

ABSTRACT

Vorstellung des Fachgebietes Impfprävention am RKI

Matysiak-Klose D, Ole Wichmann O

Das Fachgebiet Impfprävention am RKI ist zuständig für die Überwachung und Kontrolle von impfpräventablen Krankheiten in Deutschland, die epidemiologische Forschung zu impfpräventablen Erkrankungen und Impfeffekten sowie die Information der Fachöffentlichkeit zu den aktuellen Impfempfehlungen und zum Nutzen von Impfungen generell. Im Fachgebiet ist darüber hinaus die Geschäftsstelle der Ständigen Impfkommission (STIKO) sowie die Geschäftsstelle der Nationalen Verifizierungskommission zur Masern- und Rötelnelimination in Deutschland (NAVKO) angesiedelt. Das Fachgebiet Impfprävention wird von PD Dr. med. Ole Wichmann geleitet und gliedert sich in fünf Teams: (i) Surveillance und Impfquotenmonitoring, (ii) Forschung und Methoden, (iii) Impfmodellierung (iv) STIKO-Geschäftsstelle, und (v) Kommunikation und Impfakzeptanz.

Zu den Kern-Aufgaben bzw. Aktivitäten des Fachgebietes gehören unter anderem die Analyse und Bewertung von Surveillance- und anderer Daten zum Auftreten impfpräventabler Erkrankungen und der Effekte von Impfungen in Deutschland. Hierzu werden unter anderem die Daten der genomischen sowie der epidemiologischen Surveillance zur Einschätzung der Ausbreitung von spezifischen Sero- oder Genotypen analysiert und Empfehlungen (z. B. Maßnahmenkataloge, SOPs) für den öffentlichen Gesundheitsdienst erarbeitet. Aber auch Abrechnungsdaten aus der ambulanten Versorgung werden durch die Kassenärztlichen Vereinigungen (KVen) zur Verfügung gestellt und zur Abschätzung von Krankheitslast und Impfeffekten genutzt. Weitere wichtige Schwerpunkte stellen die Erhebung, Analyse und Interpretation von Daten zur Inanspruchnahme von Impfungen in der Allgemeinbevölkerung und in speziellen Zielgruppen unter Nutzung von KV- und Schuleingangsuntersuchungs-Daten sowie die Analysen und Bewertung von Seroprävalenzdaten aus der Bevölkerung dar.

Durch die im Fachgebiet angesiedelte Geschäftsstelle wird die STIKO bei der Entwicklung von evidenzbasierten Impfempfehlungen koordiniert und wissenschaftlich unterstützt. So werden Teamübergreifend zum Beispiel Systematische Reviews zur Wirksamkeit und Sicherheit von Impfungen erstellt, die möglichen epidemiologischen und ggf. gesundheitsökonomischen Effekte einer neuen Impfempfehlung mittels Modellierung abgeschätzt, die Weiterentwicklung von Methoden der Evidenzbasierten Medizin zur Anwendung im Impfbereich und eine Begleitkommunikation über neue und bestehende STIKO-Impfempfehlungen sichergestellt.

Wissenschaftliche Projekte des Fachgebietes zur Krankheitslast oder zu Risikofaktoren der impfpräventablen Erreger, zur Impfeffektivität bzw. zum Impact von Impfungen auf die Krankheitslast auf Bevölkerungsebene, aber auch zur Akzeptanz von Impfungen oder Empfehlungen dienen als Grundlage für oder zur Evaluation von STIKO-Empfehlungen. In Kooperation mit der Weltgesundheitsorganisation und anderen internationalen Partnern werden in gemeinsamen Projekten nationale Impfkommmissionen bei der Durchführung systematischer Reviews und Erarbeitung von evidenzbasierten Impfempfehlungen unterstützt.

Die im Fachgebiet erarbeiteten und regelmäßig aktualisierten Informations-Materialien bzw. -Plattformen (z. B. FAQ, Faktenblätter, Faktensandwiches, Aufklärungsvideos, STIKO-App) sind Strategien zur Verbesserung des Informationsstandes und zur Unterstützung der Impftätigkeiten der impfenden Ärzteschaft.

Die inhaltlichen Schwerpunkte des Fachgebietes sollen auf der Veranstaltung kurz vorgestellt werden.

HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen (Fachgebiet 34)



PD Dr. med. Viviane Bremer MPH

Leitung

PD Dr. med. Viviane Bremer MPH

Institut

HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen (FG 34), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

BremerV@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3487

Stellvertretung 1

Dr. med. vet. Barbara Gunsenheimer-Bartmeyer

Institut

HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen (FG 34), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

Gunsenheimer-BartmeyerB@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3711

Stellvertretung 2

Dr. phil. Klaus Jansen

Institut

HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen (FG 34), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

JansenK@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3754

Die Arbeit des Fachgebiet 34 besteht unter anderem darin, umfassende epidemiologische Daten zu HIV/AIDS, sexuell übertragbaren Infektionen (STI), viralen Hepatitiden und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit zu gewinnen, um die Epidemiologie dieser Infektionen besser zu verstehen. Diese Daten werden genutzt, um Präventionsstrategien zu formulieren, diese anzupassen und zu evaluieren, sowie um Empfehlungen für die Diagnostik und Krankenversorgung zu erstellen.

Surveillance

Daten zu Infektionen mit HIV und Syphilis sowie zu Infektionen mit Gonokokken mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber Azithromycin, Cefixim und Ceftriaxon werden gemäß Infektionsschutzgesetz § 7 Abs. 3 nichtnamentlich direkt an das RKI gemeldet. Mit Änderung des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) vom 16.09.2022 sind alle Nachweise von *Neisseria (N.) gonorrhoeae* sowie Lymphogranuloma venereum meldepflichtig. Das elektronische Melde- und Informationssystem (DEMIS) des RKI wird aktuell um die elektronische Meldung von Erregernachweisen gemäß § 7 Abs. 3 IfSG erweitert.

Meldungen zu Labornachweisen und Infektionen mit Hepatitis B, C und D sowie Mpox und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit werden gemäß Infektionsschutzgesetz § 6 und § 7 Abs. 1 über Gesundheitsämter und Landesgesundheitsbehörden an das RKI übermittelt, analysiert und publiziert. Zudem ist das FG 34 zuständig für die Analyse und Bewertung der Daten zu Infektionsmarkern (HIV, Syphilis, Hepatitis B und C, Hepatitis E und Westnil-Fieber) bei Blutspendern nach § 22 Transfusionsgesetz (TFG).

Neben der Routinesurveillance wurden von FG 34 zusätzliche Surveillance-Systeme aufgebaut. So werden seit über 20 Jahren in zwei multizentrischen prospektiven HIV Langzeitbeobachtungsstudien longitudinale Daten zum klinischen Verlauf und Therapie der HIV-Infektion erhoben. Im Rahmen der erweiterten HIV-Surveillance werden gemeinsam mit dem Fachgebiet FG 18 aus Meldelaboren Blutproben gesammelt, die am RKI sequenziert und genotypisiert werden und hinsichtlich übertragener resistenzassoziiierter Mutationen untersucht werden. In Zusammenarbeit mit dem am RKI ansässigen Konsiliarlabor für Gonokokken werden im Rahmen der molekularen Surveillance Isolate zu resistenten Gonokokken-Infektionen gesammelt, nachgetestet und sequenziert.

In Zusammenarbeit mit anderen Fachgebieten des RKI werden zudem Blutspendeproben für ergänzende Surveillance-Untersuchungen genutzt, wie z. B. für wiederholte Querschnittsuntersuchungen von SARS-CoV-2-Antikörpern während der Corona-Pandemie oder zur Untersuchung von seltenen oder neu auftretenden Pathogenen wie West-Nil-Virus oder Bornavirus.

Zudem werden Sekundärdaten der medizinischen Versorgung (z. B. Daten der Krankenkassen, Apothekenabrechnungen) genutzt, um die Anzahl und Art der Therapien von HIV- und Hepatitis B und C regelmäßig zu bestimmen. Aktuell wird die Zahl der auf Hepatitis B und C getesteten und diagnostizierten Versicherten aus Krankenkassendaten bestimmt. Außerdem wurde die Einführung der HIV-Präexpositionsprophylaxe (PrEP) als Leistung der Gesetzlichen Krankenversicherung wissenschaftlich begleitet und evaluiert (EvE-PrEP). Gegenwärtig wird eine nationale PrEP-Surveillance (PrEP-Surv) aufgebaut, um die Inanspruchnahme der PrEP kontinuierlich zu erfassen. Ein wichtiger Aspekt des Projekts PrEP-Surv ist die Stärkung der Digitalisierung im Gesundheitswesen.

Für die alljährliche Schätzung der Inzidenz der HIV-Neuinfektionen sowie der Prävalenz der geschätzt in Deutschland mit HIV lebenden Personen werden die HIV-Melddaten zusammen mit den Daten aus den Langzeitbeobachtungsstudien zu HIV, den Apothekenabrechnungsdaten sowie Todesfallmeldungen genutzt. Diese Analyse dient der Erstellung der sog. HIV Behandlungskaskade, um eine Aussage über das Erreichen der UNAIDS Ziele 95-95-95 für Deutschland treffen zu können. So können bestehende Lücken bei der Prävention und Testung von HIV, dem Zugangs zur antiretroviralen Therapie nach Diagnosestellung und der nachhaltigen Gewährleistung eines Therapieerfolgs identifiziert werden.

Ausbruchsuntersuchungen

In FG 34 werden regelmäßig Ausbruchsuntersuchungen durchgeführt. So hat FG 34 gemeinsam mit FG 34 und ZBS 1 die Aktivitäten im Rahmen des Mpox-Ausbruchs im Jahr 2022 koordiniert. Dazu gehörten der Aufbau einer Surveillance, die Kommunikation mit verschiedenen nationalen und Internationalen Akteuren, die Koordination der Risikokommunikation und die Vorbereitung verschiedener Studien. Während des Hepatitis-A Ausbruchs bei Männern, die Sex mit Männern haben (MSM) 2016-18 in Berlin wurde eng mit HIV-Schwerpunktpraxen und Szene-Clubs kooperiert, um die Impfabdeckung unter MSM zu erhöhen. Bei einem nosokomialen Ausbruch von Hepatitis C in einer Klinik in Bayern 2017/18 wurde von den lokalen Behörden und der betroffenen Klinik eine umfangreiche Fallsuche initiiert, die Proben im NRZ HCV genotypisiert und dem RKI zur weiteren molekularen Diagnostik zugesendet. Aufgrund der hohen homologen Übereinstimmung der sequenzierten Proben konnte von einer einzigen gemeinsamen Ansteckungsquelle ausgegangen werden. Im Jahr 2022 hat das FG 34 zusammen mit FG 35 und in Kooperation mit Klinikern eine mögliche Häufung von Fällen schwerer Hepatitiden bei Kindern unbekannter Ätiologie im Rahmen eines europäischen Ausbruchsgeschehens untersucht, und konnte durch eine intensiverte Surveillance und Fallsuche ausschließen, dass Deutschland von diesem Geschehen betroffen ist.

Studien

Ein wichtiger Schwerpunkt des FG 34 ist die Durchführung von infektionsepidemiologischen Studien, insbesondere unter vulnerablen Populationen. Abb. 1 gibt einen Überblick über die Populationen, die potentiell ein höheres Risiko haben, sich mit HIV, Hepatitis B und C oder STI zu infizieren, sowie zu den jeweils laufenden oder vor kurzen abgeschlossenen Studien in diesen Populationen. Studien zur sog. integrierten biologischen und Verhaltenssurveillance verbinden Angaben hinsichtlich der Prävalenz bestimmter Infektionserkrankungen in einer Population mit Daten zum sexuellen Verhalten.

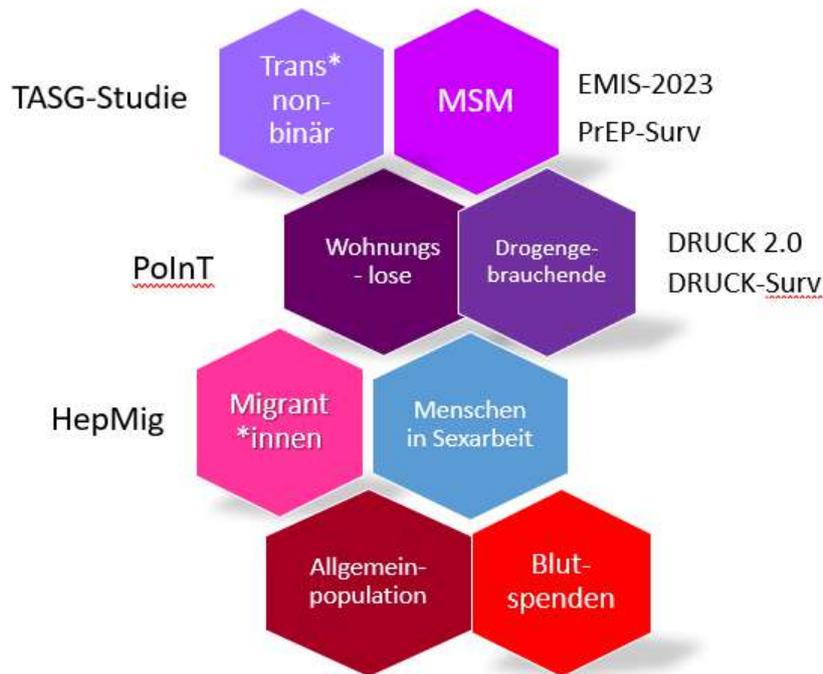


Abb. 1: Vulnerable Populationen für die Infektion mit HIV, Hepatitis B und C oder STI, sowie Namen von ausgewählten derzeit laufenden oder vor kurzem abgeschlossenen Studien (Stand Oktober 2023)

Durch die Studien können Informationen zu Indikatoren geliefert werden, die für die nationale und internationale Berichterstattung benötigt werden. Anhand dieser Indikatoren kann festgestellt werden, wie weit Deutschland bzgl. der Eliminierung von HIV, Hepatitis B und C und STI fortgeschritten ist. Als Beispiele für die Studien seien die DRUCK 2.0 und die DRUCK-Surv Studien genannt. Ziel von DRUCK 2.0 war es, ein Design zu entwickeln, anhand dessen regelmäßig die Prävalenz von Hepatitis B, C und HIV sowie assoziierte Risiko- und Präventionsverhaltensweisen bei Menschen mit injizierendem Drogenkonsum erfasst werden können. Mit DRUCK-Surv soll dieses Design auf Sentinelstädte in verschiedenen Bundesländern ausgerollt werden, um zukünftig wiederkehrend die Situation beurteilen und Anpassungen vornehmen zu können. Diese Daten werden auch genutzt, um die HIV- und HCV-Versorgungskaskade bei Menschen mit injizierendem Drogenkonsum zu bestimmen, Versorgungslücken aufzudecken und internationale Indikatoren zu berichten. Ein weiterer wichtiger Indikator der Prävention bei dieser Gruppe ist die Ausgabe von sterilen Drogenkonsumutensilien, der in der saferKONSUM-Studie wiederkehrend bestimmt wird. Die TASG- und EMIS 2023-Studien sind dagegen reine Befragungsstudien unter trans und nicht-binären Personen beziehungsweise MSM. Die aktuell laufende HepMig-Vorstudie zur Versorgung von Hepatitis B und C bei Menschen in Deutschland mit Migration aus ausgewählten Ländern pilotiert Methoden zur Erreichbarkeit von bestimmten MigrantInnengruppen. Diese sind aufgrund ihrer Herkunft aus Ländern mit höherer Prävalenz von Hepatitis B und C besonders von diesen Infektionen betroffen. Eine Datenerhebung bei diesen Gruppen erfordert besondere Zugangswege, die sich je nach Population unterscheiden können. Ein Fokus von HepMig ist auch die Erfassung der Versorgung dieser Infektionen, um gezielt Anpassungen empfehlen zu können.

Im Bereich Blutspende sind Untersuchungen zu sexuellen Infektionsrisiken von Blutspendenden durchgeführt worden, gepaart mit der Entwicklung und Evaluation eines bundeseinheitlichen Spendefragebogens.

International laufen Projekte zum Monitoring von Hepatitis B und C mit dem European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (Arbeit in der European Hepatitis B & C Monitoring Advisory Group) und mit der European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA): Updating the EMCDDA drug-related infectious diseases protocol to meet the monitoring needs of the sustainable development goals for people who inject drugs in the Member States of the EMCDDA (DRID protocol update).

WHO-Kollaborationszentrum für virale Hepatitis und HIV

FG 34 wurde am 3. März 2021 von der Weltgesundheitsorganisation zum WHO Collaborating Centre for viral hepatitis and HIV ernannt. Als WHO-Kooperationszentrum unterstützt das RKI gemeinsam mit nationalen und internationalen Partnern die WHO bei der Bekämpfung der viralen Hepatitis und Eliminierung von Hepatitis B und C sowie der Eindämmung von HIV in Europäischer Region der WHO. Als WHO Collaborating Centre for viral hepatitis and HIV hat das RKI folgende Aufgabenbereiche:

- Fachliche Unterstützung der WHO, um Mitgliedstaaten bei der methodischen Entwicklung, Planung, Durchführung und Analyse epidemiologischer Untersuchungen zu Hepatitis B und C sowie HIV in verschiedenen Bevölkerungsgruppen zu unterstützen.
- Unterstützung der WHO bei der Bewertung von Monitoring, Bekämpfung und Eliminierung von Virushepatitis B und C sowie HIV/AIDS in den Ländern der Europäischen Region der WHO.

Wichtige Publikationen

- Offergeld R, Preußel K, Zeiler T, Aurich K, Baumann-Barette B.I, Ciesek S, Corman V.M, Dienst V, Drosten C, Görg S, Greinacher A, Grossegessle M, Haller S, Heuft H-G, Hofmann N, Horn P.A, Houareau C, Gülec I, Jimenez Klingberg C.L, Juhl D, Lindemann M, Martin S, Neuhauser H.K, Nitsche A, Ohme J, Peine S, Sachs U.J, Schaade L, Schäfer R, Scheiblauer H, Schlaud M, Schmidt M, Umbau M, Vollmer T, Wagner F.F, Wieler L.H, Wilking H, Ziemann M, Zimmermann M & an der Heiden M. a (2023): Monitoring the SARS-CoV-2 Pandemic: Prevalence of Antibodies in a Large, Repetitive Cross-Sectional Study of Blood Donors in Germany-Results from the SeBluCo Study 2020-2022. *Pathogens* 2023, 12, 551. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040551>
- Krings A, Schmidt D, Meixenberger K, Bannert N, Münstermann D, Tiemann C, Kollan C, & Günsenheimer-Bartmeyer B. (2022): Decreasing prevalence and stagnating incidence of Hepatitis C-coinfection among a cohort of HIV-1-positive patients, with a majority of men who have sex with men, in Germany, 1996-2019, *J Viral Hepat* 2022 Jun;29(6):465-473. doi: 10.1111/jvh.13670.
- Selb R, Werber D, Falkenhorst G, Steffen G, Lachmann R, Ruscher C, McFarland S, Bartel A, Hemmers L, Koppe U, Stark K, Bremer V, Jansen K. (2022): A shift from travel-associated cases to autochthonous transmission with Berlin as epicenter of the monkeypox outbreak in Germany, May to June 2022., *Euro Surveill.* 2022 Jul 7; 27(27): 2200499. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.27.2200499

- Zimmermann R, Faber M, Dudareva S, Ingiliz P, Jessen H, Koch J, Marcus U, Michaelis K, Rieck T, Ruscher C, Schilling B, Schumacher J, Sissolak D, Thoullass J, Wenzel JJ, Werber D, Sagebiel D. (2021): Hepatitis A outbreak among MSM in Berlin due to low vaccination coverage: Epidemiology, management, and successful interventions. *Int J Infect Dis.* 2021 Feb;103:146-153. doi: 10.1016/j.ijid.2020.11.133.
- Koppe U, Marcus U, Albrecht S, Jansen K, Jessen H, Gunsenheimer-Bartmeyer B, Bremer V (2021): Barriers to using HIV pre-exposure prophylaxis (PrEP) and sexual behaviour after stopping PrEP: a cross-sectional study in Germany. *BMC Public Health.* 2021 Jan 19;21(1):159

Gastrointestinale Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen (Fachgebiet 35)



Prof. Dr. Klaus Stark

Leitung

Prof. Dr. Klaus Stark

Institut

Gastrointestinale Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen (FG 35), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

StarkK@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3432

Stellvertretung

PD Dr. Hendrik Wilking

Institut

Gastrointestinale Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen (FG 35), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

WilkingH@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3121

Das Fachgebiet 35 beschäftigt sich mit einem breiten Spektrum von gastrointestinalen, zoonotischen und tropischen Infektionserregern. Zu den Aufgaben zählt die Analyse und Bewertung von Surveillance- und Krankheitsüberwachungsdaten zur Krankheitsüberwachung, Feststellung von bundeslandübergreifenden Ausbrüchen sowie von Eintragungen seltener und hochpathogener Infektionskrankheiten (auch anhand von Daten und Kontakten zu Nationalen Referenzzentren und Konsiliarlaboren). Hieraus ergeben sich evidenzbasierte epidemiologische Lage- und Risikobewertungen.

Wir koordinieren und unterstützen Ausbruchsuntersuchungen zu Art, Ursache, Ansteckungsquelle und Ausbreitung von bundeslandübergreifenden Krankheitsausbrüchen in Kooperation mit Laboren (NRZ, KL), Landesbehörden, Gesundheitsämtern und Veterinär- und Umweltbehörden (One Health Ansatz). Wir sind beteiligt an der integrierten genomischen Surveillance von Infektionserregern zur Ausbruchserkennung und zum Ausbruchsmanagement.

Ein weiterer Schwerpunkt ist die Durchführung von epidemiologischen Studien zu Risikofaktoren und anderen Fragestellungen bei lebensmittelbedingten Krankheiten, Zoonosen, vektorübertragenen und tropischen Krankheiten. Hier fokussieren wir auch auf die Themenfelder neu und verstärkt auftretende Infektionskrankheiten und Einfluss des Klimawandels. Entsprechende Drittmittel werden eingeworben.

Bei den Aktivitäten in den Bereichen Surveillance, Ausbruchsuntersuchung, Forschung arbeiten wir sehr eng und gut mit den entsprechenden NRZ und KL.

Wir erarbeiten Empfehlungen und Konzepte zur Vorbeugung und Eindämmung von Lebensmittelinfektionen und Infektionen durch Zoonoseerreger, in Zusammenarbeit mit NRZ und KL, dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), dem Friedrich-Loeffler-Institut (FLI).

Wir arbeiten in diversen nationalen und internationalen Netzwerken und Kommissionen mit und sind auch stark aktiv in der Fortbildung und Lehre (z. B. für ÖGD oder Charité).

Wichtige Publikationen

- Pörtner K, Wilking H, Frank C, Böhmer MM, Stark K, Tappe D. Risk factors for Borna disease virus 1 encephalitis in Germany – a case-control study. *Emerg Microbes Infect.* 2023 Dec;12(1):e2174778. doi: 10.1080/22221751.2023.2174778.
- Böhm S, Woudenberg T, Stark K, Böhmer MM, Katz K, Kuhnert R, Schlaud M, Wilking H, Fingerle V. Seroprevalence, seroconversion and seroreversion of *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in two population-based studies in children and adolescents, Germany, 2003 to 2006 and 2014 to 2017. *Euro Surveill.* 2023 Aug;28(34):2200855. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.34.2200855.
- Lachmann R, Halbedel S, Lüth S, Holzer A, Adler M, Pietzka A, Al Dahouk S, Stark K, Flieger A, Kleta S, Wilking H. Invasive listeriosis outbreaks and salmon products: a genomic, epidemiological study. *Emerg Microbes Infect.* 2022 Dec;11(1):1308-1315. doi: 10.1080/22221751.2022.2063075.
- Ruscher C, Faber M, Werber D, Stark K, Bitzegeio J, Michaelis K, Sagebiel D, Wenzel JJ, Enkelmann J. Resurgence of an international hepatitis A outbreak linked to imported frozen strawberries, Germany, 2018 to 2020. *Euro Surveill.* 2020 Sep;25(37):1900670. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.37.1900670.
- Meinen A, Simon S, Banerji S, Szabo I, Malorny B, Borowiak M, Hadziabdic S, Becker N, Luber P, Lohr D, Harms C, Plenge-Bönig A, Mellou K, Mandilara G, Mossong J, Ragimbeau C, Weichering P, Hau P, Dědičová D, Šafaříková L, Nair S, Dallman TJ, Larkin L, McCormick J, De Pinna E, Severi E, Kotila S, Niskanen T, Rizzi V, Deserio D, Flieger A, Stark K. Salmonellosis outbreak with novel *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype (11:z41:e,n,z15) attributable to sesame products in five European countries, 2016 to 2017. *Euro Surveill.* 2019 Sep;24(36):1800543. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.36.1800543.

Respiratorisch übertragbare Erkrankungen (Fachgebiet 36)



Prof. Dr. Walter Haas

Leitung

Prof. Dr. Walter Haas

Institut

Respiratorisch übertragbare Erkrankungen (FG 36),
Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

HaasW@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3431

Stellvertretung

Dr. Stefan Kröger

Institut

Respiratorisch übertragbare Erkrankungen (FG 36),
Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

KroegerS@rki.de

Telefon

+49 30 18754-3757

Das Fachgebiet ist verantwortlich für die Überwachung, Kontrolle, epidemiologische Forschung mit dem Ziel der Beratung und Entwicklung von Präventionskonzepten für respiratorisch übertragbare Krankheiten in Deutschland. Besonderer Fokus liegt auf Legionellose, Tuberkulose und akuten viralen Atemwegserkrankungen, insbesondere COVID-19, Influenza und RSV-Infektionen.

Zur Überwachung dieser Krankheiten werden Daten analysiert, die aus verschiedenen Surveillance-systemen stammen. Die in unserem Fachgebiet entwickelten und betreuten syndromischen Surveillancesysteme sind eine zentrale Datenquelle für die Analyse und Bewertung der epidemiologischen Situation akuter viraler Erkrankungen. Sie bilden die Grundlage für wissenschaftliche Studien zur Krankheitslast und -schwere akuter viraler Atemwegsinfektionen sowie zur Effektivität von Schutzimpfungen in Zusammenarbeit mit nationalen und internationalen Partnerinstitutionen (u. a. dem Europäischen Zentrum für Krankheitsprävention und -kontrolle [ECDC], Weltgesundheitsorganisation [WHO]). Dies geschieht unter Berücksichtigung erregerspezifischer, molekularbiologischer und genomischer Daten in enger Kooperation mit dem NRZ für Influenzaviren, dem NRZ für Coronaviren und dem Konsiliarlabor für RSV. Für Legionellose und Tuberkulose bildet die (IfSG-

basierte Surveillance – das sogenannte Meldesystem- die primäre Datenquelle für die Analyse der Epidemiologie der Erkrankungen. Aber auch die Unterstützung und Beratung der Gesundheitsämter bei Ausbruchsuntersuchungen sind ein wesentlicher Bestandteil der Tätigkeiten des Fachgebiets. Bei Legionellose steht die Quellsuche im Vordergrund, um das Infektionsgeschehen schnell einzudämmen. Für die Tuberkulose liegt ein Tätigkeitsschwerpunkt des Fachgebiets zusammen mit dem NRZ für Mykobakterien auf der Entwicklung einer effektiven Transmissionsüberwachung durch die Integration von genomische Erregerinformationen und klinisch-epidemiologischen Surveillance-daten im Rahmen der integrierten genomische Surveillance.

Die internationale Zusammenarbeit ist ein weiterer Schwerpunkt unserer Tätigkeit, insbesondere bei der Erkennung und Bewältigung von Infektionsgeschehen. Im Rahmen des europäischen Surveillance-Netzwerks (ELDSNet) für reise-assoziierte Erkrankungen mit Legionärskrankheit koordiniert das Fachgebiet die Informationsweitergabe an Gesundheitsämter in Deutschland, die Umsetzung von Präventionsstrategien und den Austausch von Informationen mit dem europäischen Netzwerk. Analoge Aktivitäten finden auch im Bereich der Tuberkulose und akuten viralen Erkrankungen statt. Sie sind eng mit weiteren grundsätzlichen Aufgaben des Fachgebiets, wie der Beratung des ÖGD, der Erstellung von Ratgebern, der Beantwortung von Anfragen aus der Fachöffentlichkeit und der direkten Beratung des Gesundheitsministeriums, verbunden.

Die gewonnenen Erkenntnisse aus wissenschaftlichen Studien fließen in die Fachkommunikation, die Erstellung von Leitlinien, die Beratung von Kommissionen und die Arbeit in internationalen und nationalen Gremien ein. Dabei arbeiten wir eng mit Expertinnen und Experten nationaler Institutionen, Universitäten und Organisationen (wie z. B. dem Deutschen Zentrum Infektionsforschung) zusammen. Die Fortbildung der Fachöffentlichkeit und des ÖGD zu fachgebietsspezifischen Themen ist eine weitere Aufgabe, die durch Kurse, die Organisation und Durchführung von Konferenzen (z. B. jährliche Tagung zum Welttuberkulosestag) und andere Maßnahmen begleitet wird. Die zentrale Kommunikation und Informationsweitergabe erfolgt durch Berichtsformate, die ganzjährig wöchentlich für akute virale Erkrankungen sowie jährlich und anlassbezogen für alle Erkrankungen erstellt werden. Die erhobenen Daten werden für weitergehende Analysen auf internationaler Ebene dem ECDC sowie der WHO zur Verfügung gestellt und als Open Data auf GitHub/Zenodo publiziert.

Im Bereich der akuten viralen Atemwegserkrankungen ist außerdem die Geschäftsstelle des Expertenrat für pandemische Atemwegsinfektionen und das Monitoring von zoonotischen Influenza- und Coronaviren mit pandemischem Potenzial angesiedelt. Vertreter des Fachgebiets sind an den erkrankungsspezifischen Expertennetzwerken auf europäischer Ebene, dem DNCC, beteiligt.

Wichtige Publikationen

Melddatenanalyse zu TB bei PatientInnen mit Geburtsland Ukraine in Deutschland 2022

<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.24.2300284>

Paper zu Mundhygiene und Legionärskrankheit „Could oral hygiene prevent cases of at-home-acquired Legionnaires’ disease? – Results of a comprehensive case–control study on infection sources, risk, and protective behaviors“ <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1199572/full>

„Atemwegsinfektionen bei Kindern und Jugendlichen während der COVID-19-Pandemie“

https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsJ/JHealthMonit_2023_02_Kinder_und_Jugendgesundheit.pdf?__blob=publicationFile

Teirlinck A. C., Johannesen C. K., Broberg E. K., Penttinen P., Campbell H., Nair H., Reeves R. M., Bøås H., Brytting M., Cai W., et al. (2023). New perspectives on respiratory syncytial virus surveillance at the national level: lessons from the COVID-19 pandemic. *Eur Respir J*, 61(4).

<https://doi.org/10.1183/13993003.01569-2022>

Nosokomiale Infektionen, Surveillance von Antibiotikaresistenz und -verbrauch (Fachgebiet 37)



Dr. Tim Eckmanns

Leitung Dr. Tim Eckmanns	Stellvertretung 1 Dr. Muna Abu Sin	Stellvertretung 2 Dr. Sebastian Haller
Institut Nosokomiale Infektionen, Surveillance von Antibiotikaresistenz und -verbrauch (FG 37), Robert Koch-Institut	Institut Nosokomiale Infektionen, Surveillance von Antibiotikaresistenz und -verbrauch (FG 37), Robert Koch-Institut	Institut Nosokomiale Infektionen, Surveillance von Antibiotikaresistenz und -verbrauch (FG 37), Robert Koch-Institut
Adresse Seestr.10, 13353 Berlin	Adresse Seestr.10, 13353 Berlin	Adresse Seestr.10, 13353 Berlin
E-Mail EckmannsT@rki.de	E-Mail Abu-SinM@rki.de	E-Mail HallerS@rki.de
Telefon +49 30 18754-3485	Telefon +49 30 18754-3806	Telefon +49 30 18754-3240

Das Fachgebiet 37 ist zuständig für die Gewinnung epidemiologischer Daten zu Antibiotikaresistenz und Antibiotikaverbrauch sowie nosokomialen Infektionen und entsprechenden Ausbrüchen aus Meldungen und zusätzlichen Surveillancesystemen. Weiter werden lokale, regionale und nationale Ausbrüche von resistenten Erregern vom Fachgebiet untersucht und Maßnahmen abgeleitet. Diese Daten werden genutzt, um Präventionsstrategien zu formulieren, diese anzupassen und zu evaluieren, sowie um Empfehlungen für die Diagnostik und Krankenversorgung zu erstellen.

Das Fachgebiet 37 besetzt die Geschäftsstelle und unterstützt die Arbeit der Kommission Antiinfektiva, Resistenz und Therapie (Kommission ART).

Aufgaben

Surveillance und Forschung

Im Rahmen der Surveillance werden die IfSG-Melddaten folgender Erreger bzw. Erkrankungen analysiert, bewertet und publiziert:

- schwere Verläufe von *C. difficile* Infektionen,
- *Acinetobacter* und *Enterobacterales* bei Nachweis einer Carbapenemase-Determinante oder mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber Carbapenemen außer bei natürlicher Resistenz (Infektionen und Kolonisationen),
- Methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Blut und Liquor,
- Adenoviren

Meldungen zu gehäuftem Auftreten nosokomialer Infektionen auch nicht meldepflichtiger Erreger (nosokomiale Ausbrüche) werden beobachtet und in Kommunikation mit den Landesgesundheitsbehörden und Referenz- bzw. Konsiliarlaboren bewertet. Wir unterstützen bei Ausbruchsuntersuchungen und klären regionale, nationale und internationale Ausbrüche auf.

Das Fachgebiet 37 ist maßgeblich beteiligt an der (Weiter-)Entwicklung der Falldefinitionen, Übermittlungs- und Auswertungskriterien zu meldepflichtigen multiresistenten Erregern, Projekten und Empfehlungen im Bereich Antibiotikaresistenz und nosokomialen Infektionen in Deutschland und international.

Die Surveillance von Antibiotikaresistenz und Antibiotikaverbrauch werden insbesondere über die Antibiotika-Resistenz-Surveillance (ARS) und die Antibiotika-Verbrauchs-Surveillance (AVS) gewährleistet. Anhand dieser Datenbanken werden Antibiotika-Resistenz- und Antibiotika-Verbrauchsstatistiken für die Teilnehmer der Surveillance-Systeme zur Verfügung gestellt und Referenzdaten für die Fachöffentlichkeit generiert sowie international Surveillance-Systeme wie European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) und Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) bedient. Über ARVIA „Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch – Integrierte Analyse“ werden auf Krankenhausebene Daten zu Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch aus den beiden Surveillance-Systemen ARS und AVS in Bezug zueinander ausgewertet und die Ergebnisse den teilnehmenden Krankenhäusern zur Verfügung gestellt. Mit dem Projekt SAMBA wird zudem die Antibiotikaverbrauchssurveillance im ambulanten Bereich etabliert. Mittels integrierter genomischer Surveillance, also durch Zusammenführung epidemiologischer Daten und Genomdaten von Infektionserregern, vertiefen wir die Untersuchung von Ausbreitungsmustern und verbessern die Erkennung von Ausbrüchen von antibiotikaresistenten Erregern. Durch seine Aktivitäten trägt das Fachgebiet entscheidend zur Umsetzung der Deutschen Antibiotikaresistenz-Strategie bei (DART2020 und 2030).

Das Fachgebiet ist WHO Collaborating Centre für Antibiotikaresistenz, -verbrauch und nosokomiale Infektionen und leitet seit 2019 das Netzwerk WHO AMR Surveillance and Quality Assessment Collaborating Centres. Das Fachgebiet arbeitet in Projekten mit dem WHO Hub for Pandemic and Epidemic Intelligence und unterstützt die Arbeitsgruppe zu Antibiotikaresistenzen der schnell einsetzbaren ExpertInnengruppe Gesundheit (SEEG).

Wir arbeiten in verschiedenen Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen im Bereich Antibiotikaresistenz-Surveillance und nosokomiale Infektionen (s. Projekte international).

Forschungsaufgaben umfassen auch Bereiche der Krankheitslastanalyse, Entwicklung verbesserter Methoden zur Ausbruchserkennung (early warning), genetische und digitale Surveillance und künstliche Intelligenz sowie die Untersuchung des Zusammenhangs von Klima und Antibiotikaresistenz. Die Ergebnisse werden regelmäßig Fachartikeln veröffentlicht (s. Projekte und Publikationen).

Wichtige Publikationen

- Bender JK, Haller S, Pfeifer Y, Hogardt M, Hunfeld KP, Thürmer A, Zanuzdana A, Werner M, Kunz B, Eisenberger D, Pfennigwerth N, Kempf VAJ, Werner G, Eckmanns T., Combined Clinical, Epidemiological, and Genome-Based Analysis Identified a Nationwide Outbreak of *Burkholderia cepacia* Complex Infections Caused by Contaminated Mouthwash Solutions. *Open Forum Infect Dis.* 2022 Mar 9;9(5):ofac114. doi: 10.1093/ofid/ofac114.
- Antimicrobial Resistance Collaborators, Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022 Feb 12;399(10325):629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0. Epub 2022 Jan 19.
- Brandl M, Hoffmann A, Willrich N, Reuss A, Reichert F, Walter J, Eckmanns T, Haller S. Bugs That Can Resist Antibiotics but Not Men: Gender-Specific Differences in Notified Infections and Colonisations in Germany, 2010-2019. *Microorganisms.* 2021 Apr 22;9(5):894. doi: 10.3390/microorganisms9050894.
- Haller S, Kramer R, Becker K, Bohnert JA, Eckmanns T, Hans JB, Hecht J, Heidecke CD, Hübner NO, Kramer A, Klaper K, Littmann M, Marlinghaus L, Neumann B, Pfeifer Y, Pfennigwerth N, Rogge S, Schaufler K, Thürmer A, Werner G, Gatermann S. Extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak, north-eastern Germany, June to October 2019. *Euro Surveill.* 2019 Dec;24(50):1900734. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.50.1900734. PMID: 31847948
- Cassini A, Hogberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious diseases.* 2019;19(1):56-66.

Geschäftsstelle des Wissenschaftlichen Beirats für Public Health Mikrobiologie und der Nationalen Referenzzentren und Konsiliarlabore in Deutschland



Dr. Janna Seifried



Dr. Nadine Litzba

Leitung

Dr. Janna Seifried

Institut

Abt. 3 Infektionsepidemiologie,
Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

SeifriedJ@rki.de

Telefon

+49 30 18754-4385

Stellvertretung

Dr. Nadine Litzba

Institut

Abt. 3 Infektionsepidemiologie,
Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr.10, 13353 Berlin

E-Mail

LitzbaN@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2727

Die Geschäftsstelle des Wissenschaftlichen Beirats Public Health Mikrobiologie (WBPHM) bildet die Schnittstelle zwischen NRZ, KL, RKI und BMG. Sie ist in der Abteilung für Infektionsepidemiologie des RKI angesiedelt und koordiniert die Bewerbungs- und Berufungsverfahren für NRZ und KL, die Begutachtung der Tätigkeitsberichte und die Evaluationen der NRZ und KL durch den WBPHM, die infektionsepidemiologischen Fachgebiete des RKI und durch weitere ausgewählte Fachgutachterinnen.

Die ehrenamtlichen Mitglieder des WBPHM sind ausgewiesene Persönlichkeiten auf unterschiedlichen Gebieten der Mikrobiologie, Virologie, Hygiene, Klinik, Mykologie, Parasitologie, Epidemiologie und des öffentlichen Gesundheitsdiensts. Sie werden in der Regel für die Dauer von 3 Jahren vom Präsidenten des RKI mit Zustimmung des BMG berufen. Der WBPHM berät das RKI, indem er nach dem Stand der Wissenschaft und unter Berücksichtigung europäischer und internationaler

Referenzstrukturen Kriterien und Aufgabenfelder für die NRZ und KL vorschlägt, Empfehlungen zur Berufung und Evaluation der Aktivitäten der NRZ und KL ausspricht sowie bei Beratungsbedarf des RKI Stellungnahmen zu aktuellen Fragen im Bereich Public Health Mikrobiologie und Infektions-epidemiologie erarbeitet. Die Geschäftsstelle des WBPHM unterstützt ihn bei der Erfüllung seiner Aufgaben. Die Koordination der Projekte für den Aufbau der Integrierten Genomischen Surveillance (IGS) erfolgt innerhalb der Geschäftsstelle; sie ist zudem Ansprechpartnerin für Anliegen der NRZ und KL in Deutschland.

Nationale Referenzzentren

Nationales Referenzzentrum für Borrelien



Dr. Volker Fingerle

Leitung

Dr. Volker Fingerle

Institut

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und
Lebensmittelsicherheit (LGL)

Adresse

Veterinärstr. 2, 85764 Oberschleißheim

E-Mail

Volker.Fingerle@LGL.Bayern.de

Telefon

+49 9131 6808-5870

Stellvertretung

Prof. Dr. med. Dr. phil. Andreas Sing

Institut

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und
Lebensmittelsicherheit (LGL)

Adresse

Veterinärstr. 2, 85764 Oberschleißheim

E-Mail

Andreas.Sing@LGL.Bayern.de

Telefon

+49 9131 6808-5814

Das NRZ Borrelien wurde von Frau Prof. Wilske als Leiterin (Stellvertreter Dr. Fingerle) am Max von Pettenkofer-Institut der LMU München seit 2001 aufgebaut und bis 2007 diagnostisch und wissenschaftlich betreut. 2008 Übersiedlung des NRZ an das Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Oberschleißheim unter Leitung von Dr. Fingerle und Stellvertreter Prof. Dr. Dr. Sing. Aktuelle Mitarbeiter sind Frau Dr. rer. nat. G. Margos und Frau S. Hepner die mit erstaunlichem Erfolg Fragen um das Borreliengenom bearbeiten und Frau C. Hartberger, Frau C. Hizo-Teufel, Frau S. Stockmeier und Frau W. Strehle die sich mit großem Einsatz um die alltägliche Laborarbeit kümmern wie Diagnostik, Testvalidierung, PCR-Entwicklung, Stamm- und Materialsammlung oder QSA's. Letztlich als Ausdruck der erfolgreichen Arbeit des gesamten Teams wurden seit 2008 mehr als 160 PubMed gelistete Publikationen und 20 Buchkapitel mit unserer Beteiligung veröffentlicht.

Eine zentrale Aufgabe des NRZ für Borrelien ist die Öffentlichkeitsarbeit mit Beratung von Fachkreisen, interessierten Bürgern und Betroffenen zum Thema Lyme-Borreliose in Form von telefonischer Beratung und e-mail (ca. 1500 Kontakte pro Jahr), allgemeinen und wissenschaftlichen Beiträgen und Informationen über unsere Homepage. Als wissenschaftliche Beiträge, Symposien, Fortbildungs-

aktivitäten und Öffentlichkeitsarbeit (Interviews und Hintergrundinformationen für Fernseh-, Rundfunk- und Zeitungsberichte) werden vom NRZ durchschnittlich mehr als 50 Beiträge jährlich erbracht. Schwerpunkte der Beratungstätigkeit sind sinnvolles diagnostisches und therapeutisches Vorgehen, medizinisch nicht indizierte Untersuchungen, sowie nicht ausreichend evaluierte Tests und Therapieformen. Hier besteht weiterhin hoher Aufklärungs-, aber auch Forschungsbedarf.

Ein weiterer Schwerpunkt unserer Arbeit ist das ungewöhnliche Genom von *Borrelia burgdorferi* s.l., das aus einem linearen Chromosom (ca. 900kbp) und bis zu mehr als 20 linearen und zirkulären Plasmiden (ca. 600kbp) besteht. Speziell zur Darstellung der zahlreichen Plasmide – Träger wichtiger Gene für die Pathogenese sowie den Vektor-Wirt-Zyklus – haben wir Studien initiiert, u. a.:

- Netzwerk mit 14 Forschungsgruppen aus Australien, Asien (Japan, Russland), Nord- und Südamerika, Kanada und mehreren europäischen Ländern.
- Entwicklung und internationale Etablierung des multi locus sequence typings (MLST) für Borrelien
- Borrelien-MLST Datenbank (Oxford; <http://pubmlst.org/borrelia/>) wird vom NRZ kuratiert
- Erstbeschreibung von neuen *Borrelia* Spezies (*B. kurtenbachii*, *B. bavariensis*, *B. lanei*, *B. maritima*, *Candidatus B. aligera*, *Candidatus B. kalaharica*), sowie Vorschlag eines neuen Genus – *Entomospira* gen. nov. – mit drei neuen Spirochäten-Spezies.
- Entwicklung und Etablierung einer Sequenzier-Pipeline für *Borrelia burgdorferi*
- Erstmals die Genomdiversität von *Borrelia garinii* in marinen Transmissionszyklen untersucht.
- Die Populationsstruktur von *Borrelia lusitaniae* in Europa und Nordafrika sowie *Borrelia turcica* in Griechenland vs. Türkei untersucht.
- Vergleichende Untersuchung europäischer und asiatischer *Borrelia bavariensis* Genome.

Arbeiten im Bereich Epidemiologie

- Basierend auf Seren aus dem Bundes-Gesundheitssurvey BGS 1998, der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS) sowie der „Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland“ (KiGGS) konnten in Zusammenarbeit mit dem RKI wichtige Daten zur Seroprävalenz, Serokonversion und Seroreversion für Deutschland repräsentativ erhoben und publiziert werden.
- Für die Validierung der mit unserer Beteiligung in 2013 eingeführten Meldepflicht für die Lyme Borreliose in Bayern wurde das LYDI-Sentinel (Sentinel on the Incidence of LYme DIsease in Bavaria) mit mehr als 200 teilnehmenden Arztpraxen in Bayern durchgeführt.
- Im vom NRZ geleiteten interdisziplinären Verbundprojekt „Vector-borne infectious diseases in climate change investigations (VICCI)“ unter Beteiligung der Universität Bayreuth, der LMU München, des Universitätsklinikums Erlangen und des Instituts für Mikrobiologie der Bundeswehr München wurden von uns Einflussfaktoren auf das Vorkommen von *Ixodes ricinus* untersucht.
- Unterstützung zahlreicher Studien, u. a. zu Borrelienprävalenz in Zecken, Vorkommen von *Ixodes ricinus*, *Borrelia*-Antikörperprävalenz bei Risikopopulationen, Auswertung der bayerischen- und RKI- Daten zur Meldepflicht.

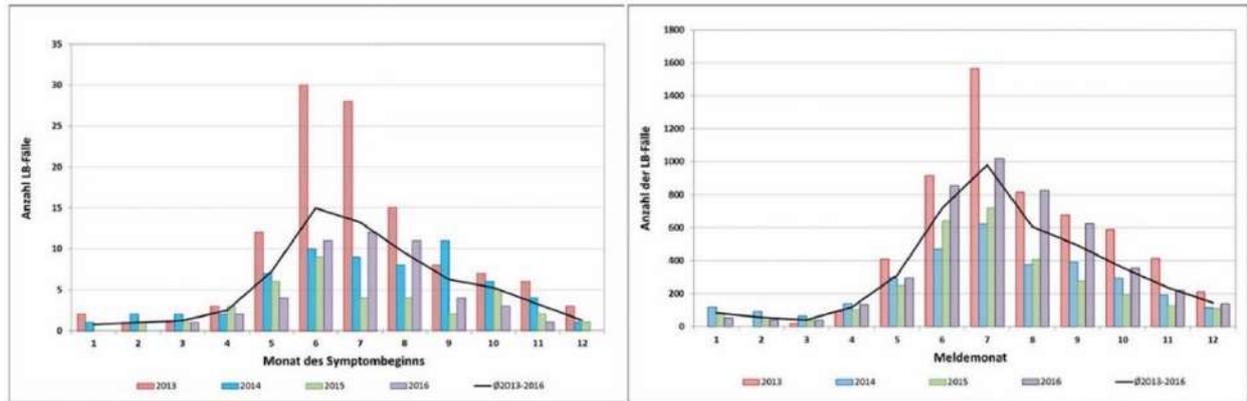
Arbeiten im Bereich Diagnostik

- Entwicklung bzw. Verbesserung neuer Anzuchtmedien für Rückfallfieber Borrelien
- Studien und Etablierung des Chemokins CXCL13, dass sich nach derzeitiger Studienlage als sensitiver und spezifischer Marker für die Diagnostik der frühen Neuroborreliose eignet.
- Eignung des MALDI-TOF für die Spezies- Identifikation
- Für diagnostische Methoden werden regelmäßig Beratungen zur Entwicklung neuer und Verbesserung etablierter Teste durchgeführt sowie Borrelienstämme (u. a. für die aktuelle Impfstoffentwicklung), monoklonale Antikörper und rekombinante Proteine für Forschung und Diagnostik zur Verfügung gestellt.

Arbeiten im Bereich Qualitätssicherung

- Ein internationaler Ringversuch „Borrelien PCR“ wird in Kooperation mit der QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics), Glasgow mit von uns zur Verfügung gestellten Materialien jährlich durchgeführt.
- Stellvertretende Leitung und Referenzmaterial für INSTAND Borrelien Serologie- und PCR-Ringversuche.
- Ein eigener europaweiter Borrelien PCR Ringversuch (je Teilnehmer 92 Proben) mit 35 Laboren aus 11 Ländern zeigte erhebliche Unterschiede im Vergleich der Labore aber auch für einzelne Methoden bezogen auf unterschiedliche Borrelien-Spezies.
- Initiierung von und Mitarbeit bei Leitlinien: Neuroborreliose Leitlinie der European Federation of Neurological Societies (EFNS), S3 Leitlinie Neuroborreliose der DGN und S2k Leitlinie der DDG
- Neufassung der „MiQ 12 Lyme Borreliose“
- Mitarbeit bei den „consensus recommendations“ zu Zecken übertragenen Erkrankungen für das EU-Projekt NorthTick.
- Mitarbeit bei „Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe“

Darüber hinaus ist das NRZ auch beratend für das RKI und das European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) tätig, ist Mitglied des Lenkungsausschuss und Vorsitz bei ESGBOR (ESCMID Study Group for Lyme Borreliosis) sowie Mitglied des scientific advisory board zur Lyme Borreliose Impfstoffentwicklung und bei Global Lyme Alliance.



Links: Zeitlicher Verlauf der Lyme Borreliose Fälle im LYDI-Sentinel 2013-2016 nach Monat des Symptombeginns. Rechts: Zeitlicher Verlauf der Lyme Borreliose Fälle nach Meldemonat, die nach der bayerischen Meldepflichtverordnung zwischen 2013 und 2016 übermittelt wurden.

Wichtige Publikationen

- Böhm, S., Woudenberg, T., Stark, K., Böhmer, M. M., Katz, K., Kuhnert, R., Schlaud, M., Wilking, H., & Fingerle, V. (2023). Seroprevalence, seroconversion and seroreversion of *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in two population-based studies in children and adolescents, Germany, 2003 to 2006 and 2014 to 2017. *Euro Surveill*, 28(34).
- Fingerle V, Eiffert H, Gessner A, Göbel UB, Hofmann H, Hunfeld KP, Krause A, Pfister H-W, Reischl U, Sing A et al: MiQ12 Lyme-Borreliose. In: MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Edited by Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E, Mauch H, Rüssmann HH. München, Jena: Urban & Fischer; 2017: 1-68
- Hepner, S., Kuleshov, K., Tooming-Kunderud, A., Alig, N., Gofton, A., Casjens, S., Rollins, R. E., Dangel, A., Mourkas, E., Sheppard, S. K., Wieser, A., Hübner, J., Sing, A., Fingerle, V., & Margos, G. (2023). A high fidelity approach to assembling the complex *Borrelia* genome. *BMC Genomics*, 24(1), 401.
- Margos, G., Fingerle, V., & Reynolds, S. E. (2019). *Borrelia bavariensis*: Vector Switch, Niche Invasion, and Geographical Spread of a Tick-Borne Bacterial Parasite. *frontiers in ecology and evolution*, 7(401), 1-20. <https://doi.org/10.3389>
- Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, Kristoferitsch W, O'Connell S, Ornstein K, Strle F, Gray J. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2011, 17(1) 69-79

ABSTRACT 1

PCR für die große Untereinheit der Phagen-Terminase – ein geeignetes Instrument für die Borrelien-Diagnose?

Hartberger C, Margos G, Fingerle V

Im März 2021 wurde eine Arbeit veröffentlicht, in der vorgeschlagen wurde, dass eine real-time PCR, die auf die zahlreichen Kopien der großen Untereinheit der Phagen-Terminase (*terL*) auf dem Plasmid cp32 in Borrelien abzielt, den Nachweis dieser Spirochäten im Blut verbessert. Obwohl dies eine interessante Idee ist, wurden bei einer weiteren Veröffentlichung schwerwiegende methodische Mängel festgestellt. Trotzdem wird diese PCR zunehmend in verschiedenen „Speziallaboratorien“ für die Diagnostik der Borreliose eingesetzt. Wir haben diese real-time-PCR etabliert und zur Analyse von angezüchteten Borrelien, sowie für Serum- und Gewebeproben, die alle von Patienten mit einer gesicherten aktiven *Borrelia burgdorferi*-Infektion stammten, eingesetzt. Alle fünf bisher getesteten Serumproben von Patienten mit aktiver

Erkrankung blieben in der *terL*-PCR negativ. Von den 15 Proben (Punktate, Liquor), die bei der Routine-PCR mit *flaB* und dem 5S-23S-Locus positiv waren, waren sieben mit der Phagen-Terminase-PCR negativ (kein Ct-Wert). Die Speziesbestimmung ergab, dass sechs der negativen Proben zur Spezies *B. afzelii* gehörten, während es sich bei einer um *B. burgdorferi sensu stricto* handelte. Weitere DNA-Analysen mit kultivierten Isolaten verschiedener Borrelienarten, darunter *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. bavariensis*, *B. garinii*, zeigten, dass speziell einige Isolate von *B. garinii* und *B. afzelii* in der *terL*-PCR nicht nachweisbar waren. Da *B. afzelii* und *B. garinii* die Hauptverursacher der Lyme-Borreliose in Europa sind, haben wir die Genome dieser Isolate mit Illumina-Technologie sequenziert und konnten jeweils cp32 incl. *terL* nachweisen. Derzeit wird daran gearbeitet, die Amplifikationsprobleme zu lösen. Außerdem werden wir weitere Daten zu Seren von gut definierten Patienten zeigen, einschließlich Daten zur Spezifität.

ABSTRACT 2

EU-weite externe Qualitätssicherungsstudie zur Sensitivität und Spezifität verschiedener Amplifikationsprotokolle für den Nachweis von *Borrelia burgdorferi sensu lato*

B Streibl, M Faller, G Margos, C Hizo-Teufel, W Strehle, S Stockmeier, A Sing, V Fingerle

Die Lyme-Borreliose, eine durch *Borrelia (B.) burgdorferi* verursachte Multisystemerkrankung, ist nach wie vor die wichtigste vektorassoziierte Krankheit in der nördlichen Hemisphäre. Derzeit wird die Diagnose der Lyme-Borreliose auf Grundlage klinischer, epidemiologischer und serologischer Befunde gestellt. Zunehmend wird der Nachweis von Borrelien mit molekularbiologischen Methoden, insbesondere der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), durchgeführt. Dies ermöglicht prinzipiell einen sehr empfindlichen Nachweis und eine zuverlässige Differenzierung der verschiedenen Genospezies.

Ein großes Problem ist die fehlende Standardisierung des gesamten Verfahrens – welches Material, Transport, Lagerung, DNA-Extraktion, Amplifikation. Die Ziele dieser Studie sind daher (i) die Entwicklung einer Methode zur vergleichenden Prüfung der analytischen Sensitivität und Spezifität verschiedener kommerzieller und in-house PCR-Amplifikationsprotokolle und (ii) die Prüfung der Leistungsdaten verschiedener Amplifikationsprotokolle in einer europaweiten Studie.

Dazu wurden 200 identische DNA-Panels zusammengestellt, die jeweils 95 DNA-Proben zu je 50 µl enthielten, bestehend aus isolierter DNA von 15 *B. burgdorferi* s.l.-Stämmen (jeweils 10-fache Verdünnung $10^4 - 10^{-1}$ Genomäquivalente (GE)/5µl), zwei Rückfallfieber-Borrelia-Spezies, *Treponema phagedenis* und zwei humanpathogenen Leptospira-Spezies (jeweils 10^4 GE/5 µl). Diese wurden verblindet an verschiedene Labors zur Analyse mit einem Fragebogen gesandt. Die Teilnehmer (n = 35, n = 57 Amplifikationsprotokolle) analysierten die Proben mit ihren PCR-Amplifikationsprotokollen und stellten ihre Ergebnisse zur Verfügung. Zur Auswertung und Archivierung der Ergebnisse wurde im Nationalen Referenzzentrum für Borrelien eine Datenbank entwickelt. Die Ergebnisse zeigen eine überraschende Variabilität der Sensitivität (0,1 GE bis $> 10^4$ GE/PCR-Ansatz) für einzelne PCR-Protokolle in Bezug auf verschiedene Borrelienarten sowie für verschiedene PCRs in Bezug auf einzelne Borrelienarten. Spezifitätsprobleme bestehen vor allem bei Rückfallfieber-Borrelien. Das Panel wird weiterhin an interessierte Labors und Testentwickler in der EU verschickt.

ABSTRACT 3

Manche mögen's heiß – Temperaturresistenz von *Borrelia burgdorferi* s.l.

Fingerle V, Stockmeier S, Hizo-Teufel C, Hartberger C, Sing A, Margos G

In den letzten Jahren wurde die Hyperthermie-Therapie für die so genannte „chronische Lyme-Borreliose“ eingeführt. Die Befürworter dieser Methode behaupten, dass alle *B. burgdorferi* sensu lato Spezies in vitro und in vivo bei 41,6° C abgetötet würden, einer Temperatur, die nach Angaben der Befürworter durch die Hyperthermie-Methode zwei Stunden lang im menschlichen Körper erreicht werden kann. Diese Behauptungen stützen sich auf eine Studie, in der das Überleben von drei Borreliensstämmen (zwei *B. burgdorferi* sensu stricto Zeckenisolate, ein *B. afzelii* Humanisolat) untersucht wurde, wenn vier Tage lang bei Temperaturen von 36° C – 42° C kultiviert wurde (Reisinger, Wendelin et al. Scand J Infect Dis 1996). In-vitro- oder in-vivo-Daten zum Überleben von Borrelien bei nur kurzzeitiger Einwirkung höherer Temperaturen sind praktisch nicht vorhanden. Ziel der Studie war es deshalb, die Vorstellung zu bestätigen oder zu widerlegen, dass *Borrelia burgdorferi*-Stämme zuverlässig abgetötet werden, wenn sie nur kurzzeitig Temperaturen von bis zu 42° C ausgesetzt werden. Material/Methoden: Fünf Stämme, die zu *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. garinii* und *B. spielmanii* gehören, wurden parallel für 2h bei 33° C, 41° C und 42° C oder für 6 Stunden bei 33° C und 42° C inkubiert. Alle Stämme wurden dann für mindestens 6 Tage bei 33° C im Doppelansatz kultiviert. In regelmäßigen Abständen wurde die Motilität und das Wachstum der Borrelien mittels Dunkelfeld beurteilt. Ergebnisse: Inkubationsexperimente für 2 Stunden zeigten, dass es bei 41° C keinen signifikanten Effekt auf einen der Stämme gab, während bei 42° C *B. bavariensis* abgetötet

wurde. Eine Inkubation von 6 Stunden bei 42° C führte zur Abtötung von *B. bavariensis* und *B. spielmannii*, während alle anderen überlebten. Schlussfolgerung: Nach unseren in-vitro Ergebnissen lassen sich humanpathogene *B. burgdorferi* Stämme nicht zuverlässig bei 42° C abtöten. Es ist deshalb davon auszugehen, dass die Hyperthermie bei 41,6° C für 2h keine zuverlässige Methode zur Therapie einer (chronischen) Lyme Borreliose darstellt, da die meisten Borrelienstämme nicht relevant von dieser Temperatur beeinflusst werden. Diese Studie unterstreicht erneut, wie wichtig eine unabhängige Validierung ist, bevor neue diagnostische oder therapeutische Maßnahmen eingeführt werden.

Nationales Referenzzentrum für *Clostridium difficile*



Prof. Dr. Barbara Gärtner



Univ.-Prof. Dr. med. Alexander Mellmann



Prof. Dr. Lutz Freiherr von Müller

Leitung

Prof. Dr. Barbara Gärtner

Institut

Institut für Mikrobiologie und Hygiene

Adresse

Kirrbergerstr. 100,
66421 Homburg/Saar

E-Mail

c.difficile@uks.eu

Telefon

+49 684116-23966
+49 684116-23912/23913

Stellvertretung 1

Univ.-Prof. Dr. med. Alexander
Mellmann

Institut

Institut für Hygiene, Universitäts-
klinikum Münster

Adresse

Robert-Koch-Straße 41, 48149 Münster

E-Mail

c.difficile@uks.eu
Alexander.Mellmann@ukmuenster.de

Telefon

+49 25183-55361

Stellvertretung 2

Prof. Dr. Lutz Freiherr von Müller

Institut

Institut für Labormedizin,
Mikrobiologie und Hygiene,
Christophorus Kliniken Coesfeld

Adresse

Südring 41, 48653 Coesfeld

E-Mail

c.difficile@uks.eu
lutz.mueller@christophorus-kliniken.de

Telefon

+49 254189-0

Das Nationale Referenzzentrum für *Clostridium (Clostridioides) difficile* hat am 01.09.2017 seine Funktion als NRZ mit mehreren Standorten (Homburg/Saar, Münster, Coesfeld) aufgenommen und wird als Team geleitet.

Zu den Hauptaufgaben gehört die Analyse von Ausbrüchen und die Surveillance von *C. difficile* Stämmen, die historisch im Wesentlichen als Ribotypisierung erfolgte, aktuell aber von Ganzgenomsequenzierung abgelöst wird. Am NRZ verfügen wir über alle aktuellen genotypischen und phänotypischen Testmethoden zur Charakterisierung von *C. difficile* sowohl bei den Nachweisverfahren (incl. Zytotoxizitätsassays) wie auch den Typisierungsverfahren und der Antibiotikatestung. In der Resistenztestung werden nicht nur Substanzen getestet, die zur Therapie eingesetzt werden (Vancomycin, Fidaxomicin, Metronidazol), sondern auch Resistenzen erfasst gegen Substanzen, die bei der Selektion

unter Antibiose eine wichtige Rolle spielen (z. B. Rifampicin, Moxifloxacin). Daneben spielt die Beratung bei Diagnostik, Therapie und in Hygienefragen eine wichtige Rolle.

Aktuelle Entwicklungen bei *Clostridioides difficile*

Die Epidemiologie von *C. difficile* hat sich in letzter Zeit deutlich verändert. Die Meldezahlen schwerer Infektionen sind in den letzten Jahren deutlich zurückgegangen und haben sich in etwa halbiert.

Treibende Faktoren könnten dabei der veränderte Gebrauch von Antibiotika (ABS Maßnahmen, Reduktion des Verbrauchs an Fluorchinolonen), die verbesserten Hygienemaßnahmen im Krankenhaus bei Ausbrüchen und die allgemeinen Veränderungen unter der Coronavirus-Pandemie sein. Daneben sind auch Veränderungen in den Ernährungsgewohnheiten und in der Tierhaltung mögliche Faktoren für einen Rückgang. Auch ist ein Einfluss auf die Krankheitslast über die veränderte Epidemiologie einzelner Ribotypen (RTs) denkbar. Über die letzten Jahre hat beispielsweise die Prävalenz von RT027 (der als Prototyp sog. „hypervirulenter“ Stämme gilt) abgenommen und liegt aktuell bei etwa 5 %, wie aktuelle Surveillancedaten aus dem NRZ zeigen.

Im Rahmen der im Jahre 2019 ins Leben gerufenen Studie zur *C. difficile* Prävalenz in Deutschland werden entsprechende Daten systematisch erfasst. In Kooperation mit 35 Einrichtungen konnten seit 2019 zweimal jährlich ca. 250 Stämme typisiert werden. Etwa 50 % der Stämme setzten sich aus den sieben RT 001, 002, 020, 014, 020, 027 und 078 zusammen. Der Anteil der beiden „hypervirulenten“ Stämme (RT027 und RT078) betrug dabei ca. 10 – 15 %. Zukünftig werden diese Daten auch im Rahmen der molekularen Surveillance mittels Gesamtgenomanalysen charakterisiert werden.

Resistenzen spielen bei *C. difficile* eine wichtige Rolle. Es konnte kürzlich auch eine Resistenztestung gegen Fidaxomicin etabliert werden. Resistenzen gegen die zur Therapie eingesetzten Substanzen Vancomycin und Fidaxomicin sind noch immer extreme Raritäten. Resistenzen gegen andere Antibiotika, die zur Selektion beitragen können, hingegen nicht. Eine wichtige Rolle könnte dabei die Resistenz gegen Rifampicin spielen, (die sich häufig bei RT027 und RT78 findet) und Resistenzen gegen Makrolide.

Wichtige Publikationen

- Abdrabou AMM, Sy I, Bischoff M, Arroyo MJ, Becker SL, Mellmann A, von Müller L, Gärtner B, Berger FK. Discrimination between hypervirulent and non-hypervirulent ribotypes of *Clostridioides difficile* by MALDI-TOF mass spectrometry and machine learning. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2023 Sep 18. doi: 10.1007/s10096-023-04665-y. Epub ahead of print. PMID: 37721704.
- Abdrabou AMM, Ul Habib Bajwa Z, Halfmann A, Mellmann A, Nimmessgern A, Margardt L, Bischoff M, von Müller L, Gärtner B, Berger FK. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Clostridioides difficile* in Germany, 2014-2019. *Int J Med Microbiol*. 2021 May;311(4):151507. doi: 10.1016/j.ijmm.2021.151507. Epub 2021 Apr 19. PMID: 33915347.
- Abdrabou AMM, Bischoff M, Mellmann A, von Müller L, Margardt L, Gärtner BC, Berger FK; German *C. difficile* surveillance group. Implementation of a *Clostridioides difficile* sentinel surveillance system in Germany: First insights for 2019-2021. *Anaerobe*. 2022 Oct;77:102548. doi: 10.1016/j.anaerobe.2022.102548. Epub 2022 Mar 18. PMID: 35307546.

Berger FK, Mellmann A, von Müller L, Bischoff M, Gärtner BC; German speaking *C. difficile* laboratory study group. Quality assurance for genotyping and resistance testing of Clostridium (Clostridioides) difficile isolates – Experiences from the first inter-laboratory ring trial in four German speaking countries. Anaerobe. 2020 Feb;61:102093. doi: 10.1016/j.anaerobe.2019.102093. Epub 2019 Sep 5. PMID: 31494260.

Berger FK, Gfrörer S, Becker SL, Baldan R, Cirillo DM, Frentrup M, Steglich M, Engling P, Nübel U, Mellmann A, Bischoff M, Gärtner B, von Müller L. Hospital outbreak due to Clostridium difficile ribotype 018 (RT018) in Southern Germany. Int J Med Microbiol. 2019 May-Jun;309(3-4):189-193. doi: 10.1016/j.ijmm.2019.03.001. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30879971

ABSTRACT

Phänotypische und genotypische Charakterisierung von *Clostridioides (C.) difficile*

von Müller L, Mellmann A, Gärtner B

C. difficile ist der häufigste Erreger nosokomialer Durchfallerkrankungen. Problematisch sind Infektionen mit besonders schwerem Verlauf (meldepflichtig nach § 6 IfSG) und Rezidive. Die Pathogenese und damit die Schwere der Erkrankung ist abhängig von Virulenzfaktoren und Wirtsfaktoren.

Die molekulare Charakterisierung von *C. difficile* im NRZ wurde methodisch in den vergangenen Jahren an die technischen Entwicklungen angepasst und immer weiter verfeinert. Ausgehend von single locus sequence typing (slpAST) und PCR-Ribotypisierung in Kombination mit multiple locus variable number of tandem repeats (MLVA) konnte die Ganzgenomsequenzierung (WGS) mit core-genome multiple locus sequence typing (cgMLST) als neue Goldstandard für die genotypische Surveillance und für Ausbruchuntersuchungen etabliert und international vernetzt werden.

Die genetische Information der WGS soll in Zukunft auch als Grundlage der genotypischen Resistenztestung und zur Charakterisierung von Virulenzfaktoren genutzt werden (z. B. hypervirulente Stämme). Dafür werden vergleichend die Ergebnisse der phänotypischen Resistenztestung herangezogen, die für relevante Antibiotika (z. B. Fidaxomicin) von uns neu entwickelt werden mussten. Mit Ringversuchen zur phänotypischen Resistenztestung von *C. difficile* wurde die externe Qualitätssicherung für Labore im deutschsprachigen Raum unterstützt und die Zusammenarbeit der Labore gefördert. Auch wenn nach wie vor die meisten *C. difficile* Stämme empfindlich gegenüber therapeutisch relevanten Antibiotika sind (Vancomycin, Fidaxomicin, Metronidazol), so gibt es Hinweise für zunehmende Resistenzentwicklung gegen Standardantibiotika (z. B. Rifampicin) bzw. einen graduellen Anstieg von Minimalen Hemmkonzentrationen („MIC creep“).

Die kommenden Jahre werden für *C. difficile* mit neuen Impfstoffen, immunmodulatorischen Therapien und der Weiterentwicklungen der Mikrobiomtherapie (next-generation probiotics) eine zunehmend differenziertere Spezialdiagnostik, Infektionssurveillance und Infektionsberatung durch das NRZ erfordern.

Nationales Referenzzentrum für Coronaviren

Leitung

Prof. Dr. med. Christian Drosten

Institut

Institut für Virologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Charitéplatz 1, 10117 Berlin

E-Mail

virologie-ccm@charite.de

Telefon

+49 30 450525-092

Stellvertretung

Dr. Victor Corman

Institut

Institut für Virologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Charitéplatz 1, 10117 Berlin

E-Mail

virologie-ccm@charite.de

Telefon

+49 30 450525-092

Bereits seit 2013 bestand unter der Leitung von Prof. Christian Drosten und Dr. Victor Corman ein Konsiliarlabor (KL) für Coronaviren im humanmedizinischen Bereich, zuerst an der Universität Bonn und seit 2017 am Institut für Virologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Besonders durch die SARS-CoV-2 Pandemie und die zunehmende Bedeutung von Coronaviren für die öffentliche Gesundheit wurde das Institut für Virologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin im Jahr 2023 zum nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Coronaviren berufen.

Das Institut verfügt über komplett ausgestattete Labore aller virologisch relevanter Arbeitsbereiche einschließlich eines Labors der gentechnischen Sicherheitsstufe 3 und eigener apparativer Ressourcen für Hochdurchsatzsequenzierung sowie Ausstattung für Single Cell Sequencing und Live Cell Imaging auch unter S3-Bedingungen.

Am NRZ etablierte Methoden

Spezifische Labormethoden umfassen neben einer breiten Palette an kommerziellen molekularbiologischen PCR-Systemen auch in-House real-time RT-PCR (für alle sieben humanpathogenen CoVs) für RNA-Nachweis und Virusquantifizierung. Hochdurchsatz-Sequenzierung (inkl. spezifischer Sequenzanreicherung) z. B. zur Bestimmung von Viruslinien sind ebenfalls am Referenzlabor etabliert und verfügbar.

Die etablierten serologischen Testsysteme umfassen kommerzielle Systeme (u. a. Elektrochemilumineszenz-Immunoassay, Enzyme-linked Immunosorbent Assay, Surrogat Neutralisationstest) und in-house Methoden (u. a. Plaque-Reduktions-Neutralisationstest (NT), „offener“ Neutralisationstest, Immunfluoreszenztests für alle CoV-Varianten, Vesikuläres Stomatitis-Virus- und Lentivirus-basierte Pseudovirus-NT, Interferon-Gamma-Release Assays).

Verschiedene Zellsystem für alle hCoVs inkl. Air-liquid interface Zellsystemmodell sind etabliert und werden alltäglich verwendet. Weiterhin werden reverse Genetik-Systeme für Sarbeco-, MERS- und NL63-Coronaviren in unseren Forschungsarbeiten angewendet.

Aktuelle Aufgabenschwerpunkte

Das NRZ für Coronaviren stellt sich den Aufgaben, die sich für den öffentlichen Gesundheitsschutz bei der Diagnostik und Beratung für humane Coronaviren ergeben. Dabei wird aktuell ein besonderes Augenmerk auf die weitere Entwicklung der COVID-19 Pandemie gelegt. Neben der Beschäftigung mit SARS-CoV-2 werden aber auch die diagnostischen Verfahren für die vier in Deutschland endemischen humanpathogenen CoVs (HCoV-229E, -OC43, -NL63 und -HKU1) weiterentwickelt und das Angebot zur Beratung, Qualitätssicherung und Diagnostik aller humane CoVs ausgebaut.

Zusätzlich steht auch das MERS-CoV weiter in Fokus der Aktivitäten, da die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von importierten Einzelinfektionen in Deutschland weiterhin existent ist.

Als NRZ nimmt das Institut für Virologie humane Proben bei Verdacht auf Infektionen mit Coronaviren und differentialdiagnostisch relevanten viralen Erreger entgegen. Neben der Untersuchung potentiell positiver Proben mittels molekularer Charakterisierung, serologischer Untersuchung sowie Quantifizierung der Coronavirus-RNA, wirkt das NRZ für Coronaviren bei der Koordination der Standardisierung und Verbreitung allgemein gültiger Testverfahren mit. Auch die Initiierung von Untersuchungen zur Qualitätssicherung sowie die Entwicklung weiterer diagnostischer Verfahren und deren Verbesserung ist Teil unseres Aufgabenbildes. Hierbei kann zukünftig an die Arbeiten der letzten Jahre zu MERS-CoV und SARS-CoV-2 angeknüpft werden und diese weiter ausgebaut werden, da sich insgesamt der Bedarf nach Materialien für solche Validierung in den letzten 5 Jahren deutlich erhöht hat. Weitere Aufgabe des Instituts für Virologie als NRZ ist die Bereitstellung von Standards und Referenzproben, wie RNA oder isolierte Viren (aktiv oder inaktiviert) bei Vorliegen entsprechender Voraussetzungen nach Biostoffverordnung und Infektionsschutzgesetz. Geeignete Materialien werden dabei in eine institutseigene Biobank aufgenommen und damit entsprechend qualitätsgesicherten Lagerbedingungen unterworfen. Durch prospektive Virusisolationsversuche von endemischen CoVs (neben SARS-CoV-2) wird die Stammsammlung dieser Erreger stetig weiter ausgebaut. Besonders bei SARS-CoV-2 stellt sich hierbei die Herausforderung, geeignete und den aktuell zirkulierenden Linien angepasste Virusstämme vorzuhalten und entsprechend biologisch sicher, d.h. inaktiviert und prozesskompatibel zur Verfügung zu stellen. Hierbei legen wir ein besonderes Augenmerk auf die zunehmend verbreiteten random-access Geräte zur Panel-Testung von respiratorischen Erregern.

Genomische Surveillance

Bei SARS-CoV-2 war durch die bisherige breite genomische Surveillance eine relativ gute Erfassung der Sequenzveränderungen gegeben, die durch zusätzliche Spezialuntersuchungen am NRZ gut ergänzt werden konnte. Eine Fortführung der genomische Surveillance für SARS-CoV-2 ist eine kommende Herausforderung der nächsten Jahre an der das NRZ sich aktiv beteiligt.

Ausbruchsuntersuchungen, die wir bereits in den letzten Jahren der COVID-19 Pandemie zusammen mit dem RKI und lokalen Behörden durchgeführt haben, ist nach wie vor Teil unserer Arbeit als NRZ. Bei Ausbruchsuntersuchungen wird Sequenzierung auf Vollgenomebene durchgeführt, da die vergleichsweise geringe Substitutionsrate der CoV bei Sequenzierung von PCR-Fragmenten keine Verfolgung von Infektionsketten ermöglicht. Hierbei geht die Methodik über die in der Routine etablierten Sequenzierungsansätze hinaus (z. B. kommerzieller Ansätze, wie sie von vielen Laboren im Rahmen der SARS-CoV-2 Surveillance-Verordnung eingesetzt wurden). Die Herausforderung ist es, auch Proben mit geringer Virus-RNA-Menge vollständig auf Genomebene zu sequenzieren, damit ausrei-

chend Sequenzinformation zur Rekonstruktion von Übertragungsketten vorhanden ist. Teil unserer Arbeit ist hierbei sequenzspezifische Anreicherungsmethoden, welche wir in den letzten Jahren für Coronaviren etabliert haben, auf zirkulierende Varianten anzupassen und technisch weiter zu optimieren.

Bei der genomischen Surveillance von MERS-CoV stellt sich weiter die Herausforderung, dass die zirkulierende Diversität von Viren im Tierreservoir und beim Menschen ungenügend erfasst ist, so dass neuere Sequenzen auch aus dem Tierreservoir bezüglich ihrer Detektierbarkeit durch diagnostische RT-PCR Assays überprüft werden müssen. Dieser Arbeit kommt zugute, dass unser Institut im Rahmen mehrerer Forschungsprojekte zu MERS-CoV in Dromedaren und Menschen in Afrika und auf der Arabischen Halbinsel einen unmittelbaren Zugang zu Originalproben und teilweise noch nicht öffentlich verfügbaren Sequenzinformationen hat.

Internationale Vernetzung

Im Rahmen der Funktion als nationaler Kontaktpunkt der WHO erbringt das Institut weiterhin unentgeltliche Hilfestellungen in der SARS-CoV-2-Sequenzierung für die WHO, die uns einen Zugang zu Sequenzen und klinischem Material aus Ländern Osteuropas und Zentralasiens ermöglicht. Durch die Vernetzung in weiteren internationalen Projekten in Lateinamerika und Afrika ist auch ein Zugriff auf Proben und zugehörige CoV-Sequenzen aus diesen Regionen möglich. Damit werden die Voraussetzungen geschaffen, auch zukünftig Arbeiten zur Taxonomie und Evolution, z. B. von SARS-CoV-2 Varianten, durchzuführen. Eine Betrachtung der Virusevolution auf globaler Ebene ist für SARS-CoV-2 essentiell.

Im Rahmen eines neu erteilten ECDC-Forschungsauftrags ("Support to microbiology-related activities and capacity building focusing on COVID-19 and influenza in the EU/EEA, the Western Balkans and Turkey; Laboratory support, training, and standardisation") sind wir in ko-kordinierender Rolle für die Arbeitspakete zur diagnostischen Qualitätssicherung und Virus-Phänotypisierung verantwortlich. Ferner sind wir Partner im COVID-19-spezifischen klinischen EU-Forschungsverbund ReCoVer und Partner im Projekt DURABLE (Delivering a Unified Research Alliance of Biomedical and public health Laboratories against Epidemics). Gemeinsam mit der Universität Rotterdam und der Universität Cambridge arbeiten wir darüber hinaus in einem vom US-NIH geförderten Projekt, welches sich mit der Entwicklung und dem Vergleich von Typisierungsmethoden der SARS-CoV-2 Antigendrift über Antigenkartographie befasst.

Wichtige Publikationen

Jones TC, Biele G, Mühlemann B, Veith T, Schneider J, Beheim-Schwarzbach J, Bleicker T, Tesch J, Schmidt ML, Sander LE, Kurth F, Menzel P, Schwarzer R, Zuchowski M, Hofmann J, Krumbholz A, Stein A, Edelmann A, Corman VM, Drosten C. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science*. 2021 Jul 9;373(6551):eabi5273. doi: 10.1126/science.abi5273. Epub 2021 May 25.

Corman VM, Haage VC, Bleicker T, Schmidt ML, Mühlemann B, Zuchowski M, Jo WK, Tscheak P, Möncke-Buchner E, Müller MA, Krumbholz A, Drexler JF, Drosten C. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid point-of-care antigen tests: a single-centre laboratory evaluation study. *Lancet Microbe*. 2021 Jul;2(7):e311-e319. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00056-2. Epub 2021 Apr 7.

- Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peiris M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020 Jan;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, Niemeyer D, Jones TC, Vollmar P, Rothe C, Hoelscher M, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Ehmann R, Zwirgmaier K, Drosten C, Wendtner C. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020 May;581(7809):465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x. Epub 2020 Apr 1.
- Corman VM, Müller MA, Costabel U, Timm J, Binger T, Meyer B, Kreher P, Lattwein E, Eschbach-Bludau M, Nitsche A, Bleicker T, Landt O, Schweiger B, Drexler JF, Osterhaus AD, Haagmans BL, Dittmer U, Bonin F, Wolff T, Drosten C. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. *Euro Surveill.* 2012 Dec 6;17(49):20334. doi: 10.2807/ese.17.49.20334-en.

ABSTRACT 1

Isolation of human coronaviruses using air-liquid interface cell culture models

Heimsch KC¹, Corman VM¹, Drosten C¹

¹ Institute of Virology, Campus Charité Mitte, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

Seven pathogenic human coronaviruses (HCoVs) are known to date, namely HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-HKU1, HCoV-OC43, severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV), Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), and SARS-CoV-2. HCoV-229E and HCoV-NL63 are alphacoronaviruses, while HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS, SARS-COV2, and MERS-CoV are betacoronaviruses. Four CoVs (HCoV-NL63, -229E, -OC43, -HKU1) typically cause mild respiratory disease of the upper respiratory tract. SARS-CoV and MERS-CoV cause more severe infections, also affecting the lower respiratory tract. Finally, SARS-CoV-2, first detected in humans in late 2019, resulted in a pandemic with approximately 20 million deaths worldwide. SARS-CoV-2 replicates in the upper respiratory tract, but can also cause severe pneumonia and can affect multiple organ systems through a wide range of mechanisms.

For some HCoVs (e.g., OC43 and HKU1), there are no or only insufficient *in vitro* replication models available, limiting further investigations of these viruses. Furthermore, most of the HCoVs have a cell tropism for ciliated cells, which cannot be mimicked with normal cell culture lines.

To improve isolation of HCoVs from positive clinical specimens and to compare the replication of all human HCoVs, we established different air-liquid interface (ALI) systems. To represent different parts of the respiratory tract we use a human nasal epithelial cell (hNEC) model and a human bronchial epithelial cell (hBEC) model, both based on primary cells. To mimic cells of the deep lung we use a clonal immortalized human alveolar epithelial cell line called Arlo, showing an Alveolar Type 2 like phenotype.

We successfully isolated and stocked all seasonal HCoV-229E from positive clinical specimens. We then compared the replication of all HCoV-229E using different ALI models.

ABSTRACT 2

Antigenic cartography using variant-specific hamster sera reveals substantial antigenic variation among Omicron subvariants

Mühlemann B¹, Corman VM¹, Drosten C¹

¹ Institute of Virology, Campus Charité Mitte, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

SARS-CoV-2 has developed substantial antigenic variability. As the majority of the population now has pre-existing immunity due to infection or vaccination, the use of experimentally generated animal immune sera can be valuable for measuring antigenic differences between virus variants. Here, we immunized Syrian hamsters by two successive infections with one of eight SARS-CoV-2 variants. Their sera were titrated against 14 SARS-CoV-2 variants and the resulting titers visualized using antigenic cartography. The antigenic map shows a condensed cluster containing all pre-Omicron variants (D614G, Alpha, Delta, Beta, Mu, and an engineered B.1+E484K variant), and a considerably more distributed positioning among a selected panel of Omicron subvariants (BA.1, BA.2, BA.4/5, the BA.5 descendants BF.7 and BQ.1.18; the BA.2.75 descendant BN.1.3.1; and the BA.2-derived recombinant XBB.2). Some Omicron subvariants were as antigenically distinct from each other as the wildtype is from the Omicron BA.1 variant. The results highlight the potential of using variant-specifically infected hamster sera for the continued antigenic characterization of SARS-CoV-2.

Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger

Leitung Prof. Dr. med. Sören Gatermann	Stellvertretung 1 Dr. med. Agnes Anders	Stellvertretung 2 Dr. rer. nat. Niels Pfennigwerth
Institut Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Ruhr-Universität Bochum	Institut Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Ruhr-Universität Bochum	Institut Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Ruhr-Universität Bochum
Adresse Universitätsstr 150, 44801 Bochum	Adresse Universitätsstr 150, 44801 Bochum	Adresse Universitätsstr 150, 44801 Bochum
E-Mail soeren.gatermann@rub.de	E-Mail agnes.anders@rub.de	E-Mail niels.pfennigwerth@rub.de
Telefon +49 234 3226467	Telefon +49 234 3226467	Telefon +49 234 3226467

Die WHO prognostiziert, dass bis zum Jahr 2050 jährlich über 1,3 Millionen Menschen durch antibiotikaresistente Keime sterben werden. Entsprechend stellt die weltweite Ausbreitung multiresistente Keime eine ernsthafte Gefahr für die öffentliche Gesundheit dar. Dabei sind Carbapenemase-produzierenden gramnegativen Bakterien von besonderer Relevanz, weil sie eine Resistenz gegen Carbapeneme, eine Gruppe von Reserveantibiotika, aufweisen.

Seit 2009 steht das NRZ für gramnegative Krankenhauserreger medizinischen Laboratorien in Deutschland und dem deutschsprachigen Ausland zur detaillierten Untersuchung von Bakterienisolaten mit besonderen Antibiotikaresistenzen zur Verfügung. Hierzu werden phänotypische und molekulare Techniken zur Bestätigung oder Ausschluss besonders wichtiger Resistenzmechanismen, insbesondere von Carbapenemasen, durchgeführt. Da die Bestimmungen einen Einfluss auf die Therapie der betroffenen Patienten haben können, ist die kurze Reaktionszeit von 2 Tagen hervorzuheben. Für die Therapie relevante Untersuchungen zur Empfindlichkeit gegenüber schwer zu testenden Substanzen (z. B. Colistin, Cefiderocol) und anderen Reserveantibiotika i.S. des G-BA-Beschlusses runden den Befund ab.

Dadurch, dass das NRZ viele Bakterienisolate erhält, können Hinweise auf lokale oder weiter greifende Ausbrüche gewonnen werden, die mit molekularen Verfahren im NRZ sowie in Zusammenarbeit mit dem RKI oder dem ECDC detailliert untersucht werden. Das NRZ war u. a. bei der Analyse des KPC-Ausbruches in SO-Deutschland, eines Ausbruches KPC-Multispezies-Ausbruch in Hessen, der Häufung von NDM-1 in Greifswald, der Untersuchung der internationalen Ausbrüche von OXA-244 und NDM-5 sowie der aktuellen Häufung von Bakterienisolaten mit NDM-1- und OXA-48-Carbapenemasen in Zusammenhang mit dem Ukrainekrieg maßgeblich beteiligt. Aus letzterer Untersuchung resultiert auch eine Therapieempfehlung für diese, auch gegen die derzeit verfügbaren Reserveantibiotika resistenten Erreger.

Weiterhin berät das NRZ das RKI bei der Ausgestaltung der Meldepflicht und ihrer Falldefinitionen sowie die am RKI angesiedelte KRINKO bei Ausgestaltung der Richtlinien, insbesondere für multi-resistente Gramnegative (MRGN). Weitere Stellen des ÖGD werden bei der Analyse von lokalen Ausbrüchen unterstützt und beraten.

Die einsendenden Laboratorien haben großen Beratungsbedarf zur schnellen und richtigen Erkennung von Carbapenemasen sowie zu Konsequenzen des Nachweises bestimmter Enzyme für die Therapie. Entsprechend ist der Aufwand für telefonische Beratungen.

Obwohl für viele Carbapenemasen kommerzielle Tests zu Verfügung stehen, muss das NRZ die Bakterienisolate analysieren, einerseits, um den genauen Typ der Carbapenemase zu bestimmen, denn die kommerziellen Verfahren unterscheiden z. B. nicht zwischen OXA-48, OXA-181 und OXA-244 oder NDM-1 und NDM-5, andererseits, um eine molekulare epidemiologische Untersuchung zu ermöglichen.

Die Einsendungen an das NRZ sind von 798 in 2010 auf 7500 in 2023 (bis 30.09.2023) angestiegen. Gleichzeitig nahm der Anteil der nachgewiesenen Carbapenemasen zu. Der Zuwachs zeigt nicht nur den Bedarf der Laboratorien, sondern insbesondere die ungebremsste Zunahme des Problems dieser Resistenz auf. Gleichzeitig stellt sie eine Herausforderung an den Umgang mit den begrenzten Ressourcen des Institutes dar und führt dazu, dass manche sinnvolle Untersuchungen nicht möglich sind.

Sofern möglich, soll zukünftig die molekulare Epidemiologie durch unmittelbare Sequenzierung aller Isolate mit Carbapenemase so gestärkt werden, dass es möglich wird, aus den Ergebnissen auch Hinweise für Eingriffe durch den ÖGD zu geben, um eine weitere Ausbreitung der Stämme zu vermeiden. Nebenprodukt dieser Untersuchungen wäre ein Überblick über Resistenz- und Virulenzgene der in Deutschland prävalenten Isolate. Abgerundet werden könnten diese Untersuchungen durch eine Surveillance des Resistenzverhaltens auch gegenüber neuen und noch neu zuzulassenden Reserveantibiotika. Diese Informationen sind für ein effektives Management der stillen Pandemie der multiresistenten bakteriellen Erreger essentiell.

Wichtige Publikationen

- Sandfort M, Hans JB, Fischer MA, Reichert F, Cremanns M, Eisfeld J, Pfeifer Y, Heck A, Eckmanns T, Werner G, Gatermann S, Haller S, Pfennigwerth N. Increase in NDM-1 and NDM-1/OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Germany associated with the war in Ukraine, 2022. *Euro Surveill.* 2022 Dec;27(50):2200926. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.50.2200926. PMID: 36695468; PMCID: PMC9808319.
- Linkevicius M, Bonnin RA, Alm E, Svartström O, Apfalter P, Hartl R, Hasman H, Roer L, Räisänen K, Dortet L, Pfennigwerth N, Hans JB, Tóth Á, Buzgó L, Cormican M, Delappe N, Monaco M, Giufrè M, Hendrickx AP, Samuelsen Ø, Pöntinen AK, Caniça M, Manageiro V, Oteo-Iglesias J, Pérez-Vázquez M, Westmo K, Mäkitalo B, Palm D, Monnet DL, Kohlenberg A. Rapid cross-border emergence of NDM-5-producing *Escherichia coli* in the European Union/European Economic Area, 2012 to June 2022. *Euro Surveill.* 2023 May;28(19):2300209. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.19.2300209. PMID: 37166762; PMCID: PMC10176832.
- Haller S, Kramer R, Becker K, Bohnert JA, Eckmanns T, Hans JB, Hecht J, Heidecke CD, Hübner NO, Kramer A, Klaper K, Littmann M, Marlinghaus L, Neumann B, Pfeifer Y, Pfennigwerth N, Rogge S, Schaufler K, Thürmer A, Werner G, Gatermann S. Extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak, north-eastern Germany, June to October 2019. *Euro Surveill.* 2019 Dec;24(50):1900734. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.50.1900734. PMID:31847948; PMCID: PMC6918589.

Hans JB, Pfennigwerth N, Neumann B, Pfeifer Y, Fischer MA, Eisfeld J, Schauer J, Haller S, Eckmanns T, Gatermann S, Werner G. Molecular surveillance reveals the emergence and dissemination of NDM-5-producing *Escherichia coli* high-risk clones in Germany, 2013 to 2019. *Euro Surveill.* 2023 Mar;28(10):2200509. doi: 10.2807/1560-9171.ES.2023.28.10.2200509. PMID: 36892470; PMCID: PMC999457.

Kremer K, Kramer R, Neumann B, Haller S, Pfennigwerth N, Werner G, Gatermann S, Schrotten H, Eckmanns T, Hans JB. Rapid spread of OXA-244-producing *Escherichia coli* ST38 in Germany: insights from an integrated molecular surveillance approach; 2017 to January 2020. *Euro Surveill.* 2020 Jun;25(25):2000923. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.25.2000923. PMID: 32613940; PMCID: PMC733143.

ABSTRACT 1

Die molekulare Surveillance zeigt Auftreten und Verbreitung von NDM-5 produzierenden *Escherichia coli* Hochrisiko-Klonen in Deutschland, 2013 bis 2019

Hans JB, Pfennigwerth N, Neumann B, Pfeifer Y, Fischer MA, Eisfeld J, Schauer J, Haller S, Eckmanns T, Gatermann S, Werner G

Carbapenemase-produzierende Enterobacterales (CPE) nehmen weltweit rapide zu, auch in Europa. Obwohl die Prävalenz von CPE in Deutschland vergleichsweise gering ist, stellte das Nationale Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (NRZ) jährlich steigende Zahlen von NDM-5-produzierenden *Escherichia coli*-Isolaten fest. Im Rahmen unseres laufenden Überwachungsprogramms wurden NDM-5-produzierende *E. coli*-Isolate, welche zwischen 2013 und 2019 an das NRZ übermittelt wurden, mittels Ganzgenomsequenzierung charakterisiert. Von den insgesamt 329 NDM-5-produzierenden *E. coli* wurden 224 Isolate aus bekannten geografischen Gebieten einer Illumina Ganzgenomsequenzierung unterzogen. Die Ergebnisse der cgMLST zeigten diverse genetische Cluster für viele der 43 verschiedenen Sequenztypen (ST), von welchen ST167, ST410, ST405 und ST361 vorherrschten. Die SNP-basierten phylogenetischen Analysen in Verbindung mit geografischen Informationen ergaben sporadische Fälle von nosokomialer Übertragung auf kleiner räumlicher Ebene. Jedoch identifizierten wir ebenfalls große genetische Cluster, die einer klonalen Verbreitung von ST167-, ST410-, ST405- und ST361-Stämmen in aufeinanderfolgenden Jahren in verschiedenen Regionen Deutschlands entsprechen. Unsere Ergebnisse der molekularen Surveillance verdeutlichen somit die Zunahme von NDM-5-produzierenden *E. coli* in Deutschland, welche zu einem großen Teil auf die erhöhte Prävalenz von Isolaten zurückzuführen ist, die den internationalen Hochrisikoklonen ST167, ST410, ST405 und ST361 angehören. Besonders besorgniserregend ist die überregionale Ausbreitung dieser epidemischen Klone, was auf eine Verbreitung von NDM-5 produzierenden *E. coli* in der Community hindeutet und eine weiterführende integrierten Surveillance notwendig macht.

ABSTRACT 2

Zunahme von NDM-1 und NDM-1/OXA-48 produzierenden *Klebsiella pneumoniae* in Deutschland im Zusammenhang mit dem Krieg in der Ukraine, 2022

Sandfort M, Hans JB, Fischer MA, Reichert F, Cremanns M, Eisfeld J, Pfeifer Y, Heck A, Eckmanns T, Werner G, Gatermann S, Haller S, Pfennigwerth N

Im Jahr 2022 beobachteten sowohl das Nationale Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger als auch das Robert Koch-Institut im Rahmen ihrer gemeinschaftlichen Surveillance-Aktivitäten eine rasch steigende Zahl von NDM-1- und NDM-1/OXA-48-produzierenden *Klebsiella pneumoniae*. Auffällig war bei vielen Fällen eine Auslandsexposition in der Ukraine. Die Ganzgenomsequenzierung von 200 *K. pneumoniae*-Isolaten zeigte eine hohe Prävalenz der Sequenztypen (ST)₁₄₇, ST₃₀₇, ST₃₉₅ und ST₂₃, einschließlich genetischer Cluster, die einer klonalen Verbreitung entsprechen und eben auch auf eine Weiterübertragung innerhalb Deutschlands hindeuten. Somit lassen unsere Ergebnisse einen erhöhten Anteil von NDM-1- und NDM-1/OXA-48-produzierenden *K. pneumoniae* unter Flüchtlingen bzw. evakuierten Patienten aus der Ukraine vermuten, welche zum einen zu einer erhöhten Ausgangsinzidenz in Deutschland führen und zum anderen eine weiterführende Surveillance notwendig macht, um potentielle nationale Übertragungen frühzeitig zu erkennen und zu unterbinden.

Nationales Referenzzentrum für *Helicobacter pylori*



Prof. Dr. med. Sebastian Suerbaum

Leitung

Prof. Dr. med. Sebastian Suerbaum

Institut

Max von Pettenkofer Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München

Adresse

Pettenkoferstr. 9a, 80336 München

E-Mail

nrzhpylori@mvp.lmu.de,
suerbaum@mvp.lmu.de

Telefon

+49 234 3226467

Stellvertretung

Dr. Beate Spießberger

Institut

Abteilung für Medizinische Mikrobiologie

Institut

Max von Pettenkofer Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München

Adresse

Pettenkoferstr. 9a, 80336 München

E-Mail

nrzhpylori@mvp.lmu.de

Telefon

k.A.

Helicobacter pylori ist ein Gram-negatives Stäbchenbakterium. Es infiziert bei mehr als der Hälfte der Weltbevölkerung die Schleimhaut des Magens und gehört daher zu den häufigsten bakteriellen Infektionserregern überhaupt. Die Infektion wird in der Regel in der Kindheit erworben und bleibt über Jahrzehnte bestehen, wenn sie nicht aktiv behandelt wird.

Die Infektion mit *H. pylori* ruft immer eine Entzündungsreaktion der Magenschleimhaut hervor, die man bei einer feingeweblichen Untersuchung des Magens nachweisen kann. Sie muss aber keine Symptome verursachen, mehr als 80 % der Infizierten bleiben symptomlos. Auf dem Boden der *H. pylori*-Gastritis können sich jedoch Folgeerkrankungen entwickeln. Die wichtigsten Folgeerkrankungen sind:

- Magengeschwür
- Zwölffingerdarmgeschwür
- Magenkrebs (Adenokarzinom)
- Lymphome des Magens (MALT-Lymphom)

Der diagnostische Nachweis einer *H. pylori*-Infektion erfolgt meistens im Verlauf einer Magenspiegelung, bei der Proben (Biopsien) entnommen und auf *H. pylori* untersucht werden. Ebenfalls möglich ist der Nachweis einer *H. pylori*-Infektion durch einen Atemtest oder durch einen Stuhltest.

Eine Impfung gegen *H. pylori* steht aktuell nicht zur Verfügung.

Die Therapie erfolgt durch eine Kombination aus Antibiotika und Säuresekretionshemmern. Ziel der Therapie ist die vollständige Beseitigung der Erreger aus dem Körper des Patienten (Eradikation). Da das Infektionsrisiko von Erwachsenen in Deutschland gering ist, ist auch das Risiko, nach einer erfolgreichen Eradikationstherapie erneut eine *H. pylori*-Infektion zu erwerben, sehr gering (unter 1 % pro Jahr).

***Helicobacter pylori* und Krebs**

Eine bestehende Infektion mit *H. pylori* erhöht das Magenkrebsrisiko um das 4–6 fache. *H. pylori* ist seit 1994 offiziell als Krebsauslöser eingestuft, diese Bewertung wurde im Jahr 2009 bestätigt.

Wie auch bei vielen anderen Karzinogenen, führt die *H. pylori*-Infektion nur bei einem kleinen Teil der Infizierten zum Krebs, und zwischen Infektion und Auftreten der Krebserkrankungen liegen meist Jahrzehnte. Dies macht es schwierig, den Effekt einer Therapie auf die Krebshäufigkeit nachzuweisen. Mittlerweile liegen aber mehrere Studien aus Ländern mit hoher *H. pylori*-Infektionsrate und hoher Magenkrebshäufigkeit vor, die nachweisen, dass in solchen Ländern eine konsequente Behandlung von *H. pylori*-Infektionen die Magenkrebssterblichkeit senken kann. In vielen Ländern wird daher mittlerweile die Behandlung jeder *H. pylori*-Infektion zur Krebsprophylaxe empfohlen. In Deutschland empfiehlt die aktuelle Leitlinie der DGVS, auch bei asymptomatischer *H. pylori*-Infektion den Patienten eine Eradikationstherapie anzubieten.

Das NRZ für *H. pylori* am Max von Pettenkofer-Institut der LMU München

Seit dem 01.01.2017 ist das NRZ für *Helicobacter pylori* unter Leitung von Prof. Dr. Sebastian Suerbaum am Max von Pettenkofer-Institut der LMU München beheimatet. Bei Fragen zur Diagnostik, Therapie und Epidemiologie von *H. pylori* ist das NRZ der Ansprechpartner für mikrobiologische Labore und behandelnde Ärztinnen und Ärzte aus ganz Deutschland.

Das NRZ stellt darüber hinaus auch auf seinen Webseiten Informationen für Patientinnen und Patienten sowie andere Interessierte zur Verfügung. Neben der Beratung bietet das NRZ auch mikrobiologische Spezialdiagnostik für *H. pylori* an. Eine weitere wichtige Aktivität, die das NRZ in Zusammenarbeit mit dem Deutschen Zentrum für Infektionsforschung (DZIF) betreibt, ist die große prospektive Studie HelicoPTER, die an 20000 Probanden die Prävalenz und Resistenz bei *Helicobacter pylori* in Deutschland untersucht. Teil der Studie ist eine am NRZ/MvPI angesiedelte Biobank mit forschungsrelevanten Biomaterialien.

Wichtige Publikationen

- Malfertheiner P, Camargo MC, El-Omar E, Liou JM, Peek R, Schulz C, Smith SI, Suerbaum S (2023) *Helicobacter pylori* infection. Nat Rev Dis Primers 9:19. doi: 10.1038/s41572-023-00431-8.
- Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T, Gisbert JP, Liou JM, Schulz C, Gasbarrini A, Hunt RH, Leja M, O'Morain C, Ruggie M, Suerbaum S, Tilg H, Sugano K, El-Omar EM; European Helicobacter and Microbiota Study group (2022) Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. Gut Aug 8:gutjnl-2022-327745. doi: 10.1136/gutjnl-2022-327745.
- Suerbaum S, Coombs N, Patel L, Pscheniza D, Rox K, Falk C, Gruber AD, Kershaw O, Chhatwal P, Brönstrup M, Bilitewski U, Josenhans C (2022) Identification of Antimotilins, Novel Inhibitors of *Helicobacter pylori* Flagellar Motility That Inhibit Stomach Colonization in a Mouse Model. mBio 13:e0375521. doi: 10.1128/mbio.03755-21.
- Megraud F, Bruyndonckx R, Coenen S, Wittkop L, Huang TD, Hoebeke M, Bénéjat L, Lehours P, Goossens H, Glupczynski Y; European Helicobacter pylori Antimicrobial Susceptibility Testing Working Group*. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community (2021) Gut 70:1815-1822. doi: 10.1136/gutjnl-2021-324032. *collaborators: S. Suerbaum, K. Dichtl
- Ailloud F, Estibariz I, Suerbaum S (2021) Evolved to vary: genome and epigenome variation in the human pathogen *Helicobacter pylori*. FEMS Microbiol Rev. 45:fuaa042. doi: 10.1093/femsre/fuaa042.

ABSTRACT

NRZ für *Helicobacter pylori* 2017 – 2023

Suerbaum S, Spießberger B

Das NRZ für *Helicobacter pylori* ist seit 2017 am Max von Pettenkofer-Institut der LMU München beheimatet. *H. pylori* ist ein Gram-negatives Stäbchenbakterium. Es infiziert bei mehr als der Hälfte der Weltbevölkerung die Schleimhaut des Magens und gehört daher zu den häufigsten bakteriellen Infektionserregern überhaupt. Die Infektion wird in der Regel in der Kindheit erworben und bleibt über Jahrzehnte bestehen, wenn sie nicht aktiv behandelt wird. Die Infektion mit *H. pylori* ruft immer eine Entzündungsreaktion der Magenschleimhaut hervor, die man bei einer histologischen Untersuchung des Magens nachweisen kann. Sie muss aber keine Symptome verursachen, mehr als 80 % der Infizierten bleiben symptomlos. Auf dem Boden der *H. pylori*-Gastritis können sich jedoch Folgeerkrankungen entwickeln. Die wichtigsten Folgeerkrankungen sind Magen- und Duodenalgeschwür, Magenkrebs (Adenokarzinom) und das maligne MALT-Lymphom des Magens. Wir geben einen Überblick über die Tätigkeiten unseres NRZ im Rahmen des Aufgabenkatalogs für NRZ und präsentieren „Highlights“ aus der Diagnostik und den in Zusammenarbeit mit dem NRZ entstandenen Forschungsprojekten.

Nationales Referenzzentrum für Hepatitis-B- und -D-Viren



Prof. Dr. Dieter Glebe



OA Dr. med. Christian G. Schüttler



Dr. med. Heiko Slanina

Leitung

Prof. Dr. Dieter Glebe

OA Dr. med. Christian G. Schüttler
(ärztl. Leiter)

Institut

Institut für Medizinische Virologie,
Justus-Liebig-Universität Gießen

Adresse

Schubertstr. 81, 35392 Gießen

E-Mail

dieter.glebe@viro.med.uni-giessen.de
Christian.Schuetzler@uk-gm.de

Telefon

+49 64199-41246 (DG)
+49 64199-41230 (CGS)

Stellvertretung

Dr. med. Heiko Slanina

Institut

Institut für Medizinische Virologie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Adresse

Schubertstr. 81, 35392 Gießen

E-Mail

Heiko.Slanina@viro.med.uni-giessen.de

Telefon

+49 64199-41231

Das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für Hepatitis-B-Virus (HBV) und Hepatitis-D-Virus (HDV) ist seit 2011 am Institut für Medizinische Virologie (Leiter: Prof. Dr. med. John Ziebuhr) der Justus-Liebig-Universität in Gießen beheimatet. Das Referenzzentrum widmet sich der Erforschung von HBV und HDV sowie der Validierung und Entwicklung von Diagnoseverfahren und Biomarkern zu HBV- und HDV-Infektionen. Das Institut für Medizinische Virologie war bereits seit 1995 Standort des damaligen Konsiliarlabors für Hepatitis-B- und Hepatitis-D-Viren, geleitet von Prof. Dr. phil. nat. Dr. h.c. Wolfram H. Gerlich bis zu seiner Pensionierung im Jahr 2010.

HBV- und HDV-Infektionen sind weltweit verbreitet und stellen eine erhebliche globale Bedrohung der Gesundheit des Menschen dar.

Eine HBV-Infektion kann einen akuten, als auch einen chronischen Verlauf nehmen. Insbesondere chronische HBV-Infektionen sind weltweit mit einer hohen Sterblichkeit (820.000 Todesfälle/Jahr) durch das HBV-assoziierte Auftreten von Leberzirrhose und des primären hepatozellulären Karzinoms (HCC) verbunden. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzt, dass weltweit etwa 296 Mio. Menschen serologische Anzeichen einer aktiven HBV-Infektion (HBsAg-Nachweis) zeigen. Trotz der globalen Verfügbarkeit eines schützenden Impfstoffs infizieren sich weltweit etwa 1,5 Mio. Menschen jährlich neu mit HBV. Antivirale Medikamente sind verfügbar, führen jedoch selten zur Heilung einer chronischen HBV-Infektion.

Akute oder chronischen Infektionen mit dem Hepatitis-D-Virus (HDV) treten nur zusammen mit einer aktiven HBV-Infektion auf. Nach WHO-Angaben zeigen ca. 5 % der chronisch HBV-infizierten Patienten serologische Anzeichen einer Ko-Infektion mit HDV. Die HDV/HBV Ko-Infektion gilt allgemein als die schwerste Form der chronischen Virushepatitis, da sie wesentlich schneller zu Leberversagen und zum Leberzellkarzinom führen kann, als eine HBV-Monoinfektion. Eine erfolgreiche Impfung gegen HBV schützt zuverlässig auch gegen eine HDV-Infektion. Die Erfolgsaussichten einer Therapie der chronischen HDV/HBV-Infektion sind jedoch momentan noch gering.

Das Referenzzentrum arbeitet eng mit nationalen und internationalen Gesundheitsbehörden, Forschungseinrichtungen und medizinischen Zentren zusammen, um umfassende Daten über diese Viren zu erstellen und aktuelle Informationen zur Diagnostik dieser Viren bereitzustellen.

Ein wichtiger Schwerpunkt des Referenzzentrums ist die Entwicklung und Validierung von diagnostischen Tests für HBV und HDV. Diese Tests sind entscheidend für die exakte Diagnose und die genaue Bestimmung der Viruslast bei infizierten Personen. Dadurch können rechtzeitige Behandlungen eingeleitet und die Verbreitung der Viren eingedämmt werden. Das Referenzzentrum spielt eine führende Rolle bei der Validierung von Testmethoden und der Bereitstellung von Referenzmaterialien für Labore im ganzen Land.

Das NRZ führt auf Anfrage Genotypisierungen von speziellen HBV/HDV-Isolaten durch und besitzt eine große Stamm-Sammlung an gut charakterisiertem HBV/HDV-haltigen Probenmaterial. Weiterhin verfügt es über ein kloniertes Panel der weltweit wichtigsten HBV/HDV-Virusstämme (Genotypen) und spezieller klinisch-relevanter viraler Varianten.

Darüber hinaus erbringt das Referenzzentrum grundlegende Beiträge auf internationaler Ebene zur Erforschung von HBV und HDV. Es führt grundlegende Studien zur Infektiosität, zur Replikation, zur Interaktion mit dem menschlichen Immunsystem und dem Auftreten von Immun-Escape-Mutationen und anderen Varianten dieser Viren durch. Es gelang sogar die Funktionsfähigkeit von HBV-Genomen zu belegen, die aus Jahrtausende alten archäologischen Proben in mehreren Regionen Eurasiens isoliert wurden. Diese Forschung ist von hohem wissenschaftlichem Interesse und zugleich von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung neuer antiviraler Medikamente und Impfstoffe.

Das NRZ beteiligt sich wesentlich an der Erstellung von aktuellen nationalen und internationalen Leitlinien, Empfehlungen und Stellungnahmen zur Prävention, Diagnostik und Therapie der HBV- und HDV-Infektionen.

Ein weiteres wichtiges Anliegen des Referenzzentrums ist die Ausbildung von Fachleuten im Bereich der Hepatologie und Virologie. Es bietet Schulungen und Fortbildungsprogramme für Ärzte und Wissenschaftler, um das Wissen über HBV und HDV zu vertiefen und die Qualität der Diagnostik zu verbessern. Der ärztliche Leiter besitzt eine Weiterbildungsermächtigung der Landesärztekammer Hessen zum Facharzt für Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie.

Das Nationale Referenzzentrum für HBV und HDV in Gießen ist auch in die internationale Zusammenarbeit eingebunden. Es arbeitet mit anderen nationalen Referenzzentren und Forschungseinrichtungen weltweit zusammen, um Informationen auszutauschen, bewährte diagnostische Verfahren zu teilen und gemeinsame Forschungsprojekte zu initiieren. Dies ist entscheidend, um die globalen Herausforderungen im Zusammenhang mit HBV und HDV anzugehen.

Die Bedeutung des Referenzzentrums zeigt sich auch in seiner Rolle bei der Bewältigung von Ausbrüchen und Epidemien. Im Falle von Hepatitis-B- oder -D-Ausbrüchen kann das Referenzzentrum in enger Zusammenarbeit mit dem Robert-Koch Institut schnell reagieren, um Infektionsquellen sowie Infektionsketten zu ermitteln, die Verbreitung zu stoppen und gezielte Maßnahmen zur Prävention zu empfehlen.

Zusammenfassend ist das Nationale Referenzzentrum für HBV und HDV in Gießen eine hochspezialisierte Einrichtung, die eine zentrale Rolle in der Erforschung, Diagnose und Bekämpfung von Hepatitis-B- und -D-Viren in Deutschland und darüber hinaus spielt. Mit seinen umfassenden Forschungsaktivitäten, seiner wichtigen Rolle in der Ausbildung von Experten und seiner internationalen Zusammenarbeit leistet das Referenzzentrum einen entscheidenden Beitrag zur Verbesserung der Diagnostik und zur Reduzierung der Auswirkungen dieser lebensbedrohlichen Virusinfektionen.

Weitere Beteiligte des NRZ:



Prof. i. R. Dr. phil. nat. Dr. h. c. Wolfram H. Gerlich (beratende Tätigkeit) und Dr. Nora Goldmann (wiss. Mitarbeiterin)

Wichtige Publikationen

Mühlemann B, Jones TC, Damgaard PB, Allentoft ME, Shevnina I, Logvin A, Usmanova E, Panyushkina IP, Boldgiv B, Bazartseren T, Tashbaeva K, Merz V, Lau N, Smrčka V, Voyakin D, Kitov E, Epimakhov A, Pokutta D, Vicze M, Price TD, Moiseyev V, Hansen AJ, Orlando L, Rasmussen S, Sikora M, Vinner L, Osterhaus ADME, Smith DJ, Glebe D, Fouchier RAM, Drosten C, Sjögren KG, Kristiansen K, Willerslev E. 2018. *Ancient hepatitis B viruses from the Bronze Age to the Medieval period. Nature* 557:418-423. doi: 10.1038/s41586-018-0097-z

- Cornberg M, Sandmann L, Protzer U, Niederau C, Tacke F, Berg T, Glebe D, Jilg W, Wedemeyer H, Wirth S, Höner Zu Siederdisen C, Lynen-Jansen P, van Leeuwen P, Petersen J; Collaborators. *S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Hepatitis-B-Virusinfektion – (AWMF-Register-Nr. 021-11)*. *Z Gastroenterol.* 2021 Jul;59(7):691-776.
- Glebe D, Lehmann F, Goldmann N, Giese A, Hida Y, Gerlich WH, Ziebuhr J, Slanina H, Schüttler CG. *10 Jahre Nationales Referenzzentrum für Hepatitis-B-Viren und Hepatitis-D-Viren in Gießen: Tätigkeiten und Erfahrungen*. *Bundesgesundheitsbl.* 2022; 65(2): 220–227.
- Kramvis A, Chang KM, Dandri M, Farci P, Glebe D, Hu J, Janssen HLA, Lau DTY, Penicaud C, Pollicino T, Testoni B, Van Bömmel F, Andrisani O, Beumont-Mauviel M, Block TM, Chan HLY, Cloherty GA, Delaney WE, Geretti AM, Gehring A, Jackson K, Lenz O, Maini MK, Miller V, Protzer U, Yang JC, Yuen MF, Zoulim F, Revill PA. *A roadmap for serum biomarkers for hepatitis B virus: current status and future outlook*. *Nature Reviews Gastroenterol. Hepatol.* 2022 Nov;19(11):727-745.
- Lehmann F, Slanina H, Roderfeld M, Roeb E, Trebicka J, Ziebuhr J, Gerlich WH, Schüttler CG, Schlevogt B, Glebe D. 2023. *A Novel Insertion in the Hepatitis B Virus Surface Protein Leading to Hyperglycosylation Causes Diagnostic and Immune Escape*. *Viruses.* 15(4):838.

ABSTRACT 1

Detektion und Evaluation von diagnostischen und Immune-Escape-Varianten des Hepatitis-B-Virus (HBV) aus klinischem Probenmaterial.

Glebe D, Lehmann F, Slanina H, Goldmann N, Schüttler CG

Hintergrund: Die Hepatitis-B-Virus (HBV)-Infektion stellt weltweit ein erhebliches Gesundheitsproblem dar. Trotz verfügbarer Impfung und antiviraler Therapieoptionen bleibt die HBV-Prävalenz weltweit hoch. Eine Herausforderung in der Diagnostik der HBV-Infektion besteht unter anderem in der Identifikation und Charakterisierung von Virusvarianten, insbesondere von diagnostischen und Immune-Escape-Varianten, die die Diagnose und Therapie beeinflussen können.

Methoden: In dieser Studie wurden klinische Proben von HBV-positiven Patienten gesammelt und mittels molekularer Methoden auf HBV-DNA untersucht. Die Sequenzierung des viralen Genoms ermöglichte die Identifikation von Varianten, insbesondere solchen, die potenziell diagnostische Tests beeinflussen oder der Erkennung durch das Immunsystem entkommen können (Immune-Escape-Varianten). Die Charakterisierung dieser Varianten erfolgte durch bioinformatische Analysen und in vitro-Funktionstests.

Ergebnisse: Unsere Ergebnisse zeigen, dass in den untersuchten klinischen Proben eine bemerkenswerte Vielfalt von HBV-Varianten vorhanden ist. Einige dieser Varianten wiesen Mutationen in Regionen auf, die für diagnostische Antikörperbindungsstellen entscheidend sind. Dies führte vereinzelt zu falsch-negativen Diagnosen. Darüber hinaus identifizierten wir Varianten mit Mutationen in

Genabschnitten, die für die Erkennung durch das Immunsystem von Bedeutung sind. Diese Immune-Escape-Varianten könnten die Wirksamkeit der Immunantwort gegen das Virus beeinträchtigen.

Schlussfolgerung: Die Identifikation und Charakterisierung von diagnostischen und Immun-Escape-Varianten des HBV aus klinischem Probenmaterial trägt zur Verbesserung der Diagnosegenauigkeit der verwendeten diagnostischen Tests und zur Entwicklung verbesserter Impfstoffe bei. Dies hat das Potenzial, die Diagnostik der HBV-Infektion weiter zu verbessern. Weitere Studien sind erforderlich, um die klinische Relevanz dieser Varianten vollständig zu verstehen und ihre Ausbreitungsmöglichkeiten zu bewerten.

Referenzen

- (1) Lehmann et al., A Novel Insertion in the Hepatitis B Virus Surface Protein Leading to Hyperglycosylation Causes Diagnostic and Immune Escape. *Viruses*. 2023 Mar 25;15(4):838. doi: 10.3390/v15040838.
- (2) Glebe et al., 10 Jahre Nationales Referenzzentrum für Hepatitis-B-Viren und Hepatitis-D-Viren in Gießen: Tätigkeiten und Erfahrungen. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2022 Feb;65(2):220-227. doi: 10.1007/s00103-021-03479-7.

ABSTRACT 2

Die Bedeutung der HDV-Genotypen für Diagnostik und antivirale Therapie der HDV-Infektion.

Glebe D, Goldmann N, Lehmann F, Slanina H, Schüttler CG

Hintergrund: Die Infektion mit dem Hepatitis-D-Virus (HDV) ist ein weltweites Gesundheitsproblem. Akute und chronische HDV-Infektionen treten stets zusammen mit einer HBV-Infektion auf. Die chronische HDV-Infektion hat ein hohes Risiko für die Entstehung einer Leberzirrhose und eines hepatozellulären Karzinoms. Es bestehen nur eingeschränkte Therapiemöglichkeiten (Interferon, neuartige Virusaufnahme-Inhibitoren), die geringe Ansprechraten und hohe virale Durchbruchsraten haben. HDV besitzt ein zirkuläres RNA-Genom, das sehr hohe genetische Variabilität aufweist, mit einer großen Zahl an genetischen Varianten. Weltweit wurden mindestens 8 Genotypen und eine Vielzahl an Subgenotypen nachgewiesen, die einen entscheidenden Einfluss auf die verlässliche Diagnostik des HDV-RNA-Genomnachweis und das Therapieansprechen der HDV-Infektion haben können.

Methoden: Zur Etablierung und Validierung einer qRT-PCR-Methodik zur quantitativen Bestimmung der HDV-RNA-Genome aus humanem Serum und des Ansprechens einzelner HDV-Isolate auf eine Interferon-Behandlung wurde in Zusammenarbeit mit dem Zentrum für Diagnostik des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf durchgeführt. Am NRZ wurden virale Prototypen aller acht weltweit vorkommenden

HDV-Genotypen kloniert und auf ihre Funktionalität (Infektiosität/Replikation/Sekretion) in der Zellkultur überprüft. Die quantitative Bestimmung der HDV-RNA-Genome aus sekretiertem Zellkultur-HDV der acht Genotypen erfolgte mit einem vollautomatisierten qRT-PCR-System. Das Ansprechen der HDV-Replikation auf Interferon-Gabe wurde in der Zellkultur getestet.

Ergebnisse: Mit Hilfe der klonierten HDV-Prototypen aller acht HDV-Genotypen konnte die automatisierte qRT-PCR für HDV-RNA erfolgreich validiert werden. Das System zeichnete sich durch Spezifität und Sensitivität in der Detektion der HDV-RNA aus. Das untere Detektionslimit der Quantifizierung lag für alle acht HDV-Genotypen bei 10 IU/mL HDV-RNA mit einem linearen Bereich von 10^1 bis 10^8 IU/mL. Das Ansprechen von zwei unterschiedlichen klinischen HDV-Isolaten des Genotyp-1 auf Interferon alpha (IFNa)-Gabe zeigte klare Unterschiede *in vitro*. Während ein Isolat (HDV-1p) unter 14-tägiger IFNa-Gabe eine Reduktion der intrazellulären HDV-RNA um 1,6 log (98 %) erzielte, war die HDV-RNA-Replikation des zweiten Isolats (HDV-1a) resistent gegenüber IFNa.

Schlussfolgerung: Der Genotyp von HDV ist von entscheidender Bedeutung für eine verlässliche Diagnostik und Behandlung der chronischen HDV-Infektion. Die Auswahl der antiviralen Therapie sollte möglichst unter Berücksichtigung des HDV-Genotyps erfolgen, um die bestmöglichen Ergebnisse für die Patienten zu erzielen. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die genauen Auswirkungen der HDV-Genotypen und -Subgenotypen auf Diagnose und Therapie besser zu verstehen.

Referenzen

- (1) Pflüger et al., Clinical establishment of a laboratory developed quantitative HDV PCR assay on the cobas6800 high-throughput system. *JHEP Rep.* 2021 Aug 28;3(6):100356. doi: 10.1016/j.jhepr.2021.100356.
- (2) Giersch et al., Strain-specific responsiveness of hepatitis D virus to interferon-alpha treatment. *JHEP Rep.* 2023 Jan 24;5(4):100673. doi: 10.1016/j.jhepr.2023.100673.

Nationales Referenzzentrum für Hepatitis-C-Viren



Prof. Dr. med. Jörg Timm

Leitung

Prof. Dr. med. Jörg Timm

Institut

Institut für Virologie

Adresse

Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf

E-Mail

NRZ-HCV@med.uni-duesseldorf.de

Telefon

+49 21181-12225

Stellvertretung

Dr. rer. nat. Andreas Walker

Institut

Institut für Virologie

Adresse

Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf

E-Mail

NRZ-HCV@med.uni-duesseldorf.de

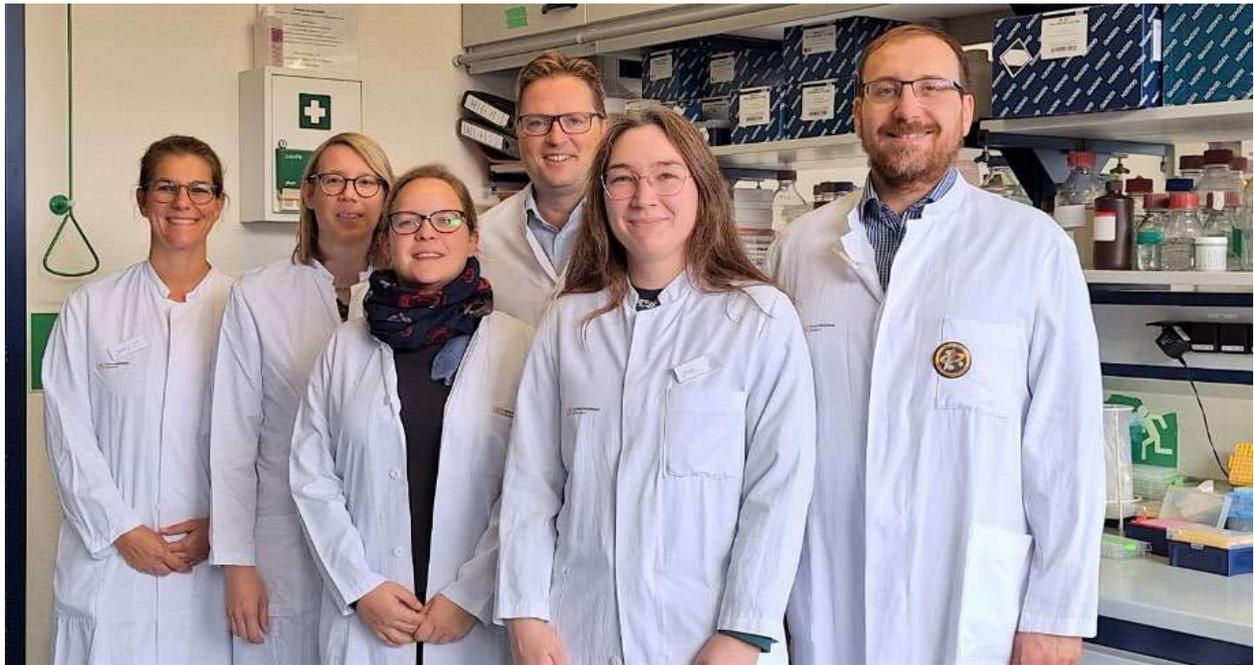
Telefon

k.A.

Das nationale Referenzzentrum für Hepatitis C-Viren unterstützt bei Fragestellungen zur Diagnostik, Genotypisierung und Resistenztestung. Dabei bieten wir zum einen Beratung per Telefon und E-Mail an, zum anderen können Proben zur Feindiagnostik eingesandt werden. Dabei charakterisieren wir beispielsweise HCV-Isolate, die mit den üblichen Methoden zur HCV-Genotypisierung nicht eingeordnet werden können, oder die keine übliche Immunantwort zeigen. Das NRZ-HCV ist im Resistenznetzwerk Geno2Pheno aktiv und ist für die Aktualisierung des Resistenzalgorithmus für die Vorhersageplattform Geno2Pheno[HCV] (<https://hcv.geno2pheno.org>) zuständig. In dieser Funktion unterstützt das NRZ-HCV auch bei der Untersuchung von Resistenzmutationen gegen antivirale Substanzen und berät zum Thema Therapie und Therapieversagen. Außerdem bieten wir Spezialdiagnostik für die Unterscheidung eines *Relapse* (im Sinne eines Therapieversagens) von einer Reinfektion nach Therapieende an.

Das NRZ-HCV beteiligt sich an der Validierung neuer Testverfahren zur Quantifizierung von Hepatitis C und an der Durchführung von Ringversuchen. Dazu erweitern wir beständig die Stammsammlung um seltene HCV Genotypen sowie resistente Varianten. Diese Proben stellen wir auch als Referenzstämme für die diagnostische Validierung zur Verfügung.

Am NRZ-HCV konnte die Ganzgenomsequenzierung für HCV etabliert werden. Dies ermöglicht die Bestimmung von Infektionsquellen durch Sequenzvergleiche und Untersuchungen zur molekularen Epidemiologie von HCV. In enger Absprache mit dem RKI entwickelt das NRZ-HCV Infrastrukturen zur Etablierung einer deutschlandweiten molekularen Surveillance für HCV. Ziel ist es, aus Rückstellproben von möglichst vielen HCV-RNA positiven Erstdiagnosen das komplette Virusgenom zu sequenzieren und gemeinsam mit dem ÖGD die molekulare Epidemiologie von HCV genauer zu charakterisieren.



Teamfoto: Mitarbeitende des NRZ für Hepatitis-C-Viren

Wichtige Publikationen

Transcriptional Pattern Analysis of Virus-Specific CD8+ T Cells in Hepatitis C Infection: Increased Expression of TOX and Eomesodermin During and After Persistent Antigen Recognition. Wildner NH, Walker A, Brauneck F, Ditt V, Peine S, Huber S, Haag F, Beisel C, Timm J, Schulze Zur Wiesch J. *Front Immunol.* 2022 Jun 6;13:886646.

Peripheral blood iNKT cell activation correlates with liver damage during acute hepatitis C. Senff T, Menne C, Cosmovici C, Lewis-Ximenez LL, Aneja J, Broering R, Kim AY, Westendorf AM, Dittmer U, Scherbaum N, Lauer GM, Timm J. *JCI Insight.* 2022 Jan 25;7(2):e155432.

Multicenter Performance Evaluation of Elecsys Anti-HBc II, Anti-HCV II, HIV combi PT, HBsAg II, and Syphilis Immunoassays. Hottenträger B, Hagedorn HJ, Bäcker E, Bleekmann B, Gessner A, Lübke N, Wenzel JJ, Widera M, Pabinger S, Ramge P, Timm J. *Clin Lab.* 2021 Nov 1;67(11).

A pan-genotypic Hepatitis C Virus NS5A amplification method for reliable genotyping and resistance testing. Walker A, Ennker KS, Kaiser R, Lübke N, Timm J. *J Clin Virol.* 2019 Apr;113:8-13.

Differential escape of HCV from CD8+ T cell selection pressure between China and Germany depends on the presenting HLA class I molecule. Xia Y, Pan W, Ke X, Skibbe K, Walker A, Hoffmann D, Lu Y, Yang X, Feng X, Tong Q, Timm J, Yang D. *J Viral Hepat.* 2019 Jan;26(1):73-82.

ABSTRACT

Etablierung einer HCV ganz Genom Sequenzierung und Aufbau einer molekularen Surveillance für Hepatitis C Viren

Walker A, Lübke N, Fröhlich Y, Camdereli J, Paluschinski M, Obermeier M, Zimmermann R, Timm J

Obwohl die Hepatitis C mittlerweile gut behandelbar ist, sind chronische Infektionen insbesondere in Risikogruppen wie intravenösen Drogengebern weiterhin weit verbreitet. Insbesondere zur Inzidenz von Neuinfektionen in dieser Gruppe fehlen Daten. Der Aufbau einer integrierten molekularen Surveillance (IMS) für HCV ermöglicht es, Übertragungsnetzwerke von HCV in Deutschland besser zu charakterisieren und ist für das Erreichen der Eliminationsziele 2030 von entscheidender Bedeutung. Eine erfolgreich etablierte HCV-IMS erlaubt eine wirkungsvolle Transmissions-Surveillance bei der durch das frühere Erkennen und Analysieren von Übertragungsnetzwerken Risikogruppen besser adressiert werden können. Des Weiteren ermöglicht eine IMS die Detektion von Migrationsbewegungen/Import von Fällen, die Überwachung von Resistenzprofilen sowie die Erkennung von Ausbrüchen ohne eine offensichtliche epidemiologische Verbindung über große geographische und zeitliche Distanzen.

Ein Workflow für die Sequenzierung aller neu diagnostizierten HCV-Infektionen wurde durch das NRZ-HCV erarbeitet. Diese wurden bereits durch die Ethikkommission, Datenschutzkommission sowie durch die Rechtsabteilung geprüft und positiv votiert. Der Aufbau eines Labornetzwerkes für die Durchführung einer Pilotphase wurde initiiert. Das ganze HCV Genom wird mittels einer Genotyp-spezifischen „Tiling-PCR“ amplifiziert und anschließend mit der Oxford Nanopore Technologie sequenziert.

Der genehmigte Workflow sieht die Einsendung neudiagnostizierter HCV Infektionen, pseudonymisiert über die DEMIS-Melde ID, an das NRZ-HCV vor. Die Virussequenzen können dann über die Melde-ID zurück an die Labore gesendet werden. Sobald eine Sequenzübermittlung mittels DEMIS möglich ist, können die Virussequenzen auch über DEMIS dem öffentlichen Gesundheitsdienst zur Verfügung gestellt werden. Nach erfolgreicher Etablierung der Ganzgenom Sequenzierung für die Genotypen 1, 3a und 4 wurde die Methode in 216 Patienten aus einer Hochrisiko-Gruppe von intravenösen Drogengebern validiert. Die mediane Viruslast in dieser Kohorte betrug 1.1×10^6 IU/ml ($2242-51 \times 10^6$ IU/ml) und die mediane Genomabdeckung betrug 95 – 45 % (12.6 – 99.5 %). Dabei zeigte sich eine klare Korrelation zwischen Viruslast und der erreichten Genomabdeckung, wobei jedoch auch bei niedrig virämischen Proben (< 100.000 IU/ml) in 20 von 32 Proben (62.5 %) noch eine Genomabdeckung von 90 % erreicht werden konnte.

Die regulatorischen Grundlagen für die molekulare Surveillance wurden erarbeitet und eine HCV Ganzgenom Sequenzierung konnte erfolgreich etabliert werden. Im nächsten Schritt soll eine Pilotphase in NRW und Berlin erfolgen. Nach Abschluss dieser Pilotphase kann, nach gesicherter Finanzierung, eine bundesweite molekulare HCV-Surveillance erfolgen.

Nationales Referenzzentrum für Influenzaviren

Leitung

Dr. Ralf Dürrwald

Institut

Influenzaviren und weitere Viren des Respirationstraktes (FG 17), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestraße 10, 13353 Berlin

E-Mail

DuerrwaldR@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2456

Stellvertretung

Dr. Barbara Biere

Institut

Influenzaviren und weitere Viren des Respirationstraktes (FG 17), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestraße 10, 13353 Berlin

E-Mail

BiereB@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2383

Das NRZ für Influenzaviren am Robert Koch-Institut ist an der nationalen und internationalen Überwachung der Influenzaviren sowie weiterer Atemwegsviren beteiligt. Im Rahmen der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) wird eine ganzjährige Surveillance der zirkulierenden Viren durchgeführt, deren Schwerpunkt auf den Influenzaviren sowie SARS-CoV-2 und RSV liegt. Die in der Bevölkerung zirkulierenden Influenzaviren werden in unserem Labor (sub)typisiert sowie ihr genetisches und antigenes Profil bestimmt. Weiterhin werden Untersuchungen im Hinblick auf ihre Empfindlichkeit gegen antivirale Substanzen vorgenommen.

Die erhobenen Daten werden an das European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) sowie an die WHO übermittelt und fließen damit in die globalen Empfehlungen der WHO zur Impfstoffzusammensetzung ein. In diesem Zusammenhang werden dem WHO Collaborating Centre in London kontinuierlich repräsentative Influenzavirusstämme aus Deutschland für die europaweiten Analysen zu Verfügung gestellt.

Das NRZ für Influenzaviren ist nach den Normen DIN EN ISO 17025 und DIN EN ISO 15189 für Prüfungen in den Bereichen „Medizinische Laboratoriumsuntersuchungen im Rahmen klinischer und epidemiologischer Studien“ und „Medizinische Laboratoriumsdiagnostik“ akkreditiert. Die durch die Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS) akkreditierten Prüfverfahren umfassen die Virusidentifizierung/-typisierung, Amplifikationsverfahren, die Empfindlichkeitstestung von Viren und Ligandenassays.

Fotoserie zur Diagnostik und Teamfoto sind abrufbar unter

https://www.rki.de/SharedDocs/Bilder/InfAZ/Influenza/NRZ_Bilderstrecke/NRZ_Influenza_Diagnostik.html

Wichtige Publikationen

- Oh DY, Hölzer M, Paraskevopoulou S, Trofimova M, Hartkopf F, Budt M, Wedde M, Richard H, Halemann B, Domaszewska T, Reiche J, Keeren K, Radonic A, Ramos Calderón JP, Smith MR, Brinkmann A, Trappe K, Drechsel O, Klaper K, Hein S, Hildt E., Calvignac-Spencer S, Semmler T, Haas W, Dürrwald R, Thürmer A, Drosten C, Fuchs S, Krüger S, von Kleist M, Wolff T. Integrated Molecular Surveillance for SARS-CoV-2 (IMS-SC2) Laboratory Network. Advancing Precision Vaccinology by Molecular and Genomic Surveillance of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Germany, 2021. *Clin Infect Dis*. Aug 15 2022;75(Supplement_1):S110-S120. doi:10.1093/cid/ciac399
- Pletz MW, Dürrwald R, Reiche J, Rose N, Scherag A, Weis S, CoNAN study group. Impact of the COVID-19 pandemic on influenza and respiratory syncytial virus antibody titres in the community: a prospective cohort study in Neustadt, Thuringia, Germany. *Eur Respir J*. Nov 2022;60(5)doi:10.1183/13993003.00947-2022
- Dürrwald R, Wedde M, Duwe S, Biere B, Reiche J, Köndgen S, Ramos Calderón JP, Budt M, Drechsel O, Fuchs S, Haldemann B, Hartkopf F, Hölzer M, Huska M, Kaiser S, Keeren K, Kröger S, Paraskevopoulou S, Radonic A, Reinhardt B, Semmler T, Thürmer A, Trappe K, Winter K, Mielke M, Buda S, Oh DY, Wolff T: Synopse virologischer Analysen im Nationalen Referenzzentrum für Influenzaviren während der COVID-19-Pandemie. *Epid Bull* 2022;22:3-18 | DOI 10.25646/10118
- Oh DY, Buda S, Biere B, Reiche J, Schlosser F, Duwe S, Wedde M, von Kleist M, Mielke M, Wolff T, Dürrwald R. Trends in respiratory virus circulation following COVID-19-targeted nonpharmaceutical interventions in Germany, January – September 2020: Analysis of national surveillance data. *Lancet Reg. Health Eur*. 2021, 6: 100112. Epub Jun 7. doi: 10.1016/j.lanepe.2021.100112.
- Biere B, Oh DY, Wolff T, Dürrwald R. Surveillance of endemic human Coronaviruses in Germany, 2019/2020. *Lancet Reg. Health Eur*. 2021, 11: 100262. Epub Nov 4. doi: 10.1016/j.lanepe.2021.100262.

ABSTRACT

Ungewöhnliche Zirkulation von Influenzaviren im Jahr 2022

Duwe S, Oh DY, Wedde M, Reiche J, Köndgen S, Biere B, Wolff T, Dürrwald R

Während der COVID-19-Pandemie führten nicht-pharmazeutische Interventionen zu einem Rückgang der Influenza-Aktivität in den Saisons 2020/21 und 2021/22. Influenzaviren wurden nach der Aufhebung zahlreicher Schutzmaßnahmen im Jahr 2022 wieder nachgewiesen und zeigten ungewöhnliche Zirkulationsmuster. Nach einer anfänglichen Frühjahrs-Wellen zirkulierten A(H3N2)-Influenzaviren den ganzen Sommer über auf niedrigem Niveau und stiegen im Dezember zu einer starken und frühen Herbstwelle an, von der die 10- bis 12-Jährigen am häufigsten betroffen waren. Beide Wellen endeten abrupt mit den bundesweiten Schulferien. Bemerkenswert ist, dass die Positivitäten in anderen Altersgruppen stark zurückgingen, und zwar praktisch zur gleichen Zeit wie bei den Kindern. Dies unterstreicht die Bedeutung von Schulkindern für die Übertragung von Influenzavirusinfektionen und verdeutlicht die Notwendigkeit von Präventivmaßnahmen zum Schutz der Bevölkerung durch Impfung in dieser Altersgruppe.

Nationales Referenzzentrum für Invasive Pilzinfektionen



Prof. Dr. med. Oliver Kurzai

Leitung

Prof. Dr. med. Oliver Kurzai

Institut

Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie – Hans-Knöll-Institut

Adresse

Adolf-Reichwein-Str. 23, 07745 Jena

E-Mail

nrzmyk@leibniz-hki.de
oliver.kurzai@uni-wuerzburg.de

Telefon

+49 931 31-46161

Stellvertretung 1

Dr. rer. nat. Grit Walther

Institut

Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie – Hans-Knöll-Institut

Adresse

Adolf-Reichwein-Str. 23, 07745 Jena

E-Mail

nrzmyk@leibniz-hki.de

Telefon

+49 3641 532-1038

Stellvertretung 2

Dr. med. Alexander Aldejohann

Institut

Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Adresse

Josef-Schneider-Straße 2
97080 Würzburg

E-Mail

alexander.aldejohann@uni-wuerzburg.de

Telefon

+49 931 31-46161

Invasive Pilzinfektionen haben seit der Jahrtausendwende erheblich an Bedeutung gewonnen. Gründe hierfür sind unter anderem (i) die Zunahme an Antimykotika-Resistenzen, (ii) die weltweite Ausbreitung neuer pathogener Pilze wie *Candida auris* und (iii) die Zunahme von Risikopatienten für invasive Pilzinfektionen beispielsweise durch die COVID-19 Pandemie oder durch neue immunmodulatorische Therapien.

Das NRZMyk ist der zentrale Ansprechpartner für die ärztliche Beratung zu invasiven Pilzinfektionen in Deutschland. Die Zahl der eingesandten Proben steigt seit Etablierung des NRZMyk in Jena im Jahr 2014 kontinuierlich an und liegt aktuell bei etwa 1100 pro Jahr. In etwa 80 % der Fälle werden dem NRZMyk Pilzisolat zugesandt, in den restlichen Fällen erfolgt am NRZMyk ein Erregernachweis aus eingesendetem klinischem Untersuchungsmaterial mittels molekularer Diagnostik. In vielen Fällen umfasst die Arbeit des NRZMyk neben der Bearbeitung der Probe eine individuelle Beratung zum klinischen Management.

Einzigartig unter allen NRZ ist die Bandbreite der am NRZMyk bearbeiteten Erreger. Die dem NRZ-Myk zugesandten Pilzkulturen umfassen neben den häufigen pathogenen Pilzen der Gattungen *Aspergillus* und *Candida* eine Vielzahl seltener und seltenster Pathogene. Im Jahr 2022 wurden am NRZMyk 142 unterschiedliche Arten, die zu 70 verschiedenen Gattungen gehören, nachgewiesen. Die Stammsammlung des NRZMyk umfasst alle seit Etablierung des Referenzlabors eingesendeten klinische Isolate. Diese werden in Kooperation mit diversen Partnern zur Verbesserung diagnostischer Verfahren genutzt.

Wichtige Arbeitsschwerpunkte des NRZMyk sind:

Monitoring von *Candida auris* in Deutschland

Candida auris ist eine 2009 erstmals beschriebene Art, die zahlreiche Resistenzen gegen Antimykotika aufweisen kann und effizient im Rahmen nosokomialer Ausbrüche von Patient zu Patient übertragen wird. Die globale Ausbreitung von *C. auris* hat zu Warnungen relevanter Public Health Institutionen (CDC, ECDC, WHO) geführt. Das NRZMyk ist seit Auftreten des ersten Falls von *C. auris* in Deutschland maßgeblich an der Aufklärung und der Definition geeigneter Schutzmaßnahmen beteiligt. 2021 wurde erstmals in Deutschland eine nosokomiale Übertragung von *C. auris* dokumentiert. Empfehlungen zum fallspezifische Hygienemanagement sowie allgemeingültige Empfehlungen für den Umgang mit *C. auris* in deutschen Krankenhäusern wurden gemeinsam mit dem NRZ Surveillance nosokomialer Infektionen erstellt (Aldejohann *et al.*, *Mycoses* 2022). 2023 wurde aufgrund steigender Fallzahlen auf Empfehlung des NRZMyk eine gesetzliche Labormeldepflicht für *C. auris* eingeführt (Aldejohann *et al.*, *Dt. Ärzteblatt* 2023).

Epidemiologische Surveillance von invasiven Pilzinfektionen

- Pilzkeratitis: Die mykotische Keratitis ist ein seltenes ophthalmologisches Krankheitsbild mit visus- oder gar bulbusedrohendem Verlauf. Gemeinsam haben NRZMyk und Universitätsaugenklinik Düsseldorf 2015 das Deutsche Pilz-Keratitis Register ins Leben gerufen. In diesem Register werden klinische Daten von Patientinnen und Patienten mit mittels PCR, Kultur, Histologie oder konfokaler Mikroskopie gesicherter mykotischer Keratitis gesammelt. Parallel erfolgt eine Asservierung der Erreger am NRZMyk. Auf Basis dieser Daten konnte erstmals eine systematische Analyse der Erreger von Schimmelpilzkeratitis in Deutschland erstellt werden (Walther *et al.*, *F Fungi* 2021).
- Blutstrominfektionen/Sepsis durch Pilze: Innerhalb der Kooperation „Sentinel – Labornetzwerk Invasive Pilzinfektionen“ werden seit 2021 systematisch *Candida* spp. aus Blutkulturen sowie basale epidemiologische Daten für 12 diagnostische Laboratorien erfasst und archiviert. Ebenfalls werden Resistenzdaten durch ein online Erfassungssystem zentral gesammelt. Damit existiert seit 2021 eine aktive Surveillance der Dynamik invasiver Candidämien in Deutschland.
- COVID-19 assoziierte Pilzinfektionen: COVID-19 infizierte Patienten mit schwerem Verlauf und intensivmedizinischer Behandlung haben ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entwicklung invasiver Pilzinfektionen. Das NRZMyk hat in Zusammenarbeit mit dem FungiScope Register (Prof. O. Cornely, Köln und MitarbeiterInnen) COVID-19 assoziierte Mucormykosen und *Aspergillus*-Tracheobronchitiden aufgearbeitet. Die erste in Deutschland dokumentierte Transmission von *C. auris* ereignete sich auf einer COVID-19 Intensivstation.

Systematische Analysen zur Resistenzentwicklung bei pathogenen Pilzen

Seit der Jahrtausendwende spielen erworbene Resistenzen auch bei invasiven Pilzinfektionen eine zunehmende Rolle. Von besonderer Bedeutung sind die Azol-Resistenz bei *Aspergillus fumigatus* (ARAF) und die Echinocandinresistenz bei *Candida* spp. Zur Entstehung der ARAF wurden umfangreiche Studien durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass eine Anwendung von Azolen in der Landwirtschaft zum Adaptationsprozessen innerhalb der Umweltpopulation von *A. fumigatus* führt (Barber *et al.*, 2022 und 2021). Systematische Analysen der Entwicklung von Echinocandin-Resistenz bei *Candida glabrata* wurden ebenfalls publiziert.

Das NRZMyk kooperiert eng mit RKI und ECDC sowie mit anderen europäischen Referenzlaboratorien, z. B. in Österreich (Innsbruck, Wien), Dänemark (Kopenhagen), Frankreich (Paris), Spanien (Madrid) und den Niederlanden (Nijmegen). Wir wirken im Nationalen Antibiotika-Sensitivitätstest Komitee (NAK), sowie dem EUCAST Subkomitee Antimykotikatestung mit und sind an der Erstellung nationaler und internationaler Leitlinien und Empfehlungen beteiligt.



Für die Identifizierung seltener Schimmelpilze ist eine Kombination phänotypischer und molekularer Methoden erforderlich (hier: *Rhizopus microsporus*). Die Resistenztestung solcher Erreger am NRZMyk ermöglicht rationale Therapieentscheidungen. (Bild: Dr. Grit Walther, NRZMyk)

Wichtige Publikationen

- Aldejohann AM, Martin R, Hecht J, Haller S, Rickerts V, Walther G, Eckmanns T, Kurzai O. Rise in *Candida Auris* Cases and First Nosocomial Transmissions in Germany. *Dtsch Arztebl Int.* 2023; 120(27-28):447-478.
- Aldejohann AM, Wiese-Posselt M, Gastmeier P, Kurzai O. Expert recommendations for prevention and management of *Candida auris* transmission. *Mycoses.* 2022; 65(6):590-598.
- Barber AE, Riedel J, Sae-Ong T, Kang K, Brabetz W, Panagiotou G, Deising HB, Kurzai O. Effects of Agricultural Fungicide Use on *Aspergillus fumigatus* Abundance, Antifungal Susceptibility, and Population Structure. *mBio.* 2020; 11(6):e02213-20.

- Barber AE, Sae-Ong T, Kang K, Seelbinder B, Li J, Walther G, Panagiotou G, Kurzai O. *Aspergillus fumigatus* pan-genome analysis identifies genetic variants associated with human infection. *Nat Microbiol.* 2021 ;6(12):1526-1536.
- Walther G, Zimmermann A, Theuersbacher J, Kaerger K, von Lilienfeld-Toal M, Roth M, Kampik D, Geerling G, Kurzai O. Eye Infections Caused by Filamentous Fungi: Spectrum and Antifungal Susceptibility of the Prevailing Agents in Germany. *J Fungi (Basel).* 2021; 7(7):511.

ABSTRACT

Zunehmende Verbreitung resistenter Hefepilze der Arten *Candida auris* und *Candida parapsilosis* in Deutschland

Kurzai O

Candida auris ist ein 2009 erstmals beschriebener, humanpathogener Hefepilz, der durch direkte und indirekte Übertragung nosokomiale Ausbrüche verursachen kann. Mehrere Länder berichten derzeit über eine erhebliche Zunahme der Fallzahlen, zum Teil kommt es nicht nur in Indien, Südafrika und den USA sondern auch in Europa bereits zu einer endemischen Ausbreitung. Die Therapie von Infektionen durch *C. auris* wird durch primäre und sekundäre Resistenzen gegen Antimykotika erheblich erschwert. In 2023 wurde erstmals für eine Pilzinfektion eine Meldepflicht nach IfSG eingeführt. für Nachweise von *C. auris* aus Blut oder anderen normalerweise sterilen Substraten eingeführt. Fluconazol-resistente *Candida parapsilosis* Stämme weisen aus bisher unklarer Ursache Virulenzeigenschaften auf, die sie von „normalen“ *C. parapsilosis* Stämmen unterscheiden. In mehreren Ländern weltweit haben solche Stämme bereits schwer zu kontrollierende Krankenhausausbrüche verursacht.

Sporadische erste Fälle von *C. auris* in D traten mit der Einschleppung des Erregers durch Patienten, die aus ausländischen Gesundheitseinrichtungen in deutsche Krankenhäuser verlegt wurden, auf. Während zwischen 2015 und 2020 nicht mehr als 6 Fälle pro Jahr an das NRZMyk gemeldet wurden, stieg diese Zahl auf 12 in den Jahren 2021/22. 2023 wurden zum Stichtag 1.9. bereits 34 Fälle erfasst. In der Mehrzahl der Isolationen handelt es sich um eine Kolonisation, die Meldepflicht für den Nachweis aus primär sterilen Materialien ist damit nicht geeignet, die Epidemiologie suffizient zu erfassen. In 2023 wurde erstmals in D ein Ausbruch mit > 10 Fällen dokumentiert. Epidemiologische Daten, die in Kooperation mit dem RKI erhoben wurden, deuten auf wahrscheinliche Übertragungseignisse zusätzlich zu den durch das NRZMyk dokumentierten hin. Für FluR *C. parapsilosis* wurde in Berlin ein großes Ausbruchsgeschehen identifiziert, das mehrere Krankenhäuser betrifft. Die epidemiologische Aufarbeitung zeigt eine klonale Ausbreitung eines FluR *C. parapsilosis* Stammes, der bisher ausschließlich im Großraum Berlin identifiziert wurde.

Die Daten des NRZMyk zeigen eine erhebliche Zunahme der Bedeutung von *Candida* spp. als Erreger nosokomialer Infektionen und Ausbruchsgeschehen.

ABSTRACT

Aktuelle Entwicklungen in der Tätigkeit des NRZMyk

Kurzauftrag O

Das NRZMyk fungiert in enger Kooperation mit dem Konsiliarlabor für Kryptokokkose und seltene Systemmykosen am RKI (Leitung V. Rickerts) als zentraler Ansprechpartner für invasive Pilzinfektionen in Deutschland. Die Zahl der eingesandten Proben steigt seit 2014 (~ 80 Einsendungen) kontinuierlich in erheblichem Umfang an und lag 2022 mit insgesamt 1057 untersuchten Materialien erneut über der Probenzahl des Vorjahres (2021: 1000). In 2023 wurden zum Stichtag 1.9. bereits über 800 Proben untersucht. In etwa 80 % der Fälle wurden dem NRZMyk Pilzisolat zugesandt, in den restlichen Fällen erfolgte ein Erregernachweis aus klinischem Untersuchungsmaterial. Hierbei waren insbesondere Materialien relevant, die spezifisch für eine molekulare Diagnostik gewonnen wurden. Darüber wurden wie in den Vorjahren Erregernachweise aus histopathologischen Präparaten durchgeführt. Die dem NRZMyk 2022 zugesandten Pilzkulturen gehörten zu 142 unterschiedlichen Pilzarten aus 70 Gattungen. Das NRZMyk ist aktiv an der Erstellung von Leitlinien und Empfehlungen europäischer Gremien (EUCAST, NAK) mitgewirkt. Gemeinsam mit dem NRZ für Surveillance nosokomialer Infektionen (Berlin) wurden Handlungsempfehlungen für den Umgang mit *Candida auris* erstellt und publiziert. In den letzten Jahren wurde ein Sentinel-Netzwerk für Invasive Pilzinfektionen (Candidämie) etabliert und ausgebaut, das aktuell 12 mikrobiologische Laboratorien umfasst. Mit Hilfe dieses Netzwerks ist erstmals eine kontinuierliche populationsbezogene Erhebung epidemiologischer Daten und einer eventuellen Resistenzentwicklung in D möglich. Die finanzielle Situation des NRZMyk ist aufgrund einer fehlenden Anpassung der Fördermittel prekär. Aktuell decken die Fördermittel des RKI/BMG deutlich weniger als 20 % der Realkosten des NRZMyk. Aufgrund der deutlich steigenden Fallzahlen und der steigenden Kosten für Verbrauchsmittel und Personal ist bereits in diesem Jahr eine weitere, potenziell existenzgefährdende Verschlechterung der Situation zu erwarten.

Nationales Referenzzentrum für Masern, Mumps, Röteln



Prof. Dr. Annette Mankertz

Leitung

Prof. Dr. Annette Mankertz

Institut

Masern, Mumps, Röteln und Viren bei Abwehrschwäche (FG 12), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

nrz-mmr@rki.de

Telefon

+49 30 18753-2516

Stellvertretung

Dr. Sabine Santibanez

Institut

Masern, Mumps, Röteln und Viren bei Abwehrschwäche (FG 12), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

k.A.

Masern, Mumps und Röteln sind virale Erkrankungen des Kinder- und Jugendalters, die auch ungeschützte Erwachsene betreffen können. Schutz wird durch Impfung mit dem MMR-Kombinationsimpfstoff entsprechend der STIKO-Empfehlung aufgebaut. Mit der Impfung wird auch Komplikationen wie Enzephalitis und SSPE nach Masern, Ertaubung nach Mumps oder den schwerwiegenden Fehlbildungen bei Neugeborenen infolge einer Rötelninfektion in der Schwangerschaft vorgebeugt.

Aufgrund der klinischen Bedeutung dieser Erkrankungen hat sich die WHO-Region Europa dem Ziel verpflichtet, die Elimination der Masern und Röteln zu erreichen und dauerhaft aufrechtzuerhalten. Die wichtigste Maßnahme auf dem Weg zur Elimination ist die Erhöhung der Impfquoten für die erste und zweite Dosis der MMR -Impfung bei Kindern im Alter bis zu 2 Jahren auf jeweils über 95 % und das Schließen von Impflücken in den höheren Altersgruppen. Mit der Umsetzung dieser Maßnahme könnte die jährliche Inzidenz auf unter 1 Fall pro 1 Million Einwohner gesenkt werden. Im

vorpandemischen Jahr 2019 wurden in Deutschland über 500 Masernfälle gemeldet, die überwiegend ungeimpfte Menschen betrafen. Seit 2020 ist die Zahl der Masernerkrankungen deutlich zurückgegangen. Ursächlich für diesen Rückgang sind vermutlich zwei Faktoren; zum einen die Maßnahmen, die während der Coronapandemie ergriffen wurden, um der Übertragung von Infektionen entgegenzuwirken und das Inkrafttreten des Masernschutzgesetzes. Das Masernschutzgesetz verlangt einen Immunitätsnachweis für Menschen, die eine Gemeinschaftseinrichtung besuchen oder dort arbeiten.

Das NRZ MMR übernimmt im WHO-Eliminationsprogramm für Masern und Röteln die Rolle der laborgestützten Surveillance. Aktuell zirkulierende Masern-, Mumps- und Rötelnviren werden genetisch charakterisiert, um Transmissionswege aufzuklären bzw. zur Untersuchung von Ausbrüchen beizutragen. Mit dem Nachweis der Virusvarianten werden diese einzelnen Transmissionsketten zugeordnet. Die zeitliche Länge der Transmissionsketten stellt den Schlüsselfaktor für die Beurteilung des Fortschritts in Bezug auf das Eliminationsziel dar, denn der Status der unterbrochenen Transmission wird nur dann zuerkannt, wenn eine Virusvariante über einen Zeitraum von < 12 Monate nachgewiesen wird.

Für die Röteln wird Deutschland durch die Regionale Verifizierungskommission der WHO-Region Europa seit 2017 der Status der erfolgreichen Elimination zuerkannt. Für Masern wurde die Anerkennung der Elimination trotz eines historischen Tiefstands der gemeldeten Fälle nicht erreicht. Langfristig ist damit zu rechnen, dass die Zahl der Masernerkrankungen wieder steigen wird, da weiterhin Immunitätslücken in Deutschland bestehen und die Mobilität bei gleichzeitig zurückgenommenen Infektionsschutzmaßnahmen wieder zunimmt. Auch die vielen Krisenherde auf der Welt führen zur Störung von Impfprogrammen und tragen zum Wiederaufflammen der Masernzirkulation bei.

Um Aussagen zum Anteil von Ungeschützten in der Bevölkerung machen zu können, führen wir Seroprävalenzstudien und Untersuchungen zur Wirksamkeit der Impfung durch. Das NRZ MMR beteiligt sich an nationalen und internationalen Ringversuchen zur Qualitätssicherung und trägt zu deren Weiterentwicklung bei. Neben der Labordiagnostik bei Verdachtsfällen führen wir spezielle diagnostische Verfahren durch, wie die Diagnostik von Rötelninfektionen in der Frühschwangerschaft, die Differenzierung von Impf- und Wildviren und die Genotypisierung von Viren. Wir beraten Ärzte in Praxis, Klinik und Labor und den ÖGD bei Fragen zur Diagnostik von Masern-, Mumps- und Rötelninfektionen. Das NRZ MMR ist in nationale infektionsepidemiologische Projekte eingebunden (z. B. KiGGS und DEGS). Wir waren am Erstellen einer AWMF-Leitlinie zur Virusdiagnostik in der Schwangerschaft beteiligt. Darüber hinaus fungieren wir auf europäischer Ebene als Regionales Referenzlabor der WHO und koordinieren insbesondere die qualitätssichernden Aktivitäten der Masern- und Rötelnlabore in 19 Ländern Mittel- und Westeuropas. Das NRZ MMR übermittelt die zur Primärdiagnostik und molekularen Surveillance erhobenen Daten an die WHO und ist in globale Projekte zur Molekularen Surveillance der Masern und Röteln eingebunden.

Wir verfolgen als methodischen Ansätze die Serologie, den Virusgenomnachweis in Rachenabstrich und Urin bei Verdacht auf Masern-, Mumps- und Röteln per Polymerasekettenreaktion (PCR) und zellkulturbasierte Methoden.

Serologie

IgM- und IgG-Antikörper werden mit einem ELISA bestimmt. Daneben führen wir in Einzelfällen (z. B. starke Immunsuppression) einen Neutralisationstest zur Bestimmung von Virus-neutralisierenden Antikörpern durch. Weiterhin führen wir zu Röteln und Masern Aviditätsbestimmungen der

IgG-Antikörper durch, um zwischen akuter und zurückliegender Infektion zu unterscheiden. Diesen Untersuchungen kommt zusammen mit dem Western Blot als Feindiagnostik bei Verdacht auf Rötelninfektion in der Frühschwangerschaft eine große Bedeutung zu.

PCR-Nachweis: Die Genome von Masern-, Mumps- und Rötelnviren werden mit einer quantitativen PCR nachgewiesen. Fällt diese positiv aus und ist die Viruslast ausreichend hoch, werden die Proben in einer weiteren PCR mit anschließender Sequenzierung und phylogenetischer Analyse genotypisiert. Wir führen weiterhin eine PCR zur Differenzierung von Masernimpfviren und Wildviren durch. Treten bei kürzlich Geimpften Masern-typische Symptome auf, kann das Impfvirus mit dieser Methode differenziell nachgewiesen werden. Die vorläufigen Ergebnisse können innerhalb weniger Tage übermittelt werden. Die anschließende Genotypisierung bestätigt die vorläufige Einordnung als Impfvirus oder Wildvirus und liegt nach ca. 2–3 Wochen vor.

Zellkultur: Die Anzucht von Virus in Zellkultur wird bei dafür geeigneten Einsendungen durchgeführt, um die Stammsammlung des NRZ MMR zu erweitern.

Folgende Fragestellungen werden bearbeitet

- Untersuchung bei Auftreten von Symptomen in einem unmittelbaren zeitlichen Zusammenhang mit der Impfung (< 21 Tage). Ziel ist die Klärung der Frage, ob eine akute Erkrankung oder eine Impfreaktion vorliegt (Differenzierung Impfvirusgenom/Wildtypvirusgenom)
- Untersuchung bei Auftreten von Symptomen nach länger zurückliegender Impfung zum Ausschluss eines Impfversagens (Differenzierung von primärem und sekundärem Impfversagen)
- genetische Charakterisierung von Viren, die in Zusammenhang mit einem Ausbruch oder bei Einzelfällen auftreten
- Nachweis von neutralisierenden Antikörpern bei Schwer-Immunsupprimierten (telefonische Kontaktaufnahme vorher dringend erbeten)
- Anzucht von Masern-, Mumps- und Rötelnviren
- Abgabe von Virusstämmen, Kontrollmaterialien für die PCR und Referenz- bzw. Standardseren (nach unseren Möglichkeiten)
- Beratung der Fachöffentlichkeit zu Fragen der Diagnostik sowie zur Interpretation der diagnostischen Ergebnisse und der molekular-epidemiologischen Analyse.

Die Arbeit des NRZ MMR wird alle 3 Jahre vom Wissenschaftlichen Beirat Public Health Mikrobiologie begutachtet. Wir veröffentlichen einen jährlichen Bericht auf unserer Webseite. Wir bilden aus, führen Lehre durch und betreuen akademische Arbeiten. Unsere Forschungsinteressen fokussieren sich auf die Analyse der virusinduzierten Pathogenese und Virulenz sowie die Erzeugung von Antikörpern, die als Therapiealternative für Menschen eingesetzt werden sollen, für die die Impfung kontraindiziert ist.



Teamfoto v.l.n.r.: Viktoria Reinhold, Cornelia Lentz, Dr. Nicole Friedrich, Amy Lüdde, Melanie Fechtner, Prof. Dr. Annette Mankertz, Katrin Berger, Julia Schneider, Anne Wolbert Dr. Bernhard Schmid, Dr. Cosima Zimmermann, Marvin Beltz, Dr. Sabine Santibanez, Cornelia Walter. Es fehlt Martin Körbs.

Wichtige Publikationen

ICTV Virus Taxonomy Profile: Matonaviridae 2022. Mankertz A, Chen MH, Goldberg TL, Hübschen JM, Pfaff F, Ulrich RG, ICTV Report Consortium. *J Gen Virol.* 2022 Dec;103(12). doi: 10.1099/jgv.0.001817. PMID: 36748520

Measles virus and rinderpest virus divergence dated to the sixth century BCE. Dux A, Lequime S, Patrono LV, Vrancken B, Boral S, Gogarten JF, Hilbig A, Horst D, Merkel K, Prepoint B, Santibanez S, Schlotterbeck J, Suchard MA, Ulrich M, Widulin N, Mankertz A, Leendertz FH, Harper K, Schnalke T, Lemey P, Calvignac-Spencer S. *Science.* 2020 Jun 19;368(6497):1367-1370. doi: 10.1126/science.aba9411. PMID: 32554594

S2k-Leitlinie Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen (AWMF 093-001) Post-exposure prophylaxis for measles with immunoglobulins revised recommendations of the standing committee on vaccination in Germany. Klose D, Santibanez S, Schwerdtfeger C, Koch J, von Bernuth H, Hengel H, Littmann M, Terhardt M, Wicker S, Mankertz A, Heininger U. *Vaccine.* 2018 Dec 18;36(52):7916-7922. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.10.070. Epub 2018 Nov 23. PMID: 30478003

Mumps Virus SH Protein Inhibits NF- κ B Activation by Interacting with Tumor Necrosis Factor Receptor 1, Interleukin-1 Receptor 1, and Toll-Like Receptor 3 Complexes. Franz S, Rennert P, Woznik M, Grütze J, Lüdde A, Arriero Pais EM, Finsterbusch T, Geyer H, Mankertz A, Friedrich N. *J Virol.* 2017 Aug 24;91(18):e01037-17. doi: 10.1128/JVI.01037-17. Print 2017 Sep 15. PMID: 28659487

ABSTRACT

Der Stand der Eliminationsbemühungen zu Masern und Röteln in Deutschland

Mankertz A, Friedrich N, Zimmermann C, Schmid B, Santibanez S

Für die impfpräventablen Erkrankungen Masern und Röteln besteht ein Eliminationsziel der WHO, in dessen Rahmen das NRZ MMR die laborgestützte Surveillance übernimmt: Klinische Verdachtsfälle werden untersucht und aktuell zirkulierende Masern-, Mumps- und Rötelnviren genetisch charakterisiert. Diese Daten tragen entscheidend zur Beschreibung von Ausbrüchen und des Standes der Eliminationsbemühungen bei. Die erhobenen Daten werden der Nationalen Verifizierungskommission Masern/Röteln (NAVKO) zur Verfügung gestellt und der Regionalen Verifizierungskommission (RVC) der WHO-Region Europa berichtet. In unserem Beitrag werden wir erläutern, inwieweit Deutschland Fortschritte im Hinblick auf das Erreichen dieses Ziel gemacht hat.

Nationales Referenzzentrum für Meningokokken und *Haemophilus influenzae*



PD Dr. rer. nat. Heike Claus

Leitung

PD Dr. rer. nat. Heike Claus (kommissarisch)

Institut

Institut für Hygiene und Mikrobiologie

Adresse

Josef-Schneider-Str. 2 / E1, 97080 Würzburg

E-Mail

heike.claus@uni-wuerzburg.de

Telefon

+49 931 3146936

Das Nationale Referenzzentrum für Meningokokken und *Haemophilus influenzae* (NRZMHi) entstand aus der Fusion des NRZ für Meningokokken (NRZM) und des Konsiliarlabors für *H. influenzae* (KLHi) im Jahr 2014. Es führt im Auftrag des Robert Koch-Instituts (RKI) die Laborsurveillance invasiver Meningokokken- und *H. influenzae*-Infektionen durch. Hierbei bestätigt es die Speziesidentifikation der eingesandten Erreger aus Blut und Liquor sowie im Falle von Meningokokken auch aus anderen primär sterilen Materialien mittels phänotypischer und molekularer Methoden. Bei bestätigter Spezies führt das NRZMHi Typisierungen und Resistenztestungen durch. Beim Verdacht auf eine invasive Meningokokken-Infektion ohne kulturellen Nachweis kann das NRZMHi die Erreger auch aus klinischem Material mittels PCR nachweisen und typisieren. Zudem bestimmt das NRZMHi bakterizide Antikörper (sogenannter Serumbakterizidie-Test) zum Immunitätsnachweis bei geimpften Personen gegen die Serogruppen A, B, C, W und Y.

Während die Fallzahlen invasiver Meningokokken-Infektionen in Deutschland seit Jahren einen abnehmenden Trend aufweisen, nehmen invasive *H. influenzae*-Infektionen zu. Diese Entwicklung wurde durch die COVID-19-Pandemie unterbrochen. So wurden 2020 bis 2022 deutlich weniger

invasive Meningokokken- und *H. influenzae*-Fälle registriert als in den Vorjahren. Seit 2023 erreichen bzw. übertreffen die invasiven Fälle beider Erreger jedoch wieder die präpandemischen Zahlen.

Ein Rückgang invasiver Meningokokken-Infektionen ist seit den 2000er Jahren in Deutschland zu verzeichnen. Diese Entwicklung ist ähnlich auch in anderen europäischen Ländern zu beobachten. Der Rückgang von Serogruppe C-Erkrankungen lässt sich zum Teil auf die seit 2006 vorhandene Impfpflicht zurückführen. Die Inzidenz invasiver Meningokokken-Infektionen betrug 2019 0,31/100.000 Einwohner. Sie sank in den Jahren der COVID-19-Pandemie 2020 (0,17/100.000 Einwohner) und 2021 (0,09/100.000 Einwohner) ab und stieg 2022 allmählich wieder an (0,17/100.000 Einwohner). Das NRZMHi erhielt im Jahr 2022 insgesamt 205 Proben von 182 Patienten. Hierbei konnten Meningokokken bei 122 Patienten mit invasiver Infektion nachgewiesen werden. Die Mehrheit der Isolate gehörte der Serogruppe B (75 Isolate, 62 %) an, gefolgt von den Serogruppen Y (29 Isolate, 24 %), W (7 Isolate, 6 %), und C (5 Isolate, 4 %). Insgesamt war der Anteil der Serogruppe B in den letzten Jahren konstant, während die Anteile der Serogruppen W und Y zunahmen, parallel zur Abnahme der Serogruppe C.

Die Epidemiologie invasiver *H. influenzae*-Infektionen war bis in die 1990er-Jahre von Serotyp b (Hib)-Infektionen bei Kindern dominiert. Seit der Einführung der Hib-Impfung sind Hib-Erkrankungen selten geworden. Invasive Infektionen durch unbekapselte *H. influenzae*-Stämme (sog. nicht typisierbare, NTHi) vor allem bei erwachsenen Patienten im Senium führten jedoch seit den 2000er Jahren in Deutschland zu einer Inzidenzzunahme. Die Inzidenz invasiver *H. influenzae*-Infektionen betrug 2019 1,15/100.000 Einwohner. Sie sank 2020 (0,63/100.000 Einwohner) und 2021 (0,44/100.000 Einwohner) ab und stieg 2022 auf 1,2/100.000 Einwohner. Im Jahr 2022 untersuchte das NRZMHi insgesamt 952 Einsendungen. Die Diagnose von *H. influenzae* wurde in 803 invasiven Fällen bestätigt, von denen Isolate eingesendet wurden. Wie in früheren Jahren gehörte die Mehrheit der Blut- und Liquor-Isolate zu NTHi (647 Isolate, 81 %), gefolgt von Hif als dem häufigsten Kapseltyp (88 Fälle, 11 %). Hib stellte den dritthäufigsten bekapselten Serotyp dar (27 Fälle, 3 %).

Das NRZMHi hat verschiedene Forschungsvorhaben zur Diagnostik und Epidemiologie von Meningokokken und *H. influenzae* durchgeführt und ist an nationalen und internationalen Surveillance-Projekten beteiligt.

Im Rahmen des vom RKI geförderten nationalen Netzwerks zu Invasiven Bakteriellen Infektionen (IBI) war das NRZMHi federführend in einer multizentrischen Prävalenzstudie zum bakteriellen Trägertum im Rachen von älteren Menschen aus Aachen, Würzburg und Oberschleißheim. Es ist aktuell beteiligt an einem internationalen Konsortium von Referenzlaboratorien aus 30 Ländern weltweit zur Erforschung der Auswirkungen der COVID-19-Pandemie auf invasive Infektionen von Bakterien, die respiratorisch übertragen werden.

Im NRZMHi wurden zahlreiche Untersuchungen zur Genetik der Kapselsynthese von Meningokokken durchgeführt, bei denen u. a. die Bedeutung einer einzigen Aminosäure für die Expression der Serogruppe W bzw. Y nachgewiesen wurde. Im Rahmen der Entwicklung des Protein-basierten Serogruppe B-Impfstoffs war das NRZMHi an einer Pilotstudie zur Abdeckung der in Europa zirkulierenden Stämme beteiligt. Die retrospektive Charakterisierung rezidivierender invasiver Meningokokken-Erkrankungen ergab ein 50-fach höheres (Wieder-) Erkrankungsrisiko der Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung, was für eine Impfung der Patienten nach einer Infektion spricht.

Das NRZMHi hat in mehreren Arbeiten die Genetik des Kapselgenlokus von *H. influenzae* erforscht und hierbei auch die diagnostische PCR zum Nachweis des Serotyps e weiterentwickelt. In ver-

schiedenen Studien untersuchte es zudem die Epidemiologie der Antibiotikaresistenz von *H. influenzae* in Deutschland und arbeitet derzeit mit der Paul Ehrlich-Gesellschaft für Infektionstherapie an der Analyse der Antibiotikaresistenz bei *H. influenzae* aus nicht-invasiven HNO-Infektionen.

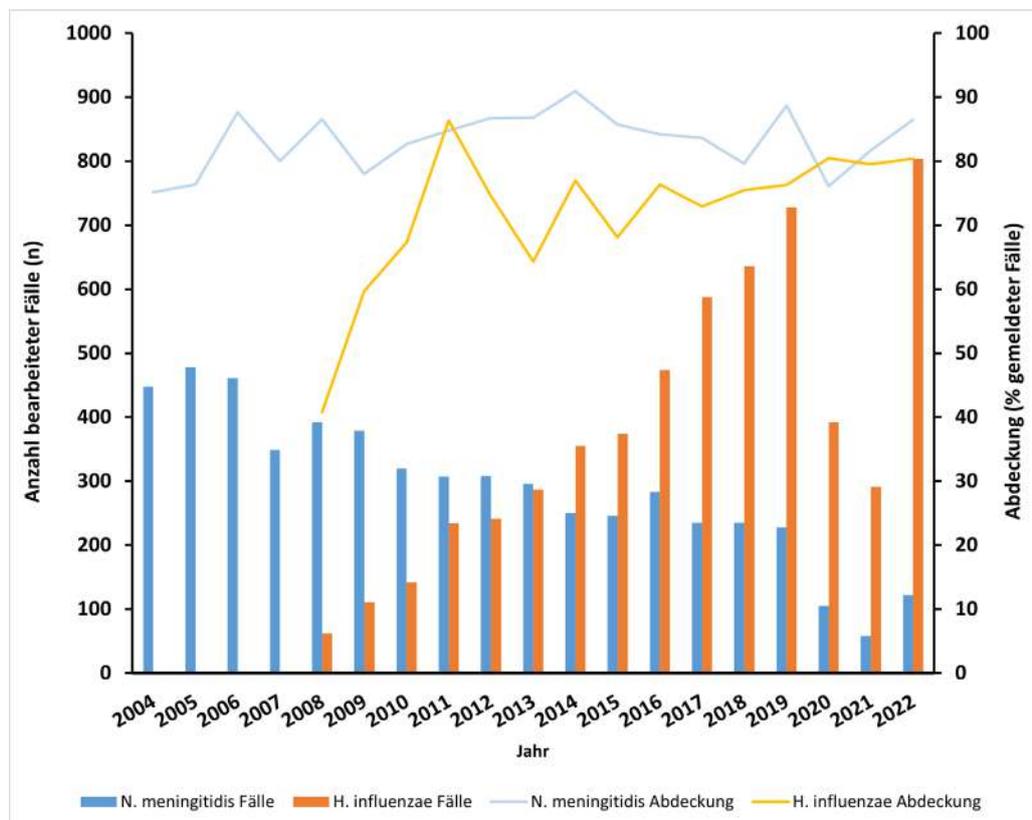
Das NRZM ist seit 2002 am Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg angesiedelt. Mit dem Wechsel des NRZ von der Universität Heidelberg wurden molekulare Subtypisierungen etabliert, zum einen die DNA-Sequenztypisierung der Außenmembranproteine PorA, als Ersatz für die oft ergebnislose serologische Typisierung, und FetA, die zur Differenzierung von Stämmen mit gleicher Serogruppe dienen und bis 2018 die Basis für spatio-temporale Analysen des NRZ zur Ermittlung von molekularen Erkrankungsklustern war. Des Weiteren wurde die 1998 publizierte Multilokus-Sequenztypisierung (MLST) zur Erfassung der globalen Epidemiologie durchgeführt. Seit 2019 werden alle invasiven Meningokokken genom-sequenziert. Die Analyse der Sequenzen erfolgt mittels core genome MLST (cgMLST), auf deren Basis genetische Cluster ermittelt werden.

Das KLHi wechselte 2008 von der Universität Mainz an das Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg. Der Schwerpunkt auf pädiatrische Isolate wurde auf eine Laborsurveillance aller Isolate aus Blut und Liquor im Sinne des IfSG erweitert. Seither wird die Spezies aller invasiven Isolate anhand phänotypischer Merkmale und dem Nachweis der speziesspezifischen Gene *fucK* bzw. *ompP2* sowie ggf. der Sequenzierung des *ompP6*-Gens nachgewiesen. Die Serotypisierung mittels Objektträgeragglutination wird durch den Nachweis des Kapselgens *bexA* und ggf. serotypspezifischer Gene verifiziert. Darüber hinaus können zur Aufklärung möglicher Übertragungen und für vertiefte epidemiologische Analysen die Stämme durch MLST und Genomsequenzierung genetisch charakterisiert werden. Das NRZMHi hat hierfür eigens ein cgMLST-Schema etabliert.

Durch den tragischen Verlust des langjährigen Leiters des NRZMHi Ulrich Vogel im Jahr 2022 wurde die Leitung kommissarisch von Heike Claus übernommen. Das Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg strebt eine Bewerbung als Nationales Referenzzentrum für die neue Berufenungsperiode unter der gemeinsamen Leitung von Heike Claus und Thiên-Trí Lâm an. Mit den langjährigen Mitarbeitern wird angestrebt, die Laborsurveillance und die wissenschaftliche Arbeit in ihrer bestehenden Qualität konsequent fortzuführen bzw. weiter auszubauen



NRZMHI-Team v.l.n.r.: Kateryna Mohort, Heike Claus, Thiên-Trí Lâm, Sabrina Hebling, Alexandra Prappacher



Einsendungen von *Neisseria meningitidis*- und *Haemophilus influenzae*-Isolaten aus invasiven Erkrankungsfällen und Abdeckung der Laborsurveillance durch das Nationale Referenzzentrum für Meningokokken und *Haemophilus influenzae* (NRZMHI). Die Abdeckung wurde aus der Anzahl eingesandter Isolate im Verhältnis zu der Anzahl der beim Robert Koch-Institut registrierten invasiven Infektionen errechnet.

Wichtige Publikationen

- Shaw D, Abad R, Amin-Chowdhury Z, [...] Claus H, [...] Lâm TT et al. Trends in invasive bacterial diseases during the first 2 years of the COVID-19 pandemic: analyses of prospective surveillance data from 30 countries and territories in the IRIS Consortium. *Lancet Digit Health*. 2023 Sep;5(9):e582-e593.
- Takla A, Schönfeld V, Claus H, Krone M, An der Heiden M, Koch J, Vogel U, Wichmann O, Lâm TT. Invasive *Haemophilus influenzae* Infections in Germany After the Introduction of Routine Childhood Immunization, 2001-2016. *Open Forum Infect Dis*. 2020 Sep 18;7(10):ofaa444.
- Krone M, Lâm TT, Claus H, Vogel U. Recurrent invasive meningococcal infections – quantifying the risk, Germany, 2002 to 2018. *Euro Surveill*. 2020 Jun;25(25):1900565.
- Drayß M, Claus H, Hubert K, Thiel K, Berger A, Sing A, Linden MV, Vogel U, Lâm TT. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, Group A *Streptococcus* and *Staphylococcus aureus* among adults aged 65 years and older. *PLoS One*. 2019 Feb 8;14(2):e0212052.
- Vogel U, Taha MK, Vazquez JA, Findlow J, Claus H et al. Predicted strain coverage of a meningococcal multicomponent vaccine (4CMenB) in Europe: a qualitative and quantitative assessment. *Lancet Infect Dis*. 2013 May;13(5):416-25.

ABSTRACT 1

Laborsurveillance invasiver Meningokokkeninfektionen in Deutschland

Claus H, Krone M, Lâm T-T

Am Nationalen Referenzzentrum für Meningokokken und *Haemophilus influenzae* (NRZMHi) werden invasive Meningokokkenisolate sowie klinische Proben von Patienten mit Verdacht auf eine Meningokokkeninfektion untersucht. Neben der Speziesidentifizierung, Serogruppenbestimmung und Resistenztestung wurde seit 2002 eine molekulare Typisierung zweier Außenmembranproteine durchgeführt. Diese Typisierungsmethode ermöglichte es, die hoch-variablen Meningokokken über die Serogruppenbestimmung hinaus zu unterscheiden und genetische spatio-temporale Cluster zu identifizieren, welche den zuständigen Gesundheitsämtern mitgeteilt wurden. Seit der Implementierung der Genomsequenzierung aller Isolate im Jahr 2019 werden genetische Cluster retrospektiv auf der Basis des core genome multilocus sequence typing ermittelt. Im Rahmen der integrierten genomischen Surveillance werden die Genomsequenzen zukünftig an das RKI und deren Auswertung an die Primärlabore und Gesundheitsämter übermittelt.

Während der COVID-19-Pandemie ging die Anzahl invasiver Meningokokkeninfektionen deutlich zurück. In einer gemeinsamen Untersuchung von Referenzlaboren aus 26 Ländern konnte gezeigt werden, dass die Abnahme der Infektionsfälle mit den Lock-down-Maßnahmen der jeweiligen Staaten korrelierte. Ab dem 4. Quartal 2023 war wieder ein Anstieg der Fallzahlen zu verzeichnen, der fast ausschließlich und zu gleichen Teilen durch die Serogruppen B und Y hervorgerufen wurde.

Außer den routinemäßigen Tätigkeiten werden Projekte zu verschiedenen Fragestellungen bearbeitet. Aufgrund der Zunahme von Serogruppe W (MenW)-Infektionen, beginnend 2010 im Vereinigten Königreich, wurde unter Federführung des NRZMHi eine retrospektive Erfassung der Meningokokken-Epidemiologie mit Schwerpunkt MenW in 13 europäischen Ländern durchgeführt.

In Ergänzung zu Rifampicin, Ciprofloxacin und Ceftriaxon wird in vielen Ländern Azithromycin zur Postexpositionsprophylaxe (PEP) bei Kontaktpersonen von Patienten mit einer invasiven Meningokokkeninfektion empfohlen. Bei der Untersuchung einer Auswahl von 200 Meningokokkenstämmen des NRZMHi wurde keine Azithromycin-Resistenz nachgewiesen, sodass Azithromycin seit 2021 in die STIKO-Empfehlungen zur PEP aufgenommen wurde.

In seltenen Fällen treten bei Patienten rezidivierende Infektionen auf. Die Auswertung der am NRZMHi bearbeiteten Fälle ergab ein 50-fach höheres Risiko für eine Meningokokkeninfektion bei Patienten, die bereits eine Infektion durchgemacht hatten, im Vergleich zur Normalbevölkerung.

Aufgrund des Nachweises Ciprofloxacin-resistenter unbekapselter Meningokokkenstämmen des klonalen Komplexes (cc) 175 im NRZMHi und weiterer Fälle in vier europäischen Ländern wurde unter Federführung des englischen NRZ eine umfassende genomische Analyse weltweiter cc175 Isolate durchgeführt.

Aufgrund der wechselnden Epidemiologie der Meningokokkeninfektionen ist insbesondere die Surveillance der zirkulierenden Serogruppen von Bedeutung für angepasste Impfeempfehlungen.

ABSTRACT 2

Tätigkeiten und Projekte des NRZMHi zu *Haemophilus influenzae*

Lâm T-T, Krone M, Claus H

Die Aufgaben des Nationalen Referenzzentrums für Meningokokken und *Haemophilus influenzae* (NRZMHi) umfassen u. a. die Bestätigung der Speziesdiagnose von *H. influenzae* aus Liquor und Blut, deren Typisierung und Resistenztestung. Die Fallzahlen invasiver *H. influenzae*-Infektionen in Deutschland nahmen bis 2019 stetig zu. Betrug die Inzidenz 2010 noch 0,26 Fälle/100.000 Einwohner, so lag sie 2019 bei 1,15. Analysen des NRZMHi zusammen mit dem Robert Koch-Institut bestätigten für Deutschland die globale Beobachtung, dass in Ländern mit allgemeiner *H. influenzae* Serotyp b (Hib)-Impfung invasive Infektionen durch unbekapselte Isolate (NTHi) eine zunehmende Rolle spielen.

Die COVID-19-Pandemie führte zu einer drastischen Reduktion invasiver Hi-Infektionen. In einer gemeinsamen Untersuchung von Referenzlaboren aus 26 Ländern der ganzen Welt konnte gezeigt werden, dass die Abnahme der Infektionsfälle mit den Lock-down-Maßnahmen der jeweiligen Staaten korrelierte. Mit dem Ende der Pandemie zeigte sich 2023 eine auffällige Zunahme der Einsendungen an das NRZMHi (bis 31.08. 1194 Untersuchungsaufträge, darunter 991 aus invasiver Infektion), die präpandemische Raten bereits übertreffen (2019: 865 Einsendungen, darunter Isolate von 737 Patienten mit invasiven Infektionen).

Neben Projekten zur Weiterentwicklung und Validierung diagnostischer Untersuchungsmethoden und zur Epidemiologie liegt ein Forschungsschwerpunkt des NRZMHi auf der Resistenzsurveillance von *H. influenzae*. Langzeituntersuchungen des NRZMHi weisen auf eine Zunahme der Resistenz invasiver Isolate gegen Aminopenicilline hin. So stieg die Resistenz gegen Ampicillin von 9 % (2010) auf 21 % (2022). Hingegen zeigten ausführliche Analysen unter kombinierter Anwendung unterschiedlicher Testmethoden eine geringe Prävalenz (jeweils < 1 %) von Resistenzen gegen Cefotaxim, Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin. Untersuchungen zu Imipenem zeigten eine überraschend hohe Prävalenz von 13,5 %, welche aber nicht mit einer verminderten Empfindlichkeit gegen Meropenem einherging. Das NRZMHi konnte mit einer Kombination aus Mikrodilution, Gradientenagardiffusion und molekularer Analyse nachweisen, dass die Imipenem-Resistenz vermutlich aufgrund mehrerer Mechanismen zustande kommt. Wegen möglicher heterogener Expression scheint die eigentlich als Goldstandard geltende Mikrodilution die Imipenem-Resistenzen weniger sensitiv nachzuweisen als die Gradientenagardiffusion.

Aufgrund drastisch steigender Fallzahlen und zunehmender Resistenzentwicklung ist die Surveillance invasiver *H. influenzae*-Infektionen weiterhin wichtig. Insbesondere besitzt sie einen besonderen Stellenwert hinsichtlich der zunehmenden epidemiologischen Bedeutung von invasiven Infektionen durch NTHi und einer möglichen ergänzenden Impfung zu Hib.

Nationales Referenzzentrum für Mykobakterien



Prof. Dr. Stefan Niemann

Leitung

Prof. Dr. Stefan Niemann

Institut

Forschungszentrum Borstel –
Leibniz Lungenzentrum, MolMyc

Adresse

Parkallee 38, 23845 Borstel

E-Mail

sniemann@fz-borstel.de

Telefon

+49 4537188-2110

Stellvertretung 1

Dr. med. Inna Friesen

Institut

Forschungszentrum Borstel –
Leibniz Lungenzentrum, MolMyc

Adresse

Parkallee 38, 23845 Borstel

E-Mail

ifriesen@fz-borstel.de

Telefon

+49 4537188-2110

Stellvertretung 2

Dr. med. Martin Kuhns

Institut

Forschungszentrum Borstel –
Leibniz Lungenzentrum, MolMyc

Adresse

Parkallee 38, 23845 Borstel

E-Mail

mkuhns@fz-borstel.de

Telefon

+49 4537188-2110

Das Nationale Referenzzentrum für Mykobakterien (NRZMyk) gehörte zu den ersten Referenzzentren in Deutschland und hat seit jeher seinen Sitz im Forschungszentrum Borstel. Schon vor der offiziellen Berufung durch das Bundesministerium für Gesundheit im Jahr 1992 lag der wissenschaftliche Fokus auf Mykobakterien-Diagnostik und Tuberkulose, bereits seit den 1940er Jahren, als das Forschungszentrum Borstel ins Leben gerufen wurde. Seit 1996 trägt es zusätzlich die Auszeichnung als „Supranationales Referenzzentrum“ (SRL) der Weltgesundheitsorganisation. Neben der Diagnostik steht die Forschung im Mittelpunkt, insbesondere die Entwicklung, Verbesserung und Bewertung neuer Techniken zur schnelleren Diagnose von Tuberkulose (TB) sowie die Untersuchung von Antibiotikaresistenzen, die Entwicklung neuer Wirkstoffe und die Übertragung von TB in Länder mit niedriger und hoher Inzidenz.

Jährlich werden am NRZ etwa 12.000 Proben zur Identifizierung von Mykobakterien und zur Empfindlichkeitsprüfung untersucht, und das Zentrum bietet Schulungen für über hundert Gäste pro Jahr in verschiedenen Bereichen der TB-Diagnostik an. Das NRZ bietet zudem umfassende Beratungsdienste für Diagnostiklabore und Ärzte an und beantwortet Fragen zur Epidemiologie, Diagnostik und Therapie von TB.

Das NRZ konzipiert und leitet den INSTAND-Ringversuchs „Tuberkulose“, der kontinuierlich erweitert wird und etwa 300 internationale und nationale Teilnehmer umfasst. Es arbeitet auch als Berater für verschiedene internationale NGOs, darunter die WHO, Médecins Sans Frontières (MSF), das Internationale Komitee vom Roten Kreuz (ICRC), die Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND), die Kreditanstalt für Wiederaufbau (KfW) und die KNCV Tuberculosis Foundation, und trägt so zur internationalen EndTB-Partnership bei.

Trotz verschiedener Herausforderungen, wie der Bezug und die Inbetriebnahme des neuen NRZ-Laborgebäudes, wurden in den letzten Jahren wichtige Meilensteine erreicht und modernste Diagnostik auf internationalem Standard durchgeführt. So wurde z. B. die neue EUCAST-Referenzmethode zur Empfindlichkeitsprüfung von *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBK)-Stämmen implementiert und in verschiedenen Studien eingesetzt. Derzeit laufen am NRZ drei wichtige Studien zur Entwicklung neuer TB-Medikamente und zur Festlegung von klinischen Grenzwerten unter Verwendung dieser EUCAST-Referenzmethode.

Im Rahmen des Aufbaus einer Integrierten Genomischen Surveillance (IGS) mit dem Teilprojekt TB (IMS-TB) wurden die Abläufe für Datenaustausch, Datenanalyse und Ergebniskommunikation in Zusammenarbeit mit den Teams am Robert Koch-Institut (RKI) kontinuierlich verbessert. Das PHIMS-Projekt wurde erfolgreich abgeschlossen und in das Nachfolgeprojekt IMS-TB überführt, das am 01.01.2023 begonnen hat. Das Ziel dieses neuen Projekts ist die Sequenzierung aller in Deutschland isolierten MTBK-Stämme. Bisher wurden die Genome von insgesamt 4104 MTBK-Stämmen sequenziert, davon allein 1439 im Jahr 2022, und vorläufig analysiert. Dies entspricht mehr als 30 % aller im Jahr 2022 gemeldeten kulturell positiven Tuberkuloseerkrankungen. 2023 wurden bereits die Genome von 1163 MTBK-Stämmen sequenziert. Im Rahmen dieses wurde mit allen sequenzierten MTBK-Stämmen, die am NRZ in den Jahren 2020, 2021 und 2022 eingegangen oder angezogen wurden, eine Clusteranalyse durchgeführt. Die Clusterdaten werden dem RKI übermittelt und fließen in die IGS-TB ein. Relevante Cluster werden über das RKI den Gesundheitsämtern übermittelt, die cgMLST Datenbank am NRZ stellt zurzeit die Grundlage für eine prospektive IGS dar und ermöglicht einen sofortigen Abgleich der Genomdaten neuer MTBK-Stämme mit in der Datenbank gespeicherten Datensätzen. Die vorhandenen Daten konnten in 2021 und 2022 bereits für gezielte Anfragen von Gesundheitsämtern zu einzelnen Isolaten herangezogen werden.

Es konnten bedeutende Fortschritte in verschiedenen Projekten zur Vorhersage von Resistenzen basierend auf den Genomen klinischer MTBK-Stämme erzielt werden. Die Entwicklung von Interpretationsdatenbanken wurde in internationalen Konsortien vorangetrieben, auch in enger Zusammenarbeit mit der WHO. In verschiedenen Studien wurde die molekulare Resistenzvorhersage insbesondere für neuere MDR-TB-Medikamente wie Bedaquilin weiter verbessert, wodurch genombasierte Resistenzberichte mit hoher Präzision erstellt und individualisierte Therapieschemata für Patienten mit multiresistenter TB abgeleitet werden können. Es wurde auch gezeigt, dass mit der sogenannten „targeted sequencing“ Technologie ein umfassendes Resistenzprofil aus Primärproben innerhalb einer Woche erstellt werden kann. Diese Technologie wird derzeit intensiv validiert.

Ein weiteres Highlight im letzten Jahr war die behördliche Zulassung und der reibungslose Umzug in das neue NRZ-Gebäude. Nach fünf Jahren Bauzeit und Gesamtkosten von 14,8 Millionen Euro, finanziert vom Bund und dem Land Schleswig-Holstein, konnte das NRZ 2022 in eines der modernsten TB-Labors weltweit umziehen. Es erfüllt nicht nur die höchsten technischen und arbeitsschutzrechtlichen Anforderungen eines modernen BSL3-Labors, sondern stellt auch sicher, dass der Standort für viele Jahre zukunftsfähig ist.

Zu den Highlights gehören unter anderem:

- Die Genomsequenzierung von 1163 *M. tuberculosis* Komplex-Stämmen im Jahr 2023 (Stand 18.08.2023) und 1439 Stämmen im Jahr 2022 im Rahmen des Pilotprojekts zur Implementierung einer integrierten nationalen Erregersurveillance (IMS-TB).
- Die Anwendung der neuen EUCAST-Referenzmethode zur Validierung neuer Methoden zur Empfindlichkeitstestung von Tuberkulosebakterien.
- Die Leitung des Workpackages Qualitätskontrolle der Referenzlaboratorien Europas im Rahmen des ERLN-TB-Netzwerkes (ECDC).
- Die Zulassung und der Bezug des NRZ-Neubaus im Dezember 2022.
- Die Ermittlung der Resistenzprofile neuer Antibiotika im Rahmen des ERA4TB-Konsortiums zur Entwicklung neuer Tuberkulosemedikamente.
- Die Evaluierung mehrerer neuer diagnostischer Tests, darunter targeted next-generation sequencing, molbio Truenat, BD Max und Hain FluoroType.
- Der Aufbau von targeted next-generation sequencing in Namibia, Eswatini und Mosambik im Rahmen des BMG SubSaharanSeqnet-Projekts unter der Leitung des NRZ im Global Health Protection Programm.
- Der Start des EDCTP „PanGenS“ (Pan-Africa Network for Genomic Surveillance of Poverty-Related Diseases and Emerging Pathogens) unter der Leitung des NRZ zur Etablierung einer molekularen Surveillance mit 12 afrikanischen Ländern in Zusammenarbeit mit der „African CDC“, der Gates Foundation und anderen Stakeholdern.
- Die Mitwirkung an der Erstellung der S2K-Behandlungslinie zur Infektionsprävention bei Tuberkulose, des Leitlinien Amendments zur MDR-TB und der S3-Leitlinie zur Prävention von Tuberkulose bei MigrantInnen.
- Die Beteiligung am NTP-Review für die Ukraine durch das Regional Office for Europe der WHO.
- Die Schulung von fünf Monteillet-Musiolik-Fellows zur Ausbildung in klinischer und labormedizinischer Mykobakteriologie sowie von externen Hospitanten und Hospitantinnen.
- Die Mitarbeit von Prof. Niemann in der „European Laboratory Initiative“ der WHO.
- Die Veröffentlichung des ersten „Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance“ der WHO.
- Umfassende Studien zu Resistenzmechanismen, Populationsstruktur und Ausbreitung von tuberkulösen und nicht tuberkulösen Mykobakterien wie *M. abscessus* (CronoClone, DZIF Clinical Leave).
- Die Ermittlung der Resistenzprofile neuer Tuberkulosemedikamente im Rahmen des ERA4TB-Konsortiums.



Teamfoto: Mitarbeitende des NRZ für Mykobakterien

Wichtige Publikationen

- Sonnenkalb L, Carter JJ, Spitaleri A, Iqbal Z, Hunt M, Malone KM, Utpatel C, Cirillo DM, Rodrigues C, Nilgiriwala KS, Fowler PW, Merker M, Niemann S; Comprehensive Resistance Prediction for Tuberculosis: an International Consortium. Bedaquiline and clofazimine resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: an in-vitro and in-silico data analysis. *Lancet Microbe*. 2023
- Antimycobacterial Susceptibility Testing Group. Updating the approaches to define susceptibility and resistance to anti-tuberculosis agents: implications for diagnosis and treatment. *Eur Respir J*. 2022 Apr 14;59(4):2200166.
- Diricks M, Merker M, Wetzstein N, Kohl TA, Niemann S*, Maurer FP*. Delineating *Mycobacterium abscessus* population structure and transmission employing high-resolution core genome multi-locus sequence typing. *Nat Commun*. 2022 Aug 23;13(1).
- Finci I, Albertini A, Merker M, Andres S, Bablshvili N, Barilar I, Cáceres T, Crudu V, Gotuzzo E, Hapeela N, Hoffmann H, Hoogland C, Kohl TA, Kranzer K, Mantsoki A, Maurer FP, Nicol MP, Noroc E, Plesnik S, Rodwell T, Ruhwald M, Savidge T, Salfinger M, Streicher E, Tukvadze N, Warren R, Zemanay W, Zurek A, Niemann S*, Denkinger CM*. Investigating resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates with genomic and phenotypic antimicrobial susceptibility testing: a multicentre observational study. *Lancet Microbe*. 2022 Sep;3(9):e672-e682.

Walker TM, Miotto P, Köser CU, Fowler PW, Knaggs J, Iqbal Z, Hunt M, Chindelevitch L, Farhat M, Cirillo DM, Comas I, Posey J, Omar SV, Peto TE, Suresh A, Uplekar S, Laurent S, Colman RE, Nathanson CM, Zignol M, Walker AS; CRyPTIC Consortium (Niemann S); Seq&Treat Consortium, Crook DW, Ismail N, Rodwell TC. The 2021 WHO catalogue of Mycobacterium tuberculosis complex mutations associated with drug resistance: A genotypic analysis. *Lancet Microbe*. 2022 Apr;3(4):e265-e273.

ABSTRACT 1

Whole genome sequencing based diagnostics and transmission analysis of *Mycobacteria tuberculosis* complex strains

Friesen I, Kuhns M, Kohl T, Niemann S

(National Reference Laboratory for Mycobacteria, Research Center Borstel, Borstel, Germany)

For the first time in a decade, there has been a notable increase in the number of people infected with tuberculosis (TB) and TB related deaths. This increase can be attributed to a reduced access and provision of essential TB services during the COVID-19 pandemic. In 2021, more than 10.5 million people fell ill with TB worldwide, and 1.6 million people died from the disease. The TB pandemic is exacerbated by the emergence of drug resistant (DR), multidrug-resistant (MDR), and extensively drug resistant (XDR) TB. These data underline the urgent need to better define underlying mechanisms e.g., factors driving tuberculosis (TB) transmission in a particular setting, and to develop new interventions.

Hence, next Generation Sequencing (NGS) based pathogenomics allows for rapid analysis of nearly complete genomes of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) strains. NGS based whole genome sequencing (WGS) analysis goes far beyond conventional molecular tests e.g., for drug susceptibility testing by detection of variants in virtually all target genes involved in resistance development (resistome analysis). Simultaneously, it allows for high-resolution strain comparison e.g., for outbreak analysis or even longitudinal genome based molecular epidemiological studies.

At the National Reference Laboratory (NRL) for Mycobacteria, we develop and use WGS based approaches for diagnostics and strains comparison in molecular epidemiological studies in low and high incidence setting. Workflows have been developed that allow WGS based diagnostics of clinical isolates in few days and at low costs. Interpretation databases esp. for newer MDR TB treatment drugs such as bedaquiline are constantly developed. Currently, large scale geno-to-phenotype correlation studies are ongoing to validate WGS based diagnostic procedures.

Also, WGS is used for molecular epidemiological studies in Germany (e.g., Frankfurt, Hannover, Hamburg) to get in depth information about current TB transmission dynamics in the country. Together with the RKI, we are building up prospective Integrated Molecular Surveillance of Tuberculosis (IMS-TB), which aims at significantly enhancing outbreak monitoring, transmission chain detection, and molecular cluster identification. Additionally, IMS-TB prioritizes continuous monitoring of essential pathogen characteristics, including antibiotic resistance and virulence, based on genome

sequences. IMS-TB strives to contribute to an improved understanding and continuous monitoring of TB in Germany, further supporting the public health service (ÖGD).

ABSTRACT 2

EUCAST Reference Method for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Mycobacteria tuberculosis* complex to Antimicrobial Agents

Andres S, Kuhns M, Niemann S, Friesen I

(National Reference Laboratory for Mycobacteria, Research Center Borstel, Borstel, Germany)

Phenotypic susceptibility testing (pDST) for *Mycobacterium tuberculosis* has traditionally used a binary method in liquid cultures, classifying outcomes as susceptible or resistant. This method, often relying on limited databases for cutoff values, do not meet the standards set for antibiotic susceptibility testing (AST) in other bacterial diseases. While genome-based resistance testing gains popularity in MTBC diagnostics, accurate pDST remains essential for correlating mutations with phenotypic expression, especially when dealing with new anti-TB agents lacking known resistance mutations.

In 2019, the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) subcommittee for antimycobacterial susceptibility testing (AMST) introduced a novel protocol using broth microdilution (BMD) in Middlebrook 7H9 as a reference, with a carefully standardized inoculum. This innovative approach, based on measuring MIC distributions in both wildtype and potentially resistant strains, aims to establish Epidemiological Cut-off Values (ECOFFs) for existing and new drugs, deepening our understanding of resistance mechanisms.

The National Reference Laboratory (NRL) for Mycobacteria, working with six international sites, including reference laboratories in France, Sweden, and South Africa, is pioneering this method for antibiotics without established phenotypic testing protocols. Currently, surrogate methods are calibrated against the EUCAST reference method for bedaquiline, clofazimine, levofloxacin, and linezolid. The study assesses culture media from three manufacturers and establishes quality control (QC) ranges and targets for drugs, using both the reference method and BMD dry microtiter plates (Thermo Fisher). MTB H37Rv ATCC 27294 is tested at seven labs over ten days using various media. Additionally, each lab evaluates 30 clinical isolates using the reference method, BMD dry plates, and BACTEC MGIT 960 AST (Becton Dickinson, BDQ only), including up to 20 significant, resistant isolates.

In the initial phase, consistent H37Rv MIC results were obtained across labs. Deviations occurred when controlling CFU targets for individual test methods. Following consultation with EUCAST-AMST, one medium was chosen, and QC ranges for bedaquiline and clofazimine were adjusted for the EUCAST method.

This standardized protocol not only improves our ability to assess MTBC drug susceptibility but also offers insights into TB resistance patterns, combined with genomic data. It equips us with a robust toolkit for customizing effective treatments and holds promise in addressing tuberculosis, a global health challenge.

Nationales Referenzzentrum für Papillom- und Polyomaviren



Prof. Dr.med. Ulrike Wieland



Dr. rer. nat. Steffi Silling

Leitung

Prof. Dr.med. Ulrike Wieland

Institut

Institut für Virologie, Uniklinik Köln

Adresse

Fürst-Pückler-Str. 56, 50935 Köln

E-Mail

ulrike.wieland@uk-koeln.de

Telefon

+49 221478-85810

Stellvertretung

Dr. rer. nat. Steffi Silling

Institut

Institut für Virologie, Uniklinik Köln

Adresse

Fürst-Pückler-Str. 56, 50935 Köln

E-Mail

steffi.silling@uk-koeln.de

Telefon

+49 221 478-85811

Das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für Papillom- und Polyomaviren ist seit 2009 am Institut für Virologie der Uniklinik Köln lokalisiert. Humane Papillomviren (HPV) verursachen sowohl gutartige als auch bösartige Läsionen von Haut und Schleimhaut wie Warzen, Kondylome, oder Larynxpapillome bzw. Zervix-, Anal-, Vulva-, Vaginal-, Penis- und Oropharynx-Karzinome. Das Merkelzell-Polyomavirus kann das aggressive Merkelzellkarzinom verursachen, andere Humane Polyomaviren (HPyV) können bei immunsupprimierten Patienten schwere Erkrankungen der Niere und der harnableitenden Wege (BK-Polyomavirus) oder des Gehirns (JC-Polyomavirus) auslösen. Unser NRZ beschäftigt sich mit der Etablierung von Protokollen und der Verbesserung diagnostischer Pfade zum Nachweis von Krankheiten, die durch HPV oder HPyV verursacht werden. Wir sind an der Erstellung zahlreicher Leitlinien beteiligt (z. B. S3-Leitlinien „Analkarzinom“, „Vulvakarzinom“, „Impfprävention HPV-assoziiertes Neoplasien“), unterstützen nationale und internationale Ringversuche im Rahmen der Qualitätssicherung und führen eine Stammsammlung mit Referenzstämmen, die wir

kontinuierlich erweitern. Für HPV und HPyV bieten wir zahlreiche über die Routine-Diagnostik hinausgehende Spezialuntersuchungen an, unterstützen und beraten Labore und anfragende Ärztinnen und Ärzte bei komplexen Fällen und halten verschiedene Fortbildungsveranstaltungen zu HPV oder HPyV ab. Außerdem führen wir Studien zur Epidemiologie von HPV- und HPyV-Infektionen durch, evaluieren diagnostische Testsysteme für diese Viren, und untersuchen die Wirksamkeit von Desinfektionsmittel gegen HPV.

Wichtige Publikationen

- Wei F, Gaisa MM, D'Souza G, Xia N, Giuliano AR, Hawes SE, Gao L, Cheng SH, Donà MG, Goldstone SE, Schim van der Loeff MF, Neukam K, Meites E, Poynten IM, Dai J, Combes JD, Wieland U, Burgos J, Wilkin TJ, Hernandez AL, Iribarren Díaz M, Hidalgo-Tenorio C, Valencia Arredondo M, Nyitray AG, Wentzensen N, Chow EP, Smelov V, Nowak RG, Phanuphak N, Woo YL, Choi Y, Hu Y, Schofield AM, Woestenbergh PJ, Chikandiwa AT, Hickey AC, de Pokomandy A, Murenzi G, Péré H, Del Pino M, Ortiz AP, Charnot-Katsikas A, Liu X, Chariyalertsak S, Strong C, Ong JJ, Yunihastuti E, Etienney I, Ferré VM, Zou H, Segondy M, Chinyowa S, Alberts CJ, Clifford GM. Epidemiology of anal human papillomavirus infection and high-grade squamous intraepithelial lesions in 29 900 men according to HIV status, sexuality, and age: a collaborative pooled analysis of 64 studies. *Lancet HIV*. 2021; 8(9):e531-e543. doi: 10.1016/S2352-3018(21)00108-9. PMID: 34339628.
- Bopp L, Wieland U, Hellmich M, Kreuter A, Pfister H, Silling S. Natural History of Cutaneous Human Polyomavirus Infection in Healthy Individuals. *Front Microbiol*. 2021; 12:740947. doi: 10.3389/fmicb.2021.740947. PMID: 34733257.
- Domröse CM, Wieland U, Pilch H, Einzmann T, Schömig-Markiefka B, Mallmann P, Silling S, Mallmann MR. Cervical Intraepithelial Neoplasia 3 (Cervical Intraepithelial Neoplasia 3/High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion) in Human Papillomavirus-Vaccinated Women-Results From a Tertiary Referral Center. *J Low Genit Tract Dis*. 2022; 26(2):122-126. doi: 10.1097/LGT.0000000000000653. PMID: 35019900.
- Kreuter A, Wieland U. Prevention of Anal Cancer. *N Engl J Med*. 2022; 387(7):665-666. doi: 10.1056/NEJMc2209237. PMID: 36070725.
- Silling S, Kreuter A, Gambichler T, Meyer T, Stockfleth E, Wieland U. Epidemiology of Merkel Cell Polyomavirus Infection and Merkel Cell Carcinoma. *Cancers*. 2022; 14(24):6176. doi: 10.3390/cancers14246176. PMID: 36551657.

ABSTRACT 1

Langzeit-Nachweis intraanaler HPV16-Infektionen: Persistenz oder Reinfektion?

Bopp L^{1,2}, Silling S¹, Dilthey A³, Kreuter A⁴, Wieland U¹

- 1 Nationales Referenzzentrum für Papillom- und Polyomaviren, Institut für Virologie, Universitätsklinik Köln
- 2 Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Uniklinik Köln
- 3 Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- 4 Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Helios St. Elisabeth Klinik Oberhausen und Universität Witten/Herdecke

Persistierende Infektionen mit Hochrisiko-HPV-Typen wie HPV16 können hochgradige anale Dysplasien (Krebsvorstufen) und Analkarzinome verursachen. Das Ziel dieser retrospektiven Studie war es, zu untersuchen, ob der wiederholte und lang anhaltende Nachweis von HPV16 in intraanal Abstrichen von Männern, die mit HIV leben und Sex mit Männern haben (HIV+MSM), eine persistierende Infektion mit dem selben HPV16 Isolat oder wiederholte, neue Infektionen mit verschiedenen HPV16 Isolaten darstellt.

Aus über 600 HIV+MSM die zwischen 2003 und 2019 an einem strukturierten Analkarzinom-Screening teilnahmen wurden 54 Patienten identifiziert, bei denen ein wiederholter Nachweis von intraanalem HPV16 vorlag. Die mediane Follow-Up Zeit lag bei 6,8 Jahren (< 1 bis > 13 Jahre). Die 54 Patienten ließen sich in zwei Gruppen einteilen, solche mit einem kontinuierlichen Nachweis von HPV16 (Gruppe 1: alle Abstriche HPV16+; n = 26) und solche mit intermittierendem Nachweis von HPV16 unterbrochen von HPV16-negativen Intervallen (Gruppe 2; n = 28). Zwei variable nicht-kodierende Regionen des HPV16-Genoms (long-control region, LCR und non-coding region, NCR) wurden aus 156 HPV16-positiven Intraanal-Abstrichen der 54 Patienten mittels Sanger-Sequenzierung analysiert. Die erhaltenen Ergebnisse wurden bei einzelnen Patienten mittels Whole-Genome Sequencing mit NGS-Techniken bestätigt.

150 LCR- und 151 NCR-Sequenzen der 54 HPV16-positiven HIV+MSM konnten ausgewertet werden. Die große Mehrheit der Patienten – 92 % (24/26) aus Gruppe 1 und 75 % (21/28) aus Gruppe 2 – hatten jeweils absolut identische intra-individuelle NCR- und LCR-Sequenzen über Zeiträume von mehreren Jahren. Nur wenige Patienten (8 % in Gruppe 1, 25 % in Gruppe 2) hatten wahrscheinliche de-novo Infektionen mit verschiedenen HPV16-Varianten in ihren aufeinanderfolgenden Abstrichen.

Der wiederholte Nachweis von HPV16 in Intraanal-Abstrichen HIV+MSM stellt wahrscheinlich die Langzeit-Persistenz des jeweils identischen HPV16-Isolats dar. Die Patienten sind vermutlich nicht in der Lage die einmal erworbenen HPV16-Infektionen zu eliminieren oder zu supprimieren und haben deshalb ein stark erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Analkarzinomen und deren Vorstufen. Unsere Ergebnisse erklären auch die schlechte Effektivität der HPV-Impfung bei HIV+MSM bezüglich der Verhinderung analer Dysplasien und unterstützen die aktuellen STIKO-Empfehlungen zur Impfung junger, HPV-naiver Kinder und Jugendlicher aller Geschlechter.

ABSTRACT 2

Humaner Papillomvirus Onkogen (E6/E7)-mRNA-Test zum Nachweis hochgradiger analer Dysplasien bei HIV-positiven Männern

Silling S¹, Kreuter A², Oellig F³, Potthoff A⁴, Hellmich M⁵ und Wieland U¹

- 1 Nationales Referenzzentrum für Papillom- und Polyomaviren, Institut für Virologie, Universitätsklinik Köln
- 2 Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Helios St. Elisabeth Klinik Oberhausen und Universität Witten/Herdecke
- 3 Institut für Pathologie, Mülheim an der Ruhr
- 4 Dermatologie, Venerologie und Allergologie, St. Elisabeth-Hospital, Klinikum der Ruhr-Universität Bochum
- 5 Institut für Medizinische Statistik und Bioinformatik (IMSB), Universität zu Köln, Köln

Anale HPV-Infektionen und HPV-bedingte Dysplasien sind bei Männern, die mit HIV leben und Sex mit Männern haben (HIV+MSM), sehr häufig und die Progression von niedrig- (LSIL) zu hochgradigen Dysplasien (HSIL) erfolgt schneller als bei HIV-negativen Personen.

Die vergleichende Evaluation von Hochrisiko (HR)-HPV-Onkogen (E6/E7)-mRNA- und HR-HPV-DNA-Testen zum Nachweis hochgradiger analer Dysplasien bei HIV+MSM ("Diagnostic Accuracy"-Studie). Darüber hinaus haben wir die Zeit des HSIL-freien Überlebens im Langzeitverlauf in Abhängigkeit vom (HR)-HPV-Onkogen (E6/E7)-mRNA-Resultat bei Studieneintritt analysiert.

3.299 intraanale Abstriche von 882 HIV+MSM, die an einem Analkarzinom-Vorsorge-Programm mit analer Zytologie/Histologie, hochauflösender Anoskopie und HPV-DNA-Nachweis teilnahmen, wurden zwischen Mai 2010 und November 2021 alle 6 bis 12 Monate gesammelt. Die Proben der Erstuntersuchung wurden HPV-genotypisiert sowie ein HPV-Onkogen (E6/E7)-mRNA-Nachweis von 14 HR-HPV-Typen (APTIMA® HPV-Assay) durchgeführt. Folgeuntersuchungen mit Zytologie/Histologie sowie weitere HPV-DNA-Genotypisierungen wurden bei 669 Patienten bis zu 10 Jahre nach Studieneintritt durchgeführt.

Bisher wurden 659 Baseline-Abstriche ausgewertet. Die Genotypisierung ergab die höchste Prävalenz für die HR-Typen HPV16 (37 %), HPV18 (15 %) und HPV58 (14 %), sowie für den Niedrig-Risiko Typ HPV6 (15 %). Für den Nachweis von HSIL betrug Sensitivität, Spezifität, negativer und positiver Vorhersagewert 95,5 %, 19,5 %, 95,5 % und 19,4 % für den HR-HPV-DNA-Test und 91,0 %, 37,4 %, 95,3 % und 22,7 % für den E6/E7-mRNA-Test. Die Auswertung der Langzeitdaten zeigte, dass 46 von 206 (22,3 %) Patienten mit einem positiven Onkogen (E6/E7)-mRNA Ergebnis und einer Zytologie ≤ LSIL bei Studienbeginn innerhalb der nächsten 36 Monate HSIL entwickelten, verglichen mit 7 von 116 (6,0 %) der Patienten, die bei Studienbeginn Onkogen (E6/E7)-mRNA-negativ waren. Fünf Jahre nach Studienbeginn lag der kumulative Anteil an Patienten ohne HSIL nach einem negativen Onkogen (E6/E7)-mRNA Testresultat bei 76 %, im Vergleich zu 38 % bei Patienten mit einem positiven Testergebnis.

Im Vergleich zum HR-HPV-DNA-Nachweis, hat der HPV-Onkogen (E6/E7)-mRNA Nachweis eine (fast 2-fach) erhöhte Spezifität sowie eine leicht verringerte Sensitivität bezüglich der Erkennung hochgradiger analer Dysplasien bei HIV+MSM. Darüber hinaus besteht bei einem negativen Onkogen (E6/E7)-mRNA Test zu Beginn des Untersuchungsintervalls ein über 5 Jahre vermindertes Risiko für die Entwicklung von HSIL. Der HPV-Onkogen (E6/E7)-mRNA-Nachweis könnte ein geeigneter Marker für die Verbesserung des Analkarzinom-Screenings bei Patienten, die mit HIV leben, sein.

Nationales Referenzzentrum für Poliomyelitis und Enteroviren



Dr.med. Sabine Diedrich

Leitung

Dr.med. Sabine Diedrich

Institut

Virale Gastroenteritis- und Hepatitisserreger und Enteroviren (FG 15), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

polio@rki.de

Telefon

k.A.

Stellvertretung

Dr. rer. nat. Sindy Böttcher

Institut

Virale Gastroenteritis- und Hepatitisserreger und Enteroviren (FG 15), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

polio@rki.de

Telefon

k.A.

Als Teil des WHO-Netzwerkes Nationaler Poliologabore ist das NRZ PE in das Programm der globalen Polioeradikationsinitiative (GPEI) integriert, welches neben der konsequenten Durchführung der Impfungen auch eine Überwachung der Poliovirus-Zirkulation (Surveillance) sowie das Laborcontainment beinhaltet. Auch wenn inzwischen fast alle Regionen der Welt als poliofrei gelten, sind nach wie vor Einschleppungen aus den verbliebenen Endemiegebieten (derzeit Pakistan und Afghanistan) möglich. Wie die Erfahrungen der letzten Jahre gezeigt haben, können auch vom oralen Polioimpfstoff (OPV) stammende Viren (Vakzineassoziierte Polioviren, VDPV) bei nicht ausreichender Populationsimmunität in der Bevölkerung zirkulieren (cVDPV) und Polioepidemien hervorrufen. Aber auch Personen mit Immundefizienz können Polioviren über viele Jahre ausscheiden (iVDPV). Polioviren und deren mögliche Zirkulation müssen möglichst schnell nachgewiesen werden, um ggf. Maßnahmen einleiten zu können (Impfkampagnen, intensivierte Surveillance). Vorrangig kommt dabei die syndromische Surveillance (bei Patienten mit akuten schlaffen Paresen (AFP) oder anderen poliokompatiblen Symptomen) zum Einsatz. Zusätzlich wird in der Endphase der GPEI auch die Untersuchung von Abwasserproben immer wichtiger.

Zur Dokumentation der Poliovirusfreiheit Deutschlands gegenüber der WHO wird seit 2010 die Enterovirusüberwachung (EVSURV, www.evsvr.rki.de) durchgeführt. Dabei wird allen pädiatrischen und neurologischen Kliniken eine kostenlose Untersuchung von Stuhl- und Liquorproben auf Enteroviren bei Patienten mit Verdacht auf Meningitis/Enzephalitis oder eine akute schlaffe Lähmung (AFP) angeboten. Die Untersuchungen mittels PCR/Sequenzierung, Anzucht und Typisierung werden in einem vom NRZ PE koordinierten bundesweiten Labornetzwerk (LaNED) durchgeführt. Regelmäßige Ringversuche, die in Zusammenarbeit mit INSTAND e.V. durchgeführt werden, dienen dabei der Qualitätssicherung. Im NRZ PE werden vorrangig positiv vorgetestete Proben untersucht, bei denen eine Typisierung in den LaNED Laboren nicht gelungen ist. Ziel ist es, in allen Proben u. a. durch Sequenzanalysen in verschiedenen Genombereichen Polioviren auszuschließen bzw. deren Ursprung (Impf-/VDPV/Wildviren) zu ermitteln. Hier ist das NRZ PE zudem auch als Regionales WHO-Referenzlabor für Poliomyelitis international tätig.

Pro Jahr werden im Rahmen der EVSURV ca. 2000 Proben untersucht, von denen ca. 25 % Enterovirus positiv sind. Polioviren wurden bisher nicht nachgewiesen. Die Ergebnisse werden pseudonymisiert an die Geschäftsstelle der Nationalen Polio-Kommission am RKI übermittelt und an die WHO gemeldet.

Zusätzlich zur syndromischen erfolgt der Poliovirusausschluss auch in Enterovirus positiv vorgetesteten (vorwiegend respiratorischen) Proben unabhängig von der zugrundeliegenden Symptomatik.

Für ein besseres Verständnis der Epidemiologie enteroviraler Infektionen ist auch eine Überwachung zirkulierender Nicht-Polio-Enteroviren (NPEV) von großer Bedeutung. Da es sich bei Enterovirusinfektionen nicht um bundesweit meldepflichtige Erkrankungen bzw. Erreger nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) handelt (außer Poliomyelitis), ist das NRZ PE auf die Unterstützung der Gesundheitsämter sowie der einsendenden Ärzteschaft angewiesen. Durch molekulare Untersuchungen können Ausbrüche (z. B. Echovirus Typ 30) und schwer verlaufende Infektionen durch Enteroviren (z. B. Enterovirus A71, Echovirus 11) besser charakterisiert werden.

Zu diesem Zweck wurde vor einigen Jahren das Europäische Netzwerk für Nicht-Polio-Enteroviren (ENPEN) unter der Schirmherrschaft der Europäischen Gesellschaft für klinische Virologie (ESCV) eingerichtet. ENPEN bringt Fachleute aus verschiedenen klinischen Fachbereichen (Pädiatrie, Neurologie, Virologie), aus Einrichtungen des öffentlichen Gesundheitswesens, nationalen Referenzlaboratorien und Hochschulen aus über 20 europäischen Ländern zusammen. Das NRZ PE beteiligt sich seit Beginn aktiv an diesem Netzwerk, dessen Hauptziel die Sensibilisierung für eine wirksamere Erkennung von Erkrankungen durch Enteroviren, Austausch von Daten zu Ausbrüchen und neu auftretende Enteroviren sowie die Verbesserung entsprechender Surveillancemaßnahmen ist.

Das NRZ PE verwendet zum Nachweis von Enteroviren parallel sowohl virologische als auch molekulare Methoden. Die Virusanzucht auf verschiedenen Zelllinien (primär RD-A und CaCo-2, die die Vermehrung aller Enteroviren erlauben, aber auch die poliospezifische L20B-Zelle) ermöglicht weiterführende Untersuchung der Isolate. Das NRZ PE verfügt inzwischen über eine umfangreiche Stammsammlung aus Isolaten der letzten 60 Jahre. Auf molekularer Ebene erfolgt der primäre Nachweis von Enteroviren durch nested PCR mit Primern aus der hochkonservierten nicht-kodierenden Region (5'NCR). Positive Proben werden anschließend mittels gruppenspezifischer PCR (für die Gruppen A-D) getestet. Durch Sequenzierung erfolgt die Typ-/Genogruppenzuordnung. So können Aussagen zur Erregervariabilität, insbesondere zur antigenen Drift innerhalb eines Enterovirustyps getroffen werden. Als Beispiel dient hier die molekulare Untersuchung von Enterovirus 71 (EV-A71). Dieser Virustyp verursacht vor allem in Südostasien immer wieder große Hand-Fuß-Mund-

Epidemien mit teilweise fatalen Krankheitsverläufen. In Deutschland wird EV-A71 vorrangig bei aseptischen Meningitiden/Enzephalitiden nachgewiesen, aber auch bei Patienten mit akuten schlaffen Paresen. Vor einigen Jahren konnte im NRZ PE eine neue rekombinante Variante innerhalb der Genogruppe C1 nachgewiesen werden, welche später in vielen Ländern detektiert wurde und auch Ausbrüche verursachte (z. B. Hirnstammenzephalitiden in Spanien).

Da in Ländern, die ausschließlich den inaktivierten Polioimpfstoff (IPV) verwenden (der vor Erkrankung, aber nicht vor Infektion schützt), die syndromische Surveillance an ihre Grenzen stößt, könnte zusätzlich auch die virologische Untersuchung von Abwasserproben als Frühwarnsystem immer wichtiger werden. Bei einer ausreichend hohen Sensitivität sind zirkulierende Polioviren aufgrund der geringen Manifestationsrate bereits mehrere Monate vor dem Auftreten eines klinischen Falls nachweisbar. Um auf die perspektivischen Veränderungen der WHO-Anforderungen zu Surveillancestrategien reagieren zu können, wird am NRZ PE in enger Kooperation mit dem Umweltbundesamt (UBA) im Rahmen eines BMG-geförderten Projektes an diesem Thema gearbeitet. Dazu wurde zunächst eine Methode zum sicheren Nachweis von Polioviren aus Abwasserproben etabliert und durch Untersuchung von Proben aus mehreren Klärwerken auf Praxistauglichkeit getestet. Polioviren wurden aus Abwasserproben aller drei Klärwerke nachgewiesen, wobei es sich nicht um Wildviren handelte. Neben der Virusanzucht, die derzeit im Vergleich zum direkten Nachweis mittels PCR wesentlich sensitivere Ergebnisse liefert, wird auch an der Etablierung molekularer Methoden gearbeitet. So wird der Mehrwert molekularbiologischer Methoden für den Nachweis bzw. die Typisierung von Polioviren direkt aus Abwasserproben unter Umgehung der Zellkultur durch Testung und Vergleich verschiedener Gesamtgenomsequenzierungsverfahren (z. B. Illumina, Nanopore, baits- und capture Ansätze) sowie verschiedener PCR-Verfahren (z. B. qPCR, dPCR) ermittelt.

Wichtige Publikationen

- Keeren K, Böttcher S, Diedrich S.: Enterovirus surveillance (EVSurv) in Germany. *Microorganisms*. 2021 Sep 22;9(10):2005. doi: 10.3390/microorganisms9102005. PMID: 34683328, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34683328/>
- Böttcher S, Diedrich S, Keeren K, The Laboratory Network for Enterovirus Diagnostic LaNED. Increased detection of enterovirus A71 infections, Germany, 2019. *Euro Surveill*. 2019 Sep; 24(39). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.39.1900556. PMID: 31576805, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31576805>
- Krzysztozek A, Gad B, Diedrich S, Böttcher S, Wiczorek M. Investigation of airport sewage to detect importation of poliovirus, Poland, 2017 to 2020. *Euro Surveill*. 2022 Jun;27(24). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.24.2100674. PMID: 35713024, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35713024/>
- Osundare FA, Opaleye OO, Akindele AA, Adedokun SA, Akanbi OA, Bock CT, Diedrich S, Böttcher S. Detection and Characterization of Human Enteroviruses, Human Cosaviruses, and a New Human Parechovirus Type in Healthy Individuals in Osun State, Nigeria, 2016/2017. *Viruses*. 2019 Nov 7;11(11). pii: E1037. doi: 10.3390/v1111037. PMID: 31703317, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31703317>

ABSTRACT

Vorstellung des Nationalen Referenzzentrums für Poliomyelitis und Enteroviren

Diedrich S, Böttcher S

Zu den Hauptaufgaben des NRZ Poliomyelitis und Enteroviren gehört neben der Überwachung der Zirkulation und molekularen Charakterisierung verschiedener Enterovirustypen auch die Bereitstellung von Daten zur Dokumentation der Poliovirusfreiheit Deutschlands gegenüber der WHO. Hierfür können verschiedene Surveillance-Ansätze verfolgt werden. Seit 2010 wird in Deutschland die Enterovirus-surveillance (EVSurv, www.evsurv.rki.de) durchgeführt, die vor allem pädiatrischen und neurologischen Kliniken eine kostenlose Untersuchung von Stuhl- und Liquorproben auf Enteroviren bei Patienten mit Verdacht auf eine enterovirusbedingte Meningitis/Enzephalitis oder eine akute schlaffe Lähmung (AFP) anbietet. Im qualitätsgeprüften Labornetzwerk (LaNED) werden die Proben in insgesamt 13 Landes-, universitären und Privatlaboren untersucht und die Ergebnisse an das RKI an die Geschäftsstelle der Nationalen Polio-Kommission übermittelt. Jährlich werden zwischen 2000 und 3000 Proben untersucht, der Positivenanteil betrug in den Jahren vor der Pandemie zwischen 20 % und 35 %, Polioviren wurden nicht nachgewiesen.

Da eine Poliovirusinfektion in den meisten Fällen subklinisch oder mit unspezifischen Symptomen wie Fieber und/oder Kopfschmerzen verläuft, kann der Polioausschluss auch in Enterovirus positiv vorgetesteten Proben unabhängig von der zugrundeliegenden Symptomatik erfolgen (laborbasierte Surveillance). Hierfür wurden in einer ersten Pilotrunde Mitglieder eines medizinischen Laborverbandes gebeten, Enterovirus vorgetestete Proben zur Typisierung einzusenden. Insgesamt wurden ca. 500 Proben typisiert, Polioviren konnten in allen Proben ausgeschlossen werden.

Im Rahmen des globalen Polioeradikationsprogramms wird es mit fortschreitendem Erreichen des Eradikationsziels zunehmend schwieriger, eine unerkannte Zirkulation von Polioviren in der Bevölkerung mittels einer syndromischen Surveillance zu erkennen. Da Polioviren sehr umweltstabil sind und effizient mit dem Stuhl ausgeschieden werden, kann eine Testung von Abwasserproben hier wertvolle ergänzende Daten liefern. Bei einer ausreichend hohen Sensitivität sind zirkulierende Polioviren bereits mehrere Monate vor dem Auftreten eines klinischen Falls nachweisbar. Somit kann dieses System als Früherkennungssystem genutzt werden, um entsprechende Public Health relevante Maßnahmen (Impfkampagnen, intensivierete AFP-Surveillance) rechtzeitig einzuleiten. In einer Machbarkeitsstudie wurde im NRZ PE der Workflow für einen sensitiven Poliovirusnachweis aus Abwasserproben etabliert und mittels einer regelmäßigen Testung von Abwasserproben in der Praxis getestet.

Des Weiteren erfüllt das NRZ PE auch die Aufgaben eines WHO Regionalen Referenzlabors für Polio, beteiligt sich an den Initiativen des ECDC im Rahmen des ENPEN-Netzwerkes und steht dem ÖGD für Rückfragen und der Untersuchung von Ausbruchsgeschehen zur Verfügung.

Nationales Referenzzentrum für Retroviren



Prof. Dr. med. Oliver T. Keppler (© Jan Greune)

Leitung

Prof. Dr. med. Oliver T. Keppler

Institut

Max von Pettenkofer-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München

Adresse

Pettenkoferstr. 9a, 80336 München

E-Mail

nrzretroviren@mvp.uni-muenchen.de

Telefon

+49 89 218072835

Stellvertretung

PD Dr. med. Maximilian Münchhoff

Institut

Max von Pettenkofer-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München

Adresse

Pettenkoferstr. 9a, 80336 München

E-Mail

nrzretroviren@mvp.uni-muenchen.de

Telefon

+49 89 218072835

Das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für Retroviren ist eingebettet in die klinische-diagnostische Virologie (Akkreditierte und validierte virologische Diagnostik, GMP-zertifiziert nach EU-Standard, Prüflabor nach § 14 Abs.4 Nr.3 und § 20b AMG) sowie unterstützt durch mehrere HIV-Forschungsgruppen am Max von Pettenkofer-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Unser Leistungsangebot im Bereich der Retrovirologie umfasst u. a. eine umfangreiche retrovirologische Spezial-Diagnostik, ärztliche Beratung bei der Abklärung unklarer retrovirologischer Fälle oder einer eventuellen HIV-Transmission, sowie Öffentlichkeitsarbeit und nationale Qualitätssicherung im Bereich der Diagnostik und die Erstellung von Leitlinien.

Die Aktivitäten des NRZ für Retroviren werden durch grundlagenorientierte, translationale und klinische Forschungsprojekte zu HIV in unserem Münchner Institut komplementiert. Als offizielles Publikationsorgan des NRZ für Retroviren veröffentlichen wir ein „Retroviren Bulletin“. Hierin werden aktuelle wissenschaftliche und klinische Themen aus dem gesamten Spektrum der Retrovirologie für ein breites (Fach-) Publikum dargestellt.



Teamfoto: Mitarbeitende des NRZ für Retroviren (©Stephanie Schmidt)

Wichtige Publikationen

Rapid, efficient and activation-neutral gene editing of polyclonal primary human resting CD4⁺ T cells allows complex functional analyses. Albanese M, Ruhle A, Mittermaier J, Mejías-Pérez E, Gapp M, Linder A, Schmacke NA, Hofmann K, Hennrich AA, Levy DN, Humpe A, Conzelmann KK, Hornung V, Fackler OT, Keppler OT. *Nat. Methods.* 2022 Jan;19(1):81-89. doi: 10.1038/s41592-021-01328-8. Epub 2021 Dec 23. PMID: 34949807 Free PMC article.

Severe underquantification of HIV-1 group O isolates by major commercial PCR-based assays. Berger A, Muenchhoff M, Hourfar K, Kortenbusch M, Ambiel I, Stegmann L, Heim A, Sarrazin C, Ehret R, Daniel V, Wasner M, Plantier J-C, Eberle J, Gürtler L, Haberl AE, Stürmer M, Keppler OT. *Clin Microbiol Infect.* 2020 Dec;26(12):1688.e1-1688.e7. doi: 10.1016/j.cmi.2020.03.004. Epub 2020 Mar 14. PMID: 32184172.

Comparative multi-assay evaluation of Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo rapid diagnostic tests in acute and chronic HIV infection. Wratil PR, Rabenau HF, Eberle J, Stern M, Münchhoff M, Friedrichs I, Stürmer M, Berger A, Kuttner-May S, Münstermann D, Lucht A, Meixenberger K, Bannert N, Keppler OT. *Med Microbiol Immunol.* 2020 Apr;209(2):139-150. doi: 10.1007/s00430-019-00655-0. Epub 2020 Feb 8. PMID: 32036450.

Drug Resistance Spread in 6 Metropolitan Regions, Germany, 2001 – 2018. Stecher M, Chaillon A, Stephan C, Knops E, Kohmer N, Lehmann C, Eberle J, Bogner J, Spinner CD, Eis-Hübinger AM, Wasmuth JC, Schäfer G, Behrens G, Mehta SR, Vehreschild JJ, Hoenigl M. *Emerg Infect Dis.* 2020 Oct;26(10):2439-2443. doi: 10.3201/eid2610.191506. PMID: 32946725.

Impact of raltegravir on HIV-1 RNA and DNA forms following initiation of antiretroviral therapy in treatment-naïve patients. Stephan C, Baldauf HM, Barry J, Giordano FA, Bartholomae CC, Haberl A, Bickel M, Schmidt M, Laufs S, Kaderali L, Keppler OT. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Oct;69(10):2809-18. doi: 10.1093/jac/dku213. Epub 2014 Jun 23. PMID: 24962031.

ABSTRACT 1

Basic characterization of Squirrel Monkey Retrovirus infection of human cells

Stern M, Nagl D, Xiao Q, Hauser A, Kuut G, Mejías Pérez E, Mairhofer H, Nitschko H, Hornung V, Keppler OT

Squirrel monkey retrovirus (SMRV) is a type D betaretrovirus that was first isolated in 1977 from tissues of *Saimiri sciureus* monkeys. Little is known about basic characteristics of SMRV infection. Here, we report the persistent infection of the human B cell lymphoma cell line BLaER₁ with SMRV and describe fundamental aspects of the biology of SMRV replication in human cells. BLaER₁ cells carry multiple integrated copies of the SMRV DNA genome and culture supernatants contain high levels of SMRV RNA and reverse transcriptase activity. Supernatants of BLaER₁ cells can initiate a titratable, spreading, non-cytopathic infection in several human cell lines of hematopoietic and epithelial origin. In contrast, primary human CD₄ T cells and monocyte-derived macrophages cannot be productively infected. SMRV virions can be pelleted by sucrose gradient ultracentrifugation and are rendered non-infectious by conventional retrovirus inactivation procedures. Effective control of SMRV infection is achieved by target cell treatment with interferon-alpha or specific nucleoside reverse transcriptase inhibitors and integrase inhibitors. BLaER₁ cells display several insertions of the SMRV provirus within exonic regions and knockout of the SMRV *reverse transcriptase* gene abolishes shedding of infectious particles. Of note, despite persistent productive SMRV infection BLaER₁ cells apparently do not mount an innate immune response hinting at an undefined retroviral stealth mechanism. Taken together, this study establishes basic characteristics of SMRV biology and demonstrates a broad cellular tropism of this retrovirus with a replication restriction in primary hematopoietic cells.

ABSTRACT 2

Quantification of the intact HIV-1 proviral reservoir using digital PCR

Muenchhoff M, Brommer A, Jocham L, Kombak L, Keppler OT

Persistent latent reservoirs of intact HIV-1 proviruses, capable of rebounding despite suppressive ART, hinder efforts towards an HIV-1 cure. Hence, assays specifically quantifying intact proviruses are crucial to assess the impact of curative interventions. Recent advances in this field leveraged digital PCR technology to quantify intact proviruses by targeting multiple regions in the HIV-1 genome. However, the currently available protocols such as the Intact Proviral DNA Assays (IPDA) were developed based on HIV-1 Subtype B isolates and are problematic in detecting other HIV subtypes. We performed in depth *in silico* analyses of the currently available protocols using alignments of all major circulating HIV-1 subtypes and detected high predicted failure rates for non-subtype B isolates as expected. We carefully designed four improved PCR assays in highly conserved regions of the HIV genome that can be multiplexed in one digital PCR reaction to quantify genetically intact proviruses. We assessed this assay *in silico* and *in vitro* with standard material and clinical samples from donors infected with

diverse HIV-1 subtypes. In comparison to the previously available tests, our assay showed improved target recognition across all analysed subtypes. We are aiming to further refine this assay to then apply for regulatory approval as an accredited *in house*-assay meeting the specifications set out in the *in vitro* diagnostic regulations (IVDR) imposed by the EU.

Nationales Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger



Prof. Dr. rer. nat. Antje Flieger



Dr. rer. nat. Angelika Fruth

Leitung

Prof. Dr. rer. nat. Antje Flieger

Institut

Fachgebiet für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen (FG 11), Robert Koch-Institut

Adresse

Burgstrasse 37, 38855 Wernigerode

E-Mail

fliegera@rki.de

Telefon

+49 3018754-2522

Stellvertretung

Dr. rer. nat. Angelika Fruth

Institut

Fachgebiet für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen (FG 11), Robert Koch-Institut

Adresse

Burgstrasse 37, 38855 Wernigerode

E-Mail

fliegera@rki.de

Telefon

+49 3018754-4241

Das Nationale Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger (NRZ-Salm) ist am RKI-Fachgebiet „Bakterielle darmpathogene Erreger und Legionellen“ (FG 11) angesiedelt. Im NRZ-Salm werden wichtige, durch Lebensmittel und Wasser übertragene humanpathogene bakterielle Erreger wie *Salmonella enterica* (inkl. S. Paratyphi und S. Typhi), intestinal pathogene *E. coli* insbesondere EHEC, *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. und *Shigella* spp. bearbeitet. Infektionen durch darmpathogene bakterielle Erreger besitzen mit ca. 60.000 gemeldeten Fällen pro Jahr in Deutschland und darüber hinaus eine große Bedeutung. Dabei spielen als Krankheitsbild die Diarrhö aber auch invasive Infektionen z. B. bei Salmonellen, das Hämolytisch Urämische Syndrom (HUS) bei EHEC und Postinfektionssyndrome, wie das Gullain-Barré Syndrom bei einer *Campylobacter* Infektion, eine Rolle.

Das NRZ-Salm beschäftigt sich mit der laborgestützten epidemiologischen Überwachung dieser darmpathogenen Erreger, der molekularen Analyse des Erregerwandels und -wechsels, der

Charakterisierung epidemischer Klone und der Antibiotika-Resistenzentwicklung. Die bei der Erreger-typisierung gewonnenen Daten wurden für die Analyse von Trends in den Erregerpopulationen herangezogen, z. B. zur Einschätzung der Antibiotikaresistenz-Situation bei den bearbeiteten Enteritis-Erregern (Beteiligung an GERMAP). Ein weiterer wichtiger Bestandteil der Arbeit ist die Erforschung von Virulenz-, Resistenz- und Persistenzstrategien. Beispiele hierfür sind die Arbeiten zu neuen Antibiotikaresistenzplasmiden bei Salmonellen und auch der Wandel von O-Antigenen bei besonders virulenten EHEC Typen (Pietsch et al. *Microbial Genomics* 2021, Lang et al. *Microbiology Spectrum* 2023).

In den letzten Jahren erfolgte die Umstellung der komplexen Typisierung der am NRZ-Salm bearbeiteten Erreger auf molekulare und genombasierte Methoden (Schnelltests/PCR und NGS) mit dem Ziel der Etablierung einer integrierten genomischen Surveillance (IGS). Die klassische Basistypisierung (Phänotypisierung) der Erregerisolate zur initialen Charakterisierung, auf deren Grundlage die Auswahl zur weiterführenden Typisierung (molekulare Methoden und NGS) erfolgte, wurde für diese Erreger entsprechend reduziert. Die Analyse der Vielzahl an Infektionsclustern der o.g. Erreger erfolgt in enger Zusammenarbeit mit dem Fachgebiet 35 der RKI-Abteilung für Infektionsepidemiologie, sowie den Nationalen Referenzlaboren (NRL) des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR), dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und dem Konsiliarlabor (KL) HUS der Westfälischen Universität Münster. Das NRZ-Salm ist nach DIN/EN (ISO) 15189 und 17025 akkreditiert und die Verfahren im akkreditierten Bereich wurden dementsprechend auf diese Situation angepasst. Im Rahmen von BMG geförderten Projekten und Programmen (GenoSalmSurv, IGS-Zoo, 9-Punkte-Plan und IMS-RKI) sowie im Projekt MiGenomeSurv wurden Verfahren und Vorgehensweisen zur Erregerüberwachung und Clusteranalyse etabliert und getestet. Alle Reinkulturen der bearbeiteten Erregerisolate werden der Stammsammlung des NRZ Salm hinzugefügt. Im Rahmen der Beratungstätigkeit werden unter Beteiligung des NRZ Salm mehrere RKI-Ratgeber zu Infektionskrankheiten und die S2k-Leitlinien zu Gastrointestinalen Infektionen überarbeitet.



Teamfoto: Die Aufgaben des NRZ Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger werden neben einer Reihe von weiteren Aufgaben im RKI-Fachgebiet für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen wahrgenommen (Fotonachweis: Isabell Ramming)

Wichtige Publikationen

- Lang C, Fruth A, Campbell IW, Jenkins C, Smith P, Strockbine N, Weill FX, Nübel U, Grad YH, Waldor MK, Flieger A. O-Antigen Diversification Masks Identification of Highly Pathogenic Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4-Like Strains. *Microbiol Spectr.* 2023 Jun 15;11(3):e0098723. doi: 10.1128
- Fruth A, Simon S, Halbedel S, Banerji S, Flieger A: COVID-19-Pandemie führte zu starkem Rückgang von darmpathogenen Erregern – Ergebnisse der integrierten molekularen Surveillance *Epid Bull* 2023;5:3-9 | DOI 10.25646/11001
- Coipan CE, Friesema IH, van den Beld MJC, Bosch T, Schlager S, van der Voort M, Frank C, Lang C, Fruth A, Franz E. Sporadic Occurrence of Enteroaggregative Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4 Similar to 2011 Outbreak Strain. *Emerg Infect Dis.* 2022 Sep;28(9):1890-1894. doi: 10.3201/eid2809.220037. PMID: 35997633; PMCID: PMC9423916.
- Pietsch M, Simon S, Meinen A, Trost E, Banerji S, Pfeifer Y, Flieger A. Third generation cephalosporin resistance in clinical non-typhoidal *Salmonella enterica* in Germany and emergence of blaCTX-M-harboring pESI plasmids. *Microb Genom.* 2021 Oct;7(10):000698. doi: 10.1099/mgen.0.000698. PMID: 34693903; PMCID: PMC8627203.
- Meinen A, Simon S, Banerji S, Szabo I, Malorny B, Borowiak M, Hadziabdic S, Becker N, Luber P, Lohr D, Harms C, Plenge-Bönig A, Mellou K, Mandilara G, Mossong J, Ragimbeau C, Weicherding P, Hau P, Dědičová D, Šafaříková L, Nair S, Dallman TJ, Larkin L, McCormick J, De Pinna E, Severi E, Kotila S, Niskanen T, Rizzi V, Deserio D, Flieger A, Stark K. Salmonellosis outbreak with novel *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype (11:z41:e,n,z15) attributable to sesame products in five European countries, 2016 to 2017. *Euro Surveill.* 2019 Sep;24(36):1800543. doi: 10.2807/1560-7917.

ABSTRACT 1

O-Antigen Diversification Masks Identification of Highly Pathogenic Shiga

Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4-Like Strains

Lang C, Fruth A¹, Campbell IW², Jenkins C³, Smith P⁴, Strockbine N⁴, Weill FX⁵, Nübel U^{6,7,8}, Grad YH⁹, Waldor MK^{2,9,10}, Flieger A¹

- 1 Division of Enteropathogenic Bacteria and Legionella, National Reference, Centre for Salmonella and Other Enteric Bacterial Pathogens, Robert Koch Institut, Wernigerode, Germany.
- 2 Department of Microbiology, Division of Infectious Diseases, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA.
- 3 Gastro and Food Safety (One Health) Division, Health Security Agency, London, United Kingdom.
- 4 Division of Foodborne, Waterborne and Environmental Diseases, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA.
- 5 Institut Pasteur, Université Paris Cité, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris, France.
- 6 Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Braunschweig, Germany.
- 7 German Center for Infection Research (DZIF), Partner Site Braunschweig-Hannover, Hannover, Germany.
- 8 Braunschweig Integrated Center of Systems Biology (BRICS), Technical University, Braunschweig, Germany.
- 9 Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard T. H. Chan School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA.
- 10 Howard Hughes Medical Institute, Boston, Massachusetts, USA.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) can give rise to a range of clinical outcomes from diarrhea to the life-threatening systemic condition hemolytic-uremic syndrome (HUS). Although STEC O157:H7 is the serotype most frequently associated with HUS, a major outbreak of HUS occurred in 2011 in Germany and was caused by a rare serotype, STEC O104:H4. Prior to 2011 and since the outbreak, STEC O104:H4 strains have only rarely been associated with human infections. From 2012 to 2020, intensified STEC surveillance was performed in Germany where the subtyping of ~ 8,000 clinical isolates by molecular methods, including whole-genome sequencing, was carried out. A rare STEC serotype, O181:H4, associated with HUS was identified, and like the STEC O104:H4 outbreak strain, this strain belongs to sequence type 678 (ST678). Genomic and virulence comparisons revealed that the two strains are phylogenetically related and differ principally in the gene cluster encoding their respective lipopolysaccharide O-antigens but exhibit similar virulence phenotypes. In addition, five other serotypes belonging to ST678 from human clinical infection, such as OX13:H4, O127:H4, Ogn-RKI9:H4, O131:H4, and O69:H4, were identified from diverse locations worldwide. **IMPORTANCE** Our data suggest that the high-virulence ensemble of the STEC O104:H4 outbreak strain remains a global threat because genomically similar strains cause disease worldwide but that the horizontal acquisition of O-antigen gene clusters has diversified the O-antigens of strains belonging to ST678. Thus, the identification of these highly pathogenic strains is masked by diverse and rare O-antigens, thereby confounding the interpretation of their potential risk.

ABSTRACT 2

Cluster dynamics of *S. Typhimurium* in Germany over 3 years of genome-based surveillance.

Pietsch M¹, Simon S¹, Trost E¹, Lamparter M², Marina C², Fischer J², Flieger A¹

¹ Robert Koch-Institute, Unit of Enteropathogenic Bacteria and Legionella (Unit 11), Wernigerode, Germany

² German Federal Institute for Risk Assessment, Department Biological Safety, Berlin, Germany

Introduction: In Germany, Salmonellosis is the second most frequently reported bacterial diarrheal disease. Zoonotic *Salmonella* spp. cause many regional and multinational food-borne outbreaks, which are of great concern for public health and an economic risk factor for the food industry. Among the reported *Salmonella* serovars in Germany, *S. Typhimurium* is the 2nd most common next to *S. Enteritidis*, with around 20 – 25 % of cases each year.

Whole Genome Sequencing (WGS) is a high-throughput method with excellent resolution for rapid and accurate pathogen monitoring, infection source analysis, and has become the technology of choice for outbreak analysis and surveillance. The intensified sequencing of isolates, due to lower costs and establishment of the technology, results in more identified clusters compared to previous technologies and additionally gives detailed insights into the cluster dynamics.

Material: The National Reference Center for *Salmonella* (NRC) received in the years 2020, 2021 and 2022 3,449 respective 3,115 and 3,861 *Salmonella* isolates, of which 975 respective 885 and 1,054 were *S. Typhimurium*. The proportion of sequenced *S. Typhimurium* isolates was, in accordance with the RKI molecular surveillance strategy, steadily increased. Since 2022 all *S. Typhimurium* isolates undergo genome analysis at the NRC. Bioinformatic analysis of raw sequencing data and subsequent cgMLST were performed using Ridom SeqSphere⁺ applying the Enterobase derived cgMLST scheme.

Results: From 2020-2022, 2,302 *S. Typhimurium* isolates were sequenced, covering 61 % of received isolates in 2020 up to 97.5 % in 2022. From these, 1,054 isolates were automatically attributed into 110 clusters (≥ 4 isolates). In contrast to that, 711 isolates were manually assigned to clusters, resulting in 48 curated clusters of variable size (4 to 94 isolates per cluster) with epidemiological plausibility. 17 clusters showed activity longer than 6 months, while 21 clusters were active only for up to 2 months. For 23 of the 48 curated clusters, matching isolates of non-human origin could be identified.

Conclusion: As expected, intensified genome-based surveillance of *S. Typhimurium* led to more and larger cluster observations. The number of clusters, their growth kinetics and regional distribution varied between different years of analysis and were depended on the ratio of sequenced/received isolates.

Nationales Referenzzentrum für Staphylokokken und Enterokokken



Prof. Dr. Guido Werner



Dr. Franziska Layer-Nicolaou

Leitung

Prof. Dr. Guido Werner

Institut

Robert Koch-Institut

Adresse

Burgstr. 37, 38855 Wernigerode

E-Mail

wernerg@rki.de

Telefon

+49 3018754-4210

Stellvertretung

Dr. Franziska Layer-Nicolaou

Institut

Robert Koch-Institut

Adresse

Burgstr. 37, 38855 Wernigerode

E-Mail

layerf@rki.de

Telefon

+49 3018754-4249

Wesentliche Aufgabe des Referenzzentrums ist die epidemiologische Überwachung von Staphylokokken- und Enterokokkeninfektionen sowohl innerhalb als auch außerhalb von Krankenhäusern sowie des Auftretens und der Verbreitung von Staphylokokken- und Enterokokkenstämmen mit wichtigen Resistenz- und Virulenzeigenschaften bzw. entsprechenden genetischen Determinanten.

Aufgaben

Neben der Analyse für den Einsender erfolgt eine Bearbeitung für die Gewinnung verallgemeinernder Schlussfolgerungen. Das in diesem Sinne bereits bestehende Netzwerk der Zusammenarbeit mit Untersuchungsämtern, Einrichtungen des öffentlichen Gesundheitswesens, Universitätsinstituten und -kliniken, Krankenhäusern und privaten Laboratorien soll auch zukünftig durch gezielte Studien mit Spezifität für relevante klinische Fächer ergänzt werden.

In Zusammenarbeit mit einer Reihe von Universitätsinstituten für Medizinische Mikrobiologie und Einrichtungen klinischer Fachdisziplinen werden ausgewählte Fragen der Ätiologie und Infektiologie von Staphylokokken- und Enterokokkeninfektionen bearbeitet. Dabei liegt bei den Enterokokken ein spezielles Augenmerk auf der Analyse von Resistenzen gegen Reserveantibiotika (Linezolid, Tigecyclin, Daptomycin), weswegen wir unsere Einsender explizit bitten, dem NRZ entsprechende Isolate mit Verdacht (oder bestätigt) zukommen zu lassen.

Teil Staphylokokken

Ausgehend von Kenntnissen über die klonalen Strukturen bei *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) und koagulase-negativen Staphylokokkenspezies (KNS) werden Staphylokokken-Isolate, die lokal als Verursacher von Ausbrüchen auftreten, mit konventionellen Verfahren und molekularen Methoden (first line: *spa*-Typisierung; für ausgewählte Fragestellungen: Whole Genome Sequencing (WGS)) typisiert. Als konventionelle Verfahren dienen validierte Methoden der Empfindlichkeitstestung über Mikrobouillonverdünnungsverfahren und der Speziesbestimmung mittels MALDI TOF MS und molekularer Verfahren. Die Isolate werden weiterhin im Hinblick auf relevante Resistenz- und Virulenzeigenschaften (phänotypische Resistenz- und Toxinbestimmung sowie Gen-Nachweis mittels PCR oder Ableitung aus WGS Daten) charakterisiert. Für die Auswertung wurden Datenbanksysteme für molekulare Typisierungsmethoden aufgebaut. Diese Datenbanksysteme sind Ausgangspunkt eines Netzwerkes mit Einrichtungen in Deutschland, in denen selbst eine molekulare Typisierung erfolgt, sowie für Aufbau und Mitwirkung in einem Netzwerk der europäischen Referenzlaboratorien für Staphylokokken.

Durch die Verordnung zur Anpassung der Meldepflicht gemäß § 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) wurde die Meldepflicht auf den direkten Nachweis von Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) aus Blut oder Liquor ausgedehnt. Seit dem 01.07.2009 besteht damit für die Labore eine namentliche Meldepflicht für den Nachweis von MRSA aus Blut oder Liquor. Wir bitten alle Labore, die gemeldeten MRSA Isolate aus Blut und Liquor an das NRZ für eine detaillierte Analyse zu schicken.

Teil Enterokokken

Ausgehend von Kenntnissen über die klonalen Strukturen bei *Enterococcus faecium* und *E. faecalis*, die lokal als Verursacher von Ausbrüchen auftreten, werden Enterokokken-Isolate mit konventionellen Verfahren und molekularen Methoden typisiert. Als konventionelle Verfahren dienen Methoden der Empfindlichkeitstestung über Mikrobouillonverdünnungsverfahren und der Speziesbestimmung mittels MALDI TOF MS und molekularer Verfahren. Molekulare Methoden schließen die Erfassung von ausgewählten Resistenzgenen (*vanA*, *vanB*, *cfr*, *optrA*, *poxtA*) ein. Bei Bedarf stehen weitere Tests sowie Referenzisolate zur Verfügung (z. B. auf weitere Resistenzgene *vanD* bis *vanG*). Bei Verdacht auf klonale Häufungen wird eine Typisierung auf der Basis eines Vergleichs von WGS Daten durchgeführt (coregenomeMLST Vergleich).

Wir bitten alle Labore, VRE Isolate aus Blut und Liquor an das NRZ für eine detaillierte Analyse zu schicken.

Wichtige Publikationen

- Wendel AF, Otchwemah R, Layer-Nicolaou F, Mattner F, Tellez-Castillo CJ, Skov R, Oberländer H, Werner G, Strommenger B. Does antiseptic treatment lead to the increased occurrence of daptomycin-resistant *Staphylococcus aureus*? *Clin Microbiol Infect* 2023 Oct;29(10):1334.e1-1334.e6. doi: 10.1016/j.cmi.2023.06.007.
- Bender JK, Baufeld E, Becker K, Claus H, Dudakova A, Dörre A, Fila N, Fleige C, Hamprecht A, Hoffmann A, Hogardt M, Kaasch AJ, Kola A, Kriebel N, Layer-Nicolaou F, Marschal M, Molitor E, Mutters NT, Liese J, Nelkenbrecher C, Neumann B, Rohde H, Steinmann J, Sörensen M, Thelen P, Weig M, Zautner AE, Werner G. CHROMAgar™ LIN-R as an efficient screening tool to assess the prevalence of linezolid-resistant enterococci in German hospital patients – a multicentre study approach, 2021-2022. *J Antimicrob Chemother.* 2023 Sep 5;78(9):2185-2191. doi: 10.1093/jac/dkad218.
- Sommer A, Fuchs S, Layer F, Schaudinn C, Weber RE, Erdmann MB, Laue M, Schuster C, Werner G, Strommenger B. 2021. Mutations in the *gdpP* gene are a clinically relevant mechanism for β -lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lacking *mec* determinants. *Microbial Genomics* 2021 Sep;7(9). [doi: 10.1099/mgen.0.000623]
- Bender JK, Hermes J, Zabel LT, Haller S, Mürter N, Blank H-P, Werner G, Hüttner I, Eckmanns T. Controlling an unprecedented outbreak with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Germany, October 2015 to November 2019. *Microorganisms.* 2022 Aug 9;10(8):1603. doi: 10.3390/microorganisms10081603.
- Weber RE, Fuchs S, Layer F, Sommer A, Bender JK, Thürmer A, Werner G, Strommenger B. Genome-wide association studies for the detection of genetic variants associated with daptomycin and ceftaroline resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology* 2021, Febr 15, [https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.639660]

ABSTRACT 1

Results of the German multicenter study using CHROMagar LIN-R to detect linezolid-resistant enterococci

Bender JK, Fischer MA, Werner G and the German LRE multicenter study group

Background: In recent years, an increasing number of linezolid-resistant enterococci (LRE) was recognized at the German National Reference Centre (NRC) for Enterococci. National guidelines on infection prevention recommend screening for LRE in epidemiologically linked hospital settings without referring to a reliable and rapid diagnostic method. Since 2020, CHROMAgar™ provide a chromogenic linezolid screening agar, LIN-R, suitable to simultaneously screen for linezolid-resistant staphylococci and enterococci. We tested application and performance of this agar with 12 German partner sites, mainly university hospitals, during a 3 months period at the end of 2021.

Methods: An expanded risk-based screening for multidrug-resistant bacteria was performed in hospital wards that previously experienced VRE and LRE infections or colonizations. During the 3-month study period, clinical samples were plated on CHROMAgar™ LIN-R. Antimicrobial susceptibility testing was performed using VITEK2 or disc diffusion. At the NRC, linezolid resistance was determined

by broth microdilution, multiplex-PCR for *cfr/optrA/poxA* and by a restriction-based assay for 23S rDNA mutations.

Results: The 12 participating study sites used 13,963 CHROMAgar™ LIN-R plates during the study period. Of 442 presumptive LRE, 192 were confirmed by phenotypic methods. Of these, 161 were received by the NRC and 121 (75 %) were verified as LRE. Most of LR-*E. faecium* 53/81 (65 %) exhibited a 23S rRNA gene mutation as the sole resistance-mediating mechanism, whereas *optrA* constituted the dominant resistance trait in LR-*E. faecalis* [39/40 (98 %)]. Prevalence of LRE across sites was estimated as 1 % (ranging 0.18 % – 3.7 % between sites).

Conclusion: CHROMAgar™ LIN-R represents a simple and efficient LRE screening tool in hospital settings. A high proportion of false-positive results demands validation of linezolid resistance by a reference method.

ABSTRACT 2

MRSA on the decline – tasks and duties of a National Reference Centre 2.0

Strommenger B, Layer F, Cuny C, Werner G

Background: The recent years showed a continuous decrease in MRSA rates in hospitals, but also in outpatient settings. This is not only a trend in Germany, but also all-over large parts of Europe and beyond. At the same time, the NRC encounters an increasing number of isolates of *S. aureus* and other staphylococcal species with multi-resistance or resistance to antibiotics of the last resort submitted for detailed analyses to the NRC.

Materials: Since the beginning of the 2000s, the NRC for Staphylococci has been analysing between 2500 and 4500 staphylococcal isolates annually from submissions of local laboratories and from a wide variety of studies. All incoming isolates are phenotypically characterized and subjected to resistance testing using broth microdilution according to EUCAST. In addition, all *S. aureus* isolates are typed using *spa*-typing. Since 2015, WGS has been increasingly used for molecular characterization of isolates. For *S. aureus* and *S. capitis*, core genome MLST (cgMLST) schemes are available for molecular typing. For other species, we use in-house ad hoc cgMLST schemes to analyse strain relatedness (e.g., *S. epidermidis*). Since 2020, all MRSA from blood cultures have been subjected to WGS.

Results: Concurrently with the decline of MRSA rates, MRSA submissions have decreased over time, whereas all submissions to the NRC remained constant. Frequent requests were still related to outbreak analyses, but also to classical surveillance tasks, which can be processed with much higher resolution using NGS. On the other hand, submissions of MSSA with “unusual” resistance phenotypes (MRLM, “methicillin resistance lacking *mec*”) or resistances to antibiotics of the last resort (daptomycin) are increasing. We also recognize an increase in submissions of coagulase-negative staphylococci associated multi-resistance phenotypes and resistances to last resort antibiotics (linezolid).

Conclusion: In recent years, we have noticed a significant change in the requests addressed to the NRC for staphylococci. Infections with MRSA and *S. aureus* still pose a significant burden to patients

and infection prevention and control in general. Aspects of community- and livestock-associated MRSA are constantly surveyed, resistances to last resort antibiotics were on the rise (cave: voluntary submission).

Nationales Referenzzentrum für Streptokokken

Aktuell nicht besetzt.

Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen



Prof. Dr. med. Petra Gastmeier

Leitung

Prof. Dr. med. Petra Gastmeier

Institut

Institut für Hygiene und Umweltmedizin,
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Campus Benjamin Franklin
Hindenburgdamm 27, 12203 Berlin

E-Mail

sekretariat-hygiene@charite.de

Telefon

+49 30 450577-612

Stellvertretung

Prof. Dr. med. Christine Geffers

Institut

Institut für Hygiene und Umweltmedizin,
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Campus Benjamin Franklin
Hindenburgdamm 27, 12203 Berlin

E-Mail

sekretariat-hygiene@charite.de

Telefon

+49 30 450577-612

Das NRZ für Surveillance nosokomialer Infektionen entwickelt für Einrichtungen der medizinischen Versorgung jeweils an unterschiedliche Einrichtungsarten angepasste Surveillance-Methoden der Erhebung, Dokumentation, Auswertung, Analyse und Interpretation von nosokomialen Infektionen, aber auch von Patienten mit multiresistenten Erregern, Antibiotikaawendungen und Händedesinfektionsparametern. Das entsprechende Projekt trägt den Namen Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS) und besteht bereits seit 1997. Die Methode wird fortlaufend evaluiert und ggf. modifiziert.

An einer Surveillance interessierte medizinische Einrichtungen erhalten die Möglichkeit nach der vom KISS vorgegeben und veröffentlichten Methode eine Surveillance eigenverantwortlich durchzuführen. Dabei kann entweder die KISS-Methode ohne eigene Teilnahme am KISS genutzt werden, oder eine Einrichtung kann sich auch aktiv am KISS beteiligen und erhält dann nach der Anmeldung

kostenfreien Zugang zu einem webbasierten Datenmanagement-System (webKess). In webKess werden die einrichtungsspezifisch erhobenen Daten von den Teilnehmern dokumentiert und können jederzeit vom Teilnehmer selbst auch ausgewertet werden. Durch die Standardisierung der Methode ist es möglich die Surveillance-Daten aus verschiedenen am KISS beteiligten Einrichtungen zusammen zu führen und anonymisiert als Orientierungswerte für Vergleiche zu nutzen. Die so gewonnenen Daten fungieren als Referenzwerte für Deutschland und werden regelmäßig veröffentlicht. Ein Vergleich der eigenen Daten einer Einrichtung mit den Daten der KISS-Referenzwerte hilft bei der Einordnung der eigenen Daten und ist eine Voraussetzung für die Analyse und Interpretation von Surveillance-Daten zur Nutzung im Rahmen der internen Qualitätssicherung. Das KISS unterstützt die unterschiedlichen medizinischen Einrichtungen so bei der Durchführung der gesetzlich eingeforderten Surveillance von nosokomialen Infektionen (inkl. Clostridioides difficile Infektionen – CDI), der Surveillance von Erregern mit besonderen Resistenzen sowie der Antibiotikaaanwendung bei Frühgeborenen, bei denen die sonst geforderte Methode zur Antibiotika-Verbrauchs-Surveillance über die Erhebung definierter Tagesdosen, nicht zur Anwendung kommen kann. Das KISS ist modular aufgebaut und medizinische Einrichtungen können den Umfang ihrer Beteiligung an die eigene Struktur und Erfordernisse anpassen. Aktuell beteiligen sich über 1.000 Akutkrankenhäuser an mind. einem Modul des KISS und geben ihre Daten in webKess ein.

Zur Sicherstellung der Datenqualität ist eine Teilnahme am KISS für die Infektions-Surveillance erst nach Absolvierung eines Einführungskurses möglich. Zudem findet auf Eingabeebene bereits eine Plausibilitätsüberprüfung mit ggf. einer Warnmeldung statt. Regelmäßiges Training an Kasuistiken erlaubt den Abgleich der Definitionsanwendung von Teilnehmern mit einer Musterlösung. Hierdurch können Sensitivität und Spezifität der Teilnehmer in regelmäßigen Abständen bestimmt werden. Neben den schriftlichen Festlegungen zur Methodik bietet das NRZ einen telefonischen und schriftlichen Support für administrative, technische und inhaltliche Fragestellungen an. Einmal jährlich wird zudem ein Treffen mit den KISS-Teilnehmern vom NRZ organisiert. An diesen Treffen nehmen regelmäßig über 800 Personen aus den beteiligten Einrichtungen teil. Die Treffen dienen in erster Linie dem Informationsaustausch zwischen NRZ und KISS-Teilnehmern. Die aktuellen Daten der einzelnen Module werden vorgestellt, Modifikationen bei der Methodik werden hier kommuniziert, es gibt aber auch ein Training zur Auffrischung bzw. zur Selbstkontrolle der Methodenkenntnis. Seit der Pandemie finden diese Treffen als Online-Veranstaltung statt. Im Folgenden werden die aktuell im KISS angebotenen Module kurz vorgestellt.

ITS-KISS-Infektionssurveillance

Erfassung nosokomialer Indikatorinfektionen auf Intensivstationen (ITS). Ermittlung einer Device-assoziierten Infektionsrate pro Infektionsart pro ITS.

STATIONS-KISS-Infektionssurveillance

Erfassung nosokomialer Indikatorinfektionen auf Normalpflegestationen. Ermittlung einer Device-assoziierten Infektionsrate pro Infektionsart pro Station.

ITS-KISS-Erregersurveillance

Erfassung von Patienten mit Nachweis von multiresistenten Erregern (MRE – MRSA, VRE, 3/4MRGN) bzw. CDI auf Intensivstationen (ITS). Ermittlung von Nachweisraten pro Erreger und ITS.

STATIONS-KISS-Erregersurveillance

Erfassung von Patienten mit Nachweis von multiresistenten Erregern (MRE – MRSA, VRE, 3/4MRGN) bzw. CDI auf Normalpflegestationen. Ermittlung von Nachweisraten pro Erreger und Station.

OP-KISS

Erfassung postoperativer Wundinfektionen und optional von Atemwegsinfektionen nach Indikator-eingriffen bei stationär operierten Patienten. Ermittlung von Infektionsraten pro Indikator-OP-Art und Abteilung.

NEO-KISS

Erfassung von nosokomialen Indikatorinfektionen, MRE und Antibiotikaawendungen bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1.500g. Ermittlung von Infektionsraten, MRE-Raten und Antibiotikaawendungsdichten pro Abteilung.

CDI-KISS

Krankenhausweite Erfassung von CDI. Ermittlung von Infektionsraten pro Krankenhaus pro Jahr.

MRSA-KISS

Krankenhausweite Erfassung von Patienten mit MRSA. Ermittlung von Nachweisraten pro Krankenhaus pro Jahr.

HAND-KISS

Ermittlung des Händedesinfektionsmittelverbrauchs und ggf. der Compliance bei der Händedesinfektion und ggf. der Händedesinfektionsmittelpender-Ausstattung pro Station bzw. Funktionsbereich bzw. Ambulante Medizin- bzw. in Alten- und Pflegeheimen.

Eine Teilnahme am KISS gilt inzwischen als ein Qualitätsmerkmal, dass der ÖGD bei der Überprüfung von medizinischen Einrichtungen daher häufig mit abfragt. Und auch in den KRINKO Empfehlungen zur Surveillance von nosokomialen Infektionen wird die Anwendung der KISS-Methode empfohlen.

Wichtige Publikationen

- Kramer TS, Salm F, Schwab F, Geffers C, Behnke M, Gastmeier P, Piening B. Reduction of antibacterial use in patients with very low birth weight on German NICUs after implementation of a mandatory surveillance system. A longitudinal study with national data from 2013 to 2019. *J Infect.* 2022 Jul;85(1):8-16. doi: 10.1016/j.jinf.2022.05.009. Epub 2022 May 14. PMID: 35580752.
- Geffers C, Schwab F, Behnke M, Gastmeier P. No increase of device associated infections in German intensive care units during the start of the COVID-19 pandemic in 2020. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2022 May 7;11(1):67. doi: 10.1186/s13756-022-01108-9. PMID: 35526018; PMCID: PMC9077980.
- Aghdassi SJS, Gastmeier P, Hoffmann P, Schwab F. Increase in surgical site infections caused by gram-negative bacteria in warmer temperatures: Results from a retrospective observational study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021 Apr;42(4):417-424. doi: 10.1017/ice.2020.463. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33023687.
- Schwab F, Geffers C, Behnke M, Gastmeier P. ICU mortality following ICU-acquired primary bloodstream infections according to the type of pathogen: A prospective cohort study in 937 Germany ICUs (2006-2015). *PLoS One.* 2018 Mar 8;13(3):e0194210. doi: 10.1371/journal.pone.0194210. PMID: 29518133; PMCID: PMC5843291.
- Schröder C, Schwab F, Behnke M, Breier AC, Maechler F, Piening B, Dettenkofer M, Geffers C, Gastmeier P. Epidemiology of healthcare associated infections in Germany: Nearly 20 years of surveillance. *Int J Med Microbiol.* 2015 Oct;305(7):799-806. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.08.034. Epub 2015 Aug 24. PMID: 26358916.

ABSTRACT

Surveillance von nosokomialen Infektionen, multiresistenten Erregern und hygienerelevanten Prozessparametern in Deutschland mit KISS – Aktueller Stand und Ausblick

Geffers C, Gastmeier P, Aghdassi S, Piening B, Maechler F, Brodzinski A, Bunte K, Behnke M

Aktueller Stand

Die Veränderungen der Belegungszahlen in den Krankenhäusern, aber auch die Belastungen des Klinikpersonals während der Pandemie zeigt sich auch in den Daten des KISS. So sind die Teilnehmerzahlen und auch die unter Surveillance stehenden Patientenzahlen in einigen KISS-Modulen während der Pandemie zurückgegangen und erreichen nur langsam wieder ihre Ausgangswerte. Trotz der teilweise schwierigen Situation beteiligten sich in 2022 aber immer noch 1107 Krankenhäuser mit z. B. auch über 880 Intensivstationen (ITS) am KISS. An den vom NRZ digital organisierten KISS-Treffen zum Erfahrungsaustausch nahmen beispielsweise in 2022 über 450 Mitarbeiter aus den am KISS beteiligten Einrichtungen teil.

Im Vortrag wird ein Überblick über den aktuellen Stand der KISS-Datenbank gegeben und einzelne interessante Aspekte werden gesondert dargestellt werden.

Ausblick

Während eine hohe Zahl von Intensivstationen und operativen Abteilungen am KISS teilnehmen, ist die Anzahl teilnehmender peripherer Stationen deutlich geringer. Ein Grund hierfür kann sein, dass das Aufwand-Nutzen-Verhältnis bei einer manuellen Surveillance hier ungünstiger ist. Das Auffinden von Infektionsereignissen wird auf Normalstationen im Vergleich zu ITS durch unterschiedliche Faktoren erschwert (z. B. geringerer Anteil an Risikopatienten, Papierakten, geringerer Diagnostikumfang). Es wird daher an der Entwicklung einer automatisierten Erhebung eines neuen Qualitätsindikators für infektiöse Komplikationen gearbeitet, der es erlauben würde im gesamten Krankenhaus Aussagen zum Auftreten schwerwiegender infektiöser Komplikationen zu treffen, um diese dann für die Beurteilung der Effizienz bereits etablierter Infektionspräventionsmaßnahmen im Normalpflegebereich zu nutzen.

Bei der traditionellen manuellen Infektionssurveillance hängt die Qualität der KISS-Daten in erster Linie davon ab, wie gut die Sensitivität und Spezifität der teilnehmenden Surveillance-Personen (SP) bei der Diagnostik nosokomialer Infektionen ist. In der Vergangenheit wurden im Rahmen der Einführungskurse die notwendigen Kenntnisse vermittelt und die Anwendung der KISS-Definitionen trainiert. Darüber hinaus wurden jährlich Trainings-Kasuistiken an alle SP verschickt, und die Ergebnisse der Teilnehmer wurden bei den jährlichen Erfahrungsaustauschen besprochen. Das Ergebnis der Diagnostikgenauigkeit der SP blieb jedoch ohne Konsequenz hinsichtlich der Möglichkeit der Dateneingabe. Durch die Einführung eines sogenannten KISS-Führerscheins wird diese Limitation nun überwunden. Es werden zukünftig nur noch Surveillancedaten eines Krankenhauses berücksichtigt werden, wenn die SP den KISS-Führerschein erfolgreich absolviert haben. Die Wissensvermittlung und die Prüfungen zum Erwerb des KISS-Führerscheins sollen als Online-Format angeboten werden.

Nationales Referenzzentrum für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien

Leitung

Prof. Dr. med. Inga Zerr

Institut

Universitätsmedizin Göttingen (UMG), Klinik für Neurologie

Adresse

Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen

E-Mail

ingazerr@med.uni-goettingen.de

Telefon

+49 55139-61805

Stellvertretung

Dr. med. Peter Hermann

Institut

Universitätsmedizin Göttingen (UMG), Klinik für Neurologie

Adresse

Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen

E-Mail

peter.hermann@med.uni-goettingen.de

Telefon

+49 55139-68955

Das NRZ in Zahlen – ein Überblick

1993 Beginn der Prionforschung an der Universitätsmedizin Göttingen, 2006 Nationales Referenzzentrum für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien, mehr als 500 Verdachtsfallmeldungen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) pro Jahr, 160 bis 180 gesicherte und wahrscheinliche CJK-Fälle in Deutschland pro Jahr, 30 Jahre Beratung der Kliniken und diagnostischer Laboratorien.

Das Nationale Referenzzentrum für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien (NRZ TSE), welches in der Universitätsklinik Göttingen lokalisiert ist, wird von Frau Prof. Dr. med. Inga Zerr geleitet, die zugleich Oberärztin in der Klinik für Neurologie der Universitätsklinik Göttingen ist. Zusätzlich sind in unserem Referenzzentrum weitere ärztliche Mitarbeiter*innen, Studienassistent*innen, Neuropsycholog*innen sowie in unserem Labor Biolog*innen und medizinisch-technische Assistent*innen tätig.

Seit dem 1. Juni 1993 werden durch die CJK-Surveillance-Unit Göttingen CJK-Verdachtsfälle in Deutschland prospektiv in den jeweiligen Kliniken vor Ort untersucht. Die Ergebnisse der im NRZ durchgeführten Untersuchungen des Liquor cerebrospinalis (14-3-3 Proteine) gehen in die Beurteilung mit ein. Durch regelmäßige Nachuntersuchungen werden Katamnesen erhoben und so eine abschließende Diagnose erreicht. Seit dem Januar 2006 wird diese Arbeit im Rahmen des Nationalen Referenzzentrums für die Surveillance Transmissibler Spongiformer Enzephalopathien fortgeführt. Unsere Tätigkeit fokussiert sich vor allem auf die Entwicklung und Verbesserung diagnostischer Verfahren zur frühzeitigen Diagnose humaner spongiformer Enzephalopathien.

Unsere Aufgaben umfassen die ärztliche Untersuchung und Beurteilung der Verdachtsfälle einschließlich einer konsiliarischen Mitbeurteilung und Erhebung von Katamnesen, die Beratung zu Fragen der Diagnostik, Therapie und Hygieneaspekte humaner spongiformer Enzephalopathien, die konsiliarische Mitbeurteilung von EEG- und MRT-Untersuchungen, die Differentialdiagnostik

atypischer Demenzen, die Durchführung epidemiologischer Untersuchungen und Beratung von ÄrztInnen, Krankenhäusern und öffentlichen Gesundheitsdiensten in der Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge, das Führen einer Referenzdatenbank für humane spongiforme Enzephalopathien einschließlich Erfassung potenzieller Risikofaktoren, die Auswertung und Interpretation der verfügbaren Daten nach epidemiologischen Gesichtspunkten in Abstimmung mit dem Robert-Koch Institut, die Initiierung von und Mitarbeit bei Surveillanceprojekten sowie Schulungen und allgemeine Fort- und Weiterbildungen auf dem Gebiet humaner spongiformer Enzephalopathien. Unser Labor bietet darüber hinaus Liquoruntersuchungen bei Verdacht auf Prionerkrankungen und differentialdiagnostisch in Abgrenzung zu anderen dementiellen Erkrankungen an. In regelmäßigen Abständen informieren wir kooperierende Kliniken und einsendende Labore über die aktuellen Entwicklungen in Rundschreiben.

Des Weiteren zählen die Entwicklung von diagnostischen Verfahren, die Koordination bei der Standardisierung und Verbreitung allgemeingültiger Testverfahren, die Initiierung und Durchführung von nationalen und internationalen Ringversuchen, die Diagnostik und Feintypisierung von Erregern einschließlich molekularbiologischer Untersuchungen zur Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge, das Führen einer Probenbank und Abgabe von Referenzproben bzw. diagnostikspezifischen Referenzpräparaten für diagnostische und wissenschaftliche Zwecke, die Beratung diagnostischer Laboratorien, die epidemiologische Analyse und Bewertung der Resistenz- und Virulenzentwicklung sowie die Meldung der CJK-Verdachtsfälle an die zuständigen Gesundheitsämter zu unseren Tätigkeiten.

Das Nationale Referenzzentrum forscht an der Entwicklung von frühen diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten bei Prionerkrankungen, insbesondere in den Bereichen Biomarker, Epidemiologie und Therapie. Die Expertise des NRZ in der klinischen Diagnostik von Prionerkrankungen und anderen rapid-progressiven dementiellen Erkrankungen sowie in den dazugehörigen Laborverfahren wird u. a. im Rahmen regelmäßiger Publikationen der internationalen Fachgemeinschaft präsentiert.

Die Hauptaufgabe unseres Labors stellt der Nachweis neuronaler Schadensmarker-Proteine im Liquor cerebrospinalis dar, der die klinische Verdachtsdiagnose der CJK unterstützt. Insbesondere wichtig ist dabei die Untersuchung der Proteine 14-3-3.

Darüber hinaus bieten wir in unserem Labor die Möglichkeit an, ergänzend zum 14-3-3 ELISA/Westernblot Liquoruntersuchungen zum Nachweis einer erhöhten Aggregationsneigung des Prionproteins durchführen zu lassen. Mit dieser neuentwickelten Methode (Real-Time Quaking-Induced Conversion, RT-QuIC) gelingt es, die selbstreplizierenden Eigenschaften des pathologischen Prionproteins nachzuahmen. Durch mehrere Amplifikationsschritte wird so die Menge des pathologischen Prionproteins bis zur Detektionsgrenze angereichert. Publikationen in dem Bereich beschreiben eine Sensitivität für die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit von ca. 90 Prozent bei einer nahezu 100-prozentigen Spezifität (Prion 2011; 5: 150-3; Ann Neurol 2012; 72: 278-85). Unsere eigenen Daten ergeben eine Sensitivität von ca. 89 % und eine Spezifität von > 99 % (Neurology 2018; 91:e331-e338) sowie eine Sensitivität von fast 100 % in Kombination mit anderen Biomarkern (MRT, Proteine 14-3-3). Diese Methode erlaubt den Nachweis geringster Mengen des pathologischen Prionproteins (PrP^{Sc}) im Liquor cerebrospinalis. Die RT-QuIC-Methode bildet im NRZ einen wichtigen Baustein in der Diagnostik von Prionerkrankungen und wird derzeit durch kein anderes Labor in Deutschland angeboten.

Seit 2014 bietet unser Referenzzentrum auch eine Prion-Diagnostik bei Verdacht auf hereditäre Prionerkrankungen mittels Mutationsanalyse des Prionprotein-kodierenden Gens (PRNP) an. Für diese Analyse wird DNA aus EDTA-Blut isoliert, bevor der für das Prionprotein-kodierende DNA-Abschnitt in einer Polymerasekettenreaktion (PCR) unter Verwendung spezifischer Primer amplifiziert wird. Das entstandene, aufgereinigte PCR-Produkt wird nach der Sanger-Methode sequenziert. Mehr als 17 verschiedene PRNP-Mutationen wurden seitdem in unserem Labor getestet und bestätigt.

Die Akquise von Probenmaterial von PatientInnen mit rasch progredienten dementiellen Erkrankungen ist eine der wichtigen Aufgabe seit Beginn der Tätigkeit des NRZ. Diese Proben werden nicht nur für unsere eigene Forschungstätigkeit verwendet, sondern auch im Rahmen anderer Studien, teils weltweit, zur Verfügung gestellt. Nach einem standardisierten Protokoll werden Blut-, Urin- und Liquor-Proben und Tränenflüssigkeit asserviert. Zusätzlich wird autoptisches Material asserviert. Seit 2013 haben wir begonnen eine Gehirnprobenbank aufzubauen. Insgesamt wurden in den letzten Jahren Proben aus verschiedenen Gehirnregionen von mehr als 258 Patienten in unserer Probenbank asserviert.

Unser Referenzzentrum arbeitet eng mit Mitgliedern anderer europäischer Referenzzentren zur Diagnostik und Epidemiologie spongiformer Enzephalopathien zusammen. Dies bezieht sich auf die Erfassung aller Formen der CJK, deren deskriptive Epidemiologie und Erfassung von Risikofaktoren sowie auf die gemeinsame Entwicklung von diagnostischen Parametern im Liquor im Rahmen von Forschungsprojekten. Es bestehen enge Kontakte mit international anerkannten WHO-Referenzzentren für Prionerkrankungen. Der kontinuierliche Abgleich der Daten mit anderen Ländern erlaubt, die epidemiologische Situation in Deutschland vor dem Hintergrund der Zahlen anderer Länder zu bewerten und einzuordnen.

Abschließend setzt sich unser NRZ zum Ziel, eine kontinuierliche Überwachung des Auftretens von Prionerkrankungen in Deutschland sicher zu stellen. Die hohe Meldebereitschaft von CJK-Verdachtsfällen durch ärztliche Kolleg*innen in Deutschland, die unverändert hohe Anzahl analysierter Liquorproben in unserem Labor sowie die kontinuierliche Meldung dieser Verdachtsfälle an die öffentlichen Gesundheitsämter spiegeln eine sehr gute Mitarbeit der neurologischen und psychiatrischen Kliniken mit unserem Referenzzentrum wieder und bilden auch in Zukunft eine solide Basis für die CJK-Surveillance in Deutschland.



Teamfoto v.l.n.r.: Natalie Kunz (MTA), Stefan Goebel (Arzt), Johanna Klink (MTA), Dr. med. Peter Hermann (Arzt), Mandy Knull (Labormitarbeiterin), Jolanthe Ehrlich (Sekretariat), Martha Jünemann (Studienassistentin)
Nicht abgebildet sind: Julia Schütte-Schmidt (Studienassistentin), Astrid Schlung (Studienassistentin), Maja Schneider-Dominco (Sekretariat), Iris Köster (Sekretariat), Dr. rer. nat. Kathrin Dittmar (Biologin), PD Dr. rer. nat. Matthias Schmitz (Biologe)

Wichtige Publikationen

Schmitz M, Silva Correia S, Hermann P, et al. Detection of Prion Protein Seeding Activity in Tear Fluids. *N Engl J Med.* 2023;388(19):1816-1817. doi:10.1056/NEJMc2214647

Zerr I. Laboratory Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease. *N Engl J Med.* 2022;386(14):1345-1350. doi:10.1056/NEJMr2119323

Hermann P, Appleby B, Brandel JP, et al. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet Neurol.* 2021;20(3):235-246. doi:10.1016/S1474-4422(20)30477-4

Stoeck K, Sanchez-Juan P, Gawinecka J, et al. Cerebrospinal fluid biomarker supported diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease and rapid dementias: a longitudinal multicentre study over 10 years. *Brain.* 2012;135(Pt 10):3051-3061. doi:10.1093/brain/aws238

Zerr I, Kallenberg K, Summers DM, et al. Updated clinical diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain.* 2009;132(Pt 10):2659-2668. doi:10.1093/brain/awp191

ABSTRACT

Vorstellung des Nationalen Referenzzentrum für humane spongiforme Enzephalopathien

Zerr I, Hermann P, Schmitz M

Das Nationale Referenzzentrum für humane spongiforme Enzephalopathien übernimmt wesentliche Aufgaben in der Diagnostik, Beratung und Surveillance der Erkrankung in Deutschland. Die Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten, wie die Entwicklung der neuartigen Aggregationsassays, trägt maßgeblich dazu bei, auch die Erfassung der neu auftretenden Fälle in Deutschland zu verbessern. Ein formaler Anstieg der CJK-Fälle zeigte sich durch die Einführung der verbesserten diagnostischen Kriterien seit 2018. Die ermittelte Inzidenz bleibt jedoch seit 2019 stabil. Die Implementierung der PrP RT QuIC in die klinische Diagnostik führte zur Verbesserung der diagnostischen Kriterien mit inzwischen einem internationalen Konsens. In den vergangenen Jahren konnte die Methode weiter verbessert werden und erreicht jetzt eine Sensitivität von mehr als 90 % bei einer 100 % Spezifität. Die Reproduzierbarkeit wurde in regelmäßigen internationalen Ringversuchen validiert. Eine Weiterentwicklung in den vergangenen zwei Jahren erlaubt uns unter Verwendung eines neuen Substrats und Anpassung der Detektionsbedingungen den Nachweis der aggregierten Prionproteinform in Tränenflüssigkeiten. Damit eröffnet sich die Möglichkeit einer frühzeitigen klinischen Diagnose in leicht zugänglichen nichtinvasiven Bioflüssigkeiten und möglicherweise auch eines Monitorings von Patienten in einem sehr frühen Stadium bzw mit einem erhöhten Risiko, die Erkrankung zu entwickeln. Eine weitere Entwicklung betrifft die Therapie. Nach vielen Jahren des therapeutischen Nihilismus werden inzwischen Studien mit neuen therapeutischen Ansätzen geplant.

Nationales Referenzzentrum für tropische Infektionserreger



Prof. Dr. med. Dennis Tappe

Leitung

Prof. Dr. med. Dennis Tappe

Institut

Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin

Adresse

Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

E-Mail

tappe@bnitm.de

Telefon

+49 40 285380-499

Stellvertretung

Prof. Dr. med. Stephan Günther

Institut

Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin

Adresse

Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

E-Mail

guenther@bnitm.de

Telefon

+49 40 285380-547

Das NRZ für tropische Infektionserreger ist schon seit vielen Jahren am Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin in Hamburg angesiedelt. Es entwickelt und nutzt besondere diagnostische Verfahren für tropentypische und ungewöhnliche Krankheitserreger und leistet eine hochspezialisierte serologische, molekularbiologische, mikroskopische und zellkulturbasierte Diagnostik. Schwerpunkte sind neben der Diagnostik parasitärer Infektionen (Protozoen-, Helminthen-, Pentastomiden-Erkrankungen, Myiasis), Arthropoden-übertragene bakterielle Infektionen (u. a. Rickettsiosen, Scrub typhus), Arbovirosen (u. a. Dengue-Fieber, Zika-Fieber, Westnil-Fieber) und hämorrhagische Fieber durch Filo- und Lassaviren.

Des Weiteren werden entsprechende Erreger in Arthropoden untersucht und menschliche Gewebe mikroskopisch-histologisch untersucht, so dass in Einzelfällen und Ausbrüchen eine ganze Palette

von Untersuchungsmethoden vom Vektor/Reservoir bis hin zum menschlichen Gewebe zur Verfügung stehen. Hierbei werden auch Feintypisierungen von Pathogenen mittels PCR und/oder NGS durchgeführt und regionale Cluster-Zuordnungen angestrebt. Das NRZ ist entsprechend aktiv in Surveillance-Projekte und in Ausbruchsuntersuchungen eingebunden. Viele unserer Tests sind selbst hergestellte Verfahren (Serologie, PCR), die auf im Hause kultivierten Erregern und der Erfahrung vieler Arbeitsgruppen beruhen.

Da wir eine sehr große Bandbreite an Diagnostik für die verschiedensten Erreger anbieten, sind für Differenzialdiagnosen möglichst genaue Angaben zu Herkunftsland, Reiseroute, Symptomatik, Begleiterkrankungen, Vorbefunde incl. Impfungen, etc. erforderlich. Gerade in Zeiten verstärkter Migration und des immer offensichtlicher werdenden Klimawandels zeigen sich importierte Infektionen, die Klinikern und Diagnostikern immer neue Herausforderungen bieten. Invasive Arten, so z. B. Steckmücken und Zecken, stellen zudem ein zunehmendes Risiko für die Etablierung lokaler Infektionsherde durch Arboviren und –Bakterien in Deutschland dar.

Wichtige Publikationen

- Peters L, Jiang W, Eberhardt N, Hagemann JB, Grüner B, Tappe D. 18 F-DG-PET/CT-Scans and Biomarker Levels Predicting Clinical Outcome in Patients with Alveolar Echinococcosis-A Single-Center Cohort Study with 179 Patients. *Pathogens*. 2023 Aug 14;12(8):1041.
- Rauch J, Jochum J, Eisermann P, Gisbrecht J, Völker K, Hunstig F, Mehlhoop U, Muntau B, Tappe D. Inflammatory cytokine profile and T cell responses in African tick bite fever patients. *Med Microbiol Immunol*. 2022 Jun;211(2-3):143-152.
- Tappe D, Pérez-Girón JV, Gómez-Medina S, Günther S, Muñoz-Fontela C, Schmidt-Chanasit J. Increased Proinflammatory Cytokine Levels in Prolonged Arthralgia in Ross River Virus Infection. *Emerg Infect Dis*. 2017 Apr;23(4):702-704.
- Tappe D, Sulyok M, Riu T, Rózsa L, Bodó I, Schoen C, Muntau B, Babocsay G, Hardi R. Co-infections in Visceral Pentastomiasis, Democratic Republic of the Congo. *Emerg Infect Dis*. 2016 Aug;22(8):1333-9.
- Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, Soropogui B, Sow MS, Keita S, De Clerck H, Tiffany A, Dominguez G, Loua M, Traoré A, Kolié M, Malano ER, Heleze E, Bocquin A, Mély S, Raoul H, Caro V, Cadar D, Gabriel M, Pahlmann M, Tappe D, Schmidt-Chanasit J, Impouma B, Diallo AK, Formenty P, Van Herp M, Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med*. 2014 Oct 9;371(15):1418-25.

ABSTRACT

Importierte tropische Infektionserreger im Klimawandel

Tappe D

Das NRZ für Tropische Infektionserreger hat exotische zoonotische und ungewöhnliche Pathogene im Fokus. Eine breite Palette von viralen, bakteriellen und parasitären Erregern wird serologisch

und/oder molekularbiologisch abgedeckt, einige auch histologisch. Bedingt durch Migration, vermehrte Reisetätigkeit und den nicht mehr zu übersehenden Klimawandel werden verstärkt ungewöhnliche Krankheitserreger in Deutschland eingeschleppt, einige von ihnen mit dem Potenzial, sich hierzulande auch lokal zu etablieren. Dies trifft insbesondere auf Arthropoden-übertragene Erreger zu, so einige Arboviren (z. B. das West Nil—Virus; WNV), aber auch Zecken-übertragene Viren und Bakterien sowie Mücken-assoziierte Helminthen, wie die Dirofilarien. Zudem werden seit kurzem wieder sog. Flughafen-Malariafälle diagnostiziert. Anhand von entsprechenden Beispielen wird die Arbeit des NRZ Tropen kurz illustriert.

Konsiliarlabore

Konsiliarlabor für Adenoviren

Leitung

PD Dr. med. Albert Heim

Institut

Institut für Virologie, Medizinische Hochschule Hannover

Adresse

Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover

E-Mail

heim.albert@mh-hannover.de

Telefon

+49 511 5324311

Das Adenovirus Konsiliarlabor verwendet seit vielen Jahren fast ausschließlich molekulare Methoden zum Nachweis und zur Typisierung von humanen (Mast-)Adenoviren (HAdV) zum Zweck Infektionen eindeutig nachzuweisen, Infektketten aufzuklären und genetische Pathogenitätsmarker von einzelnen Adenoviren zu entdecken. Die Methoden wurden zum Teil im Labor entwickelt und sind einheitlich für die vielfältigen klinischen Manifestationen von Adenovirusinfektionen einsetzbar.

Dabei geht es primär um den Nachweis und die Quantifizierung von Adenovirus DNA bei Verdacht auf eine Adenovirusinfektion. Diese können sich an verschiedenen Organsystemen manifestieren, am häufigsten im oberen und unteren Respirationstrakt, Gastrointestinaltrakt, Auge und Urogenitaltrakt. Bei immunsupprimierten Patienten haben zusätzlich disseminierte Adenovirusinfektionen, die meist aus gastrointestinalen Reaktivierungen von Adenoviruslatenzen hervorgehen, eine große Bedeutung. Hierbei ist die Quantifizierung der Adenovirus DNAämie („Viruslast“) diagnostisch und prognostisch von herausragender Bedeutung, für die das Adenovirus KL grundlegende Arbeiten geleistet hat durch die Entwicklung der ersten generischen real time PCR vor über 20 Jahren. Mehrere Arbeiten haben sich mit der Adenovirusinfektion nach Knochenmarkstransplantation beschäftigt, wobei nicht nur klinische Verläufe und Viruslasten charakterisiert wurde, sondern auch in späteren Arbeiten (siehe unten), die Genetik der assoziierten Adenovirustypen analysiert wurde. Durch die (Semi-)Quantifizierung von Adenovirus DNA kann auch beim Immungesunden zuverlässig die Adenoviruslatenz von der akuten, klinisch relevanten Infektion unterschieden werden, z. B. in Stuhlproben und in Proben aus dem Respirationstrakt.

Die nächste Hauptaufgabe des Adenovirus KL war es ohne zeitaufwändige Virusisolation Adenoviren typisieren zu können, wobei die Ergebnisse dem klassischen Referenzverfahren, der Virusneutralisation, entsprechen sollten. Hierfür wurden klassische (d.h. PCR/Sanger)-Sequenzierungsprotokolle entwickelt und validiert. Auch wenn das gesetzte Ziel erreicht wurde und dieses Verfahren auch heute noch zur primären Typisierung bei Adenovirusinfektionen verwendet wird, so zeigte sich doch nur kurz später, dass viele zirkulierende Adenoviren multipel rekombinante Genome aufweisen. Dies bedeutet, dass die klassische serologische Typisierung nicht zu Ergebnissen führt, die diese Viren in Bezug auf ihren Tropismus, ihre Virulenz und klinische Bedeutung beschreiben.

Deshalb wurde frühzeitig begonnen, Adenoviren komplett genomisch zu sequenzieren und phylogenetisch, insbesondere auch in Bezug auf Rekombinationen zu analysieren. Diese Vorgehensweise wurde auch durch die „Adenovirus Working Group“ unterstützt, die es ermöglicht rekombinanten humanen Adenoviren neue Typnummern zuzuordnen. Durch diese Vorgehensweise konnte eine ganze Reihe von neuen (Geno-)Typen identifiziert werden, größere Epidemien untersucht werden und auch systematische Untersuchungen zur Genetik der einzelnen humanen Adenovirus Spezies durchgeführt werden.

Konkret stellt das Adenovirus KL bei klinisch und/oder epidemiologisch begründeten Anfragen den Adenovirusnachweis mit real time PCR zur Verfügung, ebenso die oben genannten Typsierungs- und Sequenzierungstechniken. Der Fokus dabei ist auf klinisch schwere Manifestationen (epidemische Keratokonjunktivitis, Pneumonien, andere Organinfektionen und disseminierte Infektionen bei immunsupprimierten Patienten) gerichtet.

Wichtige Publikationen

- Heim, A., Ebnet, C., Harste, G., and Pring-Akerblom, P. (2003). Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol* 70, 228-239. [10.1002/jmv.10382](https://doi.org/10.1002/jmv.10382).
- Gotting, J., Baier, C., Panagiota, V., Maecker-Kolhoff, B., Dhingra, A., and Heim, A. (2022). High genetic stability of co-circulating human adenovirus type 31 lineages over 59 years. *Virus Evol* 8, veac067. [10.1093/ve/veac067](https://doi.org/10.1093/ve/veac067).
- Dhingra, A., Hage, E., Ganzenmueller, T., Bottcher, S., Hofmann, J., Hamprecht, K., Obermeier, P., Rath, B., Hausmann, F., Dobner, T., and Heim, A. (2019). Molecular Evolution of Human Adenovirus (HAdV) Species C. *Sci Rep* 9, 1039. [10.1038/s41598-018-37249-4](https://doi.org/10.1038/s41598-018-37249-4).
- Ganzenmueller, T., Buchholz, S., Harste, G., Dammann, E., Trenscher, R., and Heim, A. (2011). High lethality of human adenovirus disease in adult allogeneic stem cell transplant recipients with high adenoviral blood load. *J Clin Virol* 52, 55-59.
- Hage, E., Espelage, W., Eckmanns, T., Lamson, D.M., Panto, L., Ganzenmueller, T., and Heim, A. (2017). Molecular phylogeny of a novel human adenovirus type 8 strain causing a prolonged, multi-state keratoconjunctivitis epidemic in Germany. *Sci Rep* 7, 40680. [10.1038/srep40680](https://doi.org/10.1038/srep40680).

ABSTRACT

Nach der Pandemie: Eine „Welle“ von schweren respiratorischen Adenovirusinfektionen mit Typ 7, Typ 66 und rekombinanten Typ 3 Abkömmlingen

Heim A

Humane Adenoviren der Spezies B (HAdV-B) und E (HAdV-E) können schwere tiefe Atemwegsinfektionen (LRTI) verursachen, die sich klinisch als Pneumonien oder ARDS präsentieren. Da keine Meldepflicht besteht, gibt es keine zuverlässigen Inzidenzdaten, allerdings bieten wir für solche Fälle

als einzige in Deutschland gratis eine molekulare Typisierung an. Aus der Zahl solcher Einsendungen kann deshalb indirekt auf das epidemiologische Geschehen geschlossen werden. In den letzten 20 Jahren gab es jährlich weniger als fünf solcher Einsendungen, in den sechs Monaten von Oktober 2022 bis April 2023 aber 18 Einsendungen aus mehreren Bundesländern

Bei ungewöhnlichen Typisierungsergebnissen in Bezug auf das klinische Bild oder bei Häufungen wird eine komplett genomische Sequenzierung (Illumina MiSeq) und phylogenetische Analyse durchgeführt.

Alle 18 Einsendungen waren der Spezies HAdV-B zuzuordnen. Bei zwölf der Einsendungen wurde primär HAdV-B3 nachgewiesen, bei sechs HAdV-B7. Durch komplett genomische Sequenzierung konnte eines der primär als HAdV-B7 typisierten Viren dem Typ HAdV-B66 zugeordnet werden. Dieser Typ wurde erstmals in Deutschland nachgewiesen, er ist eine Rekombinante mit einem Hexon und Penton des Typ 7 aber einer Fibersequenz aus Typ 3. Außerdem waren alle zwölf HAdV-B3 Einsendungen rekombinant mit einer Pentonsequenz aus Typ 7. Dieses rekombinante Virus kann als neuer Genotyp angesehen werden. Es wurde allerdings schon in Nordamerika und China häufiger nachgewiesen (publizierte Genome), die rekombinante Pentonsequenz allerdings nicht als solche erkannt.

Die beobachtete Welle von schweren Adenovirus-LRTI Fällen war keine monophyletische Epidemie. Interessant ist allerdings, dass alle nachgewiesenen Viren eine Pentonsequenz von Typ 7 hatten, die wahrscheinlich mit höherer Virulenz oder Tropismus für die tiefen Atemwege assoziiert ist. Dies ist in Übereinstimmung mit älteren Publikationen, die Typ 7 und Typ 66 mit eher schweren Verläufen assoziieren. Wahrscheinlich kam es nach Beendigung der pandemiebedingten Hygienemaßnahmen zu einer vermehrten Zirkulation von Adenoviren, darunter evtl. auch erstmalig von HAdV-B66 und des rekombinanten HAdV-B3 Genotyps (für den eine neue Typnummer beantragt wurde). Zur Abklärung dieser Fragestellung ist es geplant, historische HAdV-B3 Fälle noch komplett genomisch zu sequenzieren

Konsiliarlabor für *Bacillus anthracis*



Dr. Silke Klee

Leitung

Dr. Silke Klee

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene ZBS 2 – Hochpathogene mikrobielle Erreger, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

k.A.

Stellvertretung

Dr. Susann Dupke

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene ZBS 2 – Hochpathogene mikrobielle Erreger, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

k.A.

Bacillus anthracis ist der weltweit verbreitete Erreger von Milzbrand (Anthrax), einer Zoonose, die in Industrieländern wie Deutschland nur sehr selten vorkommt. Gerade darum ist es notwendig, diagnostische Kapazitäten und Beratung bei Verdachtsfällen anzubieten, da Milzbrand bei zu später Diagnose tödlich verlaufen kann. Die letzten humanen Fälle in Deutschland traten in den Jahren 2009 – 2012 bei Drogenkonsumenten auf und waren höchstwahrscheinlich auf kontaminiertes Heroin zurückzuführen. Nicht nur seit den Milzbrand-Anschlägen in den USA 2001 ist *B. anthracis* als Erreger mit höchster bioterroristischer Relevanz gefürchtet. Immer noch werden Briefe mit „weißem Pulver“ verschickt, bei denen eine schnelle und gesicherte Anthrax-Diagnostik wichtig ist, um eine Gefährdung der exponierten Personen auszuschließen und Panik in der Bevölkerung zu vermeiden.

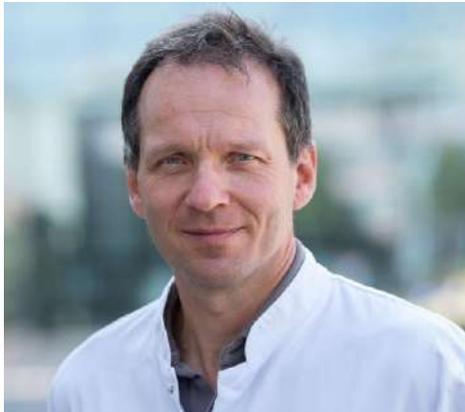
Das KL bietet Anthrax-Diagnostik aus klinischen Proben und Umweltmaterialien einschließlich Anzucht, molekulargenetischem Nachweis und Typisierung mittels Genomsequenzierung an. Die Verfahren der Kultivierung, Real-Time PCR und Serologie sind nach DIN EN ISO 15189:2014 und DIN

EN ISO/IEC 17025:2018 flexibel akkreditiert. Obwohl Proben mit Verdacht auf *B. anthracis* auch unter S2-Bedingungen untersucht werden dürfen, bevorzugen viele Labore aus Sicherheitsgründen den Versand von Primärproben an das KL. Weiterführende Untersuchungen wie die Antibiotikaresistenzbestimmung müssen nach Bestätigung von *B. anthracis* unter S3-Bedingungen erfolgen. Das KL war an der Resistenztestung einer Vielzahl von *B. anthracis*-Stämmen mittels Mikrodilution im Rahmen einer Arbeitsgruppe des EU-Projektes SHARP (Strengthened International Health Regulations and Preparedness in the EU) beteiligt. Dabei wurden ECOFF-Werte (Epidemiological Cut-Off Value) ermittelt, die nach Abstimmung mit EUCAST demnächst als Breakpoints gelten sollen.

Die umfangreiche Stammsammlung des KL beinhaltet derzeit mehr als 500 Isolate von Anthraxerregern, die teilweise bereits genomsequenziert wurden. Die Sequenzierung erlaubt eine schnelle Identifizierung von Virulenz- und Resistenzgenen sowie die Klärung forensischer Fragestellungen im Fall von Ausbrüchen. Das KL befasst sich auch mit Fragen der Dekontamination und Desinfektion, besonders im Hinblick auf die sehr resistenten Anthraxsporen. In verschiedenen Projekten zur Dekontamination von PSA, Laboren, Gebäuden und Umwelt wurde auch eine Aerosolkammer eingesetzt.

Der Forschungsschwerpunkt des KL liegt im Vergleich von klassischem *B. anthracis* mit *Bacillus cereus* biovar *anthracis*, einem untypischen Milzbranderreger aus Regenwaldregionen Afrikas. Hier wurden Untersuchungen zu Pathogenese, Virulenz und Genregulation, sowie Transkriptom- und Proteomanalysen durchgeführt. In Seroprävalenzstudien konnte eine Exposition der Bevölkerung in den betroffenen Regionen nachgewiesen werden.

Konsiliarlabor für Bartonellen



Univ.-Prof. Dr. med. Volkhard A. J. Kempf

Leitung

Univ.-Prof. Dr. med. Volkhard A. J. Kempf

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaus-
hygiene, Goethe Universität Frankfurt, Universitätsklinikum

Adresse

Paul Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt am Main

E-Mail

volkhard.kempf@kgu.de

Telefon

+49 69 6301-5019 (Sekretariat)

Stellvertretung

Privatdozentin Dr. med. Silke Besier

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaus-
hygiene, Goethe Universität Frankfurt, Universitätsklinikum

Adresse

Paul Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt am Main

E-Mail

silke.besier@kgu.de

Telefon

+49 69 6301-5019 (Sekretariat)

Das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene des Universitätsklinikums Frankfurt am Main beherbergt seit dem Jahre 2009 das „Konsiliarlaboratorium für Bartonellen“. Die Aufgaben des Konsiliarlaboratoriums beinhalten die Untersuchung externer Proben aus Deutschland und den angrenzenden Ländern, die diagnostische und therapeutische Beratung von Ärzten zum Thema „Bartonellen/Bartonellose“ sowie die Weiterentwicklung diagnostischer Verfahren und therapeutischer Möglichkeiten von Bartonella-Infektionen. Darüber hinaus wird grundlagenorientierte Infektionsforschung betrieben.

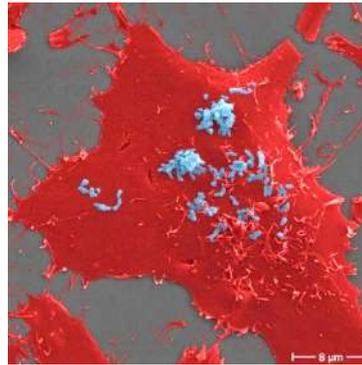
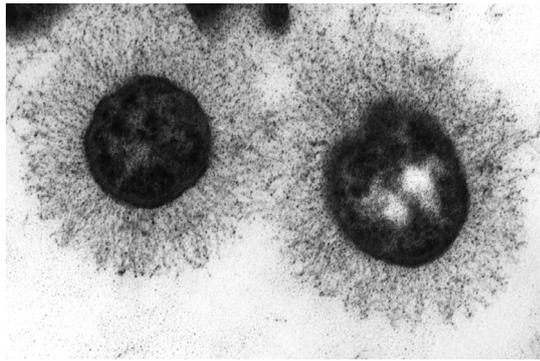
Das Leistungsangebot umfasst Untersuchungen zum Nachweis von spezifischen Antikörpern durch serologische Untersuchungsmethoden (z. B. Immunfluoreszenztest, ELISA, experimentell: Western Blot) sowie konventionelle (Fest- und Flüssignährmedien) und molekulargenetische (PCR-basierte) Erregernachweise. Die mikrobiologische Diagnostik erfolgt unter der Einhaltung höchster Qualitätsstandards (Laborakkreditierung nach DIN ISO 15189:2014 liegt seit dem Jahre 2010 durchgehend vor). Für infektionsserologische Untersuchungen wird Serum als Probenmaterial verwendet, für molekularbiologische Nachweise vorzugsweise Biopsate, Punktate, Liquor, ggf. auch EDTA-Blut. In der

Infektionsdiagnostik kommen sowohl kommerziell verfügbare als auch selbstentwickelte Testverfahren, die allesamt in internationalen Journalen nach einem *peer review* Verfahren publiziert worden sind, zum Einsatz. Aus den wissenschaftlichen Projekten des Konsiliarlaboratoriums sind in der Vergangenheit mehrere Patentanmeldungen sowie Produktentwicklungen hervorgegangen, die entweder kommerziell erhältlich oder deren Details in *open access*-Publikationen verfügbar sind, oder die sich kurz vor Markteinführung befinden. Angaben zu klinischen Bildern von Bartonella-Infektionen, zur Labordiagnostik, Therapie und Prophylaxe wurden in zahlreichen (Lehr-)buchbeiträgen publiziert, ein Werk „Mikrobiologische Qualitätsstandards (MiQ 33): Zoonosen“ wurde im Jahre 2014 publiziert und gibt in einer strukturierten Form eine Übersicht über die Erreger.

Zahlreiche epidemiologische Studien wurden durch das Konsiliarlabor ebenfalls initiiert, hier insbesondere Untersuchungen zur Verbreitung von *B. henselae* in Zecken und Hirschlausfliegen (unter Einsatz klassischer infektionsdiagnostischer Methoden kombiniert mit modernsten molekularbiologisch-bioinformatischen Analysen). Hierzu werden enge Kollaborationen mit wissenschaftlichen Gruppen aus der Veterinärmedizin eingegangen, um den Gedanken des „one health“ – Ansatzes zu fördern. Mehrere seroepidemiologische Studien wurden in Kollaboration durchgeführt, das Konsiliarlabor steht für interessante Projekte als Kooperationspartner gerne zur Verfügung. Gegenwärtige Arbeiten beschäftigen sich mit der Seroprävalenz von anti-*B. schoenbuchensis*-Antikörpern bei Risikokohorten (Waldarbeitern).

Wissenschaftlich beschäftigt sich das Konsiliarlabor mit der Pathogenität der Erreger. Hierbei wurden in der Vergangenheit im wesentlichen folgende Erkenntnisse gewonnen:

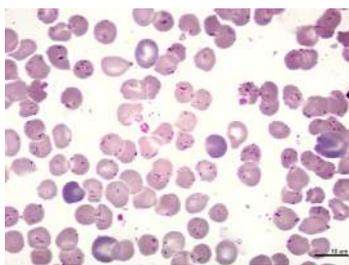
- Das sog. *Bartonella* Adhäsion A (BadA) von *Bartonella henselae* und dessen Homologe stellen wesentliche und konservierte Pathogenitätsfaktoren für die Pathogenität der Erreger dar. BadA als trimeres Adhäsion (3.600 Aminosäuren als Monomer) ist nach wie vor eines der größten funktionell charakterisierten Proteine überhaupt und besteht aus zahlreichen konservierten Unterdomeänen, deren exakten Interaktionen mit menschlichen Proteinen (Fibronectin) auf Aminosäureebene aufgeklärt wurde (Vaca et al., 2022). Dies ist von besonderer Relevanz, da diese Klasse der Adhäsine auch bei zahlreichen anderen humanpathogenen Erregern (z. B. *Acinetobacter baumannii*) vorkommen und sich ganz neue Ansatzpunkte für antimikrobielle Therapien (sog. „anti-Liganden“) ergeben.



Bartonella henselae mit Expression des langen trimeren Autotransporteradhäsin BadA Entnommen aus: [Kaiser PO, Riess T, O'Rourke F, Linke D, Kempf VA. Bartonella spp.: throwing light on uncommon human infections. Int J Med Microbiol. 2011 Jan;301(1):7-15. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.06.004. Epub 2010 Sep 15. PMID: 20833105.]

Mit *B. henselae* (blau) infizierte Endothelzellen (rot, Rasterelektronenmikroskopie). Entnommen aus: [van Belkum A, Almeida C, Bardiaux B, Barras SV, Butcher SJ, Çaykara T, Chowdhury S, Datar R, Eastwood I, Goldman A, Goyal M, Happonen L, Izadi-Pruneyre N, Jacobsen T, Johnson PH, Kempf VAJ, Kiessling A, Bueno JL, Malik A, Malmström J, Meuskens I, Milner PA, Nilges M, Pamme N, Peyman SA, Rodrigues LR, Rodriguez-Mateos P, Sande MG, Silva CJ, Stasiak AC, Stehle T, Thibau A, Vaca DJ, Linke D. Host-Pathogen Adhesion as the Basis of Innovative Diagnostics for Emerging Pathogens. Diagnostics (Basel). 2021 Jul 14;11(7):1259. doi: 10.3390/diagnostics11071259. PMID: 34359341; PMCID: PMC8305138.]

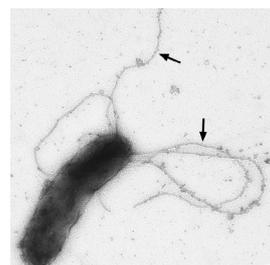
- Infektionen mit Bartonellen führen zu einer zellulären Wirtszellantwort, die der zellulären Reaktion unter Hypoxie gleicht. Diese wird durch den sog. „*hypoxia-inducible factor 1*“ reguliert und nimmt direkten Einfluss auf die angiogenetische Reprogrammierung der infizierten Zellen. Hier stellte sich in der Zwischenzeit heraus, daß es sich um einen konservierten Mechanismus einer Wirtszellantwort handelt, der in nahezu jeder Infektion mit krankmachenden Erregern nachweisbar ist.
- Seit dem Jahre 2017 beforcht das Konsiliarlabor auch die krankmachenden Eigenschaften von *Bartonella bacilliformis*, einer sog. „*neglected tropical disease*“. In Zusammenarbeit mit Partnern aus Lima/Peru und nach zwei Expeditionen ins Hochland Amazoniens wurden einerseits zahlreiche Patientenseren gesammelt und Tests zu deren Analyse entwickelt, andererseits werden die molekularen Grundlagen der Pathogenität dieses hochgradig tödlichen Erregers untersucht.



Blut eines Patienten, der am durch *B. bacilliformis* hervorgerufenen Oroya-Fieber erkrankt ist.



Verruga peruana, die chronische vasculoproliferative Form der Erkrankung.



B. bacilliformis (Elektronenmikroskopie).



Mit *B. bacilliformis* experimentell infizierter menschlicher Erythrozyt (Scanning-Elektronenmikroskopie). Entnommen aus [García-Quintanilla M, Dichter AA, Guerra H, Kempf VAJ. Carrion's disease: more than a neglected disease. Parasit Vectors. 2019 Mar 26;12(1):141. doi: 10.1186/s13071-019-3390-2. PMID: 30909982; PMCID: PMC6434794.]

Wichtige Publikationen

- Thibau A, Vaca DJ, Bagowski M, Hipp K, Bender D, Ballhorn W, Linke D, Kempf VAJ. Adhesion of *Bartonella henselae* to Fibronectin Is Mediated via Repetitive Motifs Present in the Stalk of *Bartonella* Adhesin A. *Microbiol Spectr*. 2022 Oct 26;10(5):e0211722. doi: 10.1128/spectrum.02117-22. Epub 2022 Sep 27. PMID: 36165788; PMCID: PMC9602544.
- Vaca DJ, Thibau A, Leisegang MS, Malmström J, Linke D, Eble JA, Ballhorn W, Schaller M, Happonen L, Kempf VAJ. Interaction of *Bartonella henselae* with Fibronectin Represents the Molecular Basis for Adhesion to Host Cells. *Microbiol Spectr*. 2022 Jun 29;10(3):e0059822. doi: 10.1128/spectrum.00598-22. Epub 2022 Apr 18. PMID: 35435766; PMCID: PMC9241615.
- Dichter AA, Schultze TG, Wenigmann A, Ballhorn W, Latz A, Schlüfter E, Ventosilla P, Guerra Allison H, Ugarte-Gil C, Tsukayama P, Kempf VAJ. Identification of immunodominant *Bartonella bacilliformis* proteins: a combined in-silico and serology approach. *Lancet Microbe*. 2021 Dec;2(12):e685-e694. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00184-1. Epub 2021 Sep 10. PMID: 35544109.
- Regier Y, Komma K, Weigel M, Kraiczky P, Laisi A, Pulliainen AT, Hain T, Kempf VAJ. Combination of microbiome analysis and serodiagnostics to assess the risk of pathogen transmission by ticks to humans and animals in central Germany. *Parasit Vectors*. 2019 Jan 7;12(1):11. doi: 10.1186/s13071-018-3240-7. PMID: 30616666; PMCID: PMC6322329.
- Riess T, Andersson SG, Lupas A, Schaller M, Schäfer A, Kyme P, Martin J, Wälzlein JH, Eehalt U, Lindroos H, Schirle M, Nordheim A, Autenrieth IB, Kempf VA. *Bartonella* adhesin A mediates a proangiogenic host cell response. *J Exp Med*. 2004 Nov 15;200(10):1267-78. doi: 10.1084/jem.20040500. Epub 2004 Nov 8. PMID: 15534369; PMCID: PMC221922.

ABSTRACT 1

Identification of hemolysis-related pathogenicity factors of *Bartonella bacilliformis*

Dichter AA, Ballhorn W, Kempf V (Institute for Medical Microbiology and Infection Control, University Hospital, Goethe University, Frankfurt am Main, Germany)

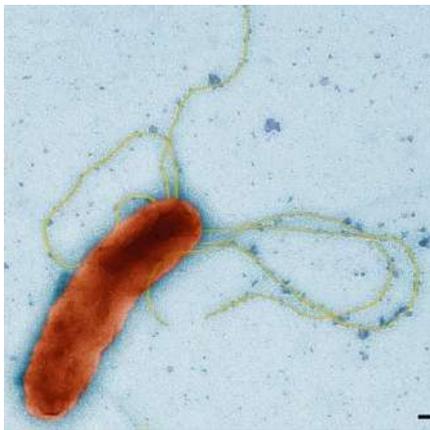
Background: *Bartonella bacilliformis* is the causative agent of Carrion's disease, a vector-borne biphasic illness restricted to the South American Andes. In the acute phase, bacteria infect erythrocytes causing a severe hemolytic anemia with case-fatality rates as high as 90 % in untreated patients. Erythrocyte invasion is the most important step in the pathogenesis of Carrion's disease and results in the destruction of erythrocytes (hemolysis) which is contributing to the high mortality rate in humans. Exact knowledge of these processes is crucial for a therapeutic drug development.

Material & Methods: To identify genes involved in hemolysis, a Tn5 transposon library was generated and screened for hemolytic activity. Hemolysis knock-out mutants were isolated, the affected genes identified and systematically analyzed by loss of function/gain of function experiments. For this, markerless deletion technology was established for *B. bacilliformis* and the generated deletion and complementation mutants were tested for their hemolytic activity in a novel *in vitro* based hemolysis assay using human erythrocytes. Mechanisms of *B. bacilliformis* hemolysis were further elucidated by

testing bacterial culture supernatants and cell lysates. A two-chamber infection model was established to analyze whether direct cell contact is needed to cause hemolysis. Furthermore, a library of active compounds was systematically screened for anti-hemolytic activity.

Results: Two genes were identified that are involved in the process of hemolysis. These mutants demonstrated that the loss of one of the two hemolysis-related genes leads to the complete inhibition of hemolysis whereas the hemolytic activity was restored by plasmid-based complementation. Furthermore, it was demonstrated that hemolysis is a contact-dependent process and no extracellular or secreted compounds are involved. Screening of an inhibitor-library revealed first anti-hemolytic compounds.

Conclusion: Two hemolysis-related genes/proteins have been identified and were functionally characterized. These findings indicate that both factors are essential for the hemolytic activity of *B. bacilliformis*. The identification of an inhibitor would represent an anti-virulence strategy that prevents a key process in the pathogenicity of *B. bacilliformis*.



ABSTRACT 2

Immunofluorescence analysis reveals no increased seroprevalence of anti-*Bartonella schoenbuchensis*-IgG antibodies in German forest workers

Buntrock KN¹, Ballhorn W¹, Podlich H¹, Malmström J², Chowdhury S², Hipp K³, Schaller M⁴, Jurke A⁵, Kempf V¹

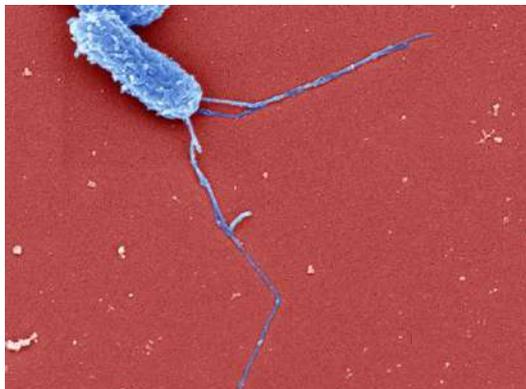
- 1 Institute for Medical Microbiology and Infection Control, University Hospital, Goethe University, Frankfurt am Main, Germany
- 2 Division of Infection Medicine, Lund University, Lund, Sweden
- 3 Electron Microscopy Facility, Max Planck Institute for Developmental Biology, Tübingen, Germany
- 4 Department of Dermatology, Eberhard Karl University of Tübingen, Tübingen, Germany
- 5 Landeszentrum Gesundheit Nordrhein-Westfalen (LZG.NRW), Bochum, Germany

Background: *Bartonella schoenbuchensis* is suspected to cause deer ked dermatitis and febrile diseases in humans. Deer keds (*Lipoptena cervi*) which infest cervids (e.g., roe deer, fallow deer) have been demonstrated to harbour *B. schoenbuchensis* DNA. In terms of a one health perspective, deer keds are discussed as potential vectors for *B. schoenbuchensis*.

Material & Methods: We analysed the seroprevalence of anti-*B. schoenbuchensis*-IgG antibodies in sera of forest workers (FW; $n = 82$) compared to control sera of non-forest workers (NFW; $n = 118$) from North Rhine-Westphalia, Germany. For this purpose, an immunofluorescence assay (IFA) using Vero E6 cells infected with *B. schoenbuchensis* was established, and serum titres were assessed. Immunoblotting using *B. schoenbuchensis* whole cell lysates was performed to identify potential immunodominant target proteins.

Results: Using polyclonal rabbit anti-*B. schoenbuchensis*-IgG, the herein established IFA antigen was technically evaluated. When using human sera, 54.9 % ($n = 45/82$) of FW were tested positive at a titre ≥ 320 whereas IFA reactivity was 66.1 % ($n = 78/118$) in NFW. When the cut-off titre was set to ≥ 640 , then 18,3 % ($n = 15/82$) and 20,3 % ($n = 24/118$) displayed seroreactivity, respectively. In immunoblot analysis, IFA-positive sera reacted with 18 different bands ranging from ca. 40-300 kDa.

Conclusion: Our data do not demonstrate elevated seroprevalence of anti-*B. schoenbuchensis*-IgG titres in FW which are regularly exposed to deer keds. Therefore, FW do not seem to have a higher risk to suffer from *B. schoenbuchensis* infections.



Konsiliarlabor für Bordetellen



Univ.-Prof. Dr.med. Ivo Steinmetz

Leitung

Univ.-Prof. Dr.med. Ivo Steinmetz

Institut

Diagnostik- & Forschungsinstitut für Hygiene,
Mikrobiologie und Umweltmedizin

Adresse

Medizinische Universität Graz
Neue Stiftingtalstraße 6/3, 8010 Graz, Österreich

E-Mail

ivo.steinmetz@medunigraz.at

Telefon

+49 43 316 385-73700

Stellvertretung

Priv.-Doz. Dr.scient.med. Eva Leitner-Meyer

Institut

Diagnostik- & Forschungsinstitut für Hygiene,
Mikrobiologie und Umweltmedizin

Adresse

Neue Stiftingtalstraße 6/3, 8010 Graz, Österreich

E-Mail

ivo.steinmetz@medunigraz.at

Telefon

+49 43 316 385-73714

Infektionen durch Bordetellen

Keuchhusten ist eine durch Tröpfchen übertragene, hochkontagiöse Infektion des Respirationstraktes, die durch das strikt humanpathogene Bakterium *Bordetella pertussis* hervorgerufen wird. Nach anfänglichen erkältungsähnlichen Symptomen kommt es zu den charakteristischen Hustenanfällen, die über mehrere Wochen anhalten können und dann langsam abklingen. Bei kleinen Kindern sind Pneumonien, Krampfanfälle und Enzephalopathien gefürchtete Komplikationen. Infektionen können in jedem Alter vorkommen, wobei insbesondere Säuglinge und Kleinkinder ein höheres Risiko für einen schweren, potentiell tödlichen, Krankheitsverlauf haben. Aufgrund fehlender Auffrischungsimpfungen sind in den letzten Jahren auch vermehrt Infektionen mit *B. pertussis* bei Jugendlichen und Erwachsenen beobachtet worden. Hier kann der klinische Verlauf in Abhängigkeit des Immunstatus sehr unterschiedlich und nicht charakteristisch sein. Dies macht eine Labordiagnostik im Verdachtsfall unabdingbar, um gegebenenfalls gezielt therapieren zu können und Präventivmaßnahmen für Kontaktpersonen zu ergreifen. Man muss davon ausgehen, dass in Europa, aber auch weltweit, und insbesondere in ressourcenarmen Ländern, Keuchhusten unterdiagnostiziert ist.

Neben dem klassischen Keuchhustenerreger *B. pertussis* kann auch die Spezies *Bordetella parapertussis* ein keuchhustenähnliches Krankheitsbild hervorrufen. Auch *Bordetella bronchiseptica* kann, wenn auch seltener, zu Infektionen des Respirationstraktes beim Menschen führen. Sowohl *B. parapertussis* als auch *B. bronchiseptica* haben darüber hinaus Bedeutung in der Veterinärmedizin. Die humanmedizinische Bedeutung weiterer Bordetella-Spezies wie z. B. *B. holmesii* und der primär geflügelpathogenen Spezies wie *B. hinzii* und *B. avium* ist hingegen noch unklar.

Standort und Umfeld des Konsiliarlabors

Das Konsiliarlabor für Bordetellen befindet sich am D&F Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin der Medizinischen Universität Graz und hat im Frühjahr 2020 seine Arbeit aufgenommen. Das Institut hat > 130 Mitarbeiter*innen, darunter > 30 wissenschaftliche Mitarbeiter*innen (Ärzte*innen und Naturwissenschaftler*innen). Am Institut wird die komplette mikrobiologische Labordiagnostik für Patient*innen bei Infektionen durch Bakterien, Viren, Pilze und Parasiten durchgeführt. Der Bereich Infektionsprävention umfasst hygienische Beratungen und die Analyse von Wasser- und Umweltpollen sowie eine Impfabulanz. Die Forschungsaktivitäten des Instituts reichen von der Grundlagenforschung im Bereich der Wirt-Pathogen-Interaktion über Analysen des humanen Mikrobioms und der Ökologie von humanpathogenen Erregern bis hin zur Entwicklung von innovativen diagnostischen Verfahren.

Unser Konsiliarlabor ist in dieses Forschungs- und Diagnostikumfeld mit einem umfassenden Qualitätsmanagementsystem integriert und hat Zugang zu einem breiten Spektrum an aktuellen molekularbiologischen, mikrobiologischen und serologischen Methoden sowie zu hochmodernen Automatisierungstechniken wie der Total Lab Automation (TLA) für kulturelle Verfahren. Forschungsschwerpunkte des Konsiliarlabors sind die Entwicklung von Verfahren zur molekularen Typisierung von *Bordetella* spp. mit Hilfe von neuen Sequenzierungstechnologien, die Weiterentwicklung von kulturbasierten Methoden und die Analyse der Antikörperantwort bei Erkrankung und nach Impfung.

Wir möchten dazu beitragen, den Nachweis von Infektionen im ambulanten und stationären Bereich sowohl durch eine erhöhte Sensibilisierung der behandelnden Ärzt*innen als auch durch einen konsequenten Nachweis des Keuchhustenerregers und anderer *Bordetella*-Spezies weiter zu verbessern. In diesem Kontext führen wir u. a. nach Zusendung von *Bordetella*-PCR-positiven klinischen Materialien die Isolierung der Bakterienstämme mit anschließender Resistenztestung sowie eine Gesamtgenomsequenzierung durch. Wir möchten damit zeitnah mögliche Veränderungen bei Virulenzfaktoren und der Antibiotikaresistenz analysieren und das mögliche Auftreten von Immune Escape-Mutanten frühzeitig erkennen.



Medizinische Universität Graz

Wichtige Publikationen

Wagner GE, Dabernig-Heinz J, Lipp M, Cabal A, Simantzik J, Kohl M, Scheiber M, Lichtenegger S, Ehrlich R, Leitner E, Ruppitsch W, Steinmetz I. Real-Time Nanopore Q20+ Sequencing Enables Extremely Fast and Accurate Core Genome MLST Typing and Democratizes Access to High-Resolution Bacterial Pathogen Surveillance. *J Clin Microbiol* 2023 Apr 20; 61(4): e0163122 | DOI 10.1128/jcm.01631-22.

Schönfeld V, Heining U, Littmann M, Steinmetz I, Matysiak-Klose D: Aktuelle Epidemiologie von *Bordetella parapertussis* Infektionen in Deutschland. *Epid Bull* 2023;33:3-14 | DOI 10.25646/11681.

Cabal A, Schmid D, Hell M, Chakeri A, Mustafa-Korninger E, Wojna A, Stöger A, Möst J, Leitner E, Hyden P, Rattei T, Habington A, Wiedermann U, Allerberger F, Ruppitsch W. Isolate-Based Surveillance of *Bordetella pertussis*, Austria, 2018–2020. *Emerg Infect Dis* 2021 Mar; 27(3): 862–871 | DOI 10.3201/eid2703.202314.

ABSTRACT

Nanopore-Sequencing-basierte molekulare Typisierung von *Bordetella pertussis*-Stämmen und deren optimierte Isolierung aus klinischen Proben

Wagner G, Klugherz I, Luxner J, Lipp M, Kleinhapfl B, Leitner E, Steinmetz I

Für ein hochauflösendes molekulares Monitoring bakterieller Krankheitserreger ist die Sequenzierung des gesamten Genoms mittels Next-Generation-Sequencing-Methoden unerlässlich. Es bildet die Grundlage, um die Diversität und Evolution der zirkulierenden Stämme zu erfassen und damit Einblicke in deren (biologische) Eigenschaften, aber auch Übertragungswege und Verbreitung zu erhalten. Im Falle des hochinfektiösen Keuchhustenerregers *Bordetella pertussis* dient es der schnellen Aufklärung von Ausbrüchen bzw. der Analyse von Resistenzmarkern und Varianten, die den Impfschutz umgehen, da in letzter Zeit vermehrt über Makrolidresistenzen und Vakzinefluchtmutationen berichtet wird.

Die derzeitigen Engpässe im Bereich der Sequenzierungskapazitäten und Bioinformatik sowie die lange Laufzeit zum Ergebnis bei Standardmethoden für Sequenzierungen erfordern jedoch neue Ansätze. Die Nanopore-Sequenzierung mit ihren Vorteilen wie geringe Anschaffungskosten, kleine Gerätegröße, Mobilität und Echtzeitverfügbarkeit der Daten eröffnet hier ungeahnte Möglichkeiten. Im Rahmen einer Studie haben wir untersucht, ob sich Nanopore-Sequenzierung aufgrund der kürzlich veröffentlichten Q20-Chemie und der damit verbundenen drastischen Reduktion von Sequenzierfehlern in Kombination mit der Kerngenom-Multilocus-Sequenztypisierung (cgMLST) als standardisierte und leicht zugängliche hochauflösende Typisierungsmethode eignet.

Unsere Ergebnisse mit *B. pertussis* zeigen, dass die erhöhte Genauigkeit der Rohdaten die Beschreibung epidemiologischer Szenarien, das Variantenmonitoring (Impfstoffantigene, Resistenzgene und Virulenzfaktoren) und phylogenetische Analysen auf Goldstandard Short-Read-Level ermöglicht. Derzeit evaluieren wir in einem Ringversuch mit 4 verschiedenen bakteriellen Spezies, ob diese Beobachtungen umfassend bestätigt werden können und in welchem Umfang Reproduzierbarkeit und Stabilität gegeben sind. Die Ergebnisse werden zeigen, ob die Nanopore-Sequenzierung ein legitimes Konkurrenzverfahren im Bereich der hochauflösenden bakteriellen Typisierung (NGS) ist.

Um die Sequenzierung durchführen zu können, ist zunächst die Kultivierung des Erregers notwendig. Die in der Routinediagnostik des Keuchhustens im Vergleich zur Kultur deutlich höhere Sensitivität von PCR-Verfahren hat jedoch dazu geführt, dass in diagnostischen Laboren häufig keine Anstrengungen mehr unternommen werden, *Bordetella*-Stämme zu isolieren bzw. Kulturverfahren gar nicht mehr vorgehalten werden. Dies hat zur Folge, dass immer weniger Isolate für eine molekulare Typisierung zur Verfügung stehen. Wir haben daher begonnen, zum Teil Jahrzehnte alte Kulturmethoden weiterzuentwickeln und setzen solche Verfahren erfolgreich für die Isolierung von *Bordetella*-Stämmen aus PCR-positiven Primärproben ein.

Konsiliarlabor für Bornaviren



Prof. Dr. med. Dennis Tappe

Leitung

Prof. Dr. med. Dennis Tappe

Institut

Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin

Adresse

Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

E-Mail

tappe@bniitm.de

Telefon

+49 40 285380-499

Das NRZ für tropische Infektionserreger ist schon seit vielen Jahren am Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin in Hamburg angesiedelt. Es entwickelt und nutzt besondere diagnostische Verfahren für tropentypische und ungewöhnliche Krankheitserreger und leistet eine hochspezialisierte serologische, molekularbiologische, mikroskopische und zellkulturbasierte Diagnostik. Schwerpunkte sind neben der Diagnostik parasitärer Infektionen (Protozoen-, Helminthen-, Pentastomiden-Erkrankungen, Myiasis), Arthropoden-übertragene bakterielle Infektionen (u. a. Rickettsiosen, Scrub typhus), Arbovirosen (u. a. Dengue-Fieber, Zika-Fieber, Westnil-Fieber) und hämorrhagische Fieber durch Filo- und Lassaviren.

Des Weiteren werden entsprechende Erreger in Arthropoden untersucht und menschliche Gewebe mikroskopisch-histologisch untersucht, so dass in Einzelfällen und Ausbrüchen eine ganze Palette von Untersuchungsmethoden vom Vektor/Reservoir bis hin zum menschlichen Gewebe zur Verfügung stehen. Hierbei werden auch Feintypisierungen von Pathogenen mittels PCR und/oder NGS

durchgeführt und regionale Cluster-Zuordnungen angestrebt. Das NRZ ist entsprechend aktiv in Surveillance-Projekte und in Ausbruchsuntersuchungen eingebunden. Viele unserer Tests sind selbst hergestellte Verfahren (Serologie, PCR), die auf im Hause kultivierten Erregern und der Erfahrung vieler Arbeitsgruppen beruhen.

Da wir eine sehr große Bandbreite an Diagnostik für die verschiedensten Erreger anbieten, sind für Differenzialdiagnosen möglichst genaue Angaben zu Herkunftsland, Reiseroute, Symptomatik, Begleiterkrankungen, Vorbefunde incl. Impfungen, etc. erforderlich. Gerade in Zeiten verstärkter Migration und des immer offensichtlicher werdenden Klimawandels zeigen sich importierte Infektionen, die Klinikern und Diagnostikern immer neue Herausforderungen bieten. Invasive Arten, so z. B. Steckmücken und Zecken, stellen zudem ein zunehmendes Risiko für die Etablierung lokaler Infektionsherde durch Arboviren und –Bakterien in Deutschland dar.

Wichtige Publikationen

- Peters L, Jiang W, Eberhardt N, Hagemann JB, Grüner B, Tappe D. 18FDG-PET/CT-Scans and Biomarker Levels Predicting Clinical Outcome in Patients with Alveolar Echinococcosis-A Single-Center Cohort Study with 179 Patients. *Pathogens*. 2023 Aug 14;12(8):1041.
- Rauch J, Jochum J, Eisermann P, Gisbrecht J, Völker K, Hunstig F, Mehlhoop U, Muntau B, Tappe D. Inflammatory cytokine profile and T cell responses in African tick bite fever patients. *Med Microbiol Immunol*. 2022 Jun;211(2-3):143-152.
- Tappe D, Pérez-Girón JV, Gómez-Medina S, Günther S, Muñoz-Fontela C, Schmidt-Chanasit J. Increased Proinflammatory Cytokine Levels in Prolonged Arthralgia in Ross River Virus Infection. *Emerg Infect Dis*. 2017 Apr;23(4):702-704.
- Tappe D, Sulyok M, Riu T, Rózsa L, Bodó I, Schoen C, Muntau B, Babocsay G, Hardi R. Co-infections in Visceral Pentastomiasis, Democratic Republic of the Congo. *Emerg Infect Dis*. 2016 Aug;22(8):1333-9.
- Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, Soropogui B, Sow MS, Keita S, De Clerck H, Tiffany A, Dominguez G, Loua M, Traoré A, Kolié M, Malano ER, Heleze E, Bocquin A, Mély S, Raoul H, Caro V, Cadar D, Gabriel M, Pahlmann M, Tappe D, Schmidt-Chanasit J, Impouma B, Diallo AK, Formenty P, Van Herp M, Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med*. 2014 Oct 9;371(15):1418-25.

ABSTRACT

Bornaviren in Deutschland – Erreger schwerster Enzephalitiden

Tappe D

Das 2023 neu etablierte KL für Bornaviren widmet sich den zoonotischen Erregern schwerster und meist letal verlaufender Gehirnentzündungen – dem mit importierten exotischen Baumhörnchen assoziierten „Variegated Squirrel Bornavirus 1“ (VSBV-1) und dem lokal in Deutschland vorkommenden und von Spitzmäusen ausgeschiedenen „Borna Disease Virus 1“ (BoDV-1). Beide Viren sind nah

verwandt und verursachen ein klinisch, laborchemisch, radiologisch und histopathologisch sehr ähnliches und mittlerweile z.T. gut charakterisiertes Krankheitsbild, für welches es keine etablierte Therapie oder Prophylaxe gibt. Während in Deutschland nur 5 gesicherte und 2 wahrscheinliche menschliche VSBV-1-Infektionen bekannt sind, beläuft sich die Zahl an BoDV-1-Fällen auf fast 50. Seit wenigen Jahren besteht eine Meldepflicht. Beide Viren haben entsprechend ihres natürlichen Reservoirs eine andere Epidemiologie, die Übertragungswege sind jedoch nicht gesichert. Risikofaktoren sind Kontakt zu exotischen Hörnchen für VSBV-1- und Leben in ländlichen Endemiegebieten am Rande einer Siedlung oder inmitten von Feldern für BoDV-1-Enzephalitiden. Der Vortrag gibt einen kurzen Überblick über den derzeitigen Kenntnisstand.

Konsiliarlabor für *Brucella*

Leitung

Medizinaldirektorin Dr. med. Sabine Zange (geb. Schmoldt)

Institut

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr

Adresse

Neuherbergstr. 11, 80937 München

E-Mail

sabinezange@bundeswehr.org

Telefon

+49 89 992692-3808

Stellvertretung

Flottillenarzt Enrico Mantel (geb. Georgi)

Institut

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr

Adresse

Neuherbergstr. 11, 80937 München

E-Mail

instmikrobiobwzbd@bundeswehr.org

Telefon

+49 89 992692-3985 (Probenabnahme)

+49 151 12640991 (ärztl. Bereitschaftspersonal)

Das Konsiliarlabor für *Brucella* am Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr

Zange S, Mantel E, Antwerpen M, Dematheis F, Wölfel R

Das Konsiliarlabor (KL) für *Brucella* befindet sich seit 2010 am Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr, der für den Medizinischen B-Schutz zuständigen Ressortforschungseinrichtung der Bundeswehr. Die *Brucella*-spezifische Diagnostik und Beratung wird im Zentralbereich Diagnostik angeboten, einer nach DIN EN ISO 15189 akkreditierten Abteilung für die Spezialdiagnostik von hochpathogenen bakteriellen und viralen Infektionserregern. Der Zentralbereich Diagnostik arbeitet auf dem Gebiet der Brucellose interdisziplinär eng mit dem Funktionsbereich Mikrobielle Genomik und Bioinformatik und der Fachgruppe Brucellose des Institutes zusammen.

Das Institut verfügt über eine alle derzeit beschriebenen *Brucella* spp. bzw. deren Biovare umfassende Stammsammlung mit klinischen Isolaten aus aller Welt. Die kontinuierliche Genomsequenzierung aller klinischen Isolate erfolgt mit Vollgenom-basierten Typisierungsdatenbanken unter akkreditierten Bedingungen.

Unter der neuen Leitung des KL-Labors wurden seit 2022 in der Weiterentwicklung von Diagnostikverfahren neue Schwerpunkte gesetzt ausgerichtet sowie neue Forschungsprojekte initiiert:

- Aufnahme von *Brucella melitensis* in die EUCAST Grenzwerttabellen,
- Entwicklung von Therapierichtlinien (z. B. bei Prothesen-Infektionen),
- Anpassung der IfSG §7 Meldepflicht bei Nachweis von *Ochrobactrum* vs. *Brucella* spp.,
- Weiterentwicklung der molekularen Diagnostik aller klinisch relevanten *Brucella* spp.,
- Charakterisierung der verschiedenen *Brucella* spp. mittels Proteomanalyse.

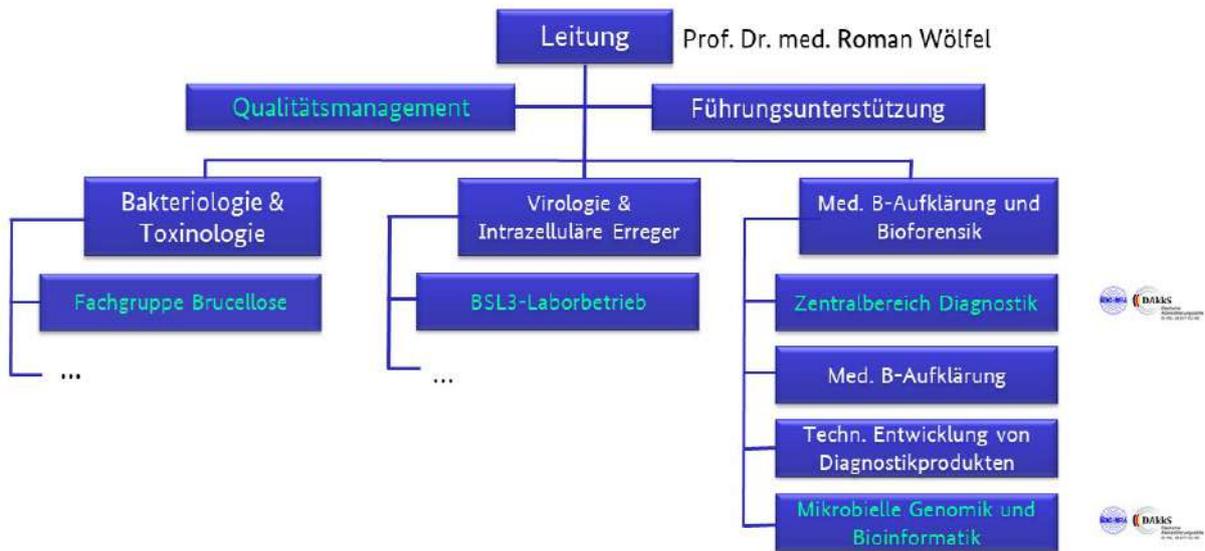
Die langjährige internationale Vernetzung in nationalen und EU-geförderten Forschungsnetzwerken, wird durch die neue KL-Leitung fortgeführt. Hierbei stehen der Erfahrungsaustausch sowie Transfer

von Methoden und Expertise zwischen den Speziallaboratorien für hochpathogene Infektionserreger im Vordergrund.

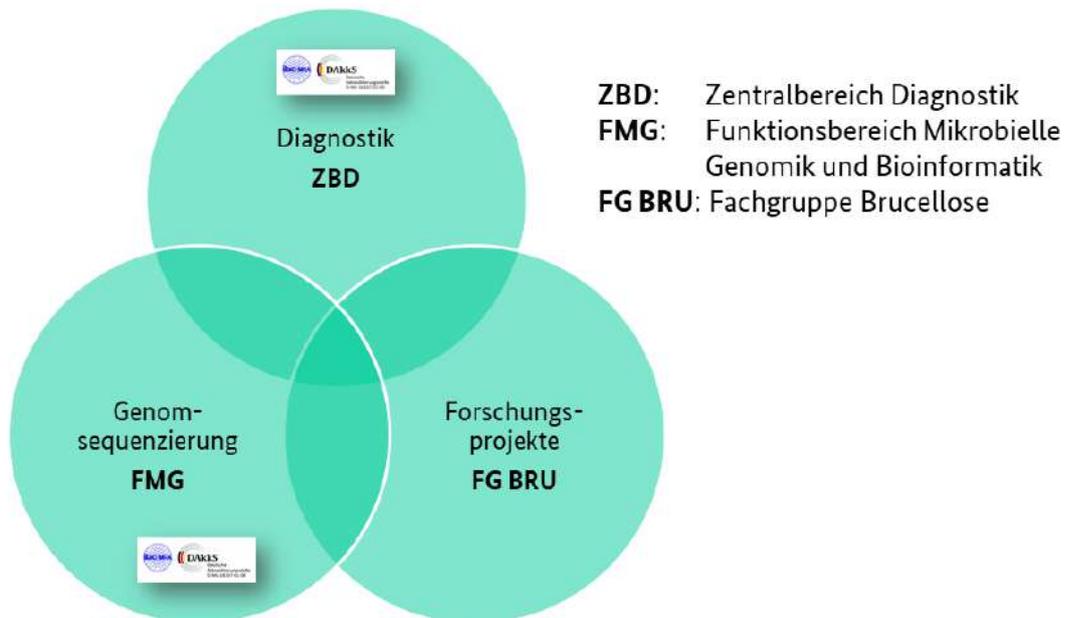
Mit seinen Kompetenzen dient das Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr als erster Ansprechpartner in der Laborlandschaft in Deutschland zur Bestätigung einer Brucellose. Neben der Therapieberatung gehört zu jedem bestätigten Brucellose-Fall auch eine Beratung der Einsender, der zuständigen Betriebsärzte bzw. des ÖGD zu Fragen der Hygiene und des Umgangs mit Personal nach Exposition gegenüber *Brucella* spp., zur Probenahme, zum Probentransport und zu Versandbedingungen für Einsendungen von Diagnostikproben.



Das Diagnostikteam des KL für Brucella bei der Arbeit im Labor der Schutzstufe 3.



Auszug aus dem Organigramm des Instituts für Mikrobiologie der Bundeswehr



Eine schematische Darstellung der Zusammenarbeit zwischen den Fachgebieten.

Wichtige Publikationen

- Dematheis F, Walter MC, Lang D, Antwerpen M, Scholz HC, Pfalzgraf MT, Mantel E, Hinz C, Wölfel R, Zange S. Machine Learning Algorithms for Classification of MALDI-TOF MS Spectra from Phylogenetically Closely Related Species *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* and *Brucella suis*. *Microorganisms*. 2022 Aug 17;10(8):1658. doi: 10.3390/microorganisms10081658
- Tscherne A, Mantel E, Boskani T, Budniak S, Elschner M, Fasanella A, Feruglio SL, Galante D, Giske CG, Grunow R, Henczko J, Hinz C, Iwaniak W, Jacob D, Kedrak-Jablonska A, Jensen VK, Johansen TB, Kahlmeter G, Manzulli V, Matuschek E, Melzer F, Nuncio MS, Papaparaskevas J, Pelerito A, Solheim M, Thomann S, Tsakris A, Wahab T, Weiner M, Zoeller L and Zange S. Adaptation of *Brucella melitensis* Antimicrobial Susceptibility Testing to the ISO 20776 Standard and Validation of the Method. *Microorganisms*. 2022 Jul 20;10(7):1470. doi: 10.3390/microorganisms10071470
- Georgi E, Walter MC, Pfalzgraf MT, Northoff BH, Holdt LM, Scholz HC, Zoeller L, Zange S, Antwerpen MH. Whole genome sequencing of *Brucella melitensis* isolated from 57 patients in Germany reveals high diversity in strains from Middle East. *PLoS One*. 2017 Apr 7;12(4):e0175425. doi: 10.1371/journal.pone.0175425
- Zange S, Schneider K, Georgi E, Scholz HC, Antwerpen MH, Walter MC, Zoeller L, von Butt-lar H, Borde JP. A headache with surprising outcome: first case of brucellosis caused by *Brucella suis* biovar 1 in Germany. *Infection*. 2019 May 9. doi: 10.1007/s15010-019-01312-7
- Zange S, Scholz HC. Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals, Chapter: Brucellosis. Springer International Publishing. 2022. doi: 10.1007/978-3-030-85877-3_63-1



ABSTRACT

Europäische Multicenter-Studie zur Bestimmung von Epidemiological Cut-Off Values (ECOFFs) für *Brucella melitensis* unter Leitung des Konsiliarlabors für Brucella

Zange S¹, Papaparaskevas J², Matuschek E³, Wahab T⁴, Fröding I⁴, Mori M⁵, Klausmark Jensen V⁶, Johansen TB⁶, Solheim M⁶, Melzer F⁷, Elschner MC⁷, Manzulli V⁸, Galante D⁸, Mantel E¹, Grunow R⁹, Kahlmeter G³, Jacob D⁹, Dematheis F¹

- 1 Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr, Konsiliarlabor für Brucella, München, Deutschland
- 2 National and Kapodistrian University of Athens, Medical School, Microbiology Department, Athen, Griechenland
- 3 EUCAST Development Laboratory, Växjö, Schweden
- 4 Public Health Agency of Sweden, Stockholm, Schweden
- 5 Belgian institute for health, Sciensano, Bacterial zoonoses unit, Veterinary bacteriology, Brüssel, Belgien
- 6 Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norwegen
- 7 Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen, Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Jena, Germany
- 8 Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italien
- 9 Robert Koch Institut, Zentrum für Biologische Gefahren & Spezielle Pathogene, Hochpathogene mikrobielle Erreger (ZBS 2), Berlin, Deutschland

Einleitung: *Brucella (B.) melitensis*, der Erreger der Brucellose, ist ein Zoonoseerreger, der jährlich weltweit etwa 500.000 Erkrankungen beim Menschen verursacht. *B. melitensis* ist endemisch im Mittelmeerraum, im Nahen Osten, in Teilen Mittel- und Südamerikas, Afrikas und Asiens. Nach Deutschland werden ca. 30 – 35 Fälle pro Jahr importiert. Die Brucellose ist mit einem hohen Chronifizierungs- und Rückfallrisiko verbunden und erfordert daher eine langwierige antimikrobielle Kombinationstherapie. Antibiotikaresistenzen bei *B. melitensis* sind selten. Es sind jedoch Resistenzvermittelnde Mutationen beschrieben; z. B. im *rpoB*, welche zu einer phänotypischen Resistenz gegen Rifampicin führen. Für die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung von *B. melitensis* liegen bisher keine Standards vor und der Erreger ist nicht in den EUCAST-Breakpoint-Tabellen aufgeführt. Das Ziel einer von der EU geförderten Multicenter-Studie war daher die minimale Hemmkonzentrationen (MHK) und die Hemmhofdurchmesser-Verteilungen von Wildtypstämmen (WT) unterschiedlicher Herkunft mit einer Referenzmethode zu ermitteln und Epidemiological Cut-Off Values (ECOFFs) für *B. melitensis* festzulegen. Das Konsiliarlabor (KL) für Brucella hat dabei die Leitung der Studie übernommen.

Materialien/Methoden: Im Rahmen der von der EU finanzierten Joint Action Strengthened International Health Regulations & Preparedness in the EU (SHARP) wurden 499 *B. melitensis* Isolate (20 bis 247 pro Zentrum) humanen und tierischen Ursprungs gegenüber neun antimikrobiellen Substanzen mittels Agardiffusion (AD) und Bouillon-Mikrodilution (BMD) getestet. Jedes Zentrum (n = 6) hat die Methoden zuvor mit Referenzstämmen validiert und die Ergebnisse mit den EUCAST-QC-Tabellen abgeglichen. Die BMD wurde gemäß ISO 20776-1 durchgeführt, jedoch mit verlängerter Inkubation, wie für *B. melitensis* beschrieben (Tscherne et al. 2022). Für die AD wurde EUCAST Mueller-Hinton-Fastidious-Agar verwendet. Die Daten wurden über das KL für Brucella an EUCAST übermittelt und die aggregierten Ergebnisse gemäß EUCAST SOP 10.2 ausgewertet.

Materialien/Methoden: Für jede der untersuchten Substanzen konnten ECOFFs definiert werden. Der Großteil der Isolate zeigte einen Wildtyp-Phänotyp. Bei fünf Substanzen traten vereinzelt leicht erhöhte MHK-Werte auf.

Schlussfolgerungen: Die ermittelten ECOFFs können nun zur Unterscheidung zwischen *B. melitensis* WT- und Nicht-WT-Stämmen verwendet werden. Zusammen mit klinischen Daten dienen sie als Grundlage zur Festlegung der klinischen Grenzwerte (Breakpoints) und deren Hemmhofdurchmesser-Korrelaten.

Konsiliarlabor für Chlamydien



Prof. Dr. Bettina Löffler



Dr. Michael Baier

Leitung

Prof. Dr. Bettina Löffler

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Universitätsklinikum Jena

Adresse

Am Klinikum 1, 07747 Jena

E-Mail

bettina.loeffler@med.uni-jena.de

Telefon

+49 3641 9393-500/-626

Stellvertretung

Dr. Michael Baier

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Universitätsklinikum Jena

Adresse

Am Klinikum 1, 07747 Jena

E-Mail

michael.baier@med.uni-jena.de

Telefon

+49 3641 9393-613

Das Institut für Medizinische Mikrobiologie am Universitätsklinikums Jena hält für das angeschlossene Klinikum und zahlreiche externe Einsender ein modernes methodisches Spektrum für die gesamte Breite der mikrobiologischen Diagnostik bereit. Es werden am Institut Proben im Rahmen der bakteriologischen, virologischen, mykologischen, parasitologischen, serologischen und krankenhaushygienischen Akutdiagnostik für die unmittelbare Krankenversorgung sowie zur Prävention von Infektionen und nosokomialen Ausbrüchen bearbeitet. Das Institut verfügt mit insgesamt ca. 70 akademischen und technischen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern über hochqualifiziertes und motiviertes Personal zur Bewältigung der Aufgaben in Routinediagnostik, Forschung und Lehre. Dem Institut steht in einem 2008 bezogenen interdisziplinären Laborneubau eine moderne Infrastruktur und eine zeitgemäße technische Geräteausstattung zur Verfügung. Neben den Standardlaboratorien und den Forschungsflächen auf S2-Niveau wird auch ein Sicherheitslabor der Stufe L3 für die Bearbeitung hochkontagiöser Erreger benutzt. Das Institut ist durch die Deutsche Akkreditierungsstelle (DAkKS) nach ISO 15189 und ISO 17025 akkreditiert.

Am Institut sind zahlreiche Arbeitsgruppen auf diversen Forschungsfeldern z. B. zu Grundlagen bakterieller Pathogenese, zu Modellen für virale Infektionen und zu klinisch-diagnostisch orientierter Forschung aktiv. Das Institut ist eingebunden in diverse regionale und überregionale Forschungsnetzwerke und Verbünde.

Darüber hinaus beteiligt sich das Institut aktiv an der universitären Lehre für Studierende der Humanmedizin, Zahnmedizin und Biologie sowie an weiteren an der Universität, Fachhochschule und von anderen lokalen Partnern angebotenen technischen und akademischen Ausbildungsgängen.

Das Institut nimmt bereits seit vielen Jahre die Funktion eines vom RKI bestellten Konsiliarlabors für Chlamydieninfektionen des Menschen wahr. Das Labor verfügt damit über langjährige diagnostische Erfahrungen im Nachweis von Chlamydien in diversem Patientenmaterial und beherrscht ein reiches Spektrum an direkten und indirekten Nachweismethoden (z. B. NAAT, Anzucht in Zellkultursystemen, Typisierung, weiterhin serologische Methoden zum Nachweis spezifischer Antikörper der Klassen IgG, IgA und IgM mittels Mikroimmunfluoreszenz und Immunoblot).

Zu den Aufgaben des Konsiliarlabors gehört zum einen die landesweite Beratung von Fachkolleginnen und -kollegen in Kliniken, Praxen, Laboren und Institutionen zu Diagnostik und Therapie von Infektionen mit *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* und *C. psittaci*. Einen breiten Raum nimmt in diesem Zusammenhang auch die Beantwortung von Anfragen betroffener Patientinnen und Patienten ein. Weiterhin realisiert das Labor die Typisierung eingesandter klinischer Isolate von *C. trachomatis* u. a. zum Aufdecken von Infektketten. Das Institut ist an der Herstellung und dem Vertrieb von Chlamydien-Antigenen, auch zur Anwendung bei nationalen Ringversuchen, beteiligt und nimmt selbst an Ringversuchen als Sollwertlabor für die Erstellung von Referenzwerten im Rahmen der externen Qualitätskontrolle für die Chlamydiendiagnostik teil. Darüber hinaus werden mit diversen Laboren im Bundesgebiet individuelle Programme zur externen Qualitätssicherung im Sinne von Laborvergleichen insbesondere für den direkten und indirekten Nachweis von *C. psittaci* und *C. trachomatis* durchgeführt. Das Konsiliarlabor organisiert die Durchführung klinischer Studien für serologische bzw. molekularbiologische Assays kommerzieller Anbieter und begleitet die Produktentwicklung von diagnostischen Systemen. Das Konsiliarlabor ist an der Ausarbeitung zu Empfehlungen und Leitlinien beteiligt. Die am Institut vorhandene Stammsammlung und die Serumbank wird durch klinisch definierte Serum- und Nativproben kontinuierlich weiter ausgebaut.



Teamfoto: Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am Universitätsklinikum Jena

Wichtige Publikationen

- Gassowski, M., C. Poethko-Muller, M. Schlaud, A. Sailer, K. Dehmel, V. Bremer, S. Dudareva, K. Jansen and t. Chlamydia trachomatis laboratory sentinel (2022). "Prevalence of Chlamydia trachomatis in the general population in Germany – a triangulation of data from two population-based health surveys and a laboratory sentinel system." *BMC Public Health* 22(1): 1107.
- Meyer, T., J. Eberle, R. S. Ross, C. G. Schuttler, M. Baier, S. Buder, P. K. Kohl, D. Munstermann, H. J. Hagedorn, S. Nick, K. Jansen, V. Bremer, M. Mau and N. H. Brockmeyer (2020). "[Rapid diagnosis of sexually transmitted infections: Joint statement of DSTIG, RKI, and PEI, as well as the reference centers for HIV, HBV, and HCV and consulting laboratories for Chlamydia, gonococci, and Treponema pallidum]." *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 63(10): 1271-1286.
- Hagel, S., S. Schmitt, M. Kesselmeier, M. Baier, T. Welte, S. Ewig and M. W. Pletz (2019). "M. pneumoniae and C. pneumoniae are no relevant pathogens in critically ill patients with hospital-acquired respiratory tract infections." *Infection* 47(3): 471-474.
- Wendt, N., J. Tittelbach, M.-O. Grimm, C. Scheungraber, B. Löffler, M. Baier and M. Karrasch (2019). "Prospective evaluation study on the benefit of the simultaneous detection of seven sexually transmitted pathogens for the clinical management of patients suffering from sexually transmitted diseases." *Journal of Laboratory Medicine* 43(1): 13-20.

Lang, A. S., M. An der Heiden, K. Jansen, A. Sailer, V. Bremer, S. Dudareva and t. Chlamydia trachomatis laboratory sentinel (2018). "Not again! Effect of previous test results, age group and reason for testing on (re-)infection with Chlamydia trachomatis in Germany." BMC Infect Dis 18(1): 424.

ABSTRACT

Vorstellung des Konsiliarlabors für Chlamydien

Baier M, Haschke B, Löffler B

Am Konsiliarlabor für Chlamydien am Institut für Medizinische Mikrobiologie am Universitätsklinikum Jena wurden in den letzten 6 Jahren insgesamt 14.644 Proben bearbeitet. Für den Nachweis von spezifischen Genomsequenzen von *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* und *C. psittaci* und zur Typisierung von *C. trachomatis*-Isolaten kommen NAAT-Methoden und Sequenzierungstechniken zur Anwendung. Spezifische Antikörper der Klassen IgG, IgA und IgM werden mittels Mikroimmunfluoreszenz (MIF) bzw. Immunoblot speziesspezifisch bestimmt. Dieses Verfahren sichert das Erkennen und adäquate Bewerten von Kreuzreaktivitäten innerhalb der Gattung. Seit 2017 wurden 7.412 Seren untersucht, davon 876 im MIF-Verfahren. Molekularbiologische Nachweise für *C. trachomatis* wurden in 5.343 Proben realisiert und 168 Genotypisierungen vorgenommen. 1.649 insbesondere respiratorische Proben wurden auf *C. pneumoniae* untersucht, weitere 722 auf *C. psittaci*. Die am Konsiliarlabor bearbeiteten Materialien stammen von Kliniken, Praxen und Institutionen des öffentlichen Gesundheitsdienstes – insgesamt 220 externe Einsender – aus dem gesamten Bundesgebiet.

Im Rahmen der externen Qualitätssicherung (QS) beteiligt sich das Konsiliarlabor für Chlamydien an der Herstellung, Konfektionierung und Prüfung von Referenzproben für die u. a. vom Instand e.V. vertriebenen Kontrollmaterialien und organisiert individuelle Programme der externen QS im Sinne von Laborvergleichen. Außerdem werden definierte Referenzproben für Kalibrierungen und Validierungen mit deklariertem IFU-Gehalt von z. B. bestimmten Genotypen von *C. trachomatis* auf Anfrage bereitgestellt. Klinisch definierte Serum- und Nativproben dienen dem weiteren Ausbau der am Konsiliarlabor für Chlamydien bestehenden Stammsammlung und der Serumbank.

Die vom Konsiliarlabor angebotene Beratung wird von Fachkolleginnen und -kollegen in den Kliniken und Niederlassungen, von Partnerlaboren, Institutionen und insbesondere Patientinnen und Patienten intensiv genutzt.

Im Forschungskontext legt das Konsiliarlabor für Chlamydien einen Schwerpunkt auf die Verbesserung der Aussagekraft diagnostischer Methoden, um das klinische Management von urogenitalen Chlamydieninfektionen zu optimieren. In Kooperation mit Herstellern wird an der Qualifizierung und Weiterentwicklung von insbesondere serologischen Testsystemen bzw. von einfachen Methoden zur Genotypisierung von *C. trachomatis* gearbeitet. Das Konsiliarlabor beteiligt sich an der Ausarbeitung von Leitlinien und Empfehlungen.

Konsiliarlabor für *Coxiella burnetii*

Leitung

Prof. Dr. Silke F. Fischer

Institut

Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg

Adresse

Nordbahnhofstr. 135, 70191 Stuttgart

E-Mail

silke.fischer@sm.bwl.de

Telefon

+49 711 25859301

Das Konsiliarlabor für *Coxiella burnetii* bietet ein breites Spektrum an diagnostischen Untersuchungen und medizinischen Beratungen bei Q-Fieber-Erkrankungen an. Durch die Konsiliartätigkeiten, Beteiligung an Seroprävalenzstudien und die Aufklärung zahlreicher Q-Fieber-Ausbrüche/Häufungen in Deutschland werden zahlreiche Proben labordiagnostisch aufgearbeitet und weitere Kontrolluntersuchungen angeboten. Sowohl bei epidemiologischen Fragestellungen als auch bei diagnostischen Untersuchungen unterstützt das Konsiliarlabor für *Coxiella burnetii* den öffentlichen Gesundheitsdienst. Bei Ausbruchsgeschehen hervorgerufen durch *Coxiella burnetii* wird das Konsiliarlabor national einbezogen und kooperiert eng mit dem öffentlichen Gesundheitsdienst. Ein weiterer Fokus des Konsiliarlabors für *Coxiella burnetii* ist es, neue molekularbiologische und serologische Methoden auf *Coxiella burnetii* zu etablieren, zu validieren und zu präsentieren. Auch die Qualitätssicherung dieser Diagnostikmethoden stellt einen wesentlichen Fokus unserer Arbeit dar: im Rahmen der Qualitätssicherung werden Leitfäden für die *Coxiella burnetii*-Diagnostik erstellt und die Befundinterpretation und Therapieempfehlungen weiterentwickelt. Des Weiteren werden andere diagnostische Einrichtungen bei Anfragen im Hinblick auf die *Coxiella burnetii*-Diagnostik beraten und unterstützt. Gegebenenfalls werden diesen Referenzmaterial zur Verfügung gestellt. Zusätzlich sollen Testsysteme gemeinsam mit der Veterinärmedizin für das Tier ausgebaut werden.

Folgende Untersuchungen werden derzeit im Konsiliarlabor für *Coxiella burnetii* bereitgestellt und weiterentwickelt:

Klinik und Diagnostik

- Abklärung akuter und chronischer Q-Fieber-Infektionen durch Antikörpernachweis (IgG, IgM, IgA) gegen Phase I- und Phase II-Antigene mittels serologischer Verfahren (ELISA und indirekter Immunfluoreszenztest) aus humanen Seren.
- Molekularbiologischer Nachweis von *Coxiella burnetii* aus humanen Untersuchungsproben mittels PCR (Serum, native und paraffinierte Gewebeproben).
- Serologische Verlaufskontrollen bei einer chronischen Q-Fieber-Infektion.
- Möglichkeit der Anzucht klinischer Isolate von *Coxiella burnetii*.

Beratung und Infektionsprävention

- Telefonische Beratung bei Q-Fieber in Bezug auf Klinik, Diagnostik und Therapie.
- Hinweise zu Anforderungen an das Untersuchungsmaterial.
- Maßnahmen bei hygienischen Fragestellungen bei Q-Fieber-Patienten.
- Unterstützung bei Q-Fieber-Ausbrüchen in Zusammenarbeit mit der Veterinärmedizin.
- Erstellung eines Q-Fieber-Leitfadens in Zusammenarbeit: Informationen und Handlungsempfehlungen für das öffentliche Gesundheits- und Veterinärwesen zu Infektionen mit *Coxiella burnetii* bei Menschen und Hauswiederkäuern.

Konsiliarlabor für Cytomegalievirus (CMV)

Schwerpunkt CMV-Infektionen bei immunsupprimierten Personen



Prof. Dr. med. Thomas Stamminger

Leitung

Prof. Dr. med. Thomas Stamminger

Institut

Institut für Virologie, Universitätsklinikum Ulm

Adresse

Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm

E-Mail

thomas.stamminger@uniklinik-ulm.de

Telefon

+49 731 50065-100

Stellvertretung 1

Prof. Dr. Detlef Michel

Institut

Institut für Virologie, Universitätsklinikum Ulm

Adresse

Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm

E-Mail

detlef.michel@uniklinik-ulm.de

Telefon

+49 731 50065-107

Die Universitätsinstitute für Virologie der Universitäten Tübingen und Ulm erfüllen seit 2014 gemeinsam die Aufgaben des Konsiliarlabors (KL) für Cytomegalievirus (CMV). Tübingen betreut dabei überwiegend den Bereich congenitale/postnatale CMV-Infektionen; Schwerpunkt in Ulm sind CMV-Infektionen bei immunsupprimierten Patienten. Trotz intensiver Forschungsarbeiten der letzten Jahrzehnte existieren immer noch viele offene Fragen zur Epidemiologie, Pathogenese, Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von CMV-Infektionen. CMV gilt aktuell als häufigster Erreger von congenitalen Infektionen. Die genaue Inzidenz der congenitalen CMV-Infektion (cCMV) ist für die BRD bislang immer noch unklar. Bezüglich der Diagnostik sowie möglicher therapeutischer Optionen besteht bei der cCMV-Infektion ein zunehmender Beratungsbedarf für Gynäkologen/Pränatalmediziner, Laborärzte, Mikrobiologen, Betriebsärzte sowie betroffene Schwangere. Dies manifestiert sich in einer hohen Anzahl von Anfragen an das KL CMV zu dieser Thematik, die präferentiell am Standort Tübingen bearbeitet werden. Eine der dringlichsten Fragen ist sicherlich, inwieweit bei nachgewiesener

CMV-Primärinfektion durch die Gabe von Hyperimmunglobulinpräparaten (HIG) eine fetale Infektion verhindert werden kann. Offen ist auch, ob möglicherweise durch Antikörper mit besonders hoher und breiter Neutralisationskapazität gegen CMV die Effektivität der antikörperbasierenden Prophylaxe/Therapie verbessert werden kann. Zu dieser Fragestellung leitet Herr Prof. Sinzger am Standort Ulm ein Projekt, in dem Blutspender mit außergewöhnlicher Neutralisationskapazität gegen CMV (sogenannte Elite-Neutralisierer) identifiziert werden sollen. Im weiteren Verlauf des Projekts sollen B-Zellen von Elite-Neutralisierern kloniert werden, so dass aus diesen Arbeiten möglicherweise neue Antikörperpräparate resultieren, die auch zur Prophylaxe der materno-fetalen Transmission eingesetzt werden können. Ein weiterer Fokus der Arbeiten am Standort Tübingen ist die Transmission von CMV durch Muttermilch. Auch zur Thematik „Prävention der CMV-Transmission während des Stillen“ hat die Zahl der Beratungs-Anfragen an das KL im Lauf des letzten Jahres deutlich zugenommen (Holderpasteurisierung versus Kryoinaktivierung und Kurzzeitpasteurisierung). Es häufen sich auch Fragen, ob symptomatisch congenital CMV infizierte Neugeborene, die antiviral behandelt werden, gestillt werden sollen.

Fokus des KL-Standorts Ulm sind CMV-Infektionen bei immunsupprimierten Patienten, bei denen CMV-Primärinfektionen sehr schwer verlaufen und auch mit hoher Frequenz Reaktivierungsereignisse auftreten, so dass ein enges diagnostisches Monitoring von Immunsupprimierten durch DNA-Nachweis aus Blut schon seit längerer Zeit zur Routineüberwachung zählt. Neben Beratungsgesprächen zu dieser speziellen Problematik der Diagnostik und Therapie von CMV-Infektionen bei Immunsupprimierten werden am Standort Ulm auch vermehrt Beratungsgespräche bezüglich der Problematik beruflich exponierter seronegativer Schwangeren durchgeführt. Das Spektrum der bisher verfügbaren Medikamente gegen CMV (Ganciclovir, Valganciclovir, Foscarnet, Cidofovir) umfasst seit Anfang des Jahres 2018 zusätzlich den Terminase-Inhibitor Letermovir, der aufgrund seines günstigeren Nebenwirkungsprofils zur Prophylaxe der CMV-Infektion nach Stammzelltransplantation zugelassen ist. Insgesamt kann in den letzten Jahren ein zunehmender Trend hin zur medikamentösen Prophylaxe der CMV-Infektion bei Transplantierten festgestellt werden, der aber mit neuen offenen Fragen und Problemen assoziiert ist: zum einen werden nach Absetzen der Prophylaxe häufiger „late onset“-Infektionen beobachtet; zum zweiten birgt die langandauernde Medikamentenexposition möglicherweise ein höheres Risiko der Selektion von resistenten CMV-Stämmen in sich. Ein Schwerpunkt des KL-Standorts Ulm beschäftigt sich mit der Analyse solcher Resistenzmutationen. Dieses diagnostische Angebot steht überregional zur Verfügung und wird bundesweit von unterschiedlichen Kliniken und Laboratorien angefragt. Neben genotypischen Nachweisverfahren ist am Standort Ulm auch ein phänotypisches System der Resistenztestung etabliert. Unter Leitung von Prof. Michel optimieren wir am Standort Ulm die Methodik der Resistenztestung. Dies umfasst auch die Validierung neuer Resistenzmutationen durch Marker-Transfer unter Verwendung der sogenannten „en passant“-Mutagenese von Cytomegalovirus-Genomen sowie die ständige Pflege und Weiterentwicklung einer national und international intensiv genutzten Datenbank zur Analyse von CMV Resistenzmutationen (MRA – mutation resistance analyzer; <https://dna.informatik.uni-ulm.de/software/mra/>). Aufgrund unserer bisherigen Erfahrungen ist davon auszugehen, dass auch mit Einführung von Letermovir nicht alle Probleme der CMV-Therapie gelöst sind. Aus diesem Grund sollen am Standort Ulm verschiedene Projekte forciert weitergeführt werden, die die Entwicklung zusätzlicher therapeutischer Ansätze und Medikamente zum Ziel haben. Prof. Sinzger leitet ein Projekt, in dem neuartige Inhibitoren des CMV entry entwickelt werden, die auf Derivaten des CMV-Rezeptors PDGF-alpha beruhen. Prof. Stamminger verfolgt in einem DFG-geförderten Projekt eine Strategie, um basierend auf der Kristallstruktur des Proteins, Inhibitoren des CMV-Immunevasins IE₁ zu identifizieren. Darüber hinaus wird in einem weiteren Projekt untersucht, inwieweit dieses virale Protein

möglicherweise zur Destabilisierung des zellulären Genoms beiträgt und damit ursächlich ist für den in der Literatur vielfach hergestellten Zusammenhang zwischen CMV und Glioblastomen. Diese primär grundlagenorientierten Projekte ergänzen die Hauptaufgaben des KL CMV und werden zur weiteren Aufklärung pathogenetischer Zusammenhänge bei CMV-Infektionen beitragen. Mit der Expertise von Frau Dr. Ganzenmüller zum NGS von CMV-Genomen können sowohl molekularbiologische Assays für die Diagnostik (z. B. Resistenztestung, genotypische Analyse von Infektionsketten) weiterentwickelt werden, als auch diese Technologie für Grundlagenstudien (z. B. Rolle der genetischen CMV-Diversität für die Pathogenese) nutzbringend eingesetzt werden.

Wichtige Publikationen

- Falk JJ, Winkelmann M, Stöhr D, Alt M, Schrezenmeier H, Krawczyk A, Lofti R, Sinzger C (2018) Identification of elite neutralizers with broad and potent neutralizing activity against human cytomegalovirus (HCMV) in a population of HCMV-seropositive blood donors. *J Infect Dis* 4;218(6):876-885. doi: 10.1093/infdis/jiy229.
- Jung S, Michel M, Stamminger T, Michel D (2019) Fast breakthrough of resistant cytomegalovirus during secondary letermovir prophylaxis in a hematopoietic stem cell transplant recipient. *BMC Infect Dis*. 19(1):388. doi: 10.1186/s12879-019-4016-1.
- Kagan KO, Enders M, Hoopmann M, Geipel A, Simoninci C, Berg C, Gottschalk I, Faschingbauer F, Schneider MO, Ganzenmüller T, Hamprecht K (2021) Outcome of pregnancies with recent primary cytomegalovirus infection in first trimester treated with hyperimmunoglobulin: observational study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2021 Apr;57(4):560-567. doi: 10.1002/uog.23596.
- Götting J, Lazar K, Suarez NM, Steinbrück L, Rabe T, Schulz TF, Davison AJ, Hamprecht K, Ganzenmüller T (2021) Human cytomegalovirus genome diversity in longitudinally collected breast milk samples. *Front Cell Infect Microbiol* 11:664247. doi: 10.3389/fcimb.2021.664247.
- Schweininger J, Scherer M, Rothmund F, Schilling EM, Wörz S, Stamminger T, Müller YA (2022) Cytomegalovirus immediate-early 1 proteins form a structurally distinct protein class with adaptations determining cross-species barriers. *PLoS Pathog* 9;17(8):e1009863. doi: 10.1371/journal.ppat.1009863.

Konsiliarlabor für Cytomegalievirus (CMV)

Schwerpunkt kongenitale/postnatale CMV-Infektionen



Dr. med. Alfred L. Bissinger

Leitung Dr. med. Alfred L. Bissinger	Stellvertretung 1 Dr. med. Charikleia Gkioule	Stellvertretung 2 PD Dr. Tina Ganzenmüller
Institut Institut für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten	Institut Institut für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten	Institut Institut für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten
Adresse Elfriede-Aulhorn-Str. 6, 72076 Tübingen	Adresse Elfriede-Aulhorn-Str. 6, 72076 Tübingen	Adresse Elfriede-Aulhorn-Str. 6, 72076 Tübingen
E-Mail cmv@med.uni-tuebingen.de	E-Mail cmv@med.uni-tuebingen.de	E-Mail cmv@med.uni-tuebingen.de
Telefon +49 70712 9-80248/84921	Telefon +49 70712 9-84921	Telefon +49 70712 9-84921

Die kongenitale CMV-Infektion ist weltweit die häufigste angeborene Virusinfektion. Sie beruht in Deutschland in den meisten Fällen auf einer Primärinfektion mit dem Cytomegalovirus in der Schwangerschaft. Das infizierte Neugeborene kann in etwa 10 % der Fälle eine schwere Symptomatik aufweisen. Etwa 10-15 % der bei Geburt klinisch unauffälligen infizierten Neugeborenen können im Laufe des Kleinkindalters ein- und beidseitige Hörstörungen bis hin zur Taubheit entwickeln.

Der häufigste Mutter-Kind-Übertragungsweg von CMV ist das Stillen. Die über die Muttermilch erworbene CMV-Primärinfektion des reifen Neugeborenen ist in aller Regel asymptomatisch. Bei manchen Frühgeborenen jedoch kann die CMV-Infektion mit klinischer Symptomatik assoziiert sein. Nahezu jede seropositive Mutter reaktiviert CMV während des Stillens.

Das Konsiliarlabor für kongenitale und postnatale CMV-Infektionen am Standort Tübingen wurde bereits 1997 am Institut für Medizinische Virologie des Universitätsklinikum Tübingen eingerichtet und seitdem in regelmäßigen Abständen nach externer Evaluierung in dieser Funktion bestätigt. Das

Konsiliarlabor führt fachliche Beratung, Diagnostik sowie klinisch-virologische Studien im Zusammenhang mit Fragestellungen zu Infektionen mit CMV in der Schwangerschaft sowie bei kongenital oder postnatal infizierten Kindern durch. Hierfür steht ein umfangreiches Spektrum an diagnostischen Methoden zur Verfügung. Es besteht enge Kooperation mit klinischen Partnern, wie z. B. der Pränatalmedizin der Universitätsfrauenklinik und der Neonatologie der Universitätskinderklinik. Das Tübinger Konsiliarlabor ist Mitglied im Zentrum für seltene Erkrankungen (ZSE) des Universitätsklinikum Tübingen.

Wichtige Publikationen

- Kagan KO, Enders M, Hoopmann M, Geipel A, Simonini C, Berg C, Gottschalk I, Faschingbauer F, Schneider MO, Ganzenmueller T, Hamprecht K. Outcome of pregnancies with recent primary cytomegalovirus infection in first trimester treated with hyperimmunoglobulin: observational study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 Apr;57(4):560-567. doi: 10.1002/uog.23596. Epub 2021 Mar 17. PMID: 33491819.
- Bapistella S, Hamprecht K, Thomas W, Speer CP, Dietz K, Maschmann J, Poets CF, Goelz R. Short-term Pasteurization of Breast Milk to Prevent Postnatal Cytomegalovirus Transmission in Very Preterm Infants. *Clin Infect Dis.* 2019 Jul 18;69(3):438-444. doi: 10.1093/cid/ciy945. PMID: 30407512.
- Hamprecht K, Goelz R. Postnatal Cytomegalovirus Infection Through Human Milk in Preterm Infants: Transmission, Clinical Presentation, and Prevention. *Clin Perinatol.* 2017 Mar;44(1):121-130. doi: 10.1016/j.clp.2016.11.012. Epub 2016 Dec 27. PMID: 28159200.
- Hamprecht K, Kagan KO, Goelz R. Hyperimmune globulin to prevent congenital CMV infection. *N Engl J Med.* 2014 Jun 26;370(26):2543. doi: 10.1056/NEJMc1405377. PMID: 24963583.
- Hamprecht K, Bissinger AL, Arellano-Galindo J, Schweinzer K, Jiang X, Göhring K, Mikeler E, Jahn G. Intrafamilial transmission of human cytomegalovirus (HCMV): long-term dynamics of epitope-specific antibody response in context of avidity maturation. *J Clin Virol.* 2014 Jun;60(2):119-26. doi: 10.1016/j.jcv.2014.03.006. Epub 2014 Mar 18. PMID: 24742599.
- Bissinger AL, Sinzger C, Kaiserling E, Jahn G. Human cytomegalovirus as a direct pathogen: correlation of multiorgan involvement and cell distribution with clinical and pathological findings in a case of congenital inclusion disease. *J Med Virol.* 2002 Jun;67(2):200-6. doi: 10.1002/jmv.2208. PMID: 11992580.

ABSTRACT

Vorstellung des Konsiliarlabors Cytomegalievirus

Stamminger T, Michel D

Das Konsiliarlabor für HCMV besitzt zwei Standorte. Die Ansprechpartner beider Standorte vertreten sich wechselseitig bei klinisch-virologischen Fragen. Beide Standorte verfügen über vergleichbare diagnostische Möglichkeiten. In Spezialfällen werden Materialien und Anfragen ausgetauscht.

Schwerpunkt: HCMV-Infektionen bei immunsupprimierten Personen, Institut für Virologie, Universitätsklinikum Ulm

Schwerpunkt: kongenitale/postnatale HCMV-Infektionen, Institut für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten, Universitätsklinikum Tübingen

Im Rahmen der konsiliarischen Tätigkeit und Diagnostik für HCMV sind in unserer Einrichtung folgende klinische Fragestellungen abgedeckt: Seropositivität; Differenzierung zwischen Primärinfektion und Reaktivierung (in der Schwangerschaft und bei Immunsuppression, systemisch oder lokal); Infektiosität sowie quantitative Aussagen zur Viruslast in verschiedenen klinischen Materialien; Therapieindikation und Therapiekontrolle; Früherkennung der Selektion und Charakterisierung resistenter HCMV-Varianten.

In Ulm wurde ein Schwerpunkt in die Entwicklung von Methoden zur genotypischen Resistenzbestimmung gegenüber antiviralen Substanzen gesetzt. Die Sequenzierungen des HCMV umfassen die ORF UL27, UL54, UL56 und UL97. Damit sind alle zurzeit gängigen antiviralen Substanzen gegen HCMV abgedeckt.

Diese Untersuchungen werden vielfach von therapeutischen und diagnostischen Einrichtungen im In- und Ausland angefordert. Pro Jahr werden ca. 150 bis 250 Patienten einer genotypischen HCMV-Resistenzbestimmungen unterzogen. Unsere Ergebnisse (Stand 2022) bei vermuteter viraler Resistenz (n = 2700 Patienten) zeigten ca. 10 % PCR Negativität, 55 % Wildtyp und 35 % virologische Resistenz, mit nachgewiesenen Mutationen in wenigstens einem der ORF.

Durch die Lock-down-Maßnahmen waren die Einsendungen zahlenmäßig etwas zurückgegangen. Bei Lockerungen der Maßnahmen stiegen die Einsendungen wieder an. Nach Einführung des Terminase-Inhibitors Letermovir (Prevymis) beobachteten wir, dass der Einsatz dieses Medikaments bei bereits bestehender hoher Viruslast rasch zur Selektion von Resistenzmutationen führt. Anfragen zum Nachweis von Letermovir-Resistenzen sind aktuell auf einem niedrigen Niveau angekommen. Dies ist möglicherweise auf die konsequentere Beschränkung des Einsatzes von Letermovir auf die Prophylaxe der HCMV-Infektion zurückzuführen. Die Anforderungen zur neu zugelassenen Substanz Maribavir (Livtency), dass die virale Proteinkinase UL97 hemmt und bei refraktärer und/oder resistenter HCMV-Infektion eingesetzt wird, sind leicht steigend.

Konsiliarlabor für Dermatophyten



Prof. Dr. rer. nat. Yvonne Gräser

Leitung

Prof. Dr. rer. nat. Yvonne Gräser

Institut

Institut für Mikrobiologie und Infektionsimmunologie,
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Hindenburgdamm 27, 12203 Berlin

E-Mail

yvonne.graeser@charite.de

Telefon

+49 30 450524-066

Stellvertretung

PD Dr. med. Konstanze Vogt

Institut

Institut für Mikrobiologie und Infektionsimmunologie,
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Hindenburgdamm 27, 12203 Berlin

E-Mail

yvonne.graeser@charite.de

Telefon

+49 30 450524-066

Leistungsübersicht des nationalen Konsiliarlabors für Dermatophyten

- Molekulare Differenzierung von Dermatophyten bis zur Speziesebene aus Kulturmaterial und klinischem Material
- Neu- und Weiterentwicklung molekularer Identifizierungs- und Typisierungsverfahren ausgewählter Erreger auf Stamm- und Speziesebene
- Beratung zu Fragen der Therapie
- Mitarbeit bei Studien und Leitlinien (S1 Leitlinie „Onychomykose“ und „Tinea capitis“)
- Durchführung von Ringversuchen in Zusammenarbeit mit Instand e.V. zur externen Qualitätskontrolle von med.-mikrobiologischen Laboratorien (RV 491 und 492)
- Epidemiologische Bewertung der Situation spezieller Erreger
- Beratung zum Management von Ausbrüchen
- Empfindlichkeitstestung von Dermatophyten nach EUCAST Def. 11.0 und genetische Resistenztestung auf Terbinafin

Wichtige Publikationen

- Nenoff P, Reinel D, Mayser P, Abeck D, Bezold G, Bosshard PP, Brasch J, Daeschlein G, Effendy I, Ginter-Hanselmayer G, Gräser Y, Hamm G, Hengge U, Hipler UC, Höger P, Kargl A, Kolb-Mäurer A, Krüger C, Malisiewicz B, Mayer J, Ott H, Paasch U, Schaller M, Uhrlaß S, Zidane M. [S1-Leitlinie Onychomykose]. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2023;21(6):678-694.
- Brasch, J., Gräser, Y., Beck-Jendroscheck, V., Voss, K., Torz, C., Walther, G., Schwarz, T. Indian strains of *Trichophyton mentagrophytes* type VIII with reduced itraconazole susceptibility in Germany. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2021; 19 (12): 1723-1727.
- Gräser Y, Saunte DML. A Hundred Years of Diagnosing Superficial Fungal Infections: Where Do We Come From, Where Are We Now and Where Would We Like To Go? *Acta Derm Venereol.* 2020; 20:100-1009.
- de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, Kupsch C, Stielow JB, Freeke J, Göker M, Rezaei-Matehkolaei A, Mirhendi H, Gräser Y. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. *Mycopathologia.* 2017;182(1-2):5-31.
- Martinez DA, Oliver BG, Gräser Y, Goldberg JM, Li W, Martinez-Rossi NM, Monod M, Shelest E, Barton RC, Birch E, Brakhage AA, Chen Z, Gurr SJ, Heiman D, Heitman J, Kosti I, Rossi A, Saif S, Samalova M, Saunders CW, Shea T, Summerbell RC, Xu J, Young S, Zeng Q, Birren BW, Cuomo CA, White TC. Comparative genome analysis of *Trichophyton rubrum* and related dermatophytes reveals candidate genes involved in infection. *MBio.* 2012; 4;3(5):259-12.

Konsiliarlabor für Diphtherie



Prof. Dr. med. Dr. phil. Andreas Sing

Leitung

Prof. Dr. med. Dr. phil. Andreas Sing, MA DTM&H

Institut

Landesinstitut für Gesundheit II, Bay. Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)

Adresse

Veterinärstraße 2, 85764 Oberschleißheim

E-Mail

diphtheria@lgl.bayern.de
andreas.sing@lgl.bayern.de

Telefon

+49 9131 6808-5814

Stellvertretung

Dr. med. Anja Berger

Institut

Landesinstitut für Gesundheit II, Bay. Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)

Adresse

Veterinärstraße 2, 85764 Oberschleißheim

E-Mail

diphtheria@lgl.bayern.de
anja.berger@lgl.bayern.de

Telefon

+49 9131 6808-5239

Aufgrund der Mitte der 1990er Jahre grassierenden Diphtherie-Epidemie wurde im Jahr 1997 das KLD gegründet. Dieses war 10 Jahre am Max von Pettenkofer-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität angesiedelt und wurde seit dieser Zeit vom gegenwärtigen Leiter des Konsiliarlabors diagnostisch und wissenschaftlich betreut. In dieser Zeit wurden jährlich 5 bis 20 Proben bzw. Bakterienstämme zur weiteren Differenzierung und zum Nachweis von Diphtherietoxin (DT) mittels tox-PCR und ggf. per Elek-Test eingesandt.

Seit 2007 ist das KLD am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Oberschleißheim angesiedelt. Inzwischen ist die Anzahl jährlicher Untersuchungen drastisch auf mittlerweile über 500 Proben angestiegen.

In den 26 Jahren seines Bestehens war das KLD an zahlreichen Meilensteinen der Diphtherie-Diagnostik und –epidemiologie beteiligt:

- Erstbeschreibung der Gensequenz des Diphtherietoxins von *C. ulcerans* (entscheidender Virulenzfaktor und für die Diphtherie-Symptomatik verantwortlich) (2003; 2005)
- Etablierung eines Multi Locus Sequence Typing (MLST)-Schemas zur molekulargenetischen Feintypisierung von *C. diphtheriae* (beteiligt; 2010) und *C. ulcerans* (federführend; 2014)
- Evaluierung eines Lateral Flow Immune Assays zum Nachweis von Diphtherietoxin (2020 – 2022)
- Beteiligung am WHO Laboratory Manual Diagnosis of Diphtheria and other related Infections (2021) (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/352275>)
- Erstmalige Nachweise einer zoonotischen Haustier-Mensch-Übertragung von *C. ulcerans* mittels MLST bzw. Gesamtgenomsequenzierung (Next Generation Sequencing, NGS), seither mehrere andere Fallberichte von Tier-zu-Mensch-Übertragungen (2009, 2011, 2014, 2015)
- Erster Nachweis einer Diphtherie-Übertragung durch Bissverletzung seit fast 400 (!) Jahren (2011), die letzte Beschreibung stammte vom Luis de Mercado, Leibarzt der spanischen Könige Philipp II. und III.
- Erster Nachweis eines Diphtherie-Ausbruchs in Deutschland seit fast 40 Jahren (2019)
 - Erstnachweise von *C. ulcerans* in zahlreichen Tierarten, z. B. Schweinen, Igelrn oder Wasserratten (2014, 2015, 2019, 2021)
- Erstnachweis einer möglichen Mensch-zu-Mensch-Übertragung von *C. ulcerans* (2015)
- Erstnachweis einer *C. diphtheriae*-Infektion in einem Wildtier (Rotfuchs) (2016)
- Erste NGS-basierte Ausbruchsuntersuchungen von Hautdiphtherie weltweit (2016, 2018)
- Erstbeschreibung von *C. silvaticum*, einer von vier neuen Spezies des *C. diphtheriae*-Komplex (2020)
- Beteiligung an einer multizentrischen EUCAST MHK-Studie zur erstmaligen Generierung *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* spezifischer MHK-Grenzwerte für zahlreiche Antibiotika (2021 – 2022)
- Entwicklung eines Lateral Flow Immunoassay zum Nachweis von Diphtherietoxin aus Kulturüberständen (2020-2023)
- Aufdeckung des paneuropäischen Diphtherieausbruchs unter Geflüchteten (2022/2023)

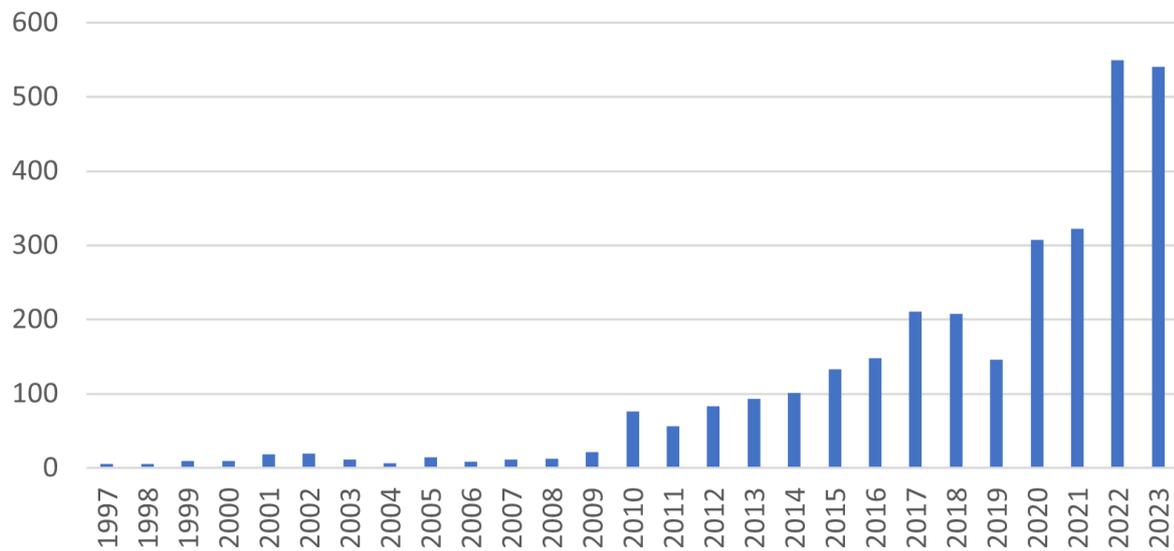
Auch der Umfang des angebotenen Methodenspektrums im KLD wurde in den letzten Jahren massiv ausgeweitet und umfasst neben der Empfindlichkeitsprüfung klinisch relevanter first line Antibiotika und neu entwickelter real time PCR-Verfahren auch modernste molekulare Typisierungsverfahren wie das am und mit dem KL etablierte Multi Locus Sequencing Typing (MLST) für *Corynebacterium diphtheriae* und *C. ulcerans* oder cgMLST und Next Generation Sequencing (NGS).

Im Jahr 2022 wurden mehr als 500 humane und veterinärmedizinische Proben zur Untersuchung auf potentiell toxische Corynebakterien (mit deutlicher Zunahme zoonotischer *tox*-positiver *C. ulcerans*, *tox*-negativer, zum Teil auch invasiver *C. diphtheriae* bei Risikopersonen sowie zahlreicher Umgebungsuntersuchungen aus dem veterinärmedizinischen Bereich) am KLD untersucht.

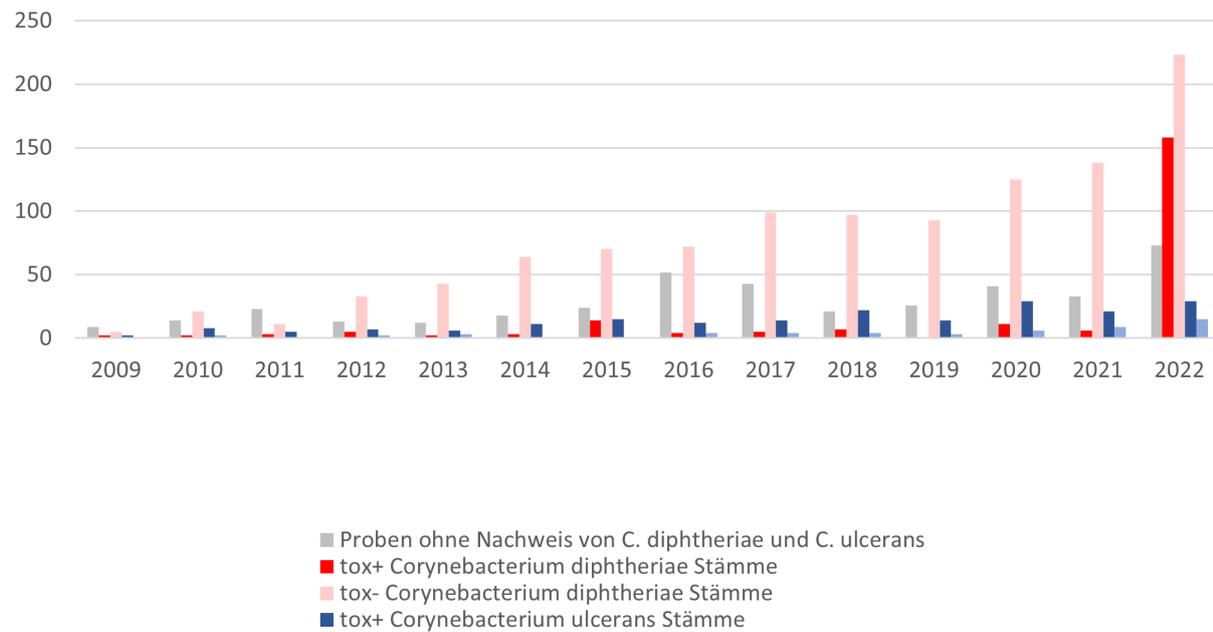
Darüber hinaus ist das KLD auch beratend für einsendende Arztpraxen, Gesundheitsämter, diagnostische Laboratorien, das Robert Koch-Institut (RKI), das European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) und die WHO tätig. Im Rahmen des European Diphtheria Surveillance Networks der ECDC fungiert das KLD als National Focal Point für Diphtherie.



Teamfoto (v.l.n.r.): Prof. Dr. Dr. Sing, Dr. Anja Berger, Dr. Bernhard Hobmaier, Wolfgang Schmidt, Cengit Dedeoglu, Dagmar Meitzler, Dragana Krejic sowie Dr. Slava Melnikov, Peggy Zill (vorne)



Gesamtzahl eingesandter Proben (human und veterinär) an das KL Diphtherie 1997-2023 (Stand 29.09.2023)



Konsiliarlabor für Diphtherie Probeneingang (humane Isolate, Anteil *tox+* und *tox-* Stämme)

Wichtige Publikationen

- Sing A, Badenschier F, Dangel A, Sprenger A, Hobmaier B, Külper-Schiek W, Prins H, Martin-Sanchez M, Wagner-Wiening C, Berger A. Clustering of Diphtheria Cases in Refugees That Arrived in Germany in 2022. *Dtsch Arztebl Int.* 2023;120(33-34):557-558
- Marosevic DV, Berger A, Kahlmeter G, Payer SK, Hörmansdorfer S, Sing A. Antimicrobial susceptibility of *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* in Germany 2011-17. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(10):2885-2893
- Dangel A, Berger A, Rau J, Eisenberg T, Kämpfer P, Margos G, Contzen M, Busse HJ, Konrad R, Peters M, Sting R, Sing A. *Corynebacterium silvaticum* sp. nov., a unique group of NTTB corynebacteria in wild boar and roe deer. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2020;70(6):3614-3624
- Dangel A, Berger A, Konrad R, Sing A. NGS-based phylogeny of diphtheria-related pathogenicity factors in different *Corynebacterium* spp. implies species-specific virulence transmission. *BMC Microbiol.* 2019;19(1):28
- Berger A, Dangel A, Schober T, Schmidbauer B, Konrad R, Marosevic D, Schubert S, Hörmansdorfer S, Ackermann N, Hübner J, Sing A. Whole genome sequencing suggests transmission of *Corynebacterium diphtheriae*-caused cutaneous diphtheria in two siblings, Germany, 2018. *Euro Surveill.* 2019;24(2):1800683

ABSTRACT

Experiences from 25 years of lab-based diphtheria surveillance by the German National Consiliary Laboratory of Diphtheria (GNCLD): an unprecedented rise in toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* isolates reveals a recent outbreak of imported diphtheria among migrants arriving in Germany, 2022

Berger A, Dangel A, Sprenger A, Bengs K, Konrad R, Sing A

Introduction: Diphtheria is a vaccine-preventable disease caused by diphtheria toxin (DT) producing, i.e. toxigenic *Corynebacterium* (*C. spp.*) of the three species *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* and – very rarely – *C. pseudotuberculosis*. In 1997, the German National Consiliary Laboratory of Diphtheria (GNCLD) was founded to assist diphtheria surveillance in Germany and to serve as a reference laboratory supporting laboratories in the diagnosis of diphtheria by offering cost-free testing (incl. PCR- and Elek-test-based toxigenicity testing and molecular typing). Most human-derived isolates of the three potentially toxigenic *C. spp.* are sent to the GNCLD.

Methods: We report the results of lab-based diphtheria diagnosis performed at the GNCLD within the 25 years of its existence.

Results: Between 1997 and November 2022, 1603 human-derived *C. diphtheriae* or *C. ulcerans* isolates were sent to the GNCLD. Prior to 2022, toxigenicity was higher for *C. ulcerans* as compared to *C. diphtheriae* both in absolute numbers (174 vs. 74) and in positivity rate (82.1 % vs. 7.2 %). This changed dramatically in 2022 with a sharp increase both in absolute numbers of toxigenic *C. diphtheriae* strains (129 vs. 30 toxigenic *C. ulcerans*) and in *C. diphtheriae* toxigenicity (39.4 % vs. 4.8 % in 2019 – 2021). This changing pattern allowed to detect very early an outbreak of imported diphtheria among migrants arriving in Germany, which was later also described in other European countries. Since July 2022, increased cases of cutaneous and, less commonly, respiratory diphtheria caused by toxigenic *C. diphtheriae* among migrants have been diagnostically confirmed by the GNCLD (n = 129 isolates; data as of 11/30/2022). Whole genome sequencing (WGS) revealed three main clusters of ST-377 (n = 35), ST-384 (n = 21), and ST-574 (n = 25), which have also been observed among refugees in other European countries, as well as an additional cluster of ST-377 with erythromycin- and clindamycin-resistant strains (n = 7). In addition, two isolates belong to ST-466. None of the clusters can be clearly assigned to a country of origin or to a specific escape route or a specific location (e.g. a community shelter). Tox-negative strains detected so far belonged to other sequence types (ST-480 and ST-585).

Conclusion: Lab-based diphtheria surveillance incl. WGS-based typing on a national scale is an important tool for supporting rapid outbreak detection both on the local, regional and national level.

Konsiliarlabor für Echinokokken



Prof. Dr. rer. nat. Klaus Brehm

Leitung

Prof. Dr. rer. nat. Klaus Brehm

Institut

Institut für Hygiene und Mikrobiologie,
Universität Würzburg

Adresse

Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg

E-Mail

klaus.brehm@uni-wuerzburg.de

Telefon

+49 931 31-46168

Stellvertretung

Prof. Dr. med. Oliver Kurzai

Institut

Institut für Hygiene und Mikrobiologie,
Universität Würzburg

Adresse

Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg

E-Mail

oliver.kurzai@uni-wuerzburg.de

Telefon

+49 931 31-46160

Die Alveoläre Echinokokkose (AE) wird durch krebsartig infiltrierendes Wachstum des Metazestoden-Larvenstadiums des Fuchsbandwurms *Echinococcus multilocularis* in den inneren Organen des Wirts (z. B. Mensch) verursacht, ist die tödlichste Parasitose der Nördlichen Hemisphäre und äußerst schwierig zu therapieren. Zusammen mit der weltweit vorkommenden Zystischen Echinokokkose (ZE), ausgelöst durch den Hundebandwurm *E. granulosus*, welche in Entwicklungsländern Hunderte Millionen Menschen bedroht und auch veterinärmedizinisch von Bedeutung ist, führt die AE zu einer ernstzunehmenden Belastung des Gesundheitssystems und, besonders in ärmeren Ländern, der Nahrungsmittelproduktion. Zentraler Ansatz unserer Arbeitsgruppe ist es, zunächst die Biologie der entsprechenden Parasiten und deren molekulare Interaktion mit dem Wirt zu verstehen, um darauf aufbauend neue Strategien der Therapie und des diagnostischen Nachweises zu etablieren. Zu diesem Zweck entwickelten wir anspruchsvolle Methoden der Laborkultivierung von Parasiten-Larven und -Zellen (Koziol et al., 2014), entschlüsselten das Genom der Erreger (Tsai et al., 2013), charakterisierten den molekularen Mechanismus, welcher dem krebsartigen Wachstum der Parasitenlarven zugrunde liegt (Koziol et al., 2016) und identifizierten einen pluripotenten Stammzelltypus der

Parasiten als treibende Kraft des unkontrollierten Wachstums der Parasiten in den Organen des Wirts (Koziol et al., 2014; Kaethner et al., 2023). Neben einer Weiterentwicklung diagnostischer Nachweismethoden (z. B. Grimm et al., 2021) führten diese Untersuchungen kürzlich zu medizinisch hoch relevanten Daten hinsichtlich der Therapie der Echinokokkose (Koike et al., Manuskript in Vorbereitung). Wir können zeigen, dass die verminderte Wirksamkeit derzeit gegen *Echinococcus*-Larven verwendeter Chemotherapeutika darauf zurückzuführen ist, dass die Stammzellen der Parasiten inhärent resistent gegen diese Medikamente sind. Aufbauend auf dem zugrunde liegenden, molekularen Mechanismus der Medikamentenwirkung, konnten wir alternative Wirkstoffe identifizieren, die derzeit bereits als Medikamente gegen andere Parasitosen verwendet werden, und spezifisch die Stammzellen von Echinokokken eliminieren (*drug repurposing*). Basierend auf diesen Daten konzentrieren sich unsere derzeitigen Arbeiten darauf, eine Kombinationstherapie zur vollständigen Eliminierung der Parasiten im Wirt zu etablieren, das Parasiten-Stammzellsystem näher zu charakterisieren und Mechanismen der Wirt-Parasit-Interaktion (beispielsweise über extrazelluläre Vesikel; Cucher et al., 2023) über moderne Genomik/Transkriptomik für eine Verfeinerung der diagnostischen Methoden zu nutzen.

Wichtige Publikationen

- Grimm, J., Krickl, J., Beck, A., Nell, J., Bergmann, M., Tappe, D., Grüner, B., Barth, T.F., Brehm, K., 2021. Establishing and evaluation of a polymerase chain reaction for the detection of *Echinococcus multilocularis* in human tissue. *PLoS Negl Trop Dis* 15, e0009155.
- Kaethner, M., Epping, K., Bernthaler, P., Rudolf, K., Thomann, I., Leitschuh, N., Bergmann, M., Spiliotis, M., Koziol, U., Brehm, K., 2023. Transforming growth factor- β signalling regulates protoscolex formation in the *Echinococcus multilocularis* metacestode. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 13, 1153117.
- Koziol, U., Rauschendorfer, T., Zanon Rodríguez, L., Krohne, G., Brehm, K., 2014. The unique stem cell system of the immortal larva of the human parasite *Echinococcus multilocularis*. *Evodevo* 5, 10.
- Koziol, U., Jarero, F., Olson, P.D., Brehm, K., 2016. Comparative analysis of Wnt expression identifies a highly conserved developmental transition in flatworms. *BMC Biol.* 14, 10.
- Tsai, I.J., Zarowiecki, M., Holroyd, N., et al., Lacleste, J.P., Brehm, K., Berriman, M., 2013. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature* 496, 57–63.

ABSTRACT

Die Rolle von Parasiten-Stammzellen bei der Therapie der Alveolären Echinokokkose

Brehm K

Das Metazestoden-Larvenstadium des Fuchsbandwurms *Echinococcus multilocularis* ist der Erreger der Alveolären Echinokokkose (AE), einer tödlich verlaufenden Zoonose der Nördlichen Hemisphäre.

Derzeitige chemotherapeutische Behandlungsansätze gegen die AE wirken nicht parasitozid, müssen oftmals lebenslang verabreicht werden und sind mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden. Meine Arbeitsgruppe zeigte in den letzten Jahren, dass das tumorartig-infiltrierende Wachstum des Metazestoden im Wirt auf eine Population totipotenter somatischer *Echinococcus*-Stammzellen zurückzuführen ist, welche die einzigen proliferativen Zellen des Parasiten sind und welche als Quelle aller differenzierter Zellen des Parasiten (Muskelzellen, Nervenzellen, Oberflächentegument) dienen. Ansätze zur erfolgreichen (parasitoziden) chemotherapeutischen Therapie der AE müssen sich daher zwingend gegen die Stammzellen des Parasiten richten. Wir können zeigen, dass die Parasiten-Stammzellen gegen die derzeitige Therapie mit Albendazol/Mebendazol inhärent resistent sind, was auf die Stammzell-spezifische Expression eines beta-Tubulins zurückzuführen ist, zu dem Albendazol keine Bindungsaffinität besitzt. Ausgehend von diesen Erkenntnissen konnten wir das derzeit bereits gegen Leberegel verwendete Medikament Triclabendazol als geeigneten Wirkstoff zur Eliminierung von *Echinococcus*-Stammzellen identifizieren. In Kombination mit Albendazol führt Triclabendazol zur kompletten Abtötung der Parasiten-Stammzellen und aller differenzierter Zellen bei Konzentrationen, die von Patienten toleriert werden. Diese von uns erarbeiteten Daten werden in naher Zukunft signifikante Auswirkungen auf chemotherapeutische Behandlungsstrategien der AE und der verwandten Zystischen Echinokokkose beim Menschen haben.

Konsiliarlabor für elektronenmikroskopische Diagnostik von Krankheitserregern (EM- Erregerdiagnostik)



Dr. Michael Laue

Leitung

Dr. Michael Laue

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und spezielle Pathogene ZBS 4, Spezielle Licht- und Elektronenmikroskopie,
Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

lauem@rki.de

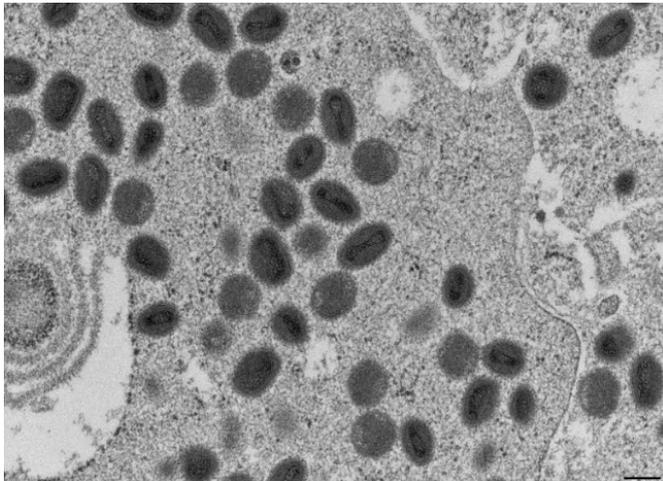
Telefon

+49 30 18754-2675

Die diagnostische Elektronenmikroskopie (EM) ermöglicht das Erkennen von Erregern in biomedizinischen Proben anhand ihrer charakteristischen Strukturmerkmale. Obwohl die Erreger-Typisierung auf dieser Basis nur oberhalb der Spezies/Stammebene möglich ist, unterstützt die diagnostische EM in speziellen Fällen die Diagnose einer Erkrankung und die Erforschung ihrer Pathologie. Eine wichtige Rolle spielt die diagnostische EM bei der schnellen Einordnung von Erkrankungen mit mutmaßlich hochpathogenen bzw. hochkontagiösen Erregern. Mit dem „offenen Blick“ der hochauflösenden Mikroskopie lassen sich alle in einer Probe vorhandenen Erreger in kurzer Zeit visualisieren, beschreiben und einer morphologisch-taxonomischen Gruppe zuordnen. Damit lässt sich eine erste Hypothese zur Ursache einer Erkrankung erstellen, prüfen oder verwerfen. Im besten Fall ermöglicht der rasche orientierende Erregernachweis, zusammen mit einer symptomatischen Diagnose, eine valide Diagnose, mit der weitere Maßnahmen eingeleitet werden können. Neben dieser „Pfadfinder“-

Funktion, wird die diagnostische EM als unabhängige Kontrolle für Ergebnisse der molekularen Diagnostik verwendet, um beispielsweise herauszufinden, ob die infektiöse Einheit noch in der Probe präsent ist, oder nur seine Bestandteile. Diese Information ist von besonderem Interesse, wenn die Pathologie einer Erkrankung untersucht werden soll. Die diagnostische EM ist in der Lage die Assoziation der infektiösen Einheit mit den Zellen des Patienten darzustellen und zu analysieren. Damit erweitert sie die klassische Histopathologie und ermöglicht als einzige Methode die direkte Visualisierung von Viren in Patientenmaterial.

Das Leistungsspektrum umfasst die Negativkontrastierungs- und die Ultradünnschnitt-Technik (inkl. Schnellschnittmethoden) an praktisch allen Probenklassen. Im Rahmen unserer Dienstaufgaben am Robert Koch-Institut (RKI) untersuchen wir auch Umweltproben auf Erreger und sind Teil des Notfall-Diagnostikmethodenpanels des Zentrums für biologische Gefahren und spezielle Pathogene (ZBS) am RKI. Wir versuchen kontinuierlich unsere Methoden zu verbessern und teilen unsere Expertise im Rahmen von Laborkursen. Das KL führt weltweit den einzigen Ringversuch zur diagnostischen EM von Viren durch und stellt umfassendes Referenzmaterial zur Verfügung (z. B. Virusbildkatalog <https://zenodo.org/record/4900042>).



Transmissions-Elektronenmikroskopie eines Schnittes durch Affenpockenviren (Monkeypox virus, MPXV) im Darmepithel eines Patienten. Neben unreifen, runden Viruspartikeln, sind die oval-rechteckigen Schnittprofile der reifen Pockenviren erkennbar, die gelegentlich das hantelförmige Profil ihres Nucleocapsids zeigen. Maßstab = 200 nm.

Wichtige Publikationen

Laue M, Hoffmann T, Michel J, Nitsche A (2023): Visualization of SARS-CoV-2 particles in naso/oropharyngeal swabs by thin section electron microscopy. *Viol. J.* 20 (1):21. doi: 10.1186/s12985-023-01981-9.

Cortese K, Holland G, Möller L, Gagliani MC, Barisione E, Ball L, Pelosi P, Grillo F, Mastracci L, Fiocca R, Laue M (2022): Ultrastructural examination of lung "cryobiopsies" from a series of fatal COVID-19 cases hardly revealed infected cells. *Virchows Arch.* 16:1–11. doi: 10.1007/s00428-022-03308-5.

- Müller M, Ingold-Heppner B, Stocker H, Heppner FL, Dittmayer C, Laue M (2022): Electron microscopy images of monkeypox virus infection in 24-year-old man. *Lancet* 400:1618. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01969-9.
- Dittmayer C, Meinhardt J, Radbruch H, Radke J, Ingold Heppner B, Heppner F, Stenzel W, Holland G, Laue M (2020): Why misinterpretation of electron micrographs in SARS-CoV-2-infected tissue goes viral. *Lancet* 396 (10260): e64-e65. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32079-1.
- Möller L, Schünadel L, Nitsche A, Schwebke I, Hanisch M, Laue M (2015): Evaluation of virus inactivation by formaldehyde to enhance biosafety of diagnostic electron microscopy. *Viruses* 7 (2): 666–679. Epub Feb 10. doi: 10.3390/v7020666.

Konsiliarlabor für Filoviren



Prof. Dr. Stephan Becker

Leitung

Prof. Dr. Stephan Becker

Institut

Institut für Virologie

Adresse

Hans-Meerwein-Straße 2, 35043 Marburg

E-Mail

becker@staff.uni-marburg.de

Telefon

+49 6421 286-6254

Stellvertretung

Dr. Markus Eickmann

Institut

Institut für Virologie

Adresse

Hans-Meerwein-Straße 2, 35043 Marburg

E-Mail

eickmann@staff.uni-marburg.de

Telefon

+49 6421 286-4315

Das Institut für Virologie der Philipps-Universität Marburg erforscht zoonotische und vektorübertragene Infektionskrankheiten, die durch neue oder wiederauftretende Viren (*emerging viruses*) verursacht werden. Diese Arbeiten, die mit der Entdeckung des Marburgvirus im Jahr 1967 ihren Anfang nahmen, wurden auf weitere hochpathogene Erreger wie z. B. Ebola-, Lassa-, Nipah-, Influenza-, Flavi- und Coronaviren ausgeweitet. Das Institut betreibt eines der vier Hochsicherheitslaboratorien der Sicherheitsstufe 4 in Deutschland und stellt damit ein Kompetenzzentrum mit einem einzigartigen Profil in der Diagnostik und Erforschung von neu auftretenden Viren und/ oder Viren mit pandemischem Potenzial. Die schnelle Identifikation und Charakterisierung solcher Viren sind entscheidend, um frühzeitig geeignete Maßnahmen zur Eindämmung zu ergreifen. Das Hochsicherheitslabor ist unerlässlich, um auf neue virale Herausforderungen effizient und sicher reagieren zu können.

Die Forschung am Institut für Virologie in Marburg erfolgt auf höchstem wissenschaftlichem Niveau. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler arbeiten interdisziplinär und setzen modernste Technologien ein, um die Komplexität der Viren zu entschlüsseln. Dabei werden sowohl Grundlagenforschung als auch angewandte Forschung auf dem Gebiet der Impfstoff- und Medikamenten-

entwicklung betrieben, um einen umfassenden Beitrag zum Verständnis und zur Bekämpfung von Viren zu leisten.

Das Institut versorgt das Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Standort Marburg, mit schnellen virusdiagnostischen Untersuchungen im Bereich Erregernachweis und Serologie.

Das Konsiliarlabor für Filoviren am Marburger Institut für Virologie führt die Diagnostik von Filoviren sowie den Nachweis von anderen hochpathogenen Viren durch, die für eine Differentialdiagnostik von hämorrhagischen Fiebererkrankungen erforderlich sind. Darüber hinaus ist es Ansprechpartner für das Bundesland Hessen und alle an Hessen angrenzenden Bundesländer bei dem Verdacht auf virale hämorrhagische Fieber. Es wird rund um die Uhr eine Notfallberatung und die Diagnostik von hochpathogenen Viren angeboten und durchgeführt.

Das Konsiliarlabor für Filoviren ist Teil des Kompetenzzentrums für hochpathogene Infektionserreger (KHPI) zusammen mit dem Gesundheitsamt Frankfurt und dem internationalen Flughafen Frankfurt. Außerdem berät das Konsiliarlabor für Filoviren den Ständigen Arbeitskreis der Kompetenz- und Behandlungszentren für Krankheiten durch hochpathogene Erreger STAKOB am RKI und arbeitet eng mit nationalen und internationalen Partnern zusammen, um den Wissensaustausch zur Diagnostik und Prävention von hochpathogenen viralen Erregern zu fördern und gemeinsame Forschungsprojekte durchzuführen. Diese Kooperationen tragen dazu bei, die globale Zusammenarbeit zu stärken und die gemeinsamen Anstrengungen zur Prävention und Kontrolle von Virusausbrüchen zu intensivieren.

Besonders in den frühen Phasen von Virusausbrüchen, wenn eine Sicherheitseinstufung der neuen Viren noch nicht erfolgt ist, ist das Konsiliarlabor für Filoviren durch die Verfügbarkeit des Hochsicherheitslabors oft eine der ersten Institutionen in Deutschland, die eine sichere Diagnostik anbieten können. Auch die vertiefende Diagnostik von hochpathogenen Viren kann durch die Möglichkeit der Anzucht und biologischen Charakterisierung in dem Hochsicherheitslabor durchgeführt werden. Hier werden auch neue Methoden, wie Next Generation Sequencing zur genauen Charakterisierung von Virusisolaten angewandt und mit phylogenetischen Analysen kombiniert, um die Herkunft der Viren molekularepidemiologisch einzuordnen. Die gewonnenen Forschungsergebnisse tragen direkt zur Entwicklung von Diagnosemethoden bei, die eine schnelle Identifizierung von Viren in klinischen Proben ermöglichen. Diese Fähigkeit ist von entscheidender Bedeutung, um im Falle von Ausbrüchen oder Pandemien zeitnah geeignete Maßnahmen ergreifen zu können und die Verbreitung von Viren einzudämmen.

Wichtige Publikationen

Krähling, Verena; Erbar, Stephanie; Kupke, Alexandra; Nogueira, Sara S.; Walzer, Kerstin C.; Berger, Hendrik; Dietzel, Erik; Halwe, Sandro; Rohde, Cornelius; Sauerhering, Lucie; Aragão-Santiago, Letícia; Moreno Herrero, Jorge; Witzel, Sonja; Haas, Heinrich; Becker, Stephan; Sahin, Ugur (2023): Self-amplifying RNA vaccine protects mice against lethal Ebola virus infection. In: *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 31 (2), S. 374–386. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.10.011.

- Krähling, Verena; Halwe, Sandro; Rohde, Cornelius; Becker, Dirk; Berghöfer, Susanne; Dahlke, Christine; Eickmann, Markus; Ercanoglu, Meryem S.; Gieselmann, Lutz; Herwig, Astrid; Kupke, Alexandra; Müller, Helena; Neubauer-Rädel, Petra; Klein, Florian; Keller, Christian; Becker, Stephan (2021): Development and characterization of an indirect ELISA to detect SARS-CoV-2 spike protein-specific antibodies. In: *Journal of immunological methods* 490, S. 112958. DOI: 10.1016/j.jim.2021.112958.
- Eickmann, Markus; Gravemann, Ute; Handke, Wiebke; Tolksdorf, Frank; Reichenberg, Stefan; Müller, Thomas H.; Seltsam, Axel (2020): Inactivation of three emerging viruses – severe acute respiratory syndrome coronavirus, Crimean-Congo haemorrhagic fever virus and Nipah virus – in platelet concentrates by ultraviolet C light and in plasma by methylene blue plus visible light. In: *Vox sanguinis* 115 (3), S. 146–151. DOI: 10.1111/vox.12888.
- Hoehl, Sebastian; Rabenau, Holger; Berger, Annemarie; Kortenbusch, Marhild; Cinatl, Jindrich; Bojkova, Denisa; Behrens, Pia; Böddinghaus, Boris; Götsch, Udo; Naujoks, Frank; Neumann, Peter; Schork, Joscha; Tiarks-Jungk, Petra; Walczok, Antoni; Eickmann, Markus; Vehreschild, Maria J G T; Kann, Gerrit; Wolf, Timo; Gottschalk, René; Ciesek, Sandra (2020): Evidence of SARS-CoV-2 Infection in Returning Travelers from Wuhan, China. In: *The New England journal of medicine* 382 (13), S. 1278–1280. DOI: 10.1056/NEJMc2001899.
- Takamatsu, Yuki; Kolesnikova, Larissa; Becker, Stephan (2018): Ebola virus proteins NP, VP35, and VP24 are essential and sufficient to mediate nucleocapsid transport. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (5), S. 1075–1080. DOI: 10.1073/pnas.1712263115.

ABSTRACT

Mehr als nur Filoviren

Eickmann M, Kowalski K, Becker S

Das Institut für Virologie an der Philipps-Universität in Marburg blickt auf eine mehr als 50-jährige Expertise in der Erforschung und Diagnostik von Filoviren und anderen hochpathogenen Viren zurück. Als bedeutende Einrichtung ist es zudem für die virologische Diagnostik des Universitätsklinikums verantwortlich. In den letzten Jahren hat das Konsiliarlabor des Instituts einen signifikanten Beitrag zur virologischen Diagnostik von Filoviren, hochpathogenen Viren sowie neu auftretenden viralen Infektionskrankheiten geleistet, was einen entscheidenden Dienst für das öffentliche Gesundheitswesen darstellt.

Die herausragende Rolle des Instituts zeigt sich insbesondere in der Anwendung zeitgemäßer Nachweismethoden, die kontinuierlich weiterentwickelt werden. Dies ermöglicht eine stetige Erweiterung des Spektrums diagnostischer Möglichkeiten, um den steigenden Anforderungen gerecht zu werden. Die Forschungsschwerpunkte des Instituts erstrecken sich über die gesamte Bandbreite virologischer Fragestellungen, wobei ein besonderer Fokus auf Filoviren und anderen hochpathogenen Erregern liegt.

Die enge Verknüpfung mit angewandten Forschungsschwerpunkten unterstreicht nicht nur die wissenschaftliche Exzellenz, sondern auch die praktische Anwendbarkeit der Forschungsergebnisse im

klinischen/ diagnostischen Kontext. Die interdisziplinäre Zusammenarbeit innerhalb des Instituts ermöglicht eine effiziente und umfassende Betrachtung virologischer Herausforderungen.

Durch die kontinuierliche Anpassung an aktuelle Entwicklungen in der Virologie und den Einsatz modernster Diagnostikverfahren positioniert sich das Institut als wichtige Einrichtung im Kampf gegen hochpathogene Viren. Die erworbenen Erkenntnisse fließen nicht nur in die wissenschaftliche Gemeinschaft ein, sondern tragen maßgeblich zur Gesundheit und Sicherheit der Bevölkerung bei.

Konsiliarlabor für *Francisella tularensis*



Dr. rer. nat. Daniela Jacob

Leitung

Dr. rer. nat. Daniela Jacob

Institut

Robert Koch-Institut

Adresse

Seestraße 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

+49 30 18754-2934

Stellvertretung

Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Klaus Heuner

Institut

Robert Koch-Institut

Adresse

Seestraße 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

+49 30 18754-2226

Francisella tularensis ist der Erreger der Tularämie, u. a. auch als Hasenpest, Lemming- oder Hirschfliegenfieber bekannt. Wie die Namen schon erkennen lassen, handelt es sich bei der Tularämie um eine Zoonose, die unter anderem von erkrankten Tieren auf den Menschen übertragen werden kann. Es können sehr viele verschiedene Tierarten, bekannt sind über 200, an Tularämie erkranken oder Träger von *F. tularensis* sein. Eine Erkrankung beim Menschen kann durch direkten Kontakt mit infizierten Tieren (Blut, Biss, Ausscheidungen), aber auch durch infizierte, blutsaugende Vektoren (Stechfliegen, Zecken, Mücken, Bremsen) ausgelöst werden. Zu einer Übertragung auf den Menschen kann es aber auch über den Verzehr kontaminierten Trinkwassers, infizierter Tiere bzw. Tiermaterialien oder anderer kontaminierter Lebensmittel, sowie durch das Einatmen infektiöser Aerosole (z. B. Stäube von Exkrementen infizierter Tiere) kommen. Eine Mensch-zu-Mensch Übertragung ist bisher nicht bekannt. Beim Menschen tritt die Tularämie saisonal gehäuft im Sommer und Frühherbst auf, aber auch im Winter werden viele Fälle gemeldet. Dies liegt unter anderem daran, daß das Vorliegen einer Tularämie-Infektion meist erst nach Ausschluß anderer Infektionskrankheiten

differentialdiagnostisch analysiert wird, was zur Verzögerung der Erkennung der Infektion führt. Die Tularämie ist in Deutschland eher eine seltenere Erkrankung mit 65 – 119 Fällen im Jahr (Abbildung 1), allerdings liegt die Seroprävalenzrate in Deutschland in der Allgemeinbevölkerung bei 0,2 – 2,3 %. Die häufigsten klinischen Formen der Tularämie in Deutschland sind glanduläre und ulzero-glanduläre Tularämie, gefolgt von der pulmonalen und der oropharyngealen Form.

Das Konsiliarlabor bietet für den Nachweis von *F. tularensis* eine akkreditierte Diagnostik an (http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik_Speziallabore/Bakterien/Begleitschein_Proben-einsendung.pdf?__blob=publicationFile9). Nach DIN EN ISO 15189:2014 wurde die Kompetenz zur Durchführung von Untersuchungen zur „Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik“ für Tularämie und nach DIN EN ISO/IEC 17025:2018 die Kompetenz zur Durchführung von Prüfungen im Bereich „Medizinische Laboratoriumsuntersuchungen im Rahmen klinischer und epidemiologischer Studien“, die auch Umweltprobenanalytik einschließt, von der Deutschen Akkreditierungsstelle (DAkkS) bescheinigt.

Bei den akkreditierten „kulturellen Verfahren“ handelt es sich um die Anzucht aus komplexen Proben auf nicht-selektiven und selektiven Nährböden zum Zweck der Isolierung von *F. tularensis* und dessen weiterer Identifizierung und Charakterisierung. Das schließt auch grundsätzlich die Erstellung von Antibiogrammen ein, die allerdings bisher nicht akkreditiert sind, da es hierzu von der European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) keine Richtlinien gibt. Die Anzucht und weitere Charakterisierung von *F. tularensis* sollte Speziallaboren vorbehalten bleiben, da der Erreger besondere Ansprüche an die Nährmedien sowie Kulturbedingungen stellt, hochinfektiös ist und damit besondere Anforderungen an den Schutz des Personals stellt.

Als molekulare Diagnostik wurde eine Multiplex-Real-Time-PCR (qPCR) zum Nachweis der beiden Marker *tul4* und *fopA* zur Identifizierung der *Francisella* Spezies sowie die RD₁-PCR zur Differenzierung der *F. tularensis* Subspezies akkreditiert. Die qPCR erlaubt einen molekulargenetischen Nachweis des Erregers auch aus Proben aus denen eine Kultivierung nicht möglich ist.

Weiterhin können fixierte, z. B. in Paraffin gebettete Proben mittels Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) mit einer spezifischen Sonde für *F. tularensis* untersucht werden (nicht akkreditierter Bereich).

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das Lipopolysaccharid (LPS) von *F. tularensis* wurde als „Ligamentest“ in-house ELISA und Westernblot validiert und akkreditiert. Mit dem ELISA können die Isotypen IgG, IgM und IgA nachgewiesen werden. Die in-house Tests sind dem kommerziellen Testen durch den Nachweis der Isotypen (ELISA) überlegen und erweisen sich als eine besonders kostengünstige Variante bei der Durchführung größerer epidemiologischer Studien.

Beratung zur Therapie und Prophylaxe

Grundsätzlich können zur Therapie und Prophylaxe nur Hinweise, basierend auf der Fachliteratur und der Veröffentlichung zu „Hinweise zur Therapie der Tularämie“ (https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/Stakob/Stellungnahmen/Stellungnahme_Tularaemie.pdf?__blob=publication-File) des Ständigen Arbeitskreises der Kompetenz- und Behandlungszentren für hochkontagiöse und lebensbedrohliche Erkrankungen (StAKoB) gegeben werden, da die Erfahrungen dazu in Deutschland sehr begrenzt sind. Für die rechtzeitige Behandlung der akuten Tularämie stehen wirksame

Antibiotika zur Verfügung. Für die Prophylaxe der Tularämie gibt es derzeit weltweit keinen zugelassenen Impfstoff.

Das Leistungsangebot von dem Konsiliarlabor für *Francisella tularensis*:

- Durchführung von akkreditierter Labordiagnostik (Anzucht, PCR, Antikörpernachweis) in klinischen und tierischen Untersuchungsmaterialien sowie Erregernachweis in Umweltproben.
- Beratung zu Untersuchungsproben und deren Versand.
- Unterstützung bei der Identifizierung von Infektionsquellen und Ausbruchsuntersuchungen.
 - Anzucht und Charakterisierung von *F. tularensis*, einschließlich Resistenzbestimmung, unter besonderen Schutzbedingungen bis zur Schutzstufe S3.
- Typisierung von *F. tularensis* und Abgrenzung der verschiedenen Subspezies und *Francisella*-Spezies mit molekulargenetischen Methoden.
- Identifizierung und Charakterisierung neuartiger *Francisella*-Spezies.
- Beratung zu den Untersuchungen von Proben mit Verdacht auf Bioterrorismus.
- Unterstützung von Qualitätssicherungsmaßnahmen in der Diagnostik

Wichtige Publikationen

- Pfeil J, Heuner K, Scholz H, Strozyk T, Jacob D. 2022. Ulkus und Lymphadenitis nach Zeckenstich. MOKI Monatsschr. Kinderheilkd, Doi:org/10.1007/s00112-022-01671-w.
- Borgschulthe HS, Jacob D, Zeeh J, Scholz H and Heuner K. 2022. Ulceroglandular form of tularemia after squirrel bite: A case report. J. Med. Case Reports. 16:309. doi: 10.1186/s13256-022-03510-8.
- Appelt S & Faber M, Köppen K, Jacob D, Grunow R, Heuner K. 2020. *Francisella tularensis* subspecies holarctica and Tularemia in Germany. Microorganisms; 22;8(9): E1448. doi: 10.3390.
- Jacob D & Köppen K, Radonic A, Haldemann B, Zanger P, Heuner K, Grunow R. 2019. Molecular identification of the source of an uncommon tularaemia outbreak, Germany, autumn 2016. Euro Surveill. 24 (18): pii=1800419. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.18.1800419>.
- Burckhardt F, Hoffmann D, Jahn K, Heuner K, Jacob D, Vogt M, Bent S, Grunow R, Zanger P. 2018. Oropharyngeal tularemia from freshly pressed grape must. N. Engl. J. Med. 379:197-199. doi: 10.1056/NEJMcl1800353.

ABSTRACT

Tularämie in Deutschland – Eine seltene Erkrankung?

Jacob D, Heuner K

Francisella tularensis ist ein fakultativ intrazelluläres Bakterium und Auslöser der zoonotischen Erkrankung Tularämie bei Mensch und Tier. Deutschland ist ein niedrig Inzidenz-Land hinsichtlich der Tularämie, zwischen 65 und 119 humanen Fällen wurden seit 2019 jährlich gemeldet. Trotz der Steigerung der Fallzahlen über die letzten 10 Jahre hinweg, scheint die Tularämie in Deutschland

immer noch unterdiagnostiziert zu sein. Die häufigsten klinischen Formen der Tularämie in Deutschland sind glanduläre und ulzero-glanduläre Tularämie (45 – 85 %), gefolgt von der pulmonalen Form (12 %) und der oropharyngealen Form (5 %).

Taxonomisch gehört *F. tularensis* zur Familie der *Francisellaceae*. Zur Gattung *Francisella* gehören neben *F. tularensis* noch einige opportunistische Arten wie *F. novicida*, *F. philomiragia*, und *F. hispaniensis*. Klinisch relevant und die Tularämie in Deutschland auslösend, ist *F. tularensis* subspezies *holarctica*. *F. tularensis* ssp. *holarctica* unterteilt sich in drei Biovare: Biovar 1 (Erythromycin-sensitiv), Biovar 2 (Erythromycin-resistent) und Biovar *japonica* (fermentiert Glycerol). In Deutschland werden hauptsächlich *F. tularensis* ssp. *holarctica* Stämme in an Tularämie erkrankten Tieren und Menschen der Kladen B.6 (Biovar 1) und B.12 (Biovar 2) zugeordnet, nachgewiesen.

In der Präsentation werden wir einige ausgewählten Tularämiefälle (Jagd-assoziiertes Ausbruch, Eichhörnchen-Biß, die pulmonale Form der Tularämie) vorstellen.

Konsiliarlabor für Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)



Prof. Dr. Gerhard Dobler

Leitung

Prof. Dr. Gerhard Dobler

Institut

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr

Adresse

Neuherbergstrasse 11, 80937 München

E-Mail

gerharddobler@bundeswehr.org

Telefon

+49 89 9926923974

Stellvertretung

Dr. Sabine Zange

Institut

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr

Adresse

Neuherbergstrasse 11, 80937 München

E-Mail

sabinezange@bundeswehr.org

Telefon

+49 89 992692393808

Das Konsiliarlabor für FSME versteht sich als Stelle, an der Patienten, Krankenhäuser, Ärzte und alle Ebenen des ÖGD Auskunft zu Fragen aller Art zur FSME und zu den FSME-Virus übertragenden Zecken erhalten können. Das Labor ist am Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr angesiedelt und es werden umfangreiche Forschungsaktivitäten auf allen Gebieten zur FSME durchgeführt. Schwerpunkte bilden die Epidemiologie und Naturherd-Forschung sowie die Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren um komplexe Verlaufsformen und Fragestellungen, wie z. B. Impfvorsager eindeutig diagnostizieren zu können. Das Institut verfügt über eine der größten bekannten FSME-Virus-Stammsammlungen weltweit. Diese Stämme werden u. a. für die Evaluierung und Etablierung neuer diagnostischer Verfahren genutzt. Am Institut existiert auch eine umfangreiche Sammlung von mit dem FSME-Virus verwandten Flaviviren (u. a. Gelbfieber-Virus, Dengue-Viren, West Nil-

Virus, Zika-Virus). Diese dienen dazu um die bei vielen Patienten vorhandenen Flavivirus-Antikörper serologisch eindeutig (u. a. im Neutralisationstest mit lebenden Viren) differenzieren zu können. Durch den am Institut entwickelten, bisher weltweit einmaligen Test zum Nachweis von Nichtstruktur-Antikörpern gegen FSME-Virus ist es möglich geworden Antikörper von FSME-Infektionen und nach FSME-Impfung zu unterscheiden. Dieser Test ist damit eine wichtige Hilfe zur Diagnose von Impfversagern. Weiterhin ist es erstmalig seit Einführung der Impfung wieder möglich Inzidenz- und Prävalenz-Untersuchungen zur Häufigkeit von FSME-Infektionen in der Bevölkerung durchzuführen. Durch die Anwendung des Neutralisationstests lassen sich protektive Antikörper nachweisen und damit die Angaben der Krankenkassen zur Durchimpfung mit dem FSME-Impfstoff verifizieren.

Ein weiterer Schwerpunkt ist die FSME-Feldforschung. Hier werden die Areale, in den FSME-Virus in der Natur zirkuliert und zu Infektionen beim Menschen führt (sog. Naturherde) identifiziert, genau kartographiert und geographisch analysiert. Die aus den Zecken isolierten Viren werden genetisch und phänotypisch untersucht. Durch phylogenetische Analysen ist es möglich die Verbreitungswege und Arten der Verbreitung nachzuvollziehen und damit mögliche Ausbreitungstendenzen frühzeitig zu erkennen. Neben der umfangreichen Beratungstätigkeit, v.a. zu Infektionsverläufen, zu Impfungen, zur Durchführung und Auswertung diagnostischer Testungen führt das Konsiliarlabor für FSME eine umfassende diagnostische Labortätigkeit (> 250 FSME-Spezialbestimmungen pro Jahr mit teilweise umfangreicher Methodik incl. Differenzierung von anderen Flavivirus-Infektionen) durch und leistet damit einen einzigartigen Beitrag zur eindeutigen Diagnostik, zum Verständnis der Epidemiologie und zur besseren Prävention der FSME in Deutschland und Europa.

Wichtige Publikationen

- Bestehorn-Willmann M, Giral P, Greiner F, Mackenstedt U, Dobler G, Lang D. Increased Vaccination Diversity Leads to Higher and Less-Variable Neutralization of TBE Viruses of the European Subtype. *Vaccines* (Basel). 2023 May 31;11(6):1044.
- Dobler G, Euringer K, Kaier K, Borde JP. Serological Protection Rates against TBEV Infection in Blood Donors from a Highly Endemic Region in Southern Germany. *Vaccines* (Basel).
- Geißreiter B, Kluger G, Eschermann K, Kiwull L, Staudt M, Dobler G, Wolf GK. High neutralizing antibody mismatch as a possible reason for vaccine failure in two children with severe tick-borne encephalitis. *Ticks Tick Borne Dis.* 2023 Jul;14(4):102158.
- Euringer K, Giral P, Kaier K, Peilstöcker J, Schmidt M, Müller-Steinhardt M, Rauscher B, Bressau E, Kern WV, Dobler G, Borde JP. Tick-borne encephalitis virus IgG antibody surveillance: vaccination- and infection-induced seroprevalences, south-western Germany, 2021. *Euro Surveill.* 2023 Mar;28(12):2200408.
- Lang D, Chitimia-Dobler L, Bestehorn-Willmann M, Lindau A, Drehmann M, Stroppel G, Hengge H, Mackenstedt U, Kaier K, Dobler G, Borde J. The Emergence and Dynamics of Tick-Borne Encephalitis Virus in a New Endemic Region in Southern Germany. *Microorganisms.* 2022 Oct 27;10(11):2125.

ABSTRACT 1

Was bedeutet der Begriff „Risikogebiet“ für die FSME?

Dobler G

Die FSME ist die wichtigste durch Zecken übertragene Virusinfektion in Europa. Das FSME-Virus zirkuliert in sog. Naturherden in der Natur. In Deutschland wird die FSME aktuell überwiegend in den südlichen Bundesländern diagnostiziert. Risiko-Landkreise konzentrieren sich hauptsächlich in den Bundesländern südlich der Mittelgebirgsschwelle. Dabei werden Land-/Stadtkreise mit einer Inzidenz $> 1/100.000$ in einem Fünfjahres-Zeitraum vom RKI als Risikogebiete eingestuft, Land-/Stadtkreise mit einer Inzidenz $< 1/100.000$ als Nicht-Risikogebiete. Diese beiden Begrifflichkeiten führen zunehmend zu Missverständnissen in der Ärzteschaft. Dies führt in Zeiten knapper finanzieller Mittel dazu, dass in Nicht-Risikogebieten eine FSME-Diagnostik nicht durchgeführt wird, da sie nach dem Verständnis der Ärzteschaft ja nicht in einem Nicht-Risikogebiet vorkommen kann. Entsprechende Situationen, in denen eine FSME-Erkrankung nur durch die persönliche Kontaktaufnahme und Initiative von Patienten am NKL für FSME diagnostiziert wurden, werden vorgestellt. Diese Entwicklung führt schlussendlich in niedrig-endemischen Regionen („Nicht-Risikogebieten“ nach RKI-Definition) dazu, dass bei Patienten die FSME-Erkrankung nicht diagnostiziert wird und damit, neben so mancher persönlichen Odyssee von Patienten die tatsächliche Inzidenz der FSME deutlich unterschätzt wird. Aufgrund dieser Erfahrungen wird dringend eine Veränderung der Begrifflichkeit „Nicht-Risikogebiet“ empfohlen, basierend auf den epidemiologischen Meldezahlen und Daten zur Verbreitung des FSME-Virus des NKL

ABSTRACT 2

Wertigkeit alter und neuer Nachweis-Verfahren in der Diagnostik der FSME

Dobler G

Die FSME ist die wichtigste durch Zecken übertragene Virusinfektion in Europa. Für ihre Diagnostik ist neben allgemeinen Untersuchungen (Anamnese, Symptomatik, Blut-, Liquorwerte) insbesondere der Nachweis von kommerziell erhältlichen und mehr oder weniger spezifischen IgM- und IgG-ELISA-Testen unabdingbar. Aktuelle Untersuchungen, insbesondere bei Patienten mit anamnestischer FSME-Impfung („Impfdurchbrüche“) zeigen, dass diese Teste hier häufig falsche Ergebnisse liefern. Weiterhin führt die Etablierung und Zirkulation eines weiteren Flavivirus, des West Nil-Virus, in Teilen Ostdeutschlands durch serologische Kreuzreaktionen zunehmend zu Problemen in der Routine-Diagnostik der FSME (und West Nil-Virusinfektion). Durch die Neu-Entwicklung des Nachweises von IgG-Antikörpern gegen das Nichtstruktur-Protein NS₁ des FSME-Virus konnte am NKL ein Test etabliert werden, der eindeutig zwischen Impfung und Infektion unterscheiden kann und daneben eine sehr hohe Spezifität für FSME-Virus gegen andere Flaviviren aufweist. Die häufig angeforderte PCR aus Liquor hilft dagegen nicht in der bestätigenden Diagnostik weiter. Der Nachweis

einer Immunität kann im individuellen Fall nicht über den kommerziellen FSME-IgG-ELISA durchgeführt werden, da hier deutliche Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren auftreten können und somit in diesen Fällen eine Immunität bescheinigt wird, die jedoch nicht vorhanden ist. Hier ist nach wie vor alleinig der Neutralisationstest aussagekräftig. Zusätzlich wird die Diagnostik von auf Reisen erworbenen FSME-Infektionen mit dem sibirischen oder fernöstlichen Subtyp kompliziert, da hier teilweise IgM nicht oder nur verzögert in europäischen ELISA-Systemen nachweisbar ist. Entsprechende Patienten (v. a. aus Finnland, Baltikum, Russland, China) müssen individuell diagnostiziert und bewertet werden.

Konsiliarlabor für Gonokokken



Dr. med. Susanne Buder

Leitung

Dr. med. Susanne Buder

Institut 1

Konsiliarlabor für Gonokokken am Robert Koch-Institut, FG 18 Sexuell übertragbare bakterielle Erreger (STI) und HIV

Adresse

Seestraße 10, 13353 Berlin

Institut 2

Vivantes Klinikum Berlin Neukölln, Klinik für Dermatologie und Venerologie

Adresse

Rudower Straße 48, 12351 Berlin

E-Mail

BuderS@rki.de

Telefon

+49 151 2646 8561

Wichtige Publikationen

Meyer T, Buder S. The Laboratory Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*: Current Testing and Future Demands. *Pathogens*. 2020 Jan 31;9(2):91.

Selb R, Jansen K, Eckardt M, Tamminga T, Dudareva S, Gassowski M, Graeber I, Guhl E, Heuer D, Buder S; GORENET EQA study group. External quality assessment (EQA) of *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility testing in primary laboratories in Germany. *BMC Infect Dis*. 2020 Jul 16;20(1):514.

Buder S, Dudareva S, Jansen K, Loenenbach A, Nikisins S, Sailer A, Guhl E, Kohl PK, Bremer V; GORENET study group. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Germany: low levels of cephalosporin resistance, but high azithromycin resistance. *BMC Infect Dis*. 2018 Jan 17;18(1):44.

Buder S, Schöfer H, Meyer T, Bremer V, Kohl PK, Skaletz-Rorowski A, Brockmeyer N. Bacterial sexually transmitted infections. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2019 Mar;17(3):287-315.

Day MJ, Jacobsson S, Spiteri G, Kulishev C, Sajedi N, Woodford N, Blumel B, van der Werf MJ, Amato-Gauci AJ, Unemo M, Cole MJ; Euro-GASP network. Significant increase in azithromycin "resistance" and susceptibility to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in 26 European countries, 2019. *BMC Infect Dis.* 2022 Jun 7;22(1):524.

ABSTRACT

Neue Therapieoptionen für Infektionen mit *Neisseria gonorrhoeae*

Buder S^{1,2}, Feige P^{1,4}, Guhl E^{1,2}, Selb R³, Jansen K³, Heuer D⁴

- 1 Konsiliarlabor für Gonokokken am Robert Koch-Institut, FG 18
- 2 Vivantes Klinikum Berlin Neukölln, Klinik für Dermatologie und Venerologie
- 3 Robert Koch-Institut, FG 34 HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen
- 4 Robert Koch-Institut, FG 18 Sexuell übertragbare bakterielle Erreger (STI) und HIV

Einleitung: Infektionen mit *Neisseria gonorrhoeae* (NG) sind in den letzten Jahren wegen zunehmend erschwerter Behandelbarkeit in den Focus gerückt. Deshalb ist man international bemüht diesem Trend zu begegnen. Ziel ist es, Therapieoptionen festzulegen, die eine sichere Therapiekontrolle ermöglichen und weiteren Resistenzentwicklungen entgegenwirken.

Methoden: Es werden aktuelle Therapieempfehlungen miteinander verglichen: AMWF (2019), BASHH (2018), IUSTI (2020), CDC (2020), WHO (2016). Diese werden in den Kontext moderner pharmakologischer Entwicklungen gestellt, welche Weiter- und Neuentwicklungen, wie das Siderophorantibiotikum Cefiderocol oder Zoliflodazin, ein Spiro-Pyrimidin-Trion, berücksichtigen. Weitere Ansätze, wie Chemo-Postexpositionsprophylaxe und Impfstoffentwicklungen werden kritisch reflektiert.

Ergebnisse: Die Entwicklung von Therapieleitlinien für die Gonorrhoe erfolgt auf der Basis der derzeit bestehenden lokalen und globalen Resistenzsituation sowie der Pharmakodynamik und -kinetik der verfügbaren Therapeutika und berücksichtigt auch die individuelle Patientensituation. Daher sind die meisten internationalen Therapieempfehlungen aktualisiert worden. Die Leitlinien empfehlen uneingeschränkt Ceftriaxon als first-line Therapeutikum. Unterschiede bestehen in der Dosierung (zwischen 250 mg – 2 g), wobei alle jüngst aktualisierten Leitlinien die Dosisempfehlungen zu Gunsten höherer Dosierung verändert haben. Ein besonderer Focus liegt auf Azithromycin. Für dieses Antibiotikum wurde bei NG weltweit eine steigende Resistenzrate beobachtet, in einigen Ländern sogar vermehrtes Auftreten von high-level Azithromycin-Resistenz. Berücksichtigung findet auch die Lokalisation der Infektion, da z.T. unterschiedliche Bioverfügbarkeiten der Antibiotika bekannt sind. Daher sollte in weiteren Lokalisationen (pharyngeal, urethral, anal) nach Infektionen gesucht und die Therapie entsprechend ausgestaltet werden.

Angesichts der schwierigen therapeutischen Situation ist die Suche nach neuen Behandlungsansätzen wichtig. Die potenzielle Wirksamkeit moderner antimikrobieller Substanzen, welche neue Zielstrukturen ansprechen (z. B. Zoliflodazin als Spiro-Pyrimidin-Trion, Pleuromutilin-Antibiotika, small

molecule antibiotics), wird derzeit untersucht und charakterisiert einige vielversprechende Wirkstoffe. Andere Therapieansätze greifen auf Therapeutika zurück, welche für andere Indikationen bereits zur Verfügung stehen.

Interessante neue Aspekte ergeben sich derzeit bei der Entwicklung von Impfstoffen. Untersuchungen von Impfstoffkandidaten, insbesondere gegen *N. gonorrhoeae* auf der Basis von Impfstoffen gegen *N. meningitidis*, sind vielversprechend.

Diskussion: Die Therapie der Gonorrhoe stellt behandelnde Ärzte weltweit vor eine Herausforderung. Der verantwortungsbewusste Umgang mit den wenigen verbleibenden antibiotischen Therapiemöglichkeiten steht hierbei im Focus. Aktuelle Leitlinien auf der Basis verlässlicher Resistenzdaten werden benötigt, um die Therapie sicher und erfolgreich zu gestalten. Die Entwicklung neuer Therapieansätze bleibt abzuwarten.

Konsiliarlabor für Hämolytisch-Urämisches Syndrom (HUS)



Univ.-Prof. Dr. med. Alexander Mellmann

Stellvertretung 1

Univ.-Prof. Dr. med. Alexander Mellmann

Institut

Institut für Hygiene

Adresse

Universitätsklinikum Münster
Robert-Koch-Straße 41, 48149 Münster

E-Mail

Alexander.Mellmann@ukmuenster.de

Telefon

+49 25183-55361

ABSTRACT

Umsetzung und Erfahrung aus der Nutzung von Long-Read-Sequenzierungsdaten am KL für Hämolytisch-Urämisches-Syndrom (HUS)

Middendorf B, Schwierzeck V, Mellmann A

Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) zählen zu den intestinal-pathogenen *E. coli* und können neben wässrigen und blutigen Diarrhöen auch das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) verursachen. Der Hauptvirulenzfaktor von EHEC sind Shiga Toxine (Stx), die in verschiedenen Varianten und Kombinationen im Erregergenom kodiert sein können. Es ist bekannt, dass nicht alle Stx-Varianten mit der Entwicklung eines HUS assoziiert sind, sodass der Differenzierung der Stx-

Varianten eine wichtige prognostische Bedeutung zukommt. Bereits seit knapp 10 Jahren werden am Konsiliarlaboratorium für HUS alle EHEC mittels Gesamtgenomsequenzierung charakterisiert, wobei aus dem Datensatz neben reinen Typisierungsinformationen zur Detektion möglicher Übertragungen auch die Extraktion der verschiedenen Virulenzmarker auf Allelebene zunehmend wichtiger geworden ist. Die Probleme von Short-Read-Sequenzierungsansätzen, redundante oder sehr ähnliche DNA-Abschnitte inklusive der eindeutig zuzuordnenden Grenzregionen bei der Assemblierung von Sequenzdaten sauber abzubilden, betrifft u. a. auch die Shiga Toxin-Subtypen *stx2a*, *stx2c* und *stx2d*, die sich auf DNA-Ebene um weniger als 2 % unterscheiden. Diese Subtypen sind mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines HUS assoziiert und führen laut gängiger Empfehlungen selbst bei Ausscheidern mit milder bis keiner Symptomatik zu einem vorübergehenden Ausschluss aus Gemeinschaftseinrichtungen. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, diese Varianten möglichst eindeutig zu identifizieren. Zudem hat die Tatsache, dass in einer Zelle generell mehrere Shiga Toxin-kodierende Phagen gleichzeitig vorkommen können, die unterschiedliche oder auch identische Subtypen kodieren, in der Vergangenheit bei Short Read-Ansätzen immer wieder zu nicht eindeutigen Typisierungsergebnissen geführt. Durch die Umstellung auf die Long-Read-Technologie konnten diese Probleme beseitigt werden, da nun neben einer eindeutigen Identifizierung des *stx*-Subtyps auch eine *in silico* Vorhersage der Shiga Toxin-kodierenden Phagen zur Absicherung der Ergebnisse möglich ist. Insgesamt ist davon auszugehen, dass Long Read-Sequenzierungsansätze zu einer verbesserten Risikoabschätzung anhand wichtiger genetischer Marker für die genomische Surveillance dieses Erregers führen werden.

Konsiliarlabor für Hantaviren

Leitung

Prof. Dr. Jörg Hofmann

Institut

Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH

Adresse

Sylter Strasse 2, 13353 Berlin

E-Mail

joerg.hofmann@charite.de

Telefon

+49 30 405-026351

Die Hantavirus-Erkrankung ist eine hochfieberhafte Infektionskrankheit, die zu Schock und Nierenversagen führen kann. Hantaviren werden von kleinen Säugetieren auf den Menschen übertragen; im Sinne eines One-Health-Ansatzes kann also die Epidemiologie der menschlichen Erkrankung nicht von der Virusepidemiologie in den tierischen Reservoiren (Mäuse, Ratten) losgelöst betrachtet werden. Seit 2001 ist die Erkrankung meldepflichtig, jährlich werden im Durchschnitt ca. 700 Erkrankungsfälle (in sog. „Ausbruchsjahren“ bis zu 3,000 Fälle) dem RKI gemeldet. Bei der „Priorisierung übertragbarer Infektionserreger unter dem Aspekt der Surveillance und epidemiologischen Forschung“ durch das RKI gehören Hantaviren zur Gruppe der Erreger mit höchster Priorität.

Das KL für Hantaviren hat in den vergangenen Jahren eine umfassende serologische und molekulare Diagnostik für den Nachweis und die Typisierung von Hantavirus-Infektionen etabliert und entwickelt diese ständig weiter. Zur serologischen Primärdiagnostik stehen ELISAs (IgM, IgG) auf der Basis der relevanten Nukleokapsidproteine der autochthonen Hantavirus-Species (Puumala, Dobrava-Belgrad und weitere, s. u.) sowie wichtiger Virusspecies aus Afrika, Amerika und Asien (Sangassou, Sin Nombre, Andes, Hantaan), die zum Nachweis importierter Infektionen relevant sind, zur Verfügung. Für Bestätigungstests wurden Immunoblots und Immunfluoreszenztests auf der Basis dieser Virusantigene etabliert. Zur molekularen Diagnostik und Virustypisierung wurden eine Reihe von molekularen Suchtests (von uns entwickelte „Pan-Hanta-PCR“ – die inzwischen international als Goldstandard angesehen wird – und verschiedene virusspezifische PCRs) aufgebaut, die auch zur molekularepidemiologischen Analyse von Ausbruchsstämmen genutzt werden.

Das Angebot der spezifischen serologischen und molekularen Diagnostikleistungen wird überregional durch Labore und Kliniken intensiv genutzt, wobei die meisten Anforderungen während der alle 2 bis 3 Jahre auftretenden Ausbruchssituationen in Deutschland erfolgen. Die Anforderungen, die vor allem aus Gesundheitsämtern und dem ambulanten Bereich kommen, betreffen vor allem die Bestätigung serologischer Primärbefunde, die Typisierung der für die jeweilige Infektion ursächlichen Hantaviren sowie die Identifizierung möglicher Infektionsorte und -quellen. Für die von den

Routinelaboren standardmäßig eingesetzten Seroassays (hauptsächlich zum Nachweis von Infektionen mit dem Puumala- und dem Dobrava-Belgrad-Virus) wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Standardisierung (INSTAND e.V.) ein erfolgreiches Ringversuchsprogramm eingeführt, an dem inzwischen fast 100 in- und ausländische Labore zweimal jährlich teilnehmen. Im Netzwerk der Referenz- und Konsiliarlaboratorien für zoonotische Infektionen haben wir zur Unterstützung der externen Qualitätssicherung den Band „Zoonosen“ im Rahmen der Reihe „MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik“ (Band 33, Elsevier) erarbeitet.

Gegenwärtig laufende Entwicklungen betreffen

- die Etablierung von Luminex-basierten Multiplex-Assays zur Automatisierung der Antikörperdiagnostik,
- das Next Generation Sequencing (NGS) nach spezifischer Anreicherung der Virus-Nukleinsäure aus dem Patientenmaterial durch Hybrid-Capture- Verfahren, wodurch die Chance auf eine erfolgreiche Sequenzanalyse signifikant erhöht wird, sowie
- die Etablierung von sog. Pseudotyp-Hantaviren zur Durchführung von Neutralisationstesten zur serologischen Typisierung der jeweiligen Virusspecies. Der Neutralisationstest ist von Bedeutung, da die PCR aus Patientenmaterial nur innerhalb weniger Tage nach Krankheitsausbruch möglich ist, neutralisierende Antikörper aber längere Zeit persistieren. Das Pseudotyp-Verfahren kann den bisher bei uns durchgeführten Fokusneutralisationstest, der aufwendig unter Hochsicherheitsbedingungen (BSL-3) ausgeführt werden muss, unter weitaus günstigeren Sicherheitsanforderungen ablösen.

Einen Schwerpunkt der Untersuchungen bildet die Epidemiologie der Hantavirus-Infektion in Deutschland, für die wir 2 Haupterreger charakterisiert haben. Der Großteil der Infektionen (> 95 %) wird durch Hantaviren des Typs Puumala-Virus (Überträger auf den Menschen: Rötelmaus) hervorgerufen. Diese Infektionen treten vor allem im Süden und Westen Deutschlands auf; wir haben hier verschiedene Ausbruchsgebiete (Schwäbische Alb, Münsterland, Teutoburger Wald, Unterfranken, Odenwald, Oberschwaben, Fränkische Alb, Bayerischer Wald, Ost-Hessen und West-Thüringen) definiert, in dem es zu konzentrierten Infektionen kommt. Molekularphylogenetische Analysen zeigen, dass sich die Puumalavirus-Stämme der Ausbruchsgebiete voneinander unterscheiden, es handelt sich also um parallele Ausbrüche, die nicht aus derselben Infektionsquelle stammen. – Infektionen mit dem Dobrava-Belgrad-Virus (Genotyp Kurkino, Überträger: Brandmaus) treten in Nordost-Deutschland auf; hier gibt es keine expliziten Ausbruchsgebiete, sondern eine eher zufällige Verteilung der endemischen Infektionen.

Die Datengenerierung zur Epidemiologie der Hantavirus-Infektionen in Deutschland verfolgt das Ziel, Risikogebiete exakter und der epidemiologischen Situation entsprechend aktueller zu kartieren. Mit diesen Informationen sollen Gesundheitsämter immer besser in die Lage versetzt werden, auch kleinere Ausbruchsgebiete eingrenzen zu können und die Bevölkerung in diesen Gebieten für infektionsprophylaktische Verhaltensweisen zu sensibilisieren. Bei der Bewertung der epidemiologischen Situation existiert eine enge Zusammenarbeit mit dem Fachgebiet 35 des RKI, die auch durch gemeinsame Publikationen belegt ist. Mit dem RKI besteht zudem eine kontinuierliche Kooperation bei der Erarbeitung wissenschaftlicher Materialien für den Infektionsschutz in Deutschland. Im „RKI-Ratgeber“ wird das Kapitel Hantavirus-Erkrankung durch uns regelmäßig aktualisiert (https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Hantaviren.html).

Eine produktive Zusammenarbeit besteht gleichzeitig mit dem veterinärmedizinischen Referenzlabor für Hantaviren am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) Greifswald. Dieses beschäftigt sich u. a. mit der Auffindung von Infektions-Hotspots in den Populationen kleiner Säugetiere und mit Modellen zur Vorhersage von Virusausbrüchen bei diesen Tieren, die dann auch auf den Menschen übergehen können. Wir konnten zeigen, dass neben der Rötelmaus und der Brandmaus (Überträger der in Deutschland dominanten Puumala- bzw. Dobrava-Belgrad-Viren) weitere Überträger von Hantaviren in Deutschland vorkommen: Hantavirus-Erkrankungen werden auch ausgelöst durch das Seoul-Virus, das in den untersuchten Fällen in Norddeutschland durch infizierte Spielratten (!) auf den Menschen übertragen wurde. Zum zweiten konnten wir die Human-Pathogenität des ebenfalls in Deutschland vorkommenden Tulavirus (Überträger: Feldmaus) nachweisen. Diese Untersuchungen erweitern die Risikoabschätzung der Gefährdung der Bevölkerung durch Zoonosen und fordern eine engere Kontrolle der Infektionsquellen, z. B. des unkontrollierten Handels mit Spielratten.

Die Zusammenarbeit mit dem FLI und weiteren Einrichtungen schlägt sich auch in Aktivitäten des interdisziplinären „RoBoPub“-Verbundvorhabens im Rahmen der Nationale Forschungsplattform für Zoonosen nieder. Ziel ist die Verbesserung der Öffentlichen Gesundheit durch ein besseres Verständnis der Epidemiologie nagetierübertragener Krankheiten. Ein Merkblatt „Informationen zur Vermeidung von Hantavirus-Infektionen“, das auf den Homepages des RKI, des FLI und der Charité Berlin zu finden ist (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/Hantavirus/Merkblatt_PDF.pdf?), wird von uns regelmäßig aktualisiert.

Das Konsiliarlabor realisiert ausgedehnte Beratungsleistungen für den ÖGD, Kliniken, niedergelassene Ärzte, Labore, Patienten und deren Angehörige sowie die Medien. Neben Fragen zum klinischen Bild und der Diagnostik der Hantavirus-Erkrankung betreffen die Anfragen vor allem Risikoeinschätzungen auf der Basis der epidemiologischen Situationen in den verschiedenen Regionen der Bundesrepublik, die Vermeidung von Infektionen und das Vorgehen bei Verdachtsfällen auf Infektion. Ziel ist ein weitgehender Schutz der Bevölkerung vor Hantavirus-Infektionen, der wegen eines bisher fehlenden Impfstoffes für Risikogruppen (z. B. Waldarbeiter) ausschließlich auf Maßnahmen der Expositionsprophylaxe beruht.

Wichtige Publikationen

- Hofmann J, Loyen M, Faber M, Krüger DH. Hantavirus-Erkrankungen: Ein Update. *Dtsch Med Wochenschr.* 2022 Mar;147(6):312-318. doi: 10.1055/a-1664-7259.
- Hofmann J, Kramer S, Herrlinger KR, Jeske K, Kuhns M, Weiss S, Ulrich RG, Krüger DH. Tula virus as causative agent of hantavirus disease in immunocompetent person, Germany. *Emerg Infect Dis.* 2021 Apr;27(4):1234-1237. doi: 10.3201/eid2704.203996.
- Hofmann J, Heuser E, Weiss S, Tenner B, Schoppmeyer K, Esser J, Klier C, Drewes S, Ulrich RG, Krüger DH. Autochthonous ratborne Seoul virus infection in woman with acute kidney injury. *Emerg Infect Dis.* 2020 Dec;26(12):3096-3099. doi: 10.3201/eid2612.200708.
- Faber M, Krüger DH, Auste B, Stark K, Hofmann J, Weiss S. Molecular and epidemiological characteristics of human Puumala and Dobrava-Belgrade hantavirusinfections, Germany, 2001 to 2017. *Euro Surveill.* 2019 Aug;24(32):1800675. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.32.1800675.

Hofmann J, Grunert HP, Donoso-Mantke O, Zeichhardt H, Kruger DH. Does proficiency testing improve the quality of hantavirus serodiagnostics? Experiences with INSTAND EQA schemes. *Int J Med Microbiol.* 2015 Oct;305(7):607-11. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.08.009.

ABSTRACT

Infektionen mit Seoul Virus: erste Fälle in Deutschland und Möglichkeiten des Nachweises

Hofmann J¹, Ulrich RG^{2,3}, Krüger DH¹

- 1 Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, Institute of Virology, Berlin, Germany
- 2 Friedrich-Loeffler-Institut, Federal Research Institute for Animal Health, Institute of Novel and Emerging Infectious Diseases, Greifswald-Insel Riems, Germany
- 3 German Centre for Infection Research (DZIF), Partner Site Hamburg-Lübeck-Borstel- Riems, Greifswald-Insel Riems, Germany

Die Hantavirus-Erkrankung ist eine Zoonose; humanpathogene Hantaviren werden durch die Ausscheidungen infizierter Nagetiere auf den Menschen übertragen. In Deutschland werden jährlich zwischen 100 und 3.000 labordiagnostisch bestätigte Fälle an das RKI gemeldet. Der größte Anteil entfällt auf Infektionen mit Puumala Virus (PUUV), vornehmlich im Süden und Westen Deutschlands, ein deutlich geringerer Anteil resultiert aus Infektionen mit Dobrava-Belgrad Virus (DOBV), hauptsächlich in Nord- und Ostdeutschland. Das Seoul Virus (SEOV) ist eine Hantavirus-Spezies mit Ratten als natürlichen Wirtstieren. Beim Menschen verursacht es Erkrankungen mit Fieber, akuter Nierenschädigung, häufig Hepatitis und Gastroenteritis, verbunden mit vorübergehender Thrombozytopenie und Proteinurie.

Der erste importierte SEOV-Fall wurde 2018 und der erste autochthone Fall 2020 in unserem Konsiliarlabor diagnostiziert. Als Infektionsquelle wurden als Heimtiere gehaltene Farbratten identifiziert. Weitere Fälle traten Ende 2021 in Familien in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen auf. Insgesamt wurden 5 der 6 akut infizierten Personen hospitalisiert. Nach 1 – 3 Wochen Klinikaufenthalt sind alle Patienten*Innen geheilt entlassen worden.

Eine Serumprobe eines Patienten (2 Monate nach der akuten Infektion gewonnen) wurde an 8 europäische Labore mit Erfahrungen in der Hantavirus-Diagnostik versendet. In diesen Laboren wurden unterschiedliche serologische Screeningteste und zur Bestätigung ein Immunblot durchgeführt. Die Auswertung der Ergebnisse zeigte, dass kein einziger kommerziell zugelassener Assay und kein serologisches In-Haus-Verfahren die Probe richtig als eine SEOV-Infektion detektiert hat. Das SEOV-Nukleokapsidprotein wird zwar erkannt, aber die Banden der heterologen Proteine von DOBV und Hantaan Virus (HTNV) sind ebenfalls positiv und erlauben daher keine sichere Unterscheidung zu SEOV. Im IgM-Blot sieht man häufig auch zusätzliche Reaktivitäten mit den Nukleokapsidproteinen von PUUV und Sin Nombre Virus. Die sichere Typisierung kann derzeit nur molekulardiagnostisch erfolgen (RT-PCR im L-Segment und Sequenzierung).

Hinweise auf das Vorliegen einer SEOV-Infektion können durch unplausible Blot-Ergebnisse (z. B. DOBV/HTNV-Reaktivität in Endemiegebieten für PUUV) geliefert werden. Wenn anamnestisch ein Verdacht auf eine Hantavirus-Infektion besteht, sollte der Arzt*In einen möglichen Kontakt zu Heimratten erfragen. Bei positiven IgM-Ergebnissen sollte unbedingt zeitnah eine Molekulardiagnostik inkl. Typisierung veranlasst werden.

Da die SEOV-Infektion in Deutschland noch nicht im Bewusstsein der Ärzte*Innen angekommen ist, sollte ein Surveillance-Programm etabliert werden mit dem Ziel, genauere Informationen über die Verbreitung dieses Virus zu erhalten. Da die Verbreitung an den Handel mit infizierten Ratten gebunden ist, müssen veterinärmedizinische Einrichtungen und Ämter eingebunden werden.

Konsiliarlabor für Hepatitis-A-Virus (HAV) und Hepatitis-E-Virus (HEV)



Prof. Dr. med. Jürgen Wenzel

Leitung

Prof. Dr. med. Jürgen Wenzel

Institut

Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene,
Universitätsklinikum Regensburg

Adresse

Franz-Josef-Strauß-Allee 11, 93053 Regensburg

E-Mail

juergen.wenzel@ukr.de

Telefon

+49 941 944-6411

Stellvertretung

Dr. Mathias Schemmerer

Institut

Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene,
Universitätsklinikum Regensburg

Adresse

Franz-Josef-Strauß-Allee 11, 93053 Regensburg

E-Mail

mathias.schemmerer@ukr.de

Telefon

+49 941 944-16431

Die Hepatitis A (infektiöse Gelbsucht) ist eine klassische, fäkal-oral übertragene Infektionskrankheit. Deutschland zählt zu den Ländern, in denen diese Erkrankung relativ selten vorkommt (ca. 700 gemeldete Fälle im Jahr 2022). In den letzten Jahren wurden jedoch im Rahmen von Ausbrüchen einige neue und unerwartete Infektionsursachen identifiziert – darunter kontaminierte Tiefkühlbeeren, Datteln und direkte HAV-Übertragungen bei MSM. Diese Entwicklungen rechtfertigen eine nach wie vor hohe Aufmerksamkeit bei allen Akteuren des ÖGD und Gesundheitswesens hinsichtlich HAV.

Die Hepatitis E ist in Deutschland als eine Infektionserkrankung, die vom Tier auf den Menschen übertragen wird, weit verbreitet. Im Jahr 2022 wurden ca. 3.500 Infektionen beim Menschen gemeldet. Aufgrund epidemiologischer Studien muss jedoch von einer deutlich höheren Dunkelziffer ausgegangen werden. Statistischen Modellierungen zu Folge infizieren sich jährlich ca. 400.000 Menschen – vermutlich durch den Verzehr unzureichend erhitzter Lebensmittel tierischen Ursprungs. Das Virusreservoir stellen dabei Haus- und Wildschweine dar. Anders als früher angenommen, spielen importierte HEV-Infektionen hingegen kaum eine Rolle (< 1 %). Die sehr hohe HEV-Inzidenz

wird durch das kürzlich verpflichtend eingeführte allgemeine HEV-Blutspenderscreening bestätigt. In ca. 1 von 1.000 Blutspenden wird derzeit HEV-RNA gefunden.

Das nationale Konsiliarlabor für HAV und HEV ist am Universitätsklinikum Regensburg am Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene angesiedelt. Das Institut versorgt als leistungsfähige infektionsdiagnostische Einheit mehrere Krankenhäuser der Maximalversorgung mit labordiagnostischen Dienstleistungen. Die Akkreditierung nach DIN EN ISO 15189:2014 sowie DIN EN ISO/IEC 17025:2018 liegt vor (www.imhr.de, DakkS Nr. D-ML-13084-03-00 und D-PL-13084-01-00). Das Labor verfügt über ein Qualitätsmanagementsystem, arbeitet nach den Kriterien der Good Laboratory Practice (GLP) und nimmt regelmäßig an nationalen und internationalen Labor-Ringversuchen zur Qualitätskontrolle teil.

Das Leistungsspektrum des Konsiliarlabors für HAV und HEV umfasst:

- Hepatitis-A-Virus: IgG- und IgM-Antikörperbestimmung gegen HAV mittels Immunoassay (CMIA, EIA)
- Bestimmung von HAV-RNA mittels quantitativer RT-PCR aus Serum, Plasma, Stuhl, Biopsien, evtl. Nahrungsmitteln
- Identifizierung von Virusvarianten mittels RT-PCR, Sequenzierung und phylogentischer Analyse; HAV-Genotypisierung und -Subgenotypisierung
- Hepatitis-E-Virus: IgG- und IgM-Antikörperbestimmung gegen HEV mittels EIA und Immunoblot; ggf. Antikörper-Aviditätsbestimmung
- Bestimmung von HEV-RNA mittels quantitativer RT-PCR aus Serum, Plasma, Stuhl, Biopsien, evtl. Nahrungsmitteln
- Identifizierung von Virusvarianten mittels RT-PCR, Sequenzierung und phylogentischer Analyse; HEV- Genotypisierung und ggf.-Subgenotypisierung
- Beratung zu Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und Versandbedingungen

Die Leistungen des Konsiliarlabors für HAV und HEV werden aus ganz Deutschland in Anspruch genommen. Abbildung 1 zeigt die Menge und Verteilung der Einsendungen aus dem Bundesgebiet im Jahr 2022. Im Vergleich zum Zeitraum 2013 – 2015 war in den vergangenen Jahren eine deutliche Zunahme der Analysen zu verzeichnen. Dies ging überwiegend auf externe Einsendungen durch Gesundheitsämter (ÖGD) zurück. In den Jahren 2017 – 2022 blieben die erbrachten Leistungen auf diesem sehr hohen Niveau stabil (Abbildung 2).

Das Konsiliarlabor unterstützt die Einsender durch Abklärung unklarer serologischer HAV- und HEV-Befunde, die Untersuchung von Proben von Patienten und Kontaktpersonen mittels Antikörpertests und molekularer Diagnostik (NAT/PCR). Darüber hinaus dient die HAV- und HEV-Genotypisierung der Charakterisierung von in Deutschland zirkulierenden Virustypen sowie der Abklärung von Infektionsquellen und Infektionsketten (sog. „molekularer Fingerabdruck der Viren“).

Zu den weiteren Aufgaben zählt die Untersuchung von Hepatitis-A-Ausbrüchen mit molekularbiologischen Methoden in Zusammenarbeit mit dem Robert Koch-Institut, dem ECDC, dem BfR und den lokalen Gesundheitsämtern und Landesbehörden (Stichworte: Hepatitis-A-Ausbruch durch Tiefkühlerdbeeren, HAV in Import-Datteln, Hepatitis A unter MSM). Hierbei arbeiten das KL und das RKI eng mit den Behörden anderer (v.a. europäischer) Länder und der übergeordneten europäischen Gesundheitsbehörde ECDC in Stockholm zusammen.

Diese molekularen Untersuchungsmethoden werden auch zur Untersuchung von vermuteten Hepatitis-E-Fallhäufungen aus verschiedenen Bundesländern angewendet. Kürzlich hat das KL in

Kooperation mit dem RKI eine Übersicht über die in Deutschland vorkommenden HEV-Varianten veröffentlicht („HEV-Gentotyp-Atlas“, Schemmerer et al., 2022). In dieser Arbeit wurde auch gezeigt, dass bestimmte HEV-Varianten ein schwereres Krankheitsbild bei den infizierten Personen verursachen als andere.

Das KL für HAV und HEV führt mit nationalen und internationalen Kooperationspartnern Studien zur Etablierung von HAV- und HEV-Laborstandards durch (z. B. PEI, CDC, WHO). Es unterstützt Ringversuchsveranstalter durch die Bereitstellung von Untersuchungsmaterialien und berät bzgl. der Organisation und Durchführung von Ringversuchen.

Neben den kurz geschilderten labordiagnostischen Spezialleistungen berät das Konsiliarlabor viele Akteure im ÖGD und Gesundheitswesen zur Diagnose, Prophylaxe und Therapie von HAV- und HEV-Infektionen. Im Jahr 2022 wurden ca. 300 Anfragen telefonisch oder per E-Mail beantwortet.

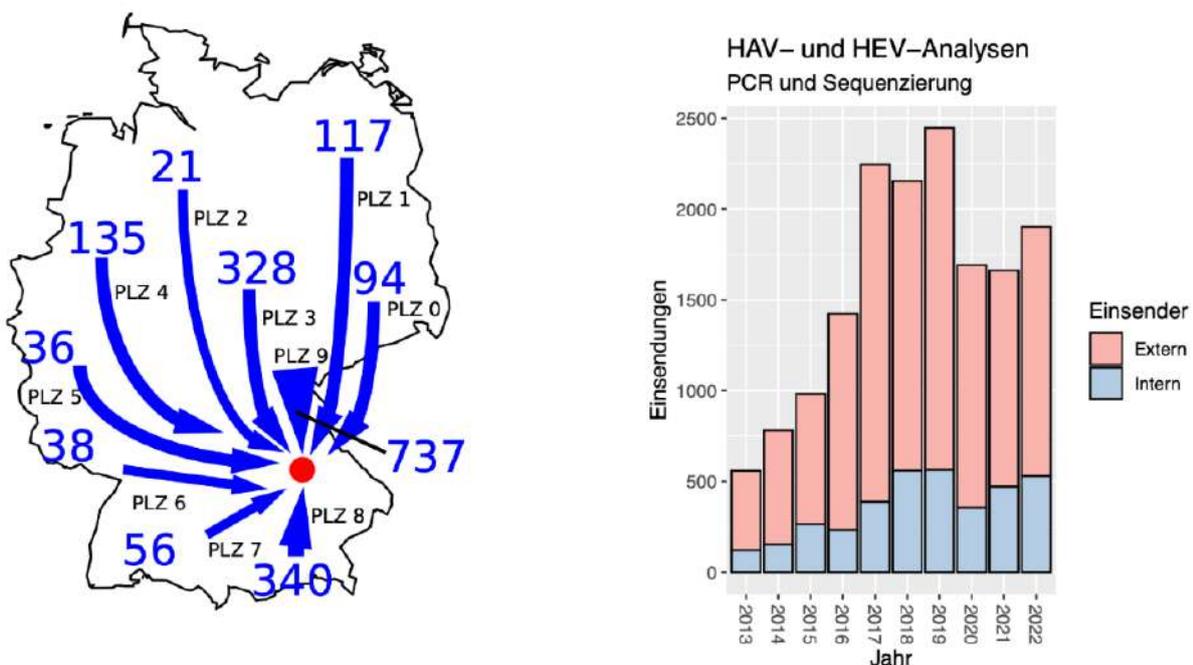


Abbildung 1 (links): Herkunft der untersuchten Proben, Konsiliarlabor für HAV und HEV, 2022

Abbildung 2 (rechts): Entwicklung der Einsendezahlen an das Konsiliarlabor für HAV und HEV, 2013–2022

Wichtige Publikationen

Schemmerer M, Wenzel JJ, Stark K, Faber M: Molecular epidemiology and genotype-specific disease severity of hepatitis E virus infections in Germany, 2010-2019. *Emerg Microbes Infect* 2022, 11:1754–1763.

Schoch S, Wälti M, Schemmerer M, Alexander R, Keiner B, Kralicek C, Bycholski K, Hyatt K, Knowles J, Klochkov D, Simon T, Wenzel JJ, Roth NJ, Widmer E: Hepatitis A Virus Incidence Rates and Biomarker Dynamics for Plasma Donors, United States. *Emerg Infect Dis* 2021, 27(11):2718–2824.

- Ruscher C, Faber M, Werber D, Stark K, Bitzegeio J, Michaelis K, Sagebiel D, Wenzel JJ, Enkelmann J: Resurgence of an international hepatitis A outbreak linked to imported frozen strawberries, Germany, 2018 to 2020. *Euro Surveill* 2020, 25(37):1900670.
- Faber M, Willrich N, Schemmerer M, Rauh C, Kuhnert R, Stark K, Wenzel JJ: Hepatitis E virus seroprevalence, seroincidence and seroreversion in the German adult population. *J Viral Hepat* 2018, 25(6):752–758.
- Wenzel JJ, Allerberger F: Hepatitis A as a foodborne infection. *Lancet Infect Dis* 2014, 14(10):907–908.

ABSTRACT

Aktuelle lebensmittelassoziierte Hepatitis-A-Virus-InfektionenWenzel J¹, Schemmerer M¹, Erl M¹, Faber M², Stark K², Enkelmann J²¹ Universitätsklinikum Regensburg, Institut für Klinische Mikrobiologie und Hygiene, Konsiliarlabor für HAV und HEV² Robert Koch-Institute, Department for Infectious Disease Epidemiology, Berlin

Hepatitis-A-Viren (Hepatovirus A, HAV) werden durch direkten Kontakt mit infektiösen Ausscheidungen von Person zu Person übertragen („fäkal-oral“). Der Mensch ist der einzige bekannte Wirt, ein tierisches Reservoir existiert nicht. Weniger bekannt ist, dass die Infektion häufig auch über verschiedene kontaminierte Lebensmittel und – im globalen Rahmen – über fäkal verunreinigtes Trinkwasser erfolgt. In Westeuropa besitzt nur ein recht geringer Anteil der Bevölkerung Immunität gegen Hepatitis A (< 40 % der 20 – 40 J. Erwachsenen, < 5 % der Kinder unter 7 J.). Vor diesem Hintergrund treten auch hier immer wieder kleinere und mittelgroße Hepatitis-A-Ausbrüche auf.

Seit Einführung der gesetzlichen Meldepflicht nach IfSG im Jahr 2001 wurden in Deutschland jährlich im Mittel 1.060 Hepatitis-A-Fälle gemeldet. Insgesamt ist in den letzten Jahren ein leicht rückläufiger Trend zu verzeichnen. Die meisten HAV-Infektionen (64 %) werden in Deutschland erworben. Hierbei spielen importierte, kontaminierte Lebensmittel als Infektionsquelle eine zunehmend wichtige Rolle. Dieser Vortrag stellt aktuelle und zurückliegende, lebensmittelassoziierte Hepatitis-A-Ausbrüche in Deutschland vor (z. B. verursacht durch importierte Beeren und Beerenmix, beerenhaltige Kuchen, Gebäck und Datteln). Anhand von zwei Beispielen wird die Problematik HAV-infizierter Mitarbeiter im Lebensmittelgewerbe behandelt.

Bei der Erkennung, Aufklärung und Rückverfolgung von Fällen und Ausbrüchen hat sich die molekulare Surveillance durch HAV-Typisierung in den letzten Jahren als ein wichtiges Werkzeug erwiesen. Mittels PCR und Sequenzierung wurden seit 2010 am Konsiliarlabor mehr als 850 HAV-Proben typisiert, deren Einsendung durch den ÖGD veranlasst wurde. Ganz überwiegend kursierte in dieser Zeit HAV-Genotyp I (96 %), gefolgt von Genotyp III (4 %). Die Subtypen waren in abnehmender Häufigkeit folgendermaßen verteilt: HAV-IA (58 %), IB (38 %) und IIIA (4 %). Durch die Sequenzierung in der variablen VP1/P2a-Region des HAV-Genoms kann den Viren jeweils ein „molekularer Fingerabdruck“ zugeordnet werden. Dies ermöglicht die Identifikation und Zuordnung zu oft überregionalen Ausbrüchen und kann als Information für die klassische epidemiologische Arbeit nützlich sein. Aus diesem Grund streben das Konsiliarlabor für HAV und das RKI eine Ausweitung und Weiterentwicklung der molekularen HAV-Surveillance an.

Konsiliarlabor für Herpes-simplex-Virus (HSV) und Varicella-Zoster-Virus (VZV)



Prof. Dr. Hartmut Hengel

Leitung

Prof. Dr. Hartmut Hengel

Institut

Institut für Virologie, Universitätsklinikum Freiburg

Adresse

Hermann-Herder-Strasse 11, D-79104 Freiburg

E-Mail

immh.konsiliarlabor.virologie@uniklinik-freiburg.de

Telefon

+49 761 203-6533

Stellvertretung

Dr. Daniela Huzly

Institut

Institut für Virologie, Universitätsklinikum Freiburg

Adresse

Hermann-Herder-Strasse 11, D-79104 Freiburg

E-Mail

Daniela.Huzly@uniklinik-freiburg.de

Telefon

+49 761 203-6609

Seit dem 1.7.2017 besteht das Konsiliarlabor für die humanpathogenen Alpha-Herpesviren HSV-1, HSV-2 und VZV am Institut für Virologie des Universitätsklinikums in Freiburg. HSV-1 und VZV sind in der Bevölkerung traditionell sehr weit verbreitet und weisen Seroprävalenzraten von 80 – 97 % in der erwachsenen Bevölkerung auf. Beide Herpesviren haben einen ähnlichen Zelltropismus für neuronales Gewebe, Haut- und Schleimhaut sowie für Lymphozyten und eine ähnliche Empfindlichkeit gegenüber antiviralen Medikamenten, z. B. Aciclovir. Wie alle Herpesviren persistieren sie lebenslang in abwechselnden Latenz- und Reaktivierungsphasen. HSV und VZV verursachen dabei eine große Krankheitslast mit einer Vielzahl von klinischen Syndromen, insbesondere bei vulnerablen Patientengruppen. Die Einführung von bevölkerungsweiten Impfprogrammen gegen die Varizellen und den Zoster führt zu einer sich rasch wandelnden infektionsepidemiologischen Landschaft in Deutschland und einer hohen Bedeutung für den Public Health. Auch bei den nicht-impfpräven-

tablen Erregern HSV-1 und HSV-2 zeichnen sich epidemiologische Veränderungen vor allem bei jüngeren Erwachsenen ab, die möglicherweise zu größeren Krankheitsrisiken führen. Trotz der klassischen, pathognomonischen Syndrome wie Varizellen, Gürtelrose oder Herpes genitalis führen modifizierte Krankheitsverläufe und ähnliche klinische Manifestationsformen von HSV-1 und VZV in der klinischen Praxis immer häufiger zu Verwechslungen, klinischen Fehldiagnosen und problematischen Therapieentscheidungen. Infolgedessen erfordern viele klinische Situationen eine differenzierte labordiagnostische Abklärung mit innovativen Methoden und ein therapeutisches Stewardship durch den klinischen Virologen bzw. die klinische Virologin.

In der täglichen Praxis stehen die Anfragen von Ärztinnen und Ärzten bzw. Patientinnen und Patienten an das Konsiliarlabor in einem ähnlich umfangreichen Verhältnis. Vor dem Hintergrund der klinischen Beratungsarbeit hat das Konsiliarlabor damit begonnen, einige Forschungsprojekte zu den dringendsten Problemstellungen zu initiieren, die durch private und öffentliche Forschungsförderer finanziert werden:

- Aufbau einer geno-→ phänotypischen Testplattform für HSV-1 und HSV-2 zur antiviralen Empfindlichkeitsprüfung von Patientenisolaten bei Verdacht auf Aciclovirresistenz unter Anwendung von NGS-Sequenzierverfahren;
- Klinische Studien zum Sicherheits- und Wirksamkeitsprofils des inaktivierten Zoster-Impfstoffs (Shingrix®) bei vulnerablen Patienten;
- Validierung serologischer Untersuchungsverfahren zur Unterscheidung von HSV-1 und HSV-2, um aktuelle epidemiologische Trends bei bestimmten Alters- und Bevölkerungsgruppen in Deutschland zu erkennen;
- Erfassung kritischer Krankheitsverläufe, die sich aus epidemiologischen Verschiebungen ergeben (z. B. fulminante HSV-Hepatitis);
- Differentialdiagnostische Auflösung von grenzwertigen VZV-Antikörperreaktivitäten im Kontext der Indikationsstellung für die Impfungen gegen Varizellen und Zoster;
- Implementierung eines antiviralen Stewardship Programms



Teamfoto (v.l.n.r.): Ariane Kaiser, Dr. Sibylle Bierbaum, Dr. Daniela Huzly, Dr. Zsolt Ruzsics, Prof. Marcus Panning, Dr. Valeria Falcone, Prof. Hartmut Hengel

Wichtige Publikationen

Skin manifestations after immunisation with an adjuvanted recombinant zoster vaccine in Germany (2020). Orru S, Bierbaum S, Enk A, Hengel H, Hoffelner M, Huzly D, Keller-Stanislawski B, Mahler V, Mockenhaupt M, Oberle D. 2023. *Eurosurveillance*, in press.

Meningitis without Rash after Reactivation of Varicella Vaccine Strain in a 12-Year-Old Immunocompetent Boy. Bierbaum S, Fischer V, Briedigkeit L, Werner C, Hengel H, Huzly D. *Vaccines (Basel)*. 2023 Jan 30;11(2):309. doi: 10.3390/vaccines11020309

The Peptide TAT-124 with Antiviral Activity against DNA Viruses Binds Double-Stranded DNA with High Affinity. Harant H, Höfinger S, Kricek F, Ruf C, Ruzsics Z, Hengel H, Lindley IJD. 2021. *Biologics* 1, 41–60. <https://doi.org/10.3390/biologics1010003>

A Novel, Broad-Acting Peptide Inhibitor of Double-Stranded DNA Virus Gene Expression and Replication. Ruzsics Z, Hoffmann K, Riedl A, Krawczyk A, Widera M, Sertznig H, Schipper L, Kapper-Falcone V, Debreczeny M, Ernst W, Grabherr R, Hengel H, Harant H. *Front Microbiol*. 2020 Nov 17;11:601555. doi: 10.3389/fmicb.2020.601555. eCollection 2020. PMID: 33281801

Human MxB Protein Is a Pan-herpesvirus Restriction Factor. Schilling M, Bulli L, Weigang S, Graf L, Naumann S, Patzina C, Wagner V, Bauersfeld L, Goujon C, Hengel H, Halenius A, Ruzsics Z, Schaller T, Kochs G. *Journal of Virology*. 2018 Aug 16;92(17):e01056-18. doi: 10.1128/JVI.01056-18. Print 2018 Sep 1. PMID: 29950411

ABSTRACT

Advancing diagnostics and clinical counselling by the National Consulting Laboratory for herpes simplex virus and varicella zoster virus, Germany

Bierbaum S¹, Dähne T¹, Falcone V¹, Fuchs J^{1,2}, Full F¹, Jaki L^{1,2}, Panning M^{1,2}, Ruzsics Z¹, Huzly D¹, Hengel H¹

¹ National Consulting Laboratory for HSV and VZV, Institute of Virology, Medical Center and Faculty of Medicine, University of Freiburg, 79104 Freiburg, Germany

² Section Clinical Virus Genomics, Institute of Virology, Medical Center and Faculty of Medicine, University of Freiburg, 79104 Freiburg, Germany

The human pathogenic alpha herpes viruses HSV-1 and VZV are widespread in the population. The viruses share a similar cell tropism and sensitivity to antiviral drugs, they persist throughout life during alternate phases of latency and reactivation, and they cause a large burden of disease with a variety of clinical syndromes, especially in vulnerable patient groups. Despite some pathognomonic syndromes, the similarities of HSV-1 and VZV in clinical practice commonly lead to confusion, which is further complicated by the presence of the less widespread HSV-2 virus in the German population. As a result, many clinical situations require diagnostic confirmation as well as therapeutic stewardship by the clinical virologist.

The Consulting Laboratory has started to pursue several focused research activities on the most urgent issues including

- antiviral susceptibility testing for HSV-1 and HSV-2 (set up of a geno- to phenotypic testing platform),
- assessment of the safety and efficacy profile of the inactivated zoster vaccine (Shingrix®) in particularly vulnerable patients,
- validation of serological approaches for the discrimination of HSV-1 and HSV-2 to monitor current epidemiological trends between age and social groups in Germany,
- the resulting clinical risks (e.g. HSV hepatitis) from such shifts,
- detection and validation of borderline VZV antibody reactivities in the context of indication for VZV vaccinations,
- implementation of an antiviral stewardship programme.

Konsiliarlabor für humanpathogene Vibrionen



Dr. Susann Dupke

Leitung

Dr. Susann Dupke

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene, Hochpathogene mikrobielle Erreger (ZBS2), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

+49 30 18754-2114

Stellvertretung

Dr. Daniela Jacob

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene, Hochpathogene mikrobielle Erreger (ZBS2), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

k.A.

Telefon

+49 30 18754-2934

Vibrionen umfassen eine Vielzahl verschiedener Spezies, von denen zwölf nach dem heutigen Stand der Wissenschaft als humanpathogen bekannt sind und zu denen auch der Erreger der Cholera, *Vibrio (V.) cholerae*, gehört. Cholera-toxin-bildende *V. cholerae* der Serogruppen O:1 und O:139 sind die Auslöser der endemischen und epidemischen Cholera, die heute ausschließlich in Ländern mit Mangel an sauberem Trinkwasser vorkommt und von dort als importierte Infektionen von Reisenden auch Deutschland erreichen. *V. cholerae* aller weiterer Serogruppen (außer O:1 und O:139), sowie andere humanpathogene Spezies der Gattung *Vibrio* werden auch als Nicht-Cholera-Vibrionen (NCV) bezeichnet. Diese kommen in salzhaltigen Gewässern Deutschlands und Europas vor und gewinnen zunehmend an Bedeutung als Verursacher teils schwer verlaufender Wundinfektionen. Die Erreger können dabei bei Kontakt von Hautverletzungen mit Wasser in den Körper eindringen. Ausgehend von Wunden, bzw. Verletzungen der Hautbarriere, können sich invasive, grenzüberschreitende Infektionen entwickeln, die obligat chirurgisch versorgt werden müssen. Vereinzelt verlaufen

Infektionen mit *V. vulnificus* bei Immunsupprimierten oder Personen mit Vorerkrankungen sogar tödlich. Sowohl Wundinfektionen, als auch durch Vibrionen verursachte Gastroenteritiden können zu Sepsis führen, welche mit einer signifikanten Letalität verbunden ist. Vor allem bei Kindern kommt es außerdem häufig zu Ohrinfektionen, z. B. durch Schwimmen oder das Baden im Flachwasser. In Deutschland treten Infektionen mit NCV vermehrt während der Sommermonate in Verbindung mit Wassertemperaturen über 20° C auf. Betroffen sind vor allem die Ostsee, aber auch leicht salzhaltige Binnengewässer. In den kommenden Jahren ist aufgrund der globalen Erwärmung weltweit mit einem vom Klimawandel verursachten erheblichen Anstieg der Temperaturen der Oberflächengewässer zu rechnen. Dies wird sich auch auf das Vorkommen von Vibrionen auswirken.

Nur wenige mikrobiologische Labore sind in Deutschland in der Lage, eine komplexe Diagnostik und Typisierung von Vibrionen jenseits der Anzucht durchzuführen. Aus diesem Grund wurde die Abteilung ZBS₂ am Robert Koch-Institut (RKI), verantwortlich für hochpathogene bakterielle Erreger, bereits lange vor der Ernennung zum neu gegründeten KL für humanpathogene Vibrionen kontinuierlich zur Unterstützung bei der Bestätigungsdiagnostik und Beratung von Kliniken, niedergelassenen Ärzten, Laboren, vor allem aber von Gesundheitsbehörden angefragt. ZBS₂ betreibt am RKI Labore, die für die Bearbeitung von hochpathogenen bakteriellen Erregern aus verschiedenen Probenmaterialien geeignet und zugelassen sind. Nach DIN EN ISO 15189:2014 wurde die Kompetenz zur Durchführung von Untersuchungen zur „Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik“ für *Vibrio* und nach DIN EN ISO/IEC 17025:2018 die Kompetenz zur Durchführung von Prüfungen im Bereich „Medizinische Laboratoriumsuntersuchungen im Rahmen klinischer und epidemiologischer Studien“, die auch Umweltprobenanalytik einschließt, von der Deutschen Akkreditierungsstelle (DAkkS) bescheinigt. ZBS₂ konnte die Akkreditierung weiter konsolidieren und wurde zudem als Anbieter für Eignungsprüfungen im Bereich Mikrobiologie nach DIN EN ISO/IEC 17043:2010 akkreditiert.

Neben akkreditierten kulturellen Verfahren sind zur molekularen Diagnostik Multiplex-Real-Time-PCRs zum Nachweis der Spezies *V. cholerae* und des Cholera-toxin-Gens, zum Nachweis der für Cholera-verursachende *V. cholerae* spezifischen Marker der Serovare O:1 und O:139, sowie die Bioartypisierung mittels konventioneller PCR, einschließlich der Probenvorbereitung und notwendiger Amplifikationskontrollen akkreditiert. Dies gilt ebenso für den Nachweis der chromosomalen Marker für *V. vulnificus* und *V. parahaemolyticus*. Der serologische Nachweis der Toxinproduktion toxigener *V. cholerae* liegt außerhalb des akkreditierten Bereichs. Einen wichtigen Bestandteil unseres differentialdiagnostischen Ansatzes zur Unterscheidung unterschiedlicher *Vibrio* spp. stellt die Sequenzierung eines Spezies-spezifischen Abschnittes des *rpoB*-Gens (nach Tarr et al., 2007 und Diekmann et al., 2010) sowie das MALDI-TOF Verfahren dar, welches in Kooperation mit unserer Schwesterabteilung ZBS₆ (Proteomik und Spektroskopie) am RKI angeboten wird. Neben der verfügbaren Bruker-Datenbank konnte durch die in ZBS₂ vorhandene Stammsammlung von über 1300 *Vibrio* spp. eine hervorragende in-house Datenbank zum parallelen Ergebnisabgleich aufgebaut werden.

Bei Vibrionen handelt es sich um klassische Zoonoseerreger, die bei Kontakt von Tieren vor allem bei der Nahrungsaufnahme auf den Menschen übertragen werden können. Deshalb steht ZBS₂ seit Jahren mit dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in engem Kontakt, insbesondere zur Qualitätssicherung von diagnostischen Ansätzen und dem Austausch von Bakterienisolaten. Im BfR ist seit 2020 das DVG-KL „*Vibrio* spp. in Lebensmitteln“ angesiedelt. Des Weiteren steht ZBS₂ bundesweit mit verschiedenen klinischen Einrichtungen und Landesuntersuchungsämtern, insbesondere mit dem Klinikum Hamburg-Eppendorf sowohl hinsichtlich der wissenschaftlichen Zusammenarbeit als auch in der Qualitätssicherung von diagnostischen Ansätzen in engem Kontakt und ist Teil eines deutschlandweiten Netzwerkes von Laboren und Kliniken, das 2021 eine Publikation zu Hitze-

assoziierten humanen *Vibrio*-Infektionen der Jahre 2018 und 2019 in Nord- und Ostsee veröffentlicht hat (Brehm et al., 2021). Zudem besteht seit Jahresbeginn 2022 eine enge Kooperation mit dem Leibniz Institut für Ostseeforschung Warnemünde (IOW). Durch den engen wissenschaftlichen Austausch konnte ein Pilotprojekt zur systematischen Überwachung von *Vibrio*-Keimzahlen an verschiedenen Badestellen der Ostsee während der Sommermonate initiiert werden, welches aktuell noch andauert. Neben der umfassenden klinischen Diagnostik und Untersuchungen von Umweltproben finden unter der Beteiligung des KL auch breit angelegte Forschungsaktivitäten zu humanpathogenen Vibrionen im ZBS2 statt. Hier laufen aktuell Projekte zur Grundlagenforschung von Pathogenitätsmechanismen (z. B. mittels ex-vivo Hautmodells in Kooperation mit unserer Schwesterabteilung ZBS4 (Spezielle Licht- und Elektronenmikroskopie) am RKI, sowie der Charité Universitätsmedizin Berlin), sowie zur Biofilmbildung von vor allem *V. vulnificus* und *V. cholerae*.

Leistungsangebot von ZBS2 zur Bestätigungsdiagnostik und Typisierung von *V. cholerae* und verwandten humanpathogenen Vibrionen

- Durchführung von akkreditierter Labordiagnostik (Anzucht, PCR) von *V. cholerae*, *V. vulnificus* und *V. parahaemolyticus*
- Nachweis des Choleratoxins (Toxingen mittels Real-Time PCR (akkreditiert) und Toxinproduktion mittels capture-ELISA)
- Subtypisierung von Choleratoxin-bildenden *V. cholerae* mit molekulargenetischen Methoden (Real-Time PCR, konventionelle PCR, Agglutination), Nachweis von O:1- und O:139-Serovaren
- Auf Anfrage: Exakte Erregertypisierung auf Isolat-Ebene und molekular-epidemiologische Ausbruchsanalysen mittels core-genom-basierter MLST
- Unterstützung von Qualitätssicherungsmaßnahmen in der Diagnostik
- Beratung zu Untersuchungsproben und deren Versand

Wichtige Publikationen

- Dupke S, Akinsinde KA, Grunow R, Iwalokun BA, Olukoya DK, Oluwadun A, Velavan TP, Jacob D. Characterization of *Vibrio cholerae* Strains Isolated from the Nigerian Cholera Outbreak in 2010. *J Clin Microbiol.* 2016, 54(10):2618-21.
- Brehm TT, Berneking L, Sena Martins M, Dupke S, Jacob D, Drechsel O, Bohnert J, Becker K, Kramer A, Christner M, Aepfelbacher M, Schmiedel S, Rohde H; German *Vibrio* Study Group. Heatwave-associated *Vibrio* infections in Germany, 2018 and 2019. *Euro Surveill.* 2021, 26(41):2002041.
- Brehm TT, Dupke S, Hauk G, Fickenscher H, Rohde H, Berneking L. Nicht-Cholera-Vibrionen – derzeit noch seltene, aber wachsende Infektionsgefahr in Nord- und Ostsee [Non-cholera *Vibrio* species – currently still rare but growing danger of infection in the North Sea and the Baltic Sea]. *Internist (Berl)* 2021, 62(8):876-886.
- Brehm TT and Dupke S. Infektionen mit Nicht-Cholera-Vibrionen. *Public Health Forum* 2022, 30(4): 252-255.
- Dupke S, Buchholz U, Fastner J, Förster C, Frank C, Lewin A, Rickerts V, Selinka HC. Auswirkungen des Klimawandels auf wasserbürtige Infektionen und Intoxikationen. *J Health Monit* 2023, 8(S3): 67 – 84.

ABSTRACT

Das neue Konsiliarlabor für humanpathogene Vibrionen

Dupke S, Jacob D

Die Familie der Vibrionaceae umfasst eine große Anzahl verschiedener Spezies, von denen zwölf als humanpathogen bekannt sind, darunter der Erreger der Cholera, *Vibrio (V.) cholerae*. Die Cholera wird durch Choleratoxin-produzierende *V. cholerae* der Serogruppen O:1 und O:139 verursacht und tritt in Deutschland ausschließlich als importierte Erkrankung durch Reisende auf. Im Jahr 2022 wurden insgesamt sechs Choleratoxin-produzierende Isolate von *V. cholerae* O:1, Biovar El Tor, zur Bestätigung und weiteren Charakterisierung an unser Labor geschickt. *V. cholerae* aller anderen Serogruppen sowie andere humanpathogene Spezies der Gattung *Vibrio* werden auch als Nicht-Cholera-Vibrionen (NCV) bezeichnet, diese kommen in salzhaltigen Gewässern in Deutschland und Europa. In Deutschland werden Infektionen mit NCV vermehrt in den Sommermonaten mit Gewässertemperaturen über 20° C gemeldet. Ausgehend von Wunden oder Verletzungen der Hautbarriere kann es zu invasiven grenzüberschreitenden Infektionen kommen. Gelegentlich verlaufen Infektionen mit *V. vulnificus* bei immungeschwächten Personen sogar tödlich.

Da es in Deutschland bis März 2020 keine Meldepflicht für NCV gab, muss von einer hohen Dunkelziffer an Infektionen des Menschen in den letzten Jahren ausgegangen werden. Auch ein umfassendes NCV-spezifisches Umweltmonitoring gibt es bisher nicht, so dass die tatsächliche Gefährdung der öffentlichen Gesundheit durch NCV derzeit nur unzureichend abgeschätzt werden kann. Hier wird das neu eingerichtete Konsiliarlabor für humanpathogene *Vibrio*-Spezies vorgestellt, das zu Beginn dieses Jahres offiziell seine Arbeit aufgenommen hat. Dazu gehören die diagnostischen Verfahren zur Typisierung und Charakterisierung von klinischen Isolaten und Umweltisolaten, sowie die aktuellen Forschungsaktivitäten zu verschiedenen *Vibrio* spp. in Deutschland.

Konsiliarlabor für Kryptokokkose und seltene Systemmykosen

Leitung

PD Dr. med. Volker Rickerts

Institut

Fachgebiet 16 – Erreger von Pilz- und Parasiteninfektionen und Mykobakterien, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestrasse 10, 13353 Berlin

E-Mail

RickertsV@RKI.de

Telefon

+49 30 18754-2208

Zahlreiche Pilze können lebensbedrohliche Infektionen innerer Organe hervorrufen. Aufgrund nur unspezifischer klinischer Symptomatik kommt dem mikrobiologischen Nachweis dieser Mykoseerreger eine entscheidende Rolle in der Diagnostik, der Auswahl wirksamer Therapien und einem Verständnis für die Epidemiologie dieser Mykosen als Grundlage präventiver Maßnahmen zu.

Im Konsiliarlabor stehen spezifische diagnostische Tests für seltene Mykoseerreger, insbesondere für die Kryptokokkose, die Scedosporiose und die sog. importierten Systemmykosen (Histoplasmose, Coccidioido-, Blasto-, Paracoccidioidomykose) zur Verfügung. Bei Letzteren sind Aufenthalte in außereuropäischen Endemiegebieten oft ein entscheidender Trigger für den Einsatz methodisch diverser diagnostischer Nachweisverfahren. Daneben stehen Plattformen für den Nachweis eines breiten Spektrums pathogener Pilze mit mikroskopischen- (Licht-, Fluoreszenzmikroskopie), kulturellen- (S2-S3) und molekularen Nachweismethoden (insbesondere aus Gewebeproben) sowie der *in vitro* Resistenztestung mit Referenzmethodologie zur Verfügung.

Einsender klinischer Proben und Ärzte werden hinsichtlich geeigneter Untersuchungsmaterialien, der sinnvollen Auswahl diagnostischer Tests sowie zur Therapie dieser Mykosen beraten. Anhand dokumentierter Infektionen bewerten wir die Epidemiologie dieser Mykosen in Deutschland.

Für viele der genannten Mykosen sind keine kommerziellen Testverfahren verfügbar. Die Diagnostik findet daher überwiegend mit in house Tests qualitätsgesichert statt. Das Labor ist akkreditiert (DIN EN ISO 15189 und DIN EN ISO/IEC 17025). Wir beteiligen uns an der Organisation externer Qualitätskontrolle medizinischer Laboratorien durch Gestaltung eines Ringversuches zum Nachweis von *Cryptococcus*-Antigen (instand-ev; mykoserologie-02) sowie molekulare Pilznachweise mit anderen Referenzlaboratorien in einem europäischen Netzwerk.

Ausgewählte paradigmatische Pilze (*Cryptococcus*, *Histoplasma*) werden eingehender analysiert (Nachweis in veterinär-, und Umweltproben, molekulare Typisierung, Virulenz in Infektionsmodellen) um ihre Ökologie und Änderungen von Erregerereigenschaften in einer sich ändernden Umwelt zu verstehen und die Public Health Relevanz neu auftretender Varianten abzuschätzen.



Teamfoto: Mitarbeitende des KL für Kryptokokkose und seltene Systemmykosen

Wichtige Publikationen

Selb R, Fuchs V, Graf B, Hamprecht A, Hogardt M, Sedlacek L, Schwarz R, Idelevich EA, Becker SL, Held J, Küpper-Tetzel CP, McCormick-Smith I, Heckmann D, Gerkrath J, Han CO, Wilmes D, Rickerts V. Molecular typing and in vitro resistance of *Cryptococcus neoformans* clinical isolates obtained in Germany between 2011 and 2017. *Int J Med Microbiol.* 2019 Sep;309(6):151336.
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2019.151336>

Cogliati M, Desnos-Ollivier M, McCormick Smith I, Rickerts V, et al. Genotypes and population genetics of *cryptococcus neoformans* and *cryptococcus gattii* species complexes in Europe and the mediterranean area. *Fungal Genetics and Biology* 2019 August: 16-29:
<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.04.001>

Rooms I, Mugisha P, Gambichler T, Hadaschik E, Esser S, Rath P-M, Haase G, Wilmes D, McCormick Smith I, Rickerts V. Disseminated Emergomycosis in a Person with HIV Infection from Uganda: Molecular Identification of *Emergomyces pasteurianus* or a Close Relative from a Pathology Block.

Emerging Infectious Diseases 2019 September <https://doi.org/10.3201/eid2509.181234>

Wilmes D, McCormick-Smith I, Lempp C, Mayer U, Schulze AB, Theegarten D, Hartmann S, Rickerts V. Detection of *Histoplasma* DNA from Tissue Blocks by a Specific and a Broad-Range Real-Time PCR: Tools to Elucidate the Epidemiology of Histoplasmosis. *J Fungi* 2020 Dec; 6(4)319.
<https://doi.org/10.3390/jof6040319>

Birkenfeld ZM, Dittel N, Harrer T, Stephan C, Kiderlen AF, Rickerts V. Phenotypic Diversity of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* Clinical Isolates from Localized and Disseminated Infections. *Microorganisms*. 2022 Jan 29;10(2):321. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020321>

ABSTRACT

Molekulare Epidemiologie der Kryptokokkose in Deutschland

Rickerts V

Die Kryptokokkose ist weltweit die häufigste Pilzinfektion des zentralen Nervensystems. Die meisten Infektionen werden in Ländern mit hoher AIDS Prävalenz als Meningitis diagnostiziert. In Deutschland werden laut Angaben des statistischen Bundesamts pro Jahr 50 – 70 stationäre Aufenthalte aufgrund von Kryptokokkose dokumentiert.

Das Konsiliarlabor (KL) bietet die Identifizierung von Isolaten, eine *in vitro* Resistenztestung mit Mikrodilution, molekulare Typisierung von *C. neoformans* mit MLST an und wertet Angaben zu Patienten und Erkrankungen aus. Die Virulenz von ausgesuchten Isolaten wird in heterologen Host-Modellen untersucht.

Eine retrospektive Auswertung (2017 – 2022) zeigt das pro Jahr 19-33 Stämme eingesendet werden, in 80 % von disseminierten Infektionen bei Patienten mit AIDS (31 %), Krebs (16 %), Organtransplantation (3 %), ohne Grunderkrankung (13 %) oder sonstigen Erkrankungen (12 %).

Die am häufigsten identifizierten Pilze sind *C. neoformans* var. *grubii* (80 %), *C. neoformans* var. *neoformans* (15 %), Hybride (5 %) und *C. gattii* (1 %). Die molekulare Typisierung von var. *grubii* belegt eine klonale Ausbreitung weniger, nahe verwandter, weltweit zirkulierender Sequenztypen. Für var. *neoformans* zeigen sich diverse Sequenztypen mit Signaturen sexueller Replikation. Diese Isolate werden von lokalisierten bis disseminierten Infektionen angezüchtet. Sie unterscheiden sich deutlich in der Virulenz im *Galleria mellonella* Infektionsmodell.

Klinische Grenzwerte bei Kryptokokkose sind nicht definiert. MHKs über den epidemiologischen Grenzwerten werden selten für die Standard Antimykotika Amphotericin B (0 %), Fluconazol (2 %) und 5FC (2 %) mit Mikrodilution nachgewiesen.

Eine Pilotstudie zum Überleben nach Kryptokokkose (n = 57) zeigt, dass 14 % infizierter nach 5 (1 – 120) Tagen versterben, was auf eine späte Diagnose mit dann schlechtem Therapieansprechen hinweisen könnte.

Fazit: Das KL untersucht bis zu 50 % der Isolate schwerer Infektionen. *C. gattii* wird selten bei humanen Infektionen nachgewiesen. Es werden überwiegend Infektionen bei Patienten ohne HIV-Infektion diagnostiziert. Bei den beiden Varietäten von *C. neoformans* zeigen sich Unterschiede in der molekularen Epidemiologie. Arbeiten an Infektionsmodellen und genombasierter Typisierung sollen künftig bessere Korrelationen zwischen Geno-, und Phänotyp einschließlich Virulenz ermöglichen.

Konsiliarlabor für Legionellen



Dr. Markus Petzold

Leitung

Dr. Markus Petzold (kommissarisch)

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus der TU Dresden

Adresse

Fetscherstr. 74, 01307 Dresden

E-Mail

markus.petzold@ukdd.de

Telefon

+49 351 458-14339

Legionellen sind gramnegative, aerobe Bakterien, die zur Familie der Legionellaceae, Gattung *Legionella* gehören. Derzeit sind über 60 Arten bekannt, die mindestens 79 verschiedene Serogruppen umfassen. Legionellen kommen in jeglichen (Süß-)Wasserreservoirs vor und leben dort vor allem im Zellinneren von freilebenden Amöben aber auch im Biofilm. Einziger Übertragungsweg auf den Menschen ist das legionellenhaltige Wasseraerosol, welches aus wasserführenden Systemen vernebelt wird (Rückkühlwerke, Duschen, Whirlpool) (Lück and Petzold, 2020).

Nach der Inhalation legionellenhaltiger Aerosole können die Bakterien den unteren Atemtrakt erreichen, wo sie ähnlich, wie in Amöben, sich im Zellinneren von Makrophagen vermehren. Dies kann zu einer Entzündung führen und eine Pneumonie hervorrufen (Legionärskrankheit) oder kurzweilige grippeähnliche Symptome auslösen (Pontiac Fieber). Eine Übertragung von Mensch zu Mensch ist bisher nicht valide beschrieben. Als Risikofaktoren sind ein höheres Alter (> 60 Jahre), körperliche Grundleiden, immunsuppressive Therapien oder Rauchen beschrieben. Ebenfalls sind Männer 2- bis 3-mal häufiger betroffen.

Legionelleninfektionen sind nach § 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) meldepflichtige Erreger, sofern der Nachweis mit einer akuten Erkrankung einhergeht. Die Fallzahlen steigen jährlich an und haben sich in den vergangenen 10 Jahren verdoppelt und Ende September 2023 bereits die Fallzahlen der vorhergehenden Jahre überschritten (Stand 10/2023). Es wird angenommen, dass vier Prozent aller ambulant erworbenen Pneumonien durch Legionellen verursacht werden. Damit bereits im Vorfeld mögliche Infektionsquellen erkannt werden, müssen nach der Trinkwasserverordnung (TrinkwV) und der 42. Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (42. BImSchV) größere wasserführende Analgen (Trinkwasseranalgen, Rückkühlwerke) regelmäßig auf Legionellen untersucht werden. Dadurch soll frühzeitig eine Kontamination erkannt und mit technischen Maßnahmen entgegengegangen werden. Somit hat die Legionellenüberwachung, ob klinisch oder umwelthygienisch, mehrere integrierte Akteure, die sich für den Öffentlichen Gesundheitsdienst (ÖGD) im Sinne des Bevölkerungsschutzes vom Klinikum zum Gesundheitsamt über Landesämter zum Robert Koch-Institut (RKI) erstrecken. Im Bereich der Wasserkontrolle kommunizieren Gesundheits-/Umweltämter mit Umweltlaboren hin zum Umweltbundesamt (UBA). Als weiteres Schwerpunktlabor steht das Konsiliarlabor (KL) für Legionellen in der Schnittfläche aller Akteure.

Das KL bearbeitet Themenfelder ganz unterschiedlicher Ausrichtung. Das Kerngebiet umfasst dabei die Unterstützung von (Landes-)Gesundheitsämtern im Rahmen der Infektionsquellensuche bei gemeldeten Legionellosefällen. Hierbei unterstützt das KL sowohl beratend (bspw. Quellenidentifikation, Probenahme) als auch analytisch (bspw. Detektion, Typisierung) und erlangte über Jahre Expertise im Bereich der technischen (Umwelt-)Hygiene sowie der mikro- und molekularbiologischen Diagnostik.

Legionellen sind anspruchsvolle Bakterien und passen sich optimal an ihre Umgebung an. Ihr Genom ist spickt mit Genen anderer Bakterien und Wirtsarten. Ein Ergebnis jahrtausendlanger Co-Evolution. Die klassische mikrobiologische Anzucht ist langwierig und nur selten (20 – 50 %) erfolgreich. Gelingt sie dennoch, kann die Typisierung der Bakterien erfolgen. Die Typisierung ermöglicht Legionellenstämme von bspw. Patient und Wasser miteinander zu vergleichen, wodurch Infektionsquellen ermittelt werden können. Die Methoden reichen von einer antikörperbasierten phänotypischen Charakterisierung über die Bestimmung des Sequenztyps mittels der sequenzbasierten Typisierung von sieben Genen hin zur Ganzgenomanalyse.

Die beschriebene geringe Anzuchtrate der Legionellen erforderte den Einsatz sogenannter indirekter Typisierungsmethoden. Dabei werden bspw. neue molekulare und biochemische Methode am KL erarbeitet und eingesetzt, um aus primären Patienten- und Umweltmaterial möglichst umfangreiche Informationen über den pathogenen Bakterienstamm zu erhalten.

Neben der Analyse einzelner sporadischer Legionelloseerkrankungen unterstützt das KL auch bei größeren Erkrankungsklustern und Ausbrüchen. So geschehen wurde der bisher größte Legionellenausbruch Deutschlands in Warstein 2013 sowie in Bremen 2016 laborseitig unterstützt, um schnellstmöglich Infektionsquellen zu identifizieren (Petzold et al., 2017).

Eine weitere Aufgabe des KL ist die epidemiologische Surveillance der Legionellosen, welche federführend von der am RKI ansässigen FG 36: ‚Respiratorisch übertragbare Erkrankungen‘ durchgeführt wird. Laborseitig befasst sich das KL hierbei vor allem mit der molekularen oder genomischen Surveillance, sprich basierend auf Genomdaten. Durch die lange Inkubationszeit der Legionellose von bis zu zehn Tagen sind in Deutschland diagnostizierte Fälle oft mit Reisen assoziiert (Lehfeld et al., 2023). Die genomische Surveillance ist daher seit mehr als 20 Jahren international abgestimmt, um eine reiseassoziierte Erkrankung standardisiert zu ermitteln und Bakterienstämme weltweit

einheitlich abzugleichen. Somit kann ein Fall klar einer Infektionsquelle, ob im eigenen Haushalt oder im Urlaubshotel zugeordnet werden. Das KL für Legionellen war hier 2012 ebenfalls federführend bei der Erarbeitung und Implementierung eines verbesserten genombasierten Typisierungsschemas (cgMLST) (Moran-Gilad et al., 2015). Diese Arbeiten werden in enger Zusammenarbeit mit dem RKI im Rahmen der integrierten molekularen Surveillance weiter ausgebaut.

Seit über 25 Jahren ist das KL international vernetzt, kommuniziert mit europäischen Referenzzentren und ist aktives Mitglied der europäischen Arbeitsgruppe für Legionellen (ESGLI). In diesem Rahmen wurden und werden Methoden etabliert und validiert. Multizentrale Studien für die Erprobung neuer Methoden oder kommerzieller Tests werden so in Ihrer Testgüte analysiert, wodurch eine Qualitätskontrolle im Bereich der Infektionsdiagnostik und des Umweltmonitorings etabliert wurde.

Neben den genannten Forschungsaufgaben im Bereich der Methodenentwicklung befasst sich das KL auch mit neuen Herausforderungen. So führt das erklärte Ziel den Energieverbrauch zu senken zu einem veränderten Verhalten bei Anlagenbetreiber hin zu bspw. geringeren Temperaturen in Trinkwasserinstallationen. Wie wirkt sich dies auf die Mikrobiologie und damit auf die Legionellen innerhalb dieser Systeme aus? Hat der Bau von neuen wasseraerosolverteilenden Klimageräten oder Rückkühlwerken als Reaktion auf steigende Lufttemperaturen einen Einfluss auf die Erkrankungsrate? Werden Umweltreservoirs wie Flüsse oder Seen aber auch Wasserverteilungsnetze oder Abwasserreinigungsanlagen wärmer und bieten Legionellen neue oder bessere Vermehrungsbedingungen? Wird der demografische Wandel hin zu einer älteren und medikamentierten Gesellschaft auch zu einer höheren Infektionsrate führen?

Je mehr über Legionellen bekannt wird, je mehr über die Umweltstabilität, die Übertragung, die Pathogenität und Immunantwort erforscht wird, desto besser können wir diesen Fragen entgegenwirken.

Wichtige Publikationen

- Lehfeld, A.-S., Buchholz, U., Jahn, H.J., Brodhun, B., Lewandowsky, M.M., Reber, F., Adler, K., Bochmann, J., Förster, C., Koch, M., Schreiner, Y., Stemmler, F., Gagell, C., Harbich, E., Petzold, M., Bärwolff, S., Schilling, B., Beyer, A., Schmidt, S., Geuß-Fosu, U., Hänel, M., Larscheid, P., Schumacher, J., Murajda, L., Savaskan, N., Morawski, K., Peters, U., Hinzmann, A., Pitzing, R., Bednarz, E., Siedentopf, T., Widders, G., Abdelgawad, I., Wischniewski, N., Zuschneid, I., Atmowihardjo, I., Arastéh, K., Behrens, S., Creutz, P., Elias, J., Gregor, M., Kahl, S., Kahnert, H., Kimmel, V., Lemke, J., Migaud, P., Mikolajewska, A., Moos, V., Naumann, M.-B., Pankow, W., Scherübl, H., Schmidt, B., Schneider, T., Stocker, H., Suttorp, N., Thieming, D., Gollnisch, C., Mannschatz, U., Haas, W., Schaefer, B., Lück, C., 2022. Infektionsquellensuche bei ambulant erworbenen Fällen von Legionärskrankheit – Ergebnisse der LeTriWa-Studie; Berlin, 2016–2020. 1–33.
- Lehfeld, A.S., Petzold, M., Brodhun, B., Haas, W., Buchholz, U., 2023. How valid is the 2-to 10-day incubation period for cases of Legionnaires' disease?: A reappraisal in the context of the German LeTriWa study; Berlin, 2016-2020. *Epidemiol. Infect.* 151.
- Lück, C., Petzold, M., 2020. Legionellen, in: Suerbaum, S., Burchard, G.-D., Kaufmann, S.H.E., Schulz, T.F. (Eds.), *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer.

Moran-Gilad, J., Prior, K., Yakunin, E., Harrison, T.G., Underwood, A., Lazarovitch, T., Valinsky, L., Lück, C., Krux, F., Agmon, V., Grotto, I., Harmsen, D., 2015. Design and application of a core genome multilocus sequence typing scheme for investigation of Legionnaires' disease incidents. *Eurosurveillance* 20, 21186.

Petzold, M., Prior, K., Moran-Gilad, J., Harmsen, D., Lück, C., 2017. Epidemiological information is key when interpreting whole genome sequence data – lessons learned from a large *Legionella pneumophila* outbreak in Warstein, Germany, 2013. *Euro Surveill.* 22.

Konsiliarlabor für Leptospirose

Keine Teilnahme.

Konsiliarlabor für Listerien



Prof. Dr. Antje Flieger



PD Dr. Sven Halbedel

Leitung

Prof. Dr. Antje Flieger

Institut

Fachgebiet für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen (FG 11), Robert Koch-Institut

Adresse

Burgstrasse 37, 38855 Wernigerode

E-Mail

fliegera@rki.de

Telefon

+49 30 18754-4522

Stellvertretung

PD Dr. Sven Halbedel

Institut

Fachgebiet für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen (FG 11), Robert Koch-Institut

Adresse

Burgstrasse 37, 38855 Wernigerode

E-Mail

halbedels@rki.de

Telefon

+49 30 18754-4323

Die Listeriose ist eine durch Lebensmittel übertragene Infektionskrankheit mit außerordentlich hoher Fallsterblichkeit. Die Erkrankung tritt häufig in Form von langandauernden Ausbrüchen auf, die durch den Verzehr von mit dem Bakterium *Listeria monocytogenes* kontaminierten Lebensmitteln hervorgerufen werden. Daher sammelt das Konsiliarlabor für Listerien (KL Listeria), welches am Fachgebiet für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen (Fg11) des Robert Koch-Instituts angesiedelt ist, *L. monocytogenes*-Isolate aus humanem Probenmaterial aus ganz Deutschland. Pro Jahr erreichen ca. 450 klinische *L. monocytogenes*-Isolate das KL Listeria. Alle Isolate werden einer Multiplex-PCR unterworfen, welche die Bestätigung der Spezies und die Einteilung in molekulare Serogruppen erlaubt. Seit 2018 werden die Genome aller Isolate sequenziert. Aus diesen Genomsequenzdaten werden mit Hilfe von Ridom SeqSphere+ molekulare Serogruppen, auf multi locus sequence typing (MLST) basierende Sequenztypen (ST) und auf 1701 locus core genome MLST (cgMLST) basierende Clustertypen (CT) ermittelt. Anhand dieser Information werden Cluster von phylogenetisch sehr nah verwandten *L. monocytogenes*-Isolaten identifiziert und nach einer RKI-internen Nomenklaturregel eindeutig benannt. Bislang wurden mehr als 300 solcher Cluster identifiziert (Stand Oktober 2023). Diese Cluster gehen i. d. R. auf weiter verifizierte Listerioseausbrüche zurück und stellen die Basis für Ausbruchsuntersuchungen infektionsepidemiologischer Struktureinheiten des RKI und

anderer Einrichtungen dar, welche gemeinsam durch Patientenbefragungen Hypothesen zum ursächlichen Lebensmittel generieren. Informationen zu Ausbruchsklustern und genomischer Referenzdaten werden durch das KL Listeria der Fachöffentlichkeit über verschiedene Kanäle für Abgleiche von Patientenisolaten und Isolaten aus Lebensmitteln bereitgestellt. Dazu gehören die Epidemic Intelligence Information System (EPIS)-Plattform des European Centre for Disease Control (ECDC), das Nationale Referenzzentrum für *L. monocytogenes* am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) und das Microbial Genomic Surveillance-Netzwerk (miGenomeSurv), in dem sequenzierende Laboratorien der Lebensmittelseite und des klinischen Sektors mit dem KL Listeria verbunden sind. Regelmäßig veröffentlicht das KL Listeria Ergebnisse von Ausbruchsuntersuchungen, Genomsequenzen prävalenter Subtypen sowie deren infektiionsbiologischer Charakterisierung in einschlägigen Fachjournalen und stellt im Zuge der Veröffentlichung umfangreiche genomische Datensätze klinischer *L. monocytogenes*-Isolate in Sequenzrepositorien zur Verfügung. Die Arbeit des KL Listeria wird ergänzt um drittmittelfinanzierte Begleitforschung zu Fragen der Antibiotika- und Desinfektionsmittelresistenz von *L. monocytogenes*-Subtypen sowie der Virulenz und Physiologie von *L. monocytogenes* im Allgemeinen. Das KL Listeria nimmt regelmäßig an Ringversuchen zur Qualitätskontrolle von Genomsequenzierungen des ECDC teil.



Die Aufgaben des KL Listeria werden im Rahmen des RKI Fachgebietes für Darmpathogene bakterielle Erreger und Legionellen wahrgenommen. Vorrangig betraut mit den Arbeiten sind (v.l.n.r.): Antje Flieger, Sven Halbedel, Simone Dumschat.

Wichtige Publikationen

Halbedel S*, Sperle I*, Lachmann R*, Kleta S, Fischer MA, Wamp S, Holzer A, Lüth S, Murr L, Freitag C, Espenhain L, Stephan R, Pietzka A, Schjørring S, Bloemberg G, Wenning M, Al Dahouk S, Wilking H, Flieger A#. (2023) Large Multicountry Outbreak of Invasive Listeriosis by a *Listeria monocytogenes* ST394 Clone Linked to Smoked Rainbow Trout, 2020 to 2021. *Microbiol Spectr.* 2023 Jun 15;11(3):e0352022. doi: 10.1128/spectrum.03520-22. Epub 2023 Apr 10. (*equal contribution, # corresponding authors).

Lachmann R*, Halbedel S*, Lüth S*, Holzer A, Adler M, Pietzka A, Al Dahouk S, Stark K, Flieger A#, Kleta S#, Wilking H#. (2022) Invasive listeriosis outbreaks and salmon products: a genomic, epidemiological study. *Emerg Microbes Infect.* 2022 Dec;11(1):1308-1315. doi: 10.1080/22221751.2022.2063075 (*, # equal contribution).

Fischer MA, Wamp S, Fruth A, Allerberger F, Flieger A, Halbedel S. (2020) Population structure-guided profiling of antibiotic resistance patterns in clinical *Listeria monocytogenes* isolates from Germany identifies *phpB3* alleles associated with low levels of cephalosporin resistance. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Dec;9(1):1804-1813. doi: 10.1080/22221751.2020.1799722.

Halbedel S^{*#}, Wilking H^{*}, Holzer A, Kleta S, Fischer MA, Lüth S, Pietzka A, Huhulescu S, Lachmann R, Krings A, Ruppitsch W, Leclercq A, Kamphausen R, Meincke M, Wagner-Wiening C, Contzen M, Kraemer IB, Al Dahouk S, Allerberger F, Stark K^{*}, Flieger A^{*#} (2020): Large nationwide outbreak of invasive listeriosis associated with blood sausage, Germany, 2018–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 26 (7): 1456–1464. Epub Jun 10. doi: 10.3201/eid2607.200225. (*equal contribution, # corresponding authors).

Halbedel S, Prager R, Fuchs S, Trost E, Werner G, Flieger A. (2018) Whole-Genome Sequencing of Recent *Listeria monocytogenes* Isolates from Germany Reveals Population Structure and Disease Clusters. *J Clin Microbiol.* 2018 May 25;56(6):e00119-18. doi: 10.1128/JCM.00119-18.

ABSTRACT

High density genomic surveillance for risk profiling of clinical *Listeria monocytogenes* subtypes in Germany, 2018–2021

Halbedel S^{1,2}, Wamp S¹, Lachmann R³, Holzer A³, Pietzka A⁴, Ruppitsch W⁵, Wilking H³, Flieger A¹

- 1 FG 11 Division of Enteropathogenic bacteria and *Legionella*, Consultant Laboratory for *Listeria*, Robert Koch Institute, Burgstrasse 37, 38855 Wernigerode, Germany;
- 2 Institute for Medical Microbiology and Hospital Hygiene, Otto von Guericke University Magdeburg, 39120 Magdeburg, Germany;
- 3 FG 35 – Division for Gastrointestinal Infections, Zoonoses and Tropical Infections, Robert Koch Institute, Berlin, Germany;
- 4 Austrian Agency for Health and Food Safety, Institute for Medical Microbiology and Hygiene, Graz, Austria;
- 5 Austrian Agency for Health and Food Safety, Institute for Medical Microbiology and Hygiene, Vienna, Austria

Foodborne infections represent a significant public health concern, particularly when outbreaks affect many individuals over prolonged time. Systematic collection of pathogen isolates from infected patients, whole genome sequencing and phylogenetic analyses allow recognition and termination of outbreaks as well as risk profiling of abundant lineages. We here present a multi-dimensional analysis of > 1800 genome sequences from clinical *L. monocytogenes* isolates collected in Germany between 2018-2021 from invasive human listeriosis cases. These isolates covered 62 % of all notified cases and belonged to 188 core genome multi locus sequence typing clusters reflecting listeriosis outbreaks. 42 % of the clusters were protracted, 60 % generated cases cross-regionally, but multinational clusters were also identified. For several large clusters we provide more detailed epidemiological and genetic information. Risk profiling for development of materno-fetal and brain infections based on clinical data allowed discrimination of hyper- and hypo-virulent sequence types with global importance and these virulence differences could largely be confirmed in *in vitro* infections. Naturally occurring loss of function mutations were identified in several virulence and house-keeping genes, particularly in less virulent subtypes. Their further analysis showed that the importance of these genes for physiology and virulence of *L. monocytogenes* originally established in reference strains cannot be generalized.

Konsiliarlabor für Mukoviszidose-Bakteriologie



PD Dr. med. Dr. med. habil. Michael Hogardt

Leitung

PD Dr. med. Dr. med. habil. Michael Hogardt

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaus-
hygiene, Goethe Universität Frankfurt, Universitätsklinikum

Adresse

Paul-Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt am Main

E-Mail

michael.hogardt@kgu.de
NKL-MukoviszidoseBak@kgu.de

Telefon

+49 69 6301-5945 (Laborleitung)
+49 69 6301-5019 (Sekretariat)

Stellvertretung

Privatdozentin Dr. med. Silke Besier

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaus-
hygiene, Goethe Universität Frankfurt, Universitätsklinikum

Adresse

Paul-Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt am Main

E-Mail

silke.besier@kgu.de
NKL-MukoviszidoseBak@kgu.de

Telefon

+49 69 6301-5045 (stellv. Laborleitung)
+49 69 6301-5019 (Sekretariat)

Das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene des Universitätsklinikums Frankfurt am Main beherbergt seit dem Jahre 2017 das „Konsiliarlabor für Mukoviszidose-Bakteriologie“. Die Aufgaben des Konsiliarlaboratoriums beinhalten innerhalb Deutschlands die Untersuchung externer (respiratorischer) Proben, von Stammisolaten oder Serumproben von Personen mit Mukoviszidose (Cystische Fibrose; CF), die diagnostische und therapeutische Beratung von Ärzten und Ärztinnen zum Thema ‚Atemwegsinfektionen bei Mukoviszidose‘ sowie die Weiterentwicklung diagnostischer Verfahren zum Nachweis Mukoviszidose-relevanter bakterieller Infektionserreger. Zu den Aufgaben gehört weiter die Mitarbeit an der Erstellung von Leitlinien und Empfehlungen zur mikrobiologischen Diagnostik und antimikrobiellen Therapie. Darüber hinaus wird klinisch-

mikrobiologische bzw. grundlagenorientierte Forschung zur Erregerepidemiologie, Antibiotikaresistenz und Infektionsbiologie Mukoviszidose-relevanter Erreger betrieben.

Die Mukoviszidose ist eine häufige angeborene und immer noch lebensverkürzende Stoffwechsel- und Multisystemerkrankung. Die Erkrankung beruht auf Mutationen im sog. „*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*“ (CFTR) und dem resultierenden gestörten transepithelialen Elektrolyttransport. Das komplexe Erkrankungsbild wird im Wesentlichen durch die (chronische) Infektion des Respirationstraktes mit einem polymikrobiellen Erregerspektrum bestimmt, weshalb verschiedene bakterielle Infektionserreger (z. B. *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*-Komplex, *Achromobacter xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia*) in das Aufgabenspektrum des Konsiliarlabors fallen.

Das Leistungsangebot umfasst Untersuchungen zum Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*-spezifischen Antikörpern durch serologische Untersuchungsmethoden (ELISA), den konventionellen kulturellen Nachweis, die antimikrobielle Resistenztestung und ggf. die Typisierung von Mukoviszidose-Erregern. Die mikrobiologische Diagnostik erfolgt unter der Einhaltung höchster Qualitätsstandards (Laborakkreditierung nach DIN ISO 15189:2014 liegt seit dem Jahre 2010 durchgehend vor) und entsprechend den für die Mukoviszidose spezifischen mikrobiologischen Standards. Die Austestung von Antibiotika-Kombinationen kann in begründeten Einzelfällen erfolgen.

Der Stand des Wissens zur klinischen Relevanz von Mukoviszidose-Erregern, zu deren Labordiagnostik, Therapie und Prophylaxe wurden in zahlreichen Buchbeiträgen und Leitlinienempfehlungen publiziert. Die Mikrobiologischen Qualitätsstandards (MiQ 24): ‚Atemwegsinfektionen bei Mukoviszidose‘ wurden im Jahre 2019 unter Federführung des Konsiliarlabors in überarbeiteter Version publiziert und geben eine strukturierte Übersicht über alle relevanten Mukoviszidose-Erreger und die zugehörigen mikrobiologisch-diagnostischen Methoden.

Für infektionsserologische Untersuchungen wird Serum als Probenmaterial verwendet, für den kulturellen Erregernachweis werden alle respiratorischen Sekrete akzeptiert. Für eine Speziesidentifizierung, die gezielte Empfindlichkeitsprüfung von Antibiotika bzw. eine Erregertypisierung werden Stammissolate untersucht. Am häufigsten wird MIQ24-konform die Spezifizierung innerhalb des mindestens 22 Spezies umfassenden *B.-cepacia*-Komplex durchgeführt.



Links: *Pseudomonas aeruginosa* Kulturisolat mit mukoidem Phänotyp
Rechts: CF-Sputum mit multiplen *Pseudomonas aeruginosa*-Phänotypen

Wichtige Publikationen

- Schwarz C, Bend J, Hebestreit H, Hogardt M, Hügel C, Illing JS, Mainz JG, Rietschel E, Schmidt S, Schulte-Hubbert B, Sitter H, Wielpütz J, Hammermann J. S3-Leitlinie „Lungenerkrankung bei Mukoviszidose“ *Pseudomonas aeruginosa*. 2023, AWMF-Register Nr. 026/022.
- Wetzstein N, Diricks M, Kohl TA, Wichelhaus TA, Andres S, Paulowski L, Schwarz C, Lewin A, Kehrmann J, Kahl BC, Dichtl K, Hügel C, Eickmeier O, Smaczny C, Schmidt A, Zimmermann S, Nährlich L, Hafkemeyer S, Niemann S, Maurer FP, Hogardt M. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium abscessus* Isolates Recovered from German Cystic Fibrosis Patients. *Microbiol Spectr*. 2022 Aug 31;10(4):e0171422. doi: 10.1128/spectrum.01714-22.
- Weber C, Schultze T, Göttig S, Kessel J, Schröder A, Tietgen M, Besier S, Burbach T, Häussler S, Wichelhaus TA, Hack D, Kempf VAJ, Hogardt M. Antimicrobial activity of Ceftolozane-Tazobactam, Ceftazidime-Avibactam and Cefiderocol against multidrug-resistant *P. aeruginosa* recovered at a German university hospital. *Microbiol Spectr*. 2022 Oct 26;10(5):e0169722. doi: 10.1128/spectrum.01697-22. Epub 2022 Oct 3.
- Hogardt M. and Besier S. Microbiology, cross-infection and hygiene in Cystic Fibrosis. European respiratory Society (ERS) Handbook of Paediatric Respiratory Medicine. Edited by Ernst Eber and Fabio Midulla. Book Published 2021, DOI: 10.1183/9781849841313.eph01. ISBN (electronic): 978-1-84984-131-3.
- Hogardt M, Kahl BC, Besier et al., Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MIQ). Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Atemwegsinfektionen bei Mukoviszidose. Elsevier Verlag, München. MIQ24/2019: 1-119. ISBN 978-3-437-22675-5.

ABSTRACT 1

Molecular epidemiology and resistance patterns of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Weber C¹, Schultze T¹, Göttig S¹, Schröder A^{1,2}, Besier S^{1,2}, Burbach T¹, Häussler S³, Kempf V¹, Hogardt M^{1,2}

- 1 Institute for Medical Microbiology and Infection Control, University Hospital Frankfurt, Goethe University, Frankfurt am Main, Germany
- 2 German National Consiliary Laboratory on Cystic Fibrosis Bacteriology, Frankfurt am Main, Germany
- 3 Department of Clinical Microbiology, Copenhagen University Hospital – Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark

Multidrug-resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* increasingly causes health care-associated infections. Herein, we determined the activity of ceftolozane/tazobactam, ceftazidime/avibactam, and cefiderocol against so far 223 MDR *P. aeruginosa* clinical isolates recovered at the University Hospital Frankfurt. Furthermore, we evaluated the presence of genes encoding major β -lactamases, such as VIM, IMP, NDM, GIM, SPM, and KPC; the extended spectrum β -lactamase (ESBL)-carbapenemase GES; and the virulence-associated traits ExoS and ExoU, as in particular ExoU is thought to be associated with poor clinical outcome. Cefiderocol showed the highest susceptibility rate (97.3 %) followed by ceftazidime/avibactam (48.4 %) and ceftolozane/tazobactam (46.6 %). In 36.3 % of isolates, carbapenemase gene bla_{VIM} was detected, and in 2.2 % isolates bla_{GES} was detected (with a positive

association of *exoU* and *blaVIM*). The most prevalent sequence type was ST235 (24.7 %), followed by ST244, ST175, and ST233, with all belonging to the top 10 *P. aeruginosa* high-risk clones with worldwide distribution. Our data indicate that during surveillance studies special attention should be paid to the MDR and highly virulent VIM- and ExoU-producing variant of ST235. Furthermore, in the case of infections caused by carbapenemase-producing MDR *P. aeruginosa* ceftiderocol seems to be the preferred treatment option. In addition, we found that outcomes of a few patient cases with complicated urinary tract infections and hospital-acquired pneumonia treated with ceftiderocol were favorable.

ABSTRACT 2

Comparative antimicrobial activity of ceftazidime-avibactam, ceftolozane/tazobactam and ceftiderocol against *Burkholderia cepacia* complex species isolated from cystic fibrosis patients

Brößner K¹, Besier S^{1,2}, Schröder A^{1,2}, Burbach T¹, Schubert S³, Kempf V¹, Hogardt M^{1,2}

- 1 Institute of Medical Microbiology and Infection Control, University Hospital, Goethe University of Frankfurt, Frankfurt – Germany
- 2 National Consiliary laboratory for Cystic fibrosis Bacteriology, University Hospital Frankfurt, Goethe University Germany
- 3 Max von Pettenkofer-Institute for Hygiene und Medical Microbiology, LMU Munich, Munich – Germany

Chronic lung infection with the *Burkholderia cepacia* complex (BCC) in people with cystic fibrosis is associated with increased morbidity and mortality and therefore represents a significant challenge in the treatment of these patients. The BCC includes over 20 species of gram-negative typically multi-drug-resistant environmental bacteria while *B. multivorans* and *B. cenocepacia* typically being the most prevalent species in pwCF. BCC lung infection is associated with poor clinical outcome, accelerated lung function decline and increased mortality after lung transplantation. So far, no objective therapeutic guidelines exist neither for eradication therapy nor for the antibiotic treatment of exacerbations or chronic BCC lung infection. Trimethoprim-sulfamethoxazol, meropenem, ceftazidime and minocycline are considered the most active antimicrobial agents. However, antimicrobial susceptibility testing of BCC is notoriously problematic as so far, no clinical breakpoints for BCC organisms have been established by EUCAST and only microdilution is requested for testing (goldstandard). The aim of this study was to assess the susceptibility of BCC to ceftazidime/avibactam, ceftolozane-tazobactam and ceftiderocol. BCC isolates (n = 100) from individual CF patients (about 30 % *B. multivorans*, 30 % *B. cenocepacia* and 30 % other BCC species) were tested by broth microdilution (BMD) and MIC gradient strips (for evaluation). Briefly, relative susceptibility rates were: ceftiderocol > ceftazidime/avibactam > ceftazidime (for evaluation of the avibactam effect) > ceftolozane/ tazobactam, indicating that in particular ceftiderocol and ceftazidime/avibactam are relevant options for the treatment of infections due to BCC. Further, whole genome sequencing and evaluation of MIC gradients strips as well as agar diffusion tests of our BCC isolate set is in progress.

Konsiliarlabor für Mykoplasmen



Dr. Roger Dumke

Leitung

Dr. Roger Dumke

Institut

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie, TU Dresden

Adresse

Fetscherstrasse 74, 01307 Dresden

E-Mail

roger.dumke@tu-dresden.de

Telefon

+49 351 458 6577

Vertreter der Mykoplasmen/Ureaplasmen sind zellwandlose Bakterien, die aufgrund ihres relativ kleinen Genoms nur reduzierte Stoffwechselleistungen aufweisen. Diese besonderen Charakteristika sind die Ursache für eine eingeschränkte Antibiotikaempfindlichkeit (intrinsische Resistenz gegenüber Betalaktamantibiotika) und z. T. erhebliche Schwierigkeiten bei der kulturellen Anzucht einiger Arten (*Mycoplasma pneumoniae*, *M. genitalium*). Inzwischen sind 17 verschiedene Spezies aus dem Menschen nachgewiesen worden, die nach gegenwärtigem Kenntnisstand überwiegend als apathogen einzustufen sind oder nur im Zusammenhang mit einer Immunsuppression des Patienten klinisch bedeutsam werden können. Die medizinisch relevanten Vertreter zeigen eine ausgeprägte Affinität zur humanen Mukosa und können Symptome des Respirations- (*Mycoplasma pneumoniae*) oder des Urogenitaltraktes (*M. genitalium*, *M. hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*) hervorrufen. Die Infektionen werden nur selten systemisch und der Mensch stellt das einzige Reservoir dar. In vielen Fällen verläuft die Kolonisation asymptomatisch und die Mikroorganismen werden oft ungezielt nachgewiesen (z. B. nach Einsatz einer Panel-Diagnostik). Die Lokalisation der Infektionen bedingt unterschiedliche Übertragungswege. Dabei ist zu beachten, dass die Bakterien durch

das Fehlen der Zellwand empfindlich auf Umwelteinflüsse reagieren und somit ein enger Mensch zu Mensch-Kontakt für die Transmission erforderlich ist.

M. pneumoniae wird durch Inhalation erregerhaltiger Aerosole übertragen und kann eine Vielzahl von Infektionen der oberen und unteren Atemwege hervorrufen. Von klinischer Bedeutung ist vor allem das Auslösen atypischer Pneumonien, die vorwiegend bei Schulkindern auftreten, prinzipiell aber alle Altersgruppen betreffen können. Obwohl meist milde und selbstlimitierend, sind in ca. 10 % der Fälle schwere Verläufe dokumentiert, die eine adäquate Diagnostik und Therapie erfordern. Neben dem ausgeprägt saisonalen Vorkommen (Herbst/Winter) fallen Inzidenzhäufungen auf, die alle 4 – 7 Jahre vorkommen und z.T. weltweit zu registrieren sind. In diesen Perioden können bis zu 50 % der ambulant erworbenen Pneumonien durch *M. pneumoniae* verursacht sein. Als Gründe dieses epidemiologischen Musters werden die zeitliche Abnahme spezifischer Immunglobuline und ein Wechsel der in der Population zirkulierenden Subtypen diskutiert. Für diesbezügliche Untersuchungen hält das KL das komplette Spektrum der derzeit verfügbaren Typisierungsverfahren (P1-, VNTR-, MLST- und SNP-Typisierung) vor, um bei Bedarf Stämme in positiv getesteten Materialien molekular charakterisieren zu können. Neben der Atemwegssymptomatik werden bei einem kleinen Teil der Patienten im späteren Infektionsverlauf extra-pulmonale Manifestationen (z. B. Haut, ZNS) beschrieben. Aufgrund der langen Kultivierungszeiten wird die Infektion in der Praxis durch real-time PCR und serologische Verfahren nachgewiesen, wobei die mitunter speziellen IgM/IgG-Konstellationen weiterhin ein Thema in der Beratung des KL darstellen. Der bei therapierefraktären Verläufen angezeigte molekulare Nachweis einer Makrolidresistenz (derzeitige Rate in Deutschland: ca. 3 %) wird vom Labor angeboten.

M. genitalium wird dagegen sexuell übertragen und ist für viele Urethritisfälle bei Männern ursächlich verantwortlich, bei denen weder Gonokokken noch Chlamydien nachgewiesen werden. Die überwiegende Zahl der Patientinnen und Patienten ist jedoch asymptomatisch kolonisiert. Die Assoziation zu weiteren Krankheitsbildern bei Frauen (Zervizitis, PID, Schwangerschaftsprobleme) und Männern (Proktitis, Epididymitis, Prostatitis) wird seit längerem diskutiert, ist aber nicht abschließend geklärt. Die Prävalenz bewegt sich in der Normalbevölkerung zwischen 1 – 6 %, kann aber in Risikogruppen (z. B. MSM, HIV-Positive) auf über 20 % ansteigen. Trotz begrenzter epidemiologischer Relevanz wird *M. genitalium* als ausgesprochener Problemerreger angesehen, da er zur schnellen Resistenzentwicklung einschließlich einer Multiresistenz neigt. Eigene Untersuchungen im KL ergaben, dass mit Resistenzraten von bis zu 80 % (Makrolide; Azithromycin ist nach den Leitlinien Erstrangantibiotikum) und 15 % (Chinolone) zu rechnen ist. Diese Entwicklung betrifft nicht nur Risikopatienten. Das Labor ist darüber hinaus in der Lage, Stämme molekular zu typisieren (MgpB- und MG_309-Typisierung) und konnte nachweisen, dass unterschiedliche Typen in der MSM- und Non-MSM-Population zirkulieren, die differierende Resistenzmuster aufweisen. Auch die Ursachen positiver Kontrollbefunde nach einer Antibiose lassen sich auf diese Weise eingrenzen.

Ureaplasmen mit den beiden Spezies *U. parvum* und *U. urealyticum* werden sehr häufig (bis > 50 % der untersuchten Patientinnen und Patienten) vorwiegend bei Frauen nachgewiesen und sind überwiegend sexuell übertragen. Aufgrund der in den meisten Fällen symptomlosen Kolonisation lassen sich die Bakterien als fakultativ pathogen einordnen. Ein ursächlicher epidemiologischer Zusammenhang zu einer urogenitalen Symptomatik lässt sich nur in wenigen Fällen herstellen. Hinzu kommt eine geringe Erfolgsrate antibiotischer Therapien (auch ohne eine Resistenz des Stammes), die eine Behandlung nur nach sorgfältiger Abwägung sinnvoll erscheinen lassen. Dies betrifft insbesondere auch den Nachweis in der Schwangerschaft. Im Einzelfall und bei Auftreten besonderer Bedingungen kann *U. urealyticum* bei fehlendem Nachweis anderer Erreger ursächlich für Urethritiden bei

Männern sein (ca. 5 – 10 % der Fälle). Unbestritten ist die Bedeutung von *Ureaplasma spec.* für seltene, aber z.T. schwer verlaufende respiratorische Infektionen bei Frühgeborenen (bronchopulmonale Dysplasie). Die Resistenzsituation ist im mitteleuropäischen Raum als noch relativ unproblematisch einzuschätzen. So lag die Resistenz von im Universitätsklinikum Dresden isolierten Stämmen gegenüber den primär eingesetzten Makroliden bei 0 %.

M. hominis fällt in den letzten Jahren zunehmend als Auslöser vielfältiger extra-urogenitaler Infektionen auf. Ein epidemiologischer Zusammenhang zu urogenitalen Symptomen und Komplikationen in der Schwangerschaft ist dagegen nicht gesichert. Die Therapieoptionen sind durch eine zusätzliche intrinsische Resistenz gegenüber Makroliden weiter eingeschränkt. Analog zu den Ureaplasmen ist *M. hominis* auf/in festen und flüssigen Spezialmedien relativ gut anzüchtbar (24 – 48h).

Für alle Mykoplasmenspezies ist die Testung der Antibiotikaempfindlichkeit, nicht zuletzt aufgrund abrechnungstechnischer Defizite, für viele Labore ein Problem. Das KL hat es sich in der Vergangenheit insbesondere zur Aufgabe gemacht, die Resistenzbestimmung für die genannten Spezies anzubieten. Dabei kommen sowohl phänotypische (nur für *Ureaplasma spec.*, *M. hominis*) wie auch molekulare Verfahren zum Einsatz. Letztere sind vor allem zur Aufklärung der Mechanismen, die zur Veränderung der Empfindlichkeit führen, von Bedeutung. Für alle klinisch relevanten Vertreter der Gruppe liegen aktuelle Ergebnisse zur Resistenz vor, die in die Beratungstätigkeit des Labors einfließen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass Mykoplasmen/Ureaplasmen aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften und der schwierigen epidemiologischen Bewertung ihres Nachweises weiterhin eine Herausforderung für das Labor und den behandelnden Arzt sein können.

Wichtige Publikationen

- Dumke R, Schnee C, Pletz MW, Rupp J, Jacobs E, Sachse K, Rohde G; Capnetz Study Group. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia* spp. infection in community-acquired pneumonia, Germany, 2011-2012. *Emerg Infect Dis.* 2015, 21(3):426.
- Gründel A, Pfeiffer M, Jacobs E, Dumke R. Network of surface-displayed glycolytic enzymes in *Mycoplasma pneumoniae* and their interactions with human plasminogen. *Infect Immun.* 2015, 84(3):666.
- Dumke R. Antimicrobial resistance in clinical isolates of *Ureaplasma* spp. from samples in Germany. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021, 65(5):e02342-20.
- Meyer Sauteur PM, Beeton ML, Uldum SA, Bossuyt N, Vermeulen M, Loens K, Pereyre S, Bebear C, Kese D, Day J, Afshar B, Chalker VJ, Greub G, Nir-Paz R, Dumke R. *Mycoplasma pneumoniae* detections before and during the COVID-19 pandemic: results of a global survey, 2017 to 2021. *Euro Surveill.* 2022, 27(19).
- Dumke R. Molecular tools for typing *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma genitalium*. *Front Microbiol.* 2022, 13:904494.

ABSTRACT

***Mycoplasma genitalium* – Resistenzentwicklung bei einem primär unkomplizierten Erreger**

Dumke R

Mycoplasma genitalium (Mg) ist Ursache für Urethritiden bei Männern und wird als beteiligt bei PID, Zervizitis und Schwangerschaftskomplikationen diskutiert. In der Normalbevölkerung ist mit einer Prävalenz von ca. 3 % zu rechnen, die in Risikopopulationen (z. B. MSM) auf über 20 % steigen kann. Aufgrund des Fehlens einer Zellwand bei diesen Erregern sind die therapeutischen Optionen eingeschränkt und die phänotypische Resistenzbestimmung ist durch die extrem aufwändige Kultivierung der Bakterien erschwert. Darüber hinaus führt, unabhängig von einer Resistenzentwicklung, eine empirische Therapie mit Doxycyclin nur in ca. 35 % der Patienten zu einer langfristigen Eradikation. Nach internationalen Leitlinien werden Azithromycin und Moxifloxacin als Erst- bzw. Zweitrangantibiotika empfohlen. In den vergangenen Jahren stiegen die Resistenzraten gegen beide Antibiotikaklassen nicht nur in Stämmen aus Risikogruppen weltweit an. Die reduzierte Empfindlichkeit basiert nach gegenwärtigem Kenntnisstand ausschließlich auf Punktmutationen der 23S rRNA (Makrolide) bzw. der Topoisomerase IV *parC* (Chinolone). Während die klinischen Auswirkungen der Veränderungen der 23S rRNA bekannt sind, besteht bei einigen Mutationen des *parC*-Gens derzeit noch Unklarheit hinsichtlich eines Einflusses auf den Therapieerfolg. Im KL wurden seit 2020 aus bundesweit eingesandten Proben 336 Stämme auf das Vorliegen Resistenz-assoziiierter Mutationen untersucht. Mit Raten von 83,6 % (Makrolide) und 28,0 % (Chinolone) sind Resistenzen weit verbreitet. Eine isolierte Chinolonresistenz ist bei lediglich 2 % der Bakterien zu finden. Doppelresistenzen liegen bei 29 % der Stämme vor, was die Auswahl auf zwei empfohlene Antibiotika reduziert (Pristinamycin, Minocyclin). Da ein Großteil der untersuchten Stämme aus Risikogruppen stammt (MSM und/oder HIV-Positive), wurden in Kooperation mit einer Berliner Schwerpunktpraxis gezielt Non-MSM in die Analyse einbezogen. In dieser Kohorte (n = 64) sind die Resistenzraten mit 43,5 % (Makrolide) bzw. 14,1 % (Chinolone) deutlich geringer, befinden sich jedoch ebenfalls auf einem besorgniserregenden Niveau. Ergebnisse der molekularen Typisierung der Stämme (MgpB-typing) zeigen Unterschiede der in den sexuell differierenden Populationen (MSM vs. Non-MSM) zirkulierenden Bakterien. Ein Zusammenhang zwischen Resistenz und Sequenztyp ist jedoch nicht nachzuweisen. Die Resultate machen deutlich, dass eine erfolgreiche Therapie von Infektionen mit Mg auf der Basis nationaler und internationaler Empfehlungen ohne Untersuchung eines Vorliegens Resistenz-assoziiierter Mutationen inzwischen auch in Deutschland kaum mehr möglich ist.

Konsiliarlabor für Neurotoxin-produzierende Clostridien (Botulismus, Tetanus)



Dr. Brigitte G. Dorner

Leitung

Dr. Brigitte G. Dorner

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene
ZBS 3 – Biologische Toxine, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

DornerB@rki.de; ZBS3-diagnostik@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2500

Stellvertretung

Dr. Martin B. Dorner

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene
ZBS 3 – Biologische Toxine, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

DornerM@rki.de; ZBS3-diagnostik@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2500

Das Fachgebiet „Biologische Toxine“ im RKI beschäftigt sich seit seiner Gründung 2003 mit hochmolekularen Proteintoxinen, die im Zusammenhang mit Bioterrorismus relevant sind, darunter die bakteriellen Botulinum Neurotoxine, Staphylokokken Enterotoxine sowie die Pflanzentoxine Rizin und Abrin und differentialdiagnostisch relevante Proteintoxine aus *C. perfringens*, *C. difficile* und *E. coli*. In diesem Zusammenhang entwickelte die Arbeitsgruppe ein umfassendes Spektrum molekularbiologischer, immunologischer, spektrometrischer und funktioneller Verfahren zum Nachweis der clostridialen Neurotoxine und den produzierenden Erregern. Aufgrund dieser Expertise wurde

die Gruppe 2014 zunächst als ‚Konsiliarlabor für *Clostridium botulinum*‘ und 2017 als ‚Konsiliarlabor für Neurotoxin-produzierende Clostridien (Botulismus, Tetanus)‘ berufen. Sowohl Botulismus als auch Tetanus sind als Erkrankungen für Mensch und Tier gleichermaßen relevant. Daher war die Ernennung zum ‚DVG-Konsiliarlabor für *Clostridium botulinum*/Botulinum Toxin in Lebensmitteln‘ im Jahr 2017 durch die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft konsequent und ermöglicht seitdem auch die Konsiliaritätigkeit bei der Untersuchung von Lebensmitteln, die in einem Ausbruchsgeschehen relevant sind. Die gleichzeitige Tätigkeit als Konsiliarlabor im humanen Bereich sowie im Veterinär- und Lebensmittelbereich ist ungewöhnlich, liefert aber entscheidende Synergieeffekte bei so seltenen Erkrankungen wie Botulismus und Tetanus, ganz im Sinne des One-Health-Konzepts.

Im Rahmen der KL-Tätigkeit analysiert die Arbeitsgruppe human- und veterinärmedizinische Proben, Lebensmittel, Umweltpollen sowie pharmazeutische Präparate (z. B. „Fake-Botox“). Neben der Interaktion mit Klinikern, Tierärzten, dem ÖGD und Veterinärämtern arbeitet die Gruppe eng mit den Sicherheitsbehörden zusammen und unterstützt aufgrund seiner in Deutschland einzigartigen Expertise bei gerichtsmedizinischen und kriminaltechnischen Analysen. Neben anaerober Mikrobiologie und molekularbiologischer Diagnostik mittels PCR und Sequenzierung zum Nachweis und zur Isolation der Erreger werden zur Charakterisierung der Toxine moderne immunologische, massenspektrometrische und funktionelle Verfahren eingesetzt. Diverse Methoden sind entsprechend ISO 15189 sowie ISO 17025 für klinische Proben, Lebensmittel und Umweltpollen akkreditiert.

Die Botulinum und Tetanus Neurotoxine (BoNTs, TeNT) sind hochmolekulare Endopeptidasen, welche Proteine des sogenannten SNARE-Komplexes (VAMP, SNAP-25 und Syntaxin) an ganz spezifischen Positionen schneiden und damit die Assemblierung des SNARE-Komplexes verhindern, so dass die Ausschüttung Neurotransmitter-beladener Vesikel in der Synapse unterbunden wird. Die Neurotoxine blockieren so die Signalübertragung zwischen inhibitorischen Neuronen und Motoneuronen (TeNT, Wirkung im ZNS) bzw. zwischen Motoneuronen und dem Muskel (BoNTs, Wirkung in der Peripherie) und es kommt entweder zur spastischen/rigiden (Tetanus) oder flachen Lähmung (Botulismus). Im Unterschied zum TeNT, das als einzelnes Molekül vorkommt, bilden die BoNTs eine große Proteinfamilie mit aktuell 8 Serotypen (BoNT/A, B, C, D, E, F, G und H) mit mehr als 40 Subtypen und Mosaik-Formen (s. Abbildung). Jeder Serotyp schneidet nicht nur sein Ziel-SNARE-Protein an einer distinkten Stelle, sondern nutzt zur Aufnahme in die Neuronen eine spezielle Kombination aus Gangliosiden und glykosylierten Proteinrezeptoren. Für einzelne Serotypen spielt auch die Interaktion mit der Lipidmembran eine zentrale Rolle für die hochaffine Toxin-Rezeptor-Bindung (Stern *et al.*, PLoS Pathog. 2018). Veränderungen in der Aminosäuresequenz der Neurotoxine können sich sowohl auf die Rezeptorbindung, als auch die katalytische Aktivität auswirken und damit die Toxizität und Pharmakokinetik beeinflussen.

Während TeNT ausschließlich von *Clostridium tetani* gebildet wird, können sieben verschiedene *Clostridium* Spezies (*C. botulinum* Gruppe I–IV, *C. baratii*, *C. butyricum* und *C. sporogenes*) BoNTs produzieren. Diese anaeroben, Sporenbildenden Bakterien kommen ubiquitär in Böden und Sedimenten von Gewässern vor. Ihre Sporen zeigen z.T. eine außerordentliche Hitzebeständigkeit, aufgrund dessen sie insbesondere bei hitzesterilisierten Produkten, z. B. hausgemachten Konserven, ein Risiko darstellen. Die BoNTs werden – im Unterschied zum TeNT – nicht als freie Neurotoxine gebildet, sondern von den BoNT-produzierenden Clostridien in Form von hochmolekularen Komplexen produziert, bei denen das BoNT an nicht-toxische, akzessorische Proteine gebunden ist (s. Abbildung). Durch die akzessorischen Proteine wird zum einen die Degradation der BoNTs im Magen-Darm-

Trakt reduziert, zum anderen wird der Transport durch das Darmepithel potenziert – es resultiert eine deutlich gesteigerte orale Toxizität.

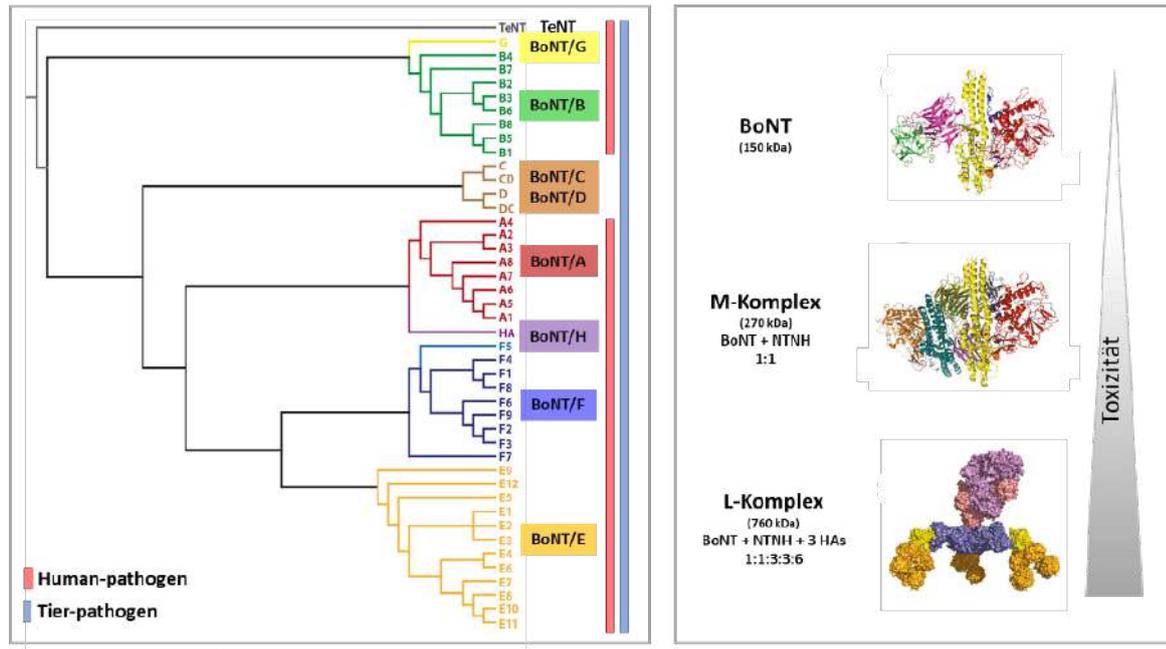
Botulismus kann in vier Hauptformen unterschieden werden:

- Lebensmittel-bedingter Botulismus, eine klassische Vergiftung durch das im Lebensmittel gebildete BoNT (Hendrickx *et al.* Front. Public Health 2023).
- Säuglingsbotulismus als Folge einer Besiedelung des Darms mit BoNT-produzierenden Clostridien im ersten Lebensjahr aufgrund der noch nicht voll ausgebildeten kompetitiven Darmflora.
- Wundbotulismus (analog zum Tetanus) hervorgerufen durch den Eintrag von Sporen in Wunden und Toxin-Produktion unter geeigneten Bedingungen in der Wunde.
- Iatrogen Botulismus als Nebenwirkung bei der Anwendung BoNT-haltiger Pharmazeutika, die zur Therapie von mehr als 20 neurologischen und nicht-neurologischen Erkrankungen sowie in der ästhetischen Medizin eingesetzt werden (Dorner *et al.* Euro Surveill. 2023).

In Deutschland gab es in den letzten 10 Jahren 59 Botulismus-Fälle, die zu 75 % Lebensmittel-bedingt waren, ca. 20 % waren Säuglingsbotulismus-Fälle, und der Rest Wundbotulismus-Fälle. Im Frühjahr 2023 kam es zu einem spektakulären Ausbruch von Reise-assoziierten iatrogenem Botulismus nach intra-gastraler Injektion von BoNT/A zur Gewichtsreduktion in der Türkei. Hier traten in zwei Wochen so viele Fälle auf wie sonst in drei Jahren: allein 30 Fälle nur in Deutschland (Dorner *et al.* Euro Surveill. 2023).

Aufgrund fehlender Meldepflicht liegen keine verlässlichen Angaben zum Botulismus im Tierbereich vor. Jedoch kommt es in Deutschland wie auch in anderen europäischen Ländern immer wieder zu Ausbrüchen bei Wasservögeln, Geflügel oder Rindern; andere Tiere, z. B. Pferde und Hunde, sind sporadisch betroffen. Für Tetanus besteht seit 2001 keine Meldepflicht nach IfSG mehr, das Konsiliarlabor untersucht hier ca. 8 – 10 humane Fälle sowie einzelne veterinärmedizinisch relevante Fälle pro Jahr.

Neben der einzigartigen Toxizität – die Botulinum und Tetanus Neurotoxine sind die giftigsten bekannten Substanzen auf diesem Planeten – stellt die molekulare Vielfalt der BoNTs die größte Herausforderung an die Diagnostik. Es werden hochsensitive diagnostische Verfahren benötigt, die alle molekularen Varianten der BoNTs erfassen. Kommerziell gibt es keine geeigneten Verfahren bzw. Reagenzien. Zum Aufbau entsprechender sensitiver Verfahren stellt das Konsiliarlabor selbst eigene monoklonale Antikörper her und nutzt rekombinante Antikörpertechnologien. Diese Antikörper werden zur Entwicklung immunologischer, massenspektrometrischer und funktioneller Methoden verwendet (Dorner *et al.* Euro Surveill. 2023, von Berg *et al.* Sci. Rep. 2019). Wichtiges Ziel ist es, mittelfristig den klassischen Maus-Bioassay zum Nachweis der Neurotoxine zu ersetzen und eine routinefähige Tierversuchersatzmethode im Feld zu etablieren (Stern *et al.* Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 2018).



Struktur und Diversität der clostridialen Neurotoxine: Molekulare Diversität und Verwandtschaft von Tetanus Neurotoxin (TeNT) und den Botulinum Neurotoxinen (BoNT) mit den 8 Sero- und mehr als 40 Subtypen sowie Mosaikformen (links). Struktur des freien BoNT (rechts oben), des M-Komplexes bestehend aus BoNT und dem nicht-toxischen nicht-Hämagglutinin (NTNH; rechts Mitte) und des assemblierten L-Komplexes (rechts unten). Beim L-Komplex liegt der M-Komplex an 12 Hämagglutinine (3x HA70, 3x HA17 und 6x HA33) assoziiert vor. Mit steigendem Molekulargewicht steigt die orale Toxizität der BoNTs um mehrere Potenzen an.

Wichtige Publikationen

- Dorner, M. B., H. Wilking, M. Skiba, L. Wilk, M. Steinberg, S. Worbs, S. Çeken, S. Kaygusuz, S. Simon, F. Becher, A. Mikolajewska, C. Kornschöber, T. Bütler, N. Jourdan-Da-Silva, M. an der Heiden, L. Schaade, K. Stark, B. G. Dorner and C. Frank (2023). A large travel-associated outbreak of iatrogenic botulism in four European countries following intragastric botulinum neurotoxin injections for weight reduction, Türkiye, February to March 2023. *Euro Surveill* 28: 2300203.
- Hendrickx, D., C. Varela Martínez, M. Contzen, C. Wagner-Wiening, K.-H. Janke, P. Hernando Jiménez, S. Massing, J. Pichler, P. Tichaczek-Dischinger, F. Burckhardt, K. Stark, K. Katz, A. Jurke, S. Thole, R. Carbó, M. P. del Pobil Ferré, M. Nieto, M. J. Zamora, A. Sisó, P. Pallares García, S. Valdezate, L. Schaade, S. Worbs, B. G. Dorner, C. Frank and M. B. Dorner (2023). First cross-border outbreak of foodborne botulism in the European Union associated with the consumption of commercial dried roach (*Rutilus rutilus*). *Front Public Health* 10: 1039770.
- von Berg, L., D. Stern, D. Pauly, S. Mahrhold, J. Weisemann, L. Jentsch, E. M. Hansbauer, C. Müller, M. A. Avondet, A. Rummel, M. B. Dorner and B. G. Dorner (2019). Functional detection of botulinum neurotoxin serotypes A to F by monoclonal neopeptide-specific antibodies and suspension array technology. *Sci Rep* 9: 5531.
- Stern, D., J. Weisemann, A. Le Blanc, L. von Berg, S. Mahrhold, J. Piesker, M. Laue, P. B. Luppá, M. B. Dorner, B. G. Dorner and A. Rummel (2018). A lipid-binding loop of botulinum neurotoxin serotypes B, DC and G is an essential feature to confer their exquisite potency. *PLoS Pathog* 14: e1007048.

Stern, D., L. von Berg, M. Skiba, M. B. Dorner and B. G. Dorner (2018). Replacing the mouse bioassay for diagnostics and potency testing of botulinum neurotoxins – progress and challenges. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 131: 375-394

ABSTRACT

Vorstellung des Konsiliarlabor für Neurotoxin-produzierende Clostridien (Botulismus, Tetanus)

Dorner MB, Worbs S, Krüger M, Dorner BG

The division Biological Toxins (ZBS3) within the Centre for Biological Threats and Special Pathogens at the Robert Koch Institute hosts the Consultant Laboratory for Neurotoxin-producing Clostridia (Botulism, Tetanus) and the Consultant Laboratory for *Clostridium botulinum*/Botulinum Toxins in Food appointed by the German Veterinary Medical Society (DVG). Over the last two decades, ZBS3 developed a range of innovative immunological, functional, mass spectrometric and DNA-based methods for the detection of biological protein toxins, e.g. botulinum and tetanus neurotoxins, *Clostridium perfringens* toxins, staphylococcal enterotoxins and plant toxins such as ricin and abrin for the detection in clinical, food and environmental matrices. A number of assays are accredited under ISO 15189 and ISO 17025 and have been shared internationally in the framework of ZBS3-coordinated EU networks (EuroBioTox, EQUATox, 2012-2023). ZBS3 routinely performs laboratory diagnostics for human and veterinary botulism, tetanus and other toxin-mediated diseases. As integral part of the Centre for Biological Threats and Special Pathogens, the group supports German security authorities in real and suspected incidents related to the mentioned protein toxins.

Botulism and tetanus are caused by clostridial neurotoxins (botulinum neurotoxins, BoNT, and tetanus neurotoxin, TeNT, respectively) produced by eight different species. Unlike TeNT, the BoNTs show a high degree of molecular diversity with eight serotypes, more than 40 subtypes and up to 36 % sequence differences at amino acid levels. Each toxin type cleaves one of the three SNARE proteins (SNAP-25, VAMP and syntaxin) at a distinct position, thereby enabling SNARE complex formation and neurotransmitter release. Since the NTs are the most toxic substances on earth, their detection demands for highly sensitive detection methods, especially in serum samples (LODs in the low pg/mL-range). Based on own monoclonal antibodies (mAbs), ZBS3 developed e.g. multiplex suspension arrays to detect, differentiate and quantify the BoNTs and TeNT. Specifically, for BoNTs, an animal replacement method was established based on immunoenrichment, on-bead substrate cleavage and detection using neopeptide-specific mAbs in a functional suspension array format. The assay was awarded with a 3Rs award in 2021 and is now – after extensive internal validation – ready for transfer into interested national and international laboratories. Exemplarily, this novel assay format was instrumental in the detection of minute amounts of toxin in the recent outbreak of iatrogenic botulism after intra-gastric BoNT/A injection to treat obesity in 2023, affecting 30 patients in Germany and even more internationally.

Konsiliarlabor für Noroviren



Dr. Sandra Niendorf

Leitung

Dr. Sandra Niendorf

Institut

Virale Gastroenteritis- und Hepatitisreger und Enteroviren (FG 15), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10; 13353 Berlin

E-Mail

KL-Noroviren@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2375

Stellvertretung

Dr. Sonja Jacobsen

Institut

Virale Gastroenteritis- und Hepatitisreger und Enteroviren (FG 15), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10; 13353 Berlin

E-Mail

KL-Noroviren@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2375

Infektionen mit Noroviren sind weltweit die häufigste Ursache für eine virale akute Gastroenteritis. Sie verursachen mehr als 200.000 Todesfällen jährlich, insbesondere in Entwicklungsländern mit unzureichenden Hygienestandards und eingeschränkter medizinischer Versorgung. Die Übertragung von Noroviren erfolgt fäkal-oral hauptsächlich durch den Kontakt mit infizierten Patienten, die Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln oder kontaminiertes Wasser, oder über kontaminierte Oberflächen. Noroviren werden von infizierten Personen hauptsächlich über den Stuhl und über das Erbrochene ausgeschieden. Sie sind hoch infektiös und zeichnen sich durch eine hohe Umweltresistenz aus. Obwohl Norovirus-Infektionen besonders bei Kindern und älteren Menschen beschrieben werden, kommen Infektionen in allen Altersgruppen vor. Infektionen mit Noroviren können das ganze Jahr auftreten, werden aber hauptsächlich in den Wintermonaten registriert. In diesem Zeitraum führen sie zu größeren Ausbrüchen in Gemeinschaftseinrichtungen, wie z. B. Kindergärten, Schulen, Pflegeheimen und Krankenhäusern.

Für den Nachweis und die Charakterisierung von Noroviren stehen im Konsiliarlabor verschiedene molekularbiologische Methoden zur Verfügung. Die Hauptaufgabe des Konsiliarlabors besteht in der Genotypisierung von Ausbruchsgeschehen und dem Nachweis von molekular epidemiologischen Zusammenhängen, den so genannten Infektketten [1]. Seit 2001 führt das Konsiliarlabor eine molekulare Surveillance der zirkulierenden Noroviren in Deutschland durch. Hierfür werden die eingesendeten Norovirus-positiven Proben genotypisiert und charakterisiert. Dadurch können Veränderungen der Diversität der Population der zirkulierenden Noroviren frühzeitig erkannt werden. Die so gewonnenen Daten werden auf globaler Ebene ausgetauscht [2], wodurch, falls notwendig, diagnostische Nachweissysteme angepasst werden können oder Impfstoffentwicklungen beeinflusst werden können.

Neben der molekularen Surveillance der Noroviren in Deutschland überwacht das Konsiliarlabor für Noroviren auch die Zirkulation anderer nicht meldepflichtiger Erreger von viralen Gastroenteritiden in Deutschland, wie z. B. die Sapoviren und Astroviren [3]. Dafür hält das Konsiliarlabor für Noroviren verschiedene Methoden zum Nachweis und zur Genotypisierung von diesen differenzialdiagnostisch relevanten Erregern bereit.

Das Konsiliarlabor für Noroviren kooperiert mit einer Vielzahl von verschiedenen internationalen Partnern, insbesondere in afrikanischen Ländern, wobei der Wissenstransfer und der Aufbau der Infrastruktur für die molekulare Surveillance von viralen Gastroenteritiserregern im Mittelpunkt stehen [4].

Zoonotische Infektionen mit viralen Gastroenteritiserregern sind möglich [4;5]. In verschiedenen Projekten wird das zoonotische Potential dieser Erreger im Konsiliarlabor untersucht.

Zum Leistungsangebot des Konsiliarlabors für Noroviren gehören:

- Nachweis von Norovirus-RNA mittels real-time RT-PCR (semi-quantitativ)
- Genotypisierung von Noroviren mittels RT-PCR und anschließender Sequenzierung in zwei verschiedenen Genomregionen
- Untersuchung möglicher Infektketten für die Ausbruchsanalyse
- Vollgenom-Sequenzierung mittels NGS
- Differentialdiagnostische Untersuchungen von Proben mit diskrepanten Vorergebnissen: Norovirus, Rotavirus, Sapovirus, Astrovirus
- Genotypisierung von Astroviren und Sapoviren in Ausbruchsgeschehen und in sporadischen Fällen mittels RT-PCR und anschließender Sequenzierung in verschiedenen Genomregionen
- Bereitstellung von Referenzmaterial
- Beratung und Unterstützung zur Diagnostik von Noroviren
- Beratung und Unterstützung zur Diagnostik weiterer viraler Gastroenteritis-Erreger



Teamfoto v.l.n.r. Kathrin Stanossek, Steffen Zander, Anja Lerch, Dr. Sandra Niendorf, Dr. Andreas Mas Marques, Dr. Sonja Jacobsen, Ute Obst

Wichtige Publikationen

- (1) Diversity of Noroviruses throughout Outbreaks in Germany 2018. Niendorf S, Faber M, Tröger A, Hackler J, Jacobsen S. *Viruses*. 2020 Oct 13;12(10):1157. doi: 10.3390/v12101157.
- (2) Steep rise in norovirus cases and emergence of a new recombinant strain GII.P16-GII.2, Germany, winter 2016. Niendorf S, Jacobsen S, Faber M, Eis-Hübinger AM, Hofmann J, Zimmermann O, Höhne M, Bock CT. *Euro Surveill*. 2017 Jan 26;22(4):30447. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.4.30447.
- (3) Diversity of human astroviruses in Germany 2018 and 2019. Niendorf S, Mas Marques A, Bock CT, Jacobsen S. *Virol J*. 2022 Dec 21;19(1):221. doi: 10.1186/s12985-022-01955-3.
- (4) Viral gastroenteritis among children of 0-5 years in Nigeria: Characterization of the first Nigerian aichivirus, recombinant noroviruses and detection of a zoonotic astrovirus. Japhet MO, Famurewa O, Adesina OA, Opaleye OO, Wang B, Höhne M, Bock CT, Mas Marques A, Niendorf S. *J Clin Virol*. 2019 Feb;111:4-11. doi: 10.1016/j.jcv.2018.12.004. Epub 2018 Dec 17.
- (5) Presence and Diversity of Different Enteric Viruses in Wild Norway Rats (*Rattus norvegicus*). Niendorf S, Harms D, Hellendahl KF, Heuser E, Böttcher S, Jacobsen S., Bock CT, Ulrich RG. *Viruses*. 2021 May 26;13(6):992. doi: 10.3390/v13060992.

ABSTRACT

Surveillance und Ausbruchsanalysen am Konsiliarlabor für Noroviren zwischen 2010 und 2020

Niendorf S, Mas Marques A, Jacobsen S

Die Hauptaufgabe des Konsiliarlabors für Noroviren besteht in der Surveillance der zirkulierenden Noroviren in Deutschland. Hierfür werden Proben aus Ausbruchsgeschehen genotypisiert und molekular-epidemiologische Zusammenhänge, die so genannten Infektketten, untersucht. Zusätzlich werden auch sporadische Proben, bei denen kein epidemiologischer Zusammenhang bekannt ist, genotypisiert und charakterisiert. Im Zeitraum von 2010 bis zur Covid-19 Pandemie wurden im Konsiliarlabor für Noroviren knapp 4.500 Proben analysiert, die mit mehr als 1.700 Ausbrüchen assoziiert waren. Zusätzlich wurden mehr als 1.100 Proben charakterisiert, bei denen kein epidemiologischer Zusammenhang bekannt war. Knapp zwei Drittel aller untersuchten Ausbruchsproben stammt aus Kindereinrichtungen oder aus Alten- und Pflegeheimen. Insgesamt wurden in diesem Zeitraum 55 verschiedene Genotypen und Genotypvarianten identifiziert. Die häufigsten Genotypen waren dabei die beiden erst seit 2016 in Deutschland zirkulierenden Rekombinanten GII.P16-GII.4 Sydney und GII.P16-GII.2 mit einem Anteil von 40 % an allen analysierten Proben im gesamten Untersuchungszeitraum. Durch die Kenntnis der Veränderungen der Diversität der zirkulierenden Noroviren ist es möglich, diagnostische Nachweissysteme anzupassen und Impfstoffe für Noroviren gezielt zu entwickeln.

Mit Hilfe der am Konsiliarlabor für Noroviren etablierten Methoden zur Infektkettenanalyse konnte eine Vielzahl von diversen Ausbrüchen in verschiedenen Einrichtungen und mehrere Lebensmittel-assoziierte Ausbrüche analysiert und aufgeklärt werden. Mit Hilfe der so gewonnenen Daten können unter anderem Hygiene-assoziierte Abläufe in den betroffenen Einrichtungen optimiert werden, um zukünftige Ausbrüche besser verhindern zu können.

Konsiliarlabor für Parvoviren



Prof. Dr. med. Martin Enders

Leitung

Prof. Dr. med. Martin Enders

Institut

Labor Prof. Dr. G. Enders MVZ GbR

Adresse

Rosenbergstr. 85, 70193 Stuttgart

E-Mail

m.enders@labor-enders.de

Telefon

+49 711 6357-120

Stellvertretung

Dr. med. Robert Beck

Institut

Labor Prof. Dr. G. Enders MVZ GbR

Adresse

Rosenbergstr. 85, 70193 Stuttgart

E-Mail

r.beck@labor-enders.de

Telefon

+49 711 6357-120

Das Labor Prof. Dr. G. Enders bietet als medizinisches Versorgungszentrum (MVZ) mit über 200 MitarbeiterInnen im Zentrum von Stuttgart ein umfassendes Untersuchungsspektrum der labormedizinischen, mikrobiologischen und virologischen Diagnostik. Es wurde 1979 von Frau Prof. Dr. med. habil. Gisela Enders gegründet. Schwerpunkte des Labors sind Diagnose, Prävention und Therapie von Infektionen in der Schwangerschaft und der Neugeborenenperiode.

Die Qualität unserer Diagnostik beruht auf einer engen Zusammenarbeit der einzelnen Fachbereiche (Bakteriologie, Parasitologie, Klinische Chemie und Endokrinologie, Toxikologie, Hämatologie, Zelluläre Immunologie, Infektionsserologie, Virologie und Molekularbiologie) und der individuellen Befundung unter Einbeziehung von Anamnese und klinischen Angaben. Unser Labor ist für Ärztinnen und Ärzte aus den verschiedensten medizinischen Institutionen sowie häufig auch für viele betroffene Eltern Anlaufstelle für Fragen zu schwangerschaftsrelevanten Infektionen.

Seit dem Jahr 2020 ist das „Konsiliarlabor für Parvoviren“ im Labor Enders angesiedelt. Fragestellungen, die regelmäßig an das Konsiliarlabor herangetragen werden, sind z. B.:

- Vorgehen bei Kontakt zu Patienten mit Ringelröteln in der Arztpraxis
- Beratung von Schwangeren, deren Kinder Betreuungseinrichtungen besuchen, in welchen Ringelröteln ausgebrochen sind
- Risikoeinschätzung für mögliche klinische Folgen wie Abort oder Hydrops fetalis beim ungeborenen Kind nach Diagnose einer Parvovirus B19-Infektion in der Schwangerschaft
- Management von akuten B19V-Infektionen in der Schwangerschaft in Kooperation mit Schwerpunktpraxen für fetale Medizin
- Spezialdiagnostik zur Eingrenzung des Infektionszeitpunktes bzw. Bestätigung/Ausschluss einer akuten Infektion

Wir arbeiten beständig an der Weiterentwicklung und Evaluierung neuer und bestehender labor diagnostischer Tests. Um die Zuverlässigkeit von prognostischen Aussagen zu möglichen Komplikationen nach mütterlicher Parvovirus B19-Infektion weiter zu verbessern, planen wir aktuell eine Studie zum Mutter-Kind Übertragungsrisiko, Risiken für den Feten und potentiellen Risikomarkern im Blut der Schwangeren. Ein weiterer wichtiger Aspekt der Studie ist die Beobachtung der neurologischen Entwicklung betroffener Kinder nach schwerwiegender intrauteriner Anämie.

Forschung auf diesem Gebiet ist auch insbesondere im Hinblick auf die deutliche Zunahme von akuten B19V-Infektionen in der Schwangerschaft von Relevanz, die wir aktuell im Vergleich zu den Jahren der SARS-CoV2-Pandemie beobachten.

Wichtige Publikationen

- Enders M, Kagan KO. Infektionen in der Schwangerschaft und bei Geburt, In: von Kaisenberg C, Klarisch P, Hösli-Rias I, editors. Die Geburtshilfe. 6. Auflage. Berlin, Heidelberg, Springer 2024 (in press)
- Enders M, Bartelt U, Weidner A, Exler S, Beck R. Evaluation of an in-house competitive IgG avidity assay for timing of primary Parvovirus B19 infection in pregnancy [Poster]. In: 32nd Annual Meeting of the Society for Virology. Abstracts. 28. – 31. März, Ulm 2023; p. 366.
- Russcher A, Enders A, Brouwer CS de, Oepkes D, Hahn R, Enders M, Kroes ACM, Vossen ACTM. Diagnosis of intrauterine parvovirus B19 infection at birth – Value of DNA detection in neonatal blood and dried blood spots. *J Clin Virol* 2020; 129:104482. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104482.
- Weiffenbach J, Bald R, Gloning KP, Minderer S, Gärtner BC, Weidner A, Hanke M, Enders M. Serological and virological analysis of maternal and fetal blood samples in prenatal human parvovirus B19 infection. *J Infect Dis* 2012; 205(5):782–8. DOI: 10.1093/infdis/jir855.
- Enders M, Klingel K, Weidner A, Baisch C, Kandolf R, Schalasta G, Enders G. Risk of fetal hydrops and non-hydropic late intrauterine fetal death after gestational parvovirus B19 infection. *J Clin Virol* 2010; 49(3):163–8. DOI: 10.1016/j.jcv.2010.07.014.

Konsiliarlabor für Pockenviren



Prof. Dr. Andreas Nitsche

Leitung

Prof. Dr. Andreas Nitsche

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren
und Spezielle Pathogene ZBS 1 – Hoch-
pathogene Viren, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

NitscheA@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2313/-5111

Stellvertretung 1

Dr. Janine Michel

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren
und Spezielle Pathogene ZBS 1 – Hoch-
pathogene Viren, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

MichelJ@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2764/-2763/-5111

Stellvertretung 2

Dr. Livia Schrick

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren
und Spezielle Pathogene ZBS 1 – Hoch-
pathogene Viren, Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

SchrickL@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2764/-2763/-5111

Im Konsiliarlabor für Pockenviren werden verschiedene diagnostische Methoden verwendet, um eine Infektion mit Pockenviren nachzuweisen. Zu den Pockenviren gehören neben den Menschenpocken (Variola/Smallpox) auch andere humanpathogene Vertreter wie Affenpocken-, Kuhpocken-, und Parapockenviren. Zu deren Nachweis werden klassische virologische Verfahren eingesetzt und moderne molekulare Methoden weiterentwickelt, um eine schnelle, verlässliche Erkennung und Typisierung von Pockenviren, auch neuartigen Pockenviren, zu ermöglichen.

Infektionen mit Pockenviren werden neben der klassischen klinischen Diagnostik in der Regel auf molekularer Ebene durch die real-time PCR diagnostiziert, was spezifisch für Orthopockenviren, Affenpockenviren, Kuhpockenviren, Parapockenviren und Molluscipockenviren nach DIN EN ISO 15189 und DIN EN ISO/IEC 17025 im KL Pockenviren akkreditiert ist. Für den Nachweis von Variolaviren wurden PCR Verfahren am CDC evaluiert. Eine detailliertere Typisierung von Ortho- und Parapockenviren erfolgt akkreditiert mit Hilfe konventioneller PCRs und anschließender Sequenzierung der

PCR-Produkte. Für den Nachweis von anti-Orthopockenvirus-Antikörpern ist ein Immunfluoreszenztest akkreditiert.

Über das Spektrum der akkreditierten Verfahren hinaus können Virusanzuchten in verschiedenen Systemen, Serologie für Parapockenviren, die quantitative Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern sowie die schnelle Genomsequenzierung durchgeführt werden. Für weitere Pockenviren und andere Erreger mit Haut-Symptomatik liegen PCR-Systeme vor und können bei Bedarf für die Differentialdiagnostik eingesetzt werden.

Eine Next-Generation-Sequencing-basierte Methode zur Voramplifikation und simultanen Detektion von verschiedenen Pockenviren, neuartigen Pockenviren und differenzialdiagnostisch relevanten Viren wurde aufgebaut, an der Stammsammlung validiert und wird im laufenden Betrieb verwendet.

Das KL Pockenviren stellt das deutsche Mitglied des Advisory Committee on Variola Virus Research bei der WHO und unterstützt WHO Partnerländer bei der Diagnostik. Außerdem stellt das KL Pockenviren national und international Referenzmaterial (DNA und Virusisolate) und Proben für Ringversuche für die PCR-Diagnostik zur Verfügung. Das KL hat für die WHO kommerzielle PCR-Testkits zum Nachweis von MPXV evaluiert.

Im Rahmen des aktuellen, weltweiten Ausbruchs mit Affenpockenviren wurden im KL für Pockenviren bis Januar 2023 mehr als 5.500 Proben von ca. 2.800 Patienten per PCR auf Affenpockenviren und ca. 1300 Blut/Serumproben serologisch auf OPV untersucht. Es wurden verschiedene serologische Methoden (IFA, ELISA, NT) weiterentwickelt und mit verschiedenen Orthopockenviren (VACV, CPXV und MPXV) gezeigt, dass der Einsatz dieser Methoden in Laboren verschiedener Sicherheitsstufen möglich ist. Weiterhin haben wir RKI-intern zusammen mit ZBS3 ein Bead-basiertes Multiplex Serologie Assay entwickelt mit Hilfe dessen zwischen natürlicher Infektion und Impfung unterschieden werden kann. Der Assay wird bereits in verschiedenen Studien eingesetzt.

Neben der Diagnostik und Begleitung von klinischen Infektionen werden im KL Pocken Forschungsprojekte bearbeitet, beispielsweise wurde eine Kooperation mit Pockenvirusexperten (José Esparza, Clarissa Damaso) aufgebaut, die den Ursprung des Vacciniavirus, des zur Eradikation der Menschenpocken zuletzt eingesetzten Virus, aufklären möchte. Am RKI wurde bereits ein Impfstoff aus dem Jahre 1902 sequenziert, der die höchste Verwandtschaft zu Pferdepockenviren aufweist. Dies unterstützt die Hypothese, dass Pferdepockenviren ein Vorläufer von Vacciniaviren sein könnten (Schrick et al. N Engl J Med. 2017). Im Rahmen dieser Kooperation wurden bereits weitere Vacciniavirus-Impfstoffe gefunden und sequenziert.

Wichtige Publikationen

Serological methods for the detection of antibodies against Monkeypox virus applicable for laboratories with different biosafety levels. Grossegeesse M, Stern D, Hofmann N, Kohl C, Michel J, Nitsche A. *Authorea*. June 20, 2023. DOI: 10.22541/au.168724470.01249438/v1.

Extensive ITR expansion of the 2022 Mpox virus genome through gene duplication and gene loss. Brinkmann A, Kohl C, Pape K, Bourquain D, Thürmer A, Michel J, Schaade L, Nitsche A. *Virus Genes*. 2023 Aug;59(4):532-540. doi: 10.1007/s11262-023-02002-1. Epub 2023 May 31. PMID: 37256469 Free PMC article.

Evaluation of 11 commercially available PCR kits for the detection of monkeypox virus DNA, Berlin, July to September 2022. Michel J, Targosz A, Rinner T, Bourquain D, Brinkmann A, Sacks JA, Schaade L, Nitsche A (2022): Euro Surveill. 27 (45): 2200816. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.45.2200816.

Generalized cowpox virus infection in an immunosuppressed patient. Wendt R, Tittelbach J, Schrick L, Kellner N, Kalbitz , Ruehe B, Michel J, Schliemann S, Elsner P, Lübbert C, Nitsche A (2021): Int. J. Infect. Dis. 106 (May): 276–278. Epub Mar 29. doi: 10.1016/j.ijid.2021.03.076.

An early American smallpox vaccine based on horsepox. Schrick L, Tausch SH, Dabrowski PW, Damaso CR, Esparza J, Nitsche A (2017): N. Engl. J. Med. 377 (15): 1491–1492. Epub Oct 12. doi: 10.1056/NEJMc1707600.

ABSTRACT

Vergleich von Viruslast und Infektiosität von Mpox-Viren in verschiedenen klinischen Proben

Michel M^{1*}, Grossegeisse M¹, Kohl C¹, Krause E¹, Puyskens A¹, Hofmann N¹, Brinkmann A¹, Bodenstein C¹, Bourquain D¹, Stocker H², Jessen H³, Schrick L¹, Schaade L¹, Nitsche A¹

1 ZBS1, RKI

2 St Joseph Krankenhaus

3 Praxis Jessen

Im Rahmen des Mpox Ausbruchs wurden in der Primärdiagnostik im KL Pockenviren verschiedene Probenarten auf die Anwesenheit von MPXV DNA semi-quantitativ untersucht und für eine Auswahl der Proben jeweils die Virusanzucht in Zellkultur durchgeführt. Ziel der Studie war es für die Diagnostik geeignetes Probenmaterial zu identifizieren und Schlüsse über die Kontagiosität von Mpox-Erkrankten zu ziehen.

DNA wurde nach Standardverfahren mittels QiaCube extrahiert und eine OPXV-spezifische PCR mit einer Inhibitionskontrolle in duplex durchgeführt, darüber hinaus wurde eine MPXV spezifische PCR, eine MPXV clade II spezifische PCR und eine DNA-Kontrolle in der PCR gemessen. Positive Proben wurden in die Studie eingeschlossen. Untersucht wurden Abstriche von Haut-Läsionen (n = 1222), Krusten (n = 24), pharyngale Abstriche (n = 279), rektale Abstriche (n = 391), Sperma (n = 37), Urin (n = 88) und Serum (n = 58).

Die Anzucht in Zellkultur wurde im BSL3 Labor nach Standardprotokollen durchgeführt. Dazu wurden Vero C1008 (ECACC #85020206) mit drei Verdünnungen der Originalprobe inokuliert (1:10, 1:50, 1:250) und an Tag 3, 7 und 10 p.i. nach zytopathischen Effekten untersucht. MPXV-Replikation wurde mit einer MPXV spezifischen PCR gezeigt.

Die DNA Lasten waren in den Haut-Läsionen und in Krusten am höchsten, in Sperma und Serum am niedrigsten, wobei die Quantifizierung in flüssigen Proben verlässlichere Vergleiche erlaubte, da die Gesamt-DNA Menge in den Proben stark schwanken kann. Die Anzucht von MPXV war aus allen Probenarten außer Serum möglich, teilweise bis zu CT-Werten von > 35. Details werden im Vortrag präsentiert.

Konsiliarlabor für respiratorische Syncytialviren (RSV), Parainfluenzaviren, Metapneumoviren

Leitung Dr. Janine Reiche	Stellvertretung Dr. Ralf Dürrwald
Institut Influenzaviren und weitere Viren des Respirationstraktes (FG 17), Robert Koch-Institut	Institut Influenzaviren und weitere Viren des Respirationstraktes (FG 17), Robert Koch-Institut
Adresse Seestraße 10, 13353 Berlin	Adresse Seestraße 10, 13353 Berlin
E-Mail k.A.	E-Mail k.A.
Telefon k.A.	Telefon k.A.

Das Konsiliarlabor (KL) für respiratorische Syncytialviren (RSV), humane Parainfluenzaviren (PIV) und humane Metapneumoviren (HMPV) beteiligt sich an der Surveillance akuter respiratorischer Erkrankungen aus dem ambulanten und hospitalisierten Bereich. Darüber hinaus ist das KL Kooperationspartner bei national oder international durchgeführten Studien bei Patienten mit respiratorischer Symptomatik und beteiligt sich am Aufbau bzw. Umsetzung einer RSV-Surveillance in Europa.

Im KL erfolgen epidemiologische Analysen zur Häufigkeit des Auftretens dieser Erreger in verschiedenen Altersgruppen und Patientenkollektiven oder auch zur zeitlichen Zirkulation. Phylogenetische und molekulare Charakterisierungen ermöglichen Aussagen zum Auftreten und der Diversität von Virusvarianten, ggf. auch in Assoziation mit klinischen Verläufen. Informationen über die Variabilität der Erreger können darüber hinaus die Impfstoffentwicklung unterstützen.

Für die Erreger RSV, PIV und HMPV wird im Rahmen der KL-Tätigkeit an der Entwicklung bzw. Verbesserung diagnostischer Verfahren gearbeitet. Basierend auf der Sequenzierung und weiterführenden molekularen Analysen können Aussagen zum Genotyp/genetischen Linie (Typisierung), zur Genomveränderung oder genetischen Variabilität getroffen werden. Epidemiologische Analysen tragen zum Verständnis von Veränderungen in der Erregerpopulation oder zur Aufklärung von epidemischen Prozessen bei. Das Führen einer Stammsammlung ermöglicht die Abgabe von Referenzstämmen.

Wichtige Publikationen

Cai W, Köndgen S, Tolksdorf K, Dürrwald R, Schuler E, Biere B, Schweiger B, Goerlitz L, Haas W, Wolff T, Buda S, Reiche J (2023, under review). Atypical age distribution and high severity of RSV infections in children during two irregular epidemic seasons throughout the COVID-19 pandemic, 2021-2023, Germany,

- Cai W, Dürrwald R, Biere B, Schweiger B, Haas W, Wolff T, Buda S, Reiche J (2022). Determination of respiratory syncytial virus epidemic seasons by using 95 % confidence interval of positivity rates, 2011–2021, Germany
Influenza Other Respi Viruses, 16 (5): 854-857. doi: 10.1111/irv.12996
- Oh DY, Biere B, Grenz M, Wolff T, Schweiger B, Dürrwald R, Reiche J (2021): Virological surveillance and molecular characterization of human parainfluenzavirus infection in children with acute respiratory illness: Germany, 2015–2019. *Microorganisms* 9 (7): 1508. Epub Jul 14. doi: 10.3390/microorganisms9071508.
- Teirlinck AC, Broberg EK, Stuwitz Berg A, et al. (for Germany Reiche J, Buda S) (2021): Recommendations for respiratory syncytial virus surveillance at the national level.
Eur Respir J 2021; 58: 2003766. doi: 10.1183/13993003.03766-2020.
- Obodai E, Odoom JK, Adiku T, Goka B, Wolff T, Biere B, Schweiger B, Reiche J (2018): The significance of human respiratory syncytial virus (HRSV) in children from Ghana with acute lower respiratory tract infection: A molecular epidemiological analysis, 2006 and 2013–2014
PLoS One 13 (9): e0203788. Epub Sep 10. doi: 10.1371/journal.pone.0203788.

ABSTRACT

RSV – ein bedeutender Erreger von Atemwegsinfektionen bei Kindern

Reiche J, Dürrwald R, Köndgen S, Wolff T

Das respiratorische Syncytialvirus (RSV) ist einer der bedeutendsten Erreger von schwer verlaufenden Atemwegsinfektionen bei Kleinkindern, insbesondere Frühgeborenen und Säuglingen. In Deutschland tritt RSV in der Regel von November/Dezember bis März/April auf.

Mit Beginn der COVID-19-Pandemie im März 2020 und der damit eingeführten nicht pharmazeutischen Interventionen (NPI) zur Begrenzung der Übertragung von SARS-CoV-2 wurde ebenso die Ausbreitung von RSV in der Bevölkerung beeinflusst. So war die reguläre RSV-Saison im Winter 2020/21 ausgeblieben und mit Aufhebung der NPI im Mai 2021 kam es zum Beginn einer außersaisonalen RSV-Welle im Sommer 2021 und einer ebenso verfrühten RSV-Welle in der darauffolgenden Saison 2022/23.

Beide RSV-Saisons waren jeweils durch eine starke RSV-Aktivität geprägt, die vorrangig auf RSV-A bzw. -B-Viren in den Saisons 2021 bzw. 2022/23 zurückzuführen waren. Darüber hinaus waren im Vergleich zu vorpandemischen RSV-Saisons bedeutend mehr ein- bis vier-jährige Kinder von einer Infektion mit RSV betroffen und in der Saison 2022/23 verliefen RSV-Erkrankungen deutlich schwerer. Molekularbiologische Untersuchungen von RSV aus den beiden Saisons geben bislang keinen Hinweis darauf, dass neu auftretende Virusvarianten für die atypische RSV-Aktivität verantwortlich sind. Vielmehr scheint diese auf einen unzureichenden Immunschutz bei den betroffenen Kleinkindern zurückzuführen sein.

Konsiliarlabor für Rotaviren



Dr. Andreas Mas Marques

Leitung

Dr. Andreas Mas Marques

Institut

Virale Gastroenteritis- und Hepatitisreger und Enteroviren (FG 15), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

KL-Rotaviren@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2375

Stellvertretung

Dr. Sandra Niendorf

Institut

Virale Gastroenteritis- und Hepatitisreger und Enteroviren (FG 15), Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr. 10, 13353 Berlin

E-Mail

KL-Rotaviren@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2375

Rotavirus-Infektionen stehen weltweit im Zusammenhang mit einem Viertel aller Gastroenteritis-assoziierten Hospitalisierungen von Säuglingen und Kleinkindern. Rotaviren der Gruppe A (RVA) verursachen über 200 Millionen Gastroenteritis-Episoden, mehr als 1 Million Hospitalisierungen und über 100.000 Todesfälle bei Kindern unter 5 Jahren, vor allem in afrikanischen und asiatischen Ländern mit eingeschränkter medizinischer Versorgung. In Deutschland tragen Rotaviren in erheblichem Maße zur Morbidität von Säuglingen und Kleinkindern bei, Todesfälle sind jedoch selten. Rotavirus-Infektionen treten vor allem im Frühjahr auf, die Übertragung erfolgt fäkal-oral, insbesondere durch Schmierinfektionen, jedoch auch über kontaminierte Lebensmittel oder Wasser. Darüber hinaus sind zoonotische Übertragungen von diversen Tierarten (z. B. Rinder, Schweine) auf Menschen möglich, insbesondere in afrikanischen und asiatischen Ländern, wo Menschen oft im engen Kontakt mit Nutztieren leben.

Seit 2006 sind in Europa zwei Impfstoffe gegen RVA zugelassen. Zur Erfassung von Veränderungen der Genotyp-Verteilungen, die einen Bezug zur Impfprävention haben könnten, wird seit 2005 im

Konsiliarlabor ein Monitoring der zirkulierenden RVA-Typen in Deutschland durchgeführt (G/P-Typing). Darüber hinaus können die Typisierungsdaten auch Aufschluss über das zoonotische Potential verschiedener Rotavirus-Typen geben.

Zum Nachweis und zur Genotypdifferenzierung von RVA wurden im Konsiliarlabor molekularbiologische Methoden entwickelt, etabliert und fortlaufend aktualisiert. Nukleinsäureamplifikation, Sequenzierung und phylogenetische Analyse erlauben Aussagen zur Antigendrift (Mutationen). Mit Hilfe spezifischer PCR-Methoden kann eine Differenzierung zwischen Wild- und Impfviren vorgenommen werden [1].

Zum Leistungsangebot des Konsiliarlabors für Rotaviren gehören:

- Nachweis von RVA-Genom mittels real-time RT-PCR (semi-quantitativ)
- Differenzierung von G-Typen und P-Typen aller beim Menschen relevanten Rotaviren, ggf. Typisierung aller Genomsegmente
- Differenzierung zwischen Wild- und Impfvirus (inkl. Mischinfektionen)
- Untersuchung möglicher Infektketten
- Vollgenom-Sequenzierung
- Bereitstellung von Referenzmaterial
- Beratung zu Rotavirus-Nachweis und -Differenzierung, Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und Versandbedingungen

Neben der Aufklärung akuter Verläufe, unterstützt das Konsiliarlabor für Rotaviren auch die Untersuchung von RVA-Dauerausscheidern, die insbesondere im Zusammenhang mit schweren Immundefizienzen auftreten können [2].

Das Konsiliarlabor für Rotaviren tauscht seit 2006 mit den europäischen Partnern im EuroRotaNet Daten zu zirkulierenden RVA-Genotypen in Deutschland aus [3]. Es bestehen mit verschiedenen afrikanischen Ländern Kooperationen, wobei vor allem der Wissenstransfer und der Aufbau von Infrastruktur für die molekulare Surveillance von Rotaviren im Mittelpunkt stehen [4].

Seit der Empfehlung der RVA-Impfung durch die STIKO 2013 [5] haben sich die Impfraten erhöht und gemeldeten Fälle reduziert. Seitdem kann ein Trend bei den zirkulierenden RVA-Genotypen beobachtet werden. Zur Untersuchung der Stämme ist das übliche G/P-Typing (Genomsegmente 4 und 9) mittels PCR und Sanger-Sequenzierung nicht mehr hinreichend, da es gehäuft auch Veränderungen in der Genomkonstellation gibt, die die übrigen Genomsegmente betreffen. Daher wird im Konsiliarlabor für Rotaviren zunehmend eine Vollgenomsequenzierung (NGS) eingesetzt, die ebenfalls bei der Charakterisierung seltener RVA-Stämme mit ungewöhnlichen Genotypen Anwendung findet.



Teamfoto (v.l.n.r.): Kathrin Stanossek, Steffen Zander, Anja Lerch, Dr. Sandra Niendorf, Dr. Andreas Mas Marques, Dr. Sonja Jacobsen, Ute Obst

Wichtige Publikationen

Differentiation between Wild-Type Group A Rotaviruses and Vaccine Strains in Cases of Suspected Horizontal Transmission and Adverse Events Following Vaccination. Jacobsen S, Niendorf S, Lorenz R, Bock CT, Mas Marques A. *Viruses*. 2022 Jul 29;14(8):1670. doi: 10.3390/v14081670. PMID: 36016292

Life-threatening systemic rotavirus infection after vaccination in severe combined immunodeficiency (SCID). Rosenfeld L, Mas Marques A, Niendorf S, Hofmann J, Gratopp A, Kühl JS, Schulte JH, von Bernuth H, Voigt S. *Pediatr Allergy Immunol*. 2017 Dec;28(8):841-843. doi: 10.1111/pai.12771. PMID: 28815852

Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006 and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network. Iturriza-Gómara M, Dallman T, Bányai K, Böttiger B, Buesa J, Diedrich S, Fiore L, Johansen K, Koopmans M, Korsun N, Koukou D, Kroneman A, László B, Lappalainen M, Maunula L, Marques AM, Matthijnsens J, Midgley S, Mladenova Z, Nawaz S, Poljsak-Prijatelj M, Pothier P, Ruggeri FM, Sanchez-Fauquier A, Steyer A, Sidaraviciute-Ivaskeviciene I, Syriopoulou V, Tran AN, Usonis V, VAN Ranst M, DE Rougemont A, Gray J. *Epidemiol Infect*. 2011 Jun;139(6):895-909. doi: 10.1017/S0950268810001810. PMID: 20707941

Viral gastroenteritis among children of 0-5 years in Nigeria: Characterization of the first Nigerian aichivirus, recombinant noroviruses and detection of a zoonotic astrovirus. Japhet MO, Famurewa O, Adesina OA, Opaleye OO, Wang B, Höhne M, Bock CT, Mas Marques A, Niendorf S. *J Clin Virol*. 2019 Feb;111:4-11. doi: 10.1016/j.jcv.2018.12.004. PMID: 30580015

Background paper to the recommendation for routine rotavirus vaccination of infants in Germany. J Koch, M Wiese-Posselt, C Remschmidt, O Wichmann, H Bertelsmann, E Garbe, H Hengel, J J Meerpohl, A Mas Marques, H Oppermann, E Hummers-Pradier, R von Kries, T Mertens. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2013 Jul;56(7):957-84. doi: 10.1007/s00103-013-1777-3.PMID: 23807405

ABSTRACT

Surveillance und Charakterisierung von Rotaviren: Einfluss der Impfung

Mas Marques A, Jacobsen S, Niendorf S

Seit dem Jahr 2006 sind in Deutschland zwei Impfstoffe gegen Gruppe A Rotaviren (RVA) mit unterschiedlichen attenuierten RVA-Stämmen zur Impfung von Säuglingen zugelassen. Diese RVA-Impfstoffe werden oral in Form von 2 oder 3 Dosen gegeben, die Impfung muss bis zur 32. Lebenswoche abgeschlossen sein. Sie enthalten nur einen Teil der zirkulierenden humanen RVA-Genotypen, induzieren aber eine breite heterotypische Immunität. Trotz Impfung sind Durchbruch-Infektionen möglich, wobei die Symptome, wie nach vorangegangenen natürlichen RVA-Infektionen, in der Regel schwächer sind.

Konsiliarlabor für Tollwut



Prof. Dr. med. Dr. phil. R. Stefan Roß

Leitung

Prof. Dr. med. Dr. phil. R. Stefan Roß

Institut

Institut für Virologie, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

Adresse

Virchowstr. 179, 45147 Essen

E-Mail

k.A.

Telefon

k.A.

Die Tätigkeit des Konsiliarlaboratoriums für Tollwut in der Humanmedizin umfasst vor allem folgende Bereiche:

Beratungsservice

Jährlich erreichen uns neben spezifisch wissenschaftlichen rund 1.000 Anfragen allgemeinen Inhalts aus dem gesamten Bundesgebiet sowie dem deutschsprachigen Ausland. Ca. 70 % dieser Ersuchen gehen auf niedergelassene Ärzte und Ärztinnen sowie Beschäftigte in Kliniken zurück. Rund 25 % entstammen dem öffentlichen Gesundheitsdienst und die verbleibenden 5 % entfallen auf Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter in diagnostischen Laboratorien.

Die am häufigsten gestellten Fragen betreffen

- Die Indikationsstellung zur prä- und postexpositionellen Tollwut-Prophylaxe sowie deren konkrete Durchführung.

- Das Vorgehen in Problemsituationen, beispielsweise bei Abweichungen von etablierten Impfschemata, bei verspätetem Beginn der postexpositionellen Wutschutz-Behandlung oder nach anfänglicher Applikation eines Impfstoffs mit zweifelhafter Wertigkeit.
- Das weltweite Vorkommen der Tollwut und eine eventuelle Persistenz von Vektoren in Deutschland, nachdem das nationale Territorium offiziell seit 2008 gemäß den OIE-Kriterien als frei von „terrestrischer Tollwut“ gilt.

Diagnostische Arbeiten

- Das „KL Tollwut“ ist unseres Wissens nach deutschlandweit das einzige Laboratorium in der Humanmedizin, das die Konzentration neutralisierender anti-Tollwutvirus-Antikörper mittels eines Neutralisationstests (Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test [RFFIT]) durchführt und den Getesteten daher Immunität gegenüber dieser Zoonose bescheinigen kann, was beispielsweise im Rahmen arbeitsmedizinischer Untersuchungen zwingend notwendig ist. Wohl auch dieses Alleinstellungsmerkmals wegen erreicht uns jährlich eine vierstellige Zahl von entsprechenden Untersuchungsaufträgen, die ganz überwiegend aus Deutschland, zu einem kleineren Teil aber auch dem benachbarten Ausland stammen.
- Im Zuge der in *intra vitam*, aber auch der *post mortem* Diagnostik werden vor allem bei Patienten mit unklaren Enzephalitiden auf Anfrage verschiedene PCR-Nachweise durchgeführt, durch die glücklicherweise seit 2007 kein Fall einer Tollwutinfektion mehr nachgewiesen werden konnte.

Arbeiten im Rahmen der externen Qualitätssicherung

Seit dem Jahr 20014 werden in Kooperation mit INSTAND Ringversuche sowohl zur serologischen wie auch molekularbiologischen „Tollwut-Diagnostik“ angeboten. Die dabei an die teilnehmenden Laboratorien versandten Materialien stellen wir INSTAND zur Verfügung, nachdem wir sie analytisch ausführlich charakterisiert haben. Im Ringversuch des Jahres 2021 beispielsweise gelang der Nachweis tollwut-spezifischer Antikörper zu 100 %, was einerseits die Expertise der Teilnehmer bewies, andererseits aber auch darauf hindeutete, dass die Antikörper-Konzentration der positiven Probe (4,4 IU/ml) zukünftig gesenkt und somit der „Immunitätsgrenze“ von $\geq 0,5$ IU/ml angenähert werden sollte. Auch die Detektion der Rabiesvirus-RNA verlief problemlos und durchgehend erfolgreich. Da die positiven Proben bei der Untersuchung in unserem Institut C_t-Werte zwischen 26,3 und 33,7 aufwiesen, wäre bei zukünftigen Ringversuchen zur „Schärfung“ der Analytik das Augenmerk sicherlich nicht zuerst auf eine weitere Verringerung der Viruskonzentration, sondern vielmehr auf die Einbeziehung von Virusisolaten zu legen, die nicht der klassischen Spezies „Rabiesvirus“ entstammen.

Wichtige Publikationen

Ross RS, Wolters B, Hoffmann B, Geue L, Viazov S, Grüner N, Roggendorf M, Müller T. Instructive even after a decade: Complete results of initial virological diagnostics and re-evaluation of molecular data in the German rabies virus "outbreak" caused by transplantations. *Int J Med Microbiol* 2015; 305: 636 – 643. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.08.013.

Ross RS, Freuling CM, Deleré Y, Müller T. Assessment of the human medical significance of the rabies zoonosis in Germany--analysis of available data and desiderata. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 2012; 125: 272 – 277.

Maier T, Schwarting A, Mauer D, Ross RS, Martens A, Kliem V, Wahl J, Panning M, Baumgarte S, Müller T, Pfefferle S, Ebel H, Schmidt J, Tenner-Racz K, Racz P, Schmid M, Strüber M, Wolters B, Gotthardt D, Bitz F, Frisch L, Pfeiffer N, Fickenscher H, Sauer P, Rupprecht CE, Roggendorf M, Haverich A, Galle P, Hoyer J, Drosten C. Management and outcomes after multiple corneal and solid organ transplantations from a donor infected with rabies virus. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1112 – 1119. doi: 10.1086/651267.

Ross RS, Wolters B, Viazov SO, Roggendorf M. Awareness of rabies risks and knowledge about preventive measures among experienced German travel health advisors. *J Travel Med* 2006; 13: 261-267. doi: 10.1111/j.1708-8305.2006.00058.x.

ABSTRACT

Konsiliarlabor für *Toxoplasma* – Übersicht der Arbeiten

Groß U, Dudakova A, Eisele M, Peter E, Resa M

Das KL *Toxoplasma* ist seit ca. 20 Jahren an der Universitätsmedizin Göttingen angesiedelt. Die Tätigkeit des KL *Toxoplasma* ruht vor allem auf vier Säulen: Im Vordergrund stehen einerseits die Beratung zur Diagnostik und Therapie der Toxoplasmose in der Schwangerschaft und bei Neugeborenen, sowie Fragen zur Augentoxoplasmose. Fragen zur Toxoplasmose bei Immunsupprimierten werden hingegen nur noch selten an das KL herangetragen. Andererseits kann das KL durch die Weiter- und Neuentwicklung diagnostischer Testsysteme und der zur Verfügung stehenden kommerziellen Tests die Aufklärung bisher unklarer Konstellationen ermöglichen. Die dritte wichtige Säule der regelmäßigen Tätigkeit besteht in Weiterbildungsangeboten (Vorträge und Übersichtspublikationen) und der Mitwirkung bei der Erstellung von Leitlinien. Schließlich hat das KL *Toxoplasma* in Kooperation mit zahlreichen Partnern – einschließlich dem RKI – epidemiologische Daten zur Prävalenz der Toxoplasmose in verschiedenen Regionen Deutschlands, sowie zur Typisierung des Parasiten gewonnen. Diese Daten werden regelmäßig in internationalen Fachzeitschriften der Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt.

Konsiliarlabor für *Treponema*



Dr. Dr. Münstermann

Leitung

Dr. Dr. Münstermann

Institut

MVZ Labor Krone GbR

Adresse

Medizinal-Untersuchungsstelle
Siemensstraße 40, 32105 Bad Salzuflen

E-Mail

info@laborkrone.de

Telefon

+49 5222 8076-158

Stellvertretung

Prof. Dr. Hagedorn

Institut

MVZ Labor Krone GbR

Adresse

Medizinal-Untersuchungsstelle
Siemensstraße 40, 32105 Bad Salzuflen

E-Mail

info@laborkrone.de

Telefon

+49 5222 8076-158

Das Labor Krone

Das Labor Krone ist ein national und international tätiges medizinisches Labor mit Sitz in Nordrhein-Westfalen und bearbeitet täglich 15 – 20.000 Humanproben aus allen Bereichen der medizinischen Versorgung.

Die Labor Krone-Gruppe beschäftigt rund 580 qualifizierte Mitarbeitende in der Probenanalytik (Labor Krone und LABCON-OWL), der Probenlogistik (labcar-owl) und dem medizinischen Datenmanagement (IMEDAC). So bieten wir umfassende Lösungen für die diagnostische Routine in Praxis oder Klinik und für Studien oder Forschungsvorhaben. In Ergänzung zu einer effizienten und qualitätsgesicherten Befunderstellung bieten wir die Möglichkeit der fachärztlichen Beratung in den Bereichen: Mikrobiologie Virologie und Infektionsepidemiologie, Umweltmedizin und Hygiene, Innere Medizin, Immunologie, Endokrinologie, Neurologie, Humangenetik und natürlich Labormedizin. Weiterhin ist das gesamte Labor von der Deutschen Akkreditierungsstelle (DAkkS) nach DIN EN ISO 15189 (Medizinische Laboratoriumsdiagnostik) akkreditiert.

Die Themen Forschung und Entwicklung haben im Labor Krone einen hohen Stellenwert, sowohl im Rahmen verschiedener Kooperationen als auch durch wissenschaftliche Studien und Arbeiten. Durch das etablierte Studienzentrum werden alle Aufgaben bearbeitet, die nicht in die Laborroutine fallen. Die Mitarbeitenden des Studienzentrums sind geschult und zertifiziert nach ICH-GCP. Weiterhin ist das gesamte Labor auch nach DIN EN ISO 17025 als Prüflabor (Medizinische Laboratoriumsdiagnostik im Rahmen klinischer Studien) akkreditiert. Außerdem liegt die Genehmigung für die zur Gewinnung von Gewebe erforderlichen Laboruntersuchungen nach dem Deutschen Medizinrecht (§ 20b des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz – AMG)) im Labor Krone vor.

Das Konsiliarlabor für Treponema ist seit 01.01.2002 in der Medizinal-Untersuchungsstelle Labor Krone unter der Leitung von Dr. Dr. Münstermann und Prof. Dr. Hagedorn angesiedelt.

Im Jahr 2020 übernahm Dr. med. Dr. rer. nat. Münstermann die Leitung von Prof. Dr. med. Hagedorn. Professor Hagedorn fungiert seitdem als stellvertretender Leiter und wissenschaftlicher Berater. Dr. med. Neißer und Dr. rer. nat. Fazio unterstützen die Leitenden bei Beratungen zu Diagnostik und Therapie der Treponematosen.

Wichtige Publikationen

Hagedorn HJ et al.: Screening in the context of syphilis diagnostics: threshold ranges for automated Syphilis immunoassays, 74. Jahrestagung DGHM 2022.

Guttman S et al.: Comparative performance measurement of agglutination assays for antibody detection against *Treponema pallidum*, 74. Jahrestagung DGHM 2022.

Fazio J et al.: Four polyvalent screening assays in comparison to the TPPA. STI & HIV World congress 2023.

Fazio J et al.: Comparison of monovalent Enzymimmunoassays (EIAs) with the gold standard 19S-FTA-ABS-IgM75. Jahrestagung DGHM 2023.

ABSTRACT

Aktuelle Probleme der serologischen Syphilisdiagnostik

Fazio J, Höppner MC, Hagedorn HJ, Meyer-Schlinkmann K, Neißer T, Münstermann D

Da der TPPA-Test nicht mehr verfügbar ist, ergibt sich die Frage nach der Leistungsfähigkeit alternativer Screeningtests. TPHA-Tests mit Vogelerythrozyten als Antigenträger zeigen eine unzureichende Sensitivität für die Detektion der Syphilis im Frühstadium und bei Restbefunden nach abgelaufener Infektion. Gleiches gilt auch für polyvalente Immunoassays bei Anwendung der herstellerseits definierten Bewertungskriterien. Beim CMIA (Abbott), ECLIA (Roche) und CLIA (Diasorin) kann jedoch durch Einführung eines zusätzlichen Grenzwertbereiches und Nachtestung entsprechender Proben mittels IgG- und 19S-IgM-FTA-ABS-Test eine weitgehende Angleichung an die Sensitivität des TPPA-Tests bei nur geringfügiger Verschlechterung der Spezifität erreicht werden. Ein polyvalenter EIA (Euroimmun) zeigte ebenfalls Sensitivitätsprobleme. Der Test wird derzeit herstellerseits überarbeitet.

Als Bestätigungstest und zum Nachweis von IgM-Antikörpern werden wegen des im Vergleich zur Immunfluoreszenztechnik geringeren Arbeitsaufwandes in den meisten Laboratorien in Deutschland Enzymimmunoassays und Immunoblots eingesetzt. In unserer aktuellen Studie betrug die Sensitivität von drei IgG-EIA's im Vergleich zum IgG-FTA-ABS-Test 89,5 % (Demeditec), 91,1 % (Euroimmun) und 94,4 % (Mikrogen). IgG-Immunoblots wurden aktuell nicht durchgeführt. In früheren Studien konnte bereits gezeigt werden, dass z. B. bei Seronarben falsch negative IgG-Blotbefunde nicht selten sind. Deutlich größere Diskrepanzen fanden sich für den Vergleich der IgM-EIA-Werte mit dem 19S-IgM-FTA-ABS-Test. Die IgM-EIA-Tests reagieren in der Regel erst ab IgM-FTA-Titern $\geq 1:160$. Bezogen auf den 19S-IgM-FTA-ABS-Test als Goldstandard ergaben sich Sensitivitätswerte von 28,5 % (Demeditec), 62,2 % (Euroimmun) und 60,6 % (Mikrogen). Der IgM-Immunoblot verhält sich ähnlich wie die IgM-EIA-Tests. Ein negativer IgM-Blotbefund schließt eine aktive Frühsyphilis nicht aus. Von 21 Fällen war der IgM-Blot in 7 Fällen negativ, dreimal grenzwertig und nur elfmal positiv.

Aus unseren Untersuchungsergebnissen ergibt sich als Konsequenz, dass aktuell für das Screening auf Treponemenantikörper z. B. bei Blutspendern, in der MUVO, bei Organspendern aber auch in der Infektionsdiagnostik nur die Immunoassays mit modifizierten Grenzwerten eine ausreichende diagnostische Sicherheit beinhalten, dass z. Zt. der IgG-FTA-ABS-Test der optimale Bestätigungstest ist, und auch für den quantitativen IgM-Antikörpernachweis die Immunfluoreszenz die Methode der Wahl bleibt.

Bei Verdacht auf Neurosyphilis bleibt die Frage offen, welche Methoden für die Untersuchung des Liquor cerebrospinalis geeignet sind.

Konsiliarlabor für *Tropheryma whipplei*



Prof. Dr. Annette Moter

Leitung

Prof. Dr. Annette Moter

Institut

Institut für Mikrobiologie und Infektionsimmunologie,
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Hindenburgdamm 30, 12203 Berlin

E-Mail

Konsiliarlabor-Whipple@charite.de

Telefon

+49 30 450-524524

Stellvertretung

Dr. Judith Kikhney

Institut

Institut für Mikrobiologie und Infektionsimmunologie,
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Adresse

Hindenburgdamm 30, 12203 Berlin

E-Mail

Konsiliarlabor-Whipple@charite.de

Telefon

+49 30 450-524524

Tropheryma whipplei ist der Erreger der klassischen Whipple-Krankheit (Morbus Whipple), einer Infektion, die ursprünglich von dem amerikanischen Pathologen George Hoyt Whipple im Jahr 1907 als intestinale Lipodystrophie beschrieben wurde.

Die Whipple-Krankheit ist eine seltene, chronische und systemische Infektion, die sehr langsam fortschreitet, aber unbehandelt meist tödlich endet. Obwohl der Erreger ubiquitär vorkommt und auch bei Gesunden in Stuhlproben nachweisbar ist, ist die Erkrankung sehr selten, so dass eine Prädisposition anzunehmen ist. Betroffen sind mehr Männer als Frauen mit einem Altersgipfel um 56 Jahre.

Bei der klassischen Whipple-Krankheit erfolgt die Infektion mit *T. whipplei* wahrscheinlich schon Jahre, bevor klinische Symptome auf die Diagnose hindeuten. Die chronische Diarrhöe kann zunächst mild beginnen. Häufig treten wandernde Gelenkschmerzen an großen Gelenken auf. Nach einer Prodromalphase, die sich über Jahre hinziehen kann, verschlimmern sich die klinischen Manifestationen mit verstärktem Durchfall, Malabsorption, Gewichtsverlust, Bauchschmerzen und

Lymphadenopathie bis hin zu einem Wasting-Syndrom. Es können auch unspezifische Anzeichen und Symptome wie Fieber, Nachtschweiß und Asthenie hinzukommen.

Jedoch können gastrointestinale Symptome auch gänzlich fehlen und, je nach den betroffenen Organsystemen, eine Vielzahl von klinischen Befunden auftreten. Eine häufigere Fehldiagnose ist die seronegative Rheumatoide Arthritis, die bei nicht Ansprechen auf medikamentöse Behandlung an eine Infektion mit *T. whipplei* denken lassen sollte. Es können auch die meisten anderen Organsysteme betroffen sein. So wurde *T. whipplei* bei isolierten Infektionen des zentralen Nervensystems (ZNS), der Herzklappen, Augen, Lunge oder Haut nachgewiesen. Die Beteiligung des ZNS ist eine ernste Komplikation, die bei etwa einem Fünftel der Patienten auftritt. Die Prognose ist ungünstig, da irreversible ZNS-Schäden auftreten können, und ein Versagen der antibiotischen Behandlung beschrieben wurde. Da eine ZNS-Beteiligung jedoch auch ohne Symptome auftreten kann, empfehlen wir bei neu diagnostizierter Whipple-Infektion vor einer Antibiotikabehandlung eine molekularbiologische Liquoruntersuchung.

In den meisten Fällen ist die Whipple-Erkrankung mit Antibiotika gut behandelbar, wenn sie rechtzeitig erkannt wird. Jedoch ist auch heute noch die frühzeitige Diagnose eine Herausforderung. Gründe dafür sind die Vielfalt und Unspezifität der Symptome, und das Fehlen nicht-invasiver Diagnostik, wie z. B. serologischer Tests.

Daher fällt dem Konsiliarlabor *T. whipplei* eine wichtige Rolle zu, die von Beratung der ÄrztInnen zur richtigen Probenahme, zur Untersuchung von Proben, über die Diagnostik bis hin zu Beratung zu Behandlung, Nachkontrolle und Begleitung von PatientInnen und Angehörigen über Jahre reicht.

Die Sicherung der Diagnose erfolgte früher beim klassischen klinischen Bild mit Diarrhoen in der Regel durch histologische Untersuchung (PAS-Färbung) einer Biopsie aus dem Zwölffingerdarm. Die kulturelle Anzucht des Erregers gelingt nur in Ausnahmefällen und ist nicht für die Routinediagnostik geeignet. Seit der Etablierung des molekularbiologischen Erregernachweises wurde jedoch deutlich, dass fast alle weiteren Organsysteme befallen sein können (Haut, Lunge, Auge, Endokarditis, Spondylodiszitis, u. a.). Somit ist heute für den eindeutigen Erregernachweis und Sicherung der Diagnose einer Whipple-Erkrankung die molekularbiologische Diagnostik entscheidend. Dennoch ist für die Erstdiagnose der Infektion, die eine teilweise jahrelange Therapie nach sich zieht, ein isolierter PCR Befund nicht ausreichend. Ein positiver Befund sollte durch eine zweite Methode oder zweites aussagekräftiges Probenmaterial gesichert werden.

Hier führen wir im Konsiliarlabor *Tropheryma whipplei* den DNA-Nachweis mittels qPCR mit Sondenhybridisierung (rpoB-Gen) und 16S rRNA-Gen PCR mit Sequenzierung durch, aber auch den mikroskopischen Nachweis des Erregers durch Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) im Gewebe. Durch die FISH, welche rRNA als Zielstruktur hat, kann der Erreger nicht nur visualisiert und identifiziert werden, sondern auch seine Aktivität (über den Ribosomengehalt) untersucht werden. Dadurch konnte *T. whipplei* eindeutig in Biofilm-Formationen auf Herzklappen identifiziert werden (Abb. 1).

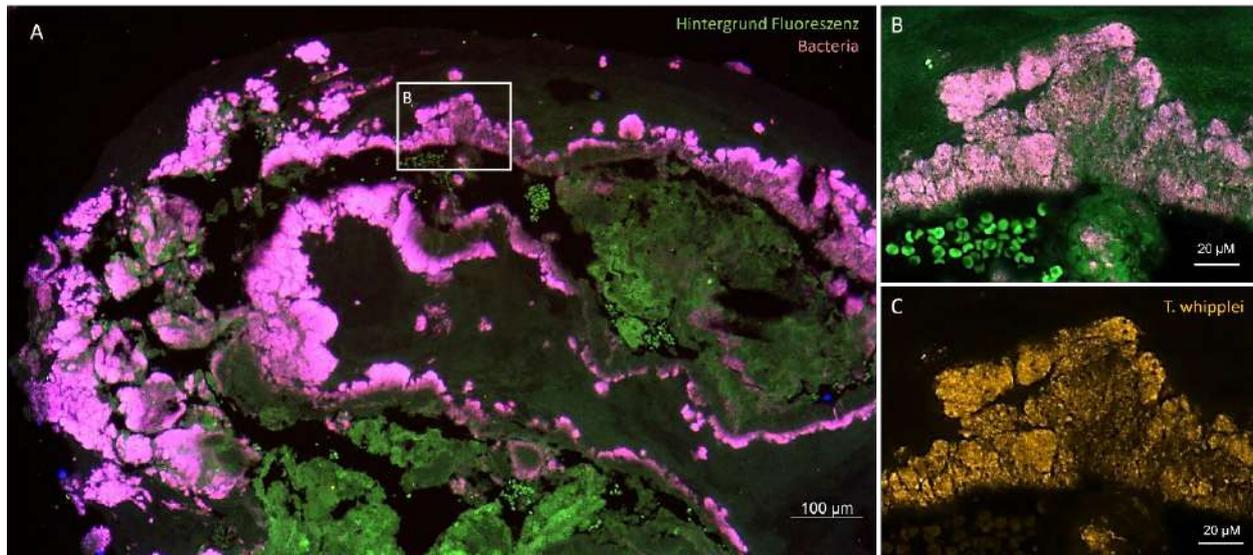


Abbildung 1: FISH eines Herzklappenschnitts bei einer kulturnegativen Endokarditis, unter Verwendung einer pan-bakteriellen Sonde (pink) und einer *T. whipplei*-spezifischen Sonde (orange). (A) In geringer Vergrößerung sind ausgedehnte Biofilme mit bakterieller Besiedlung (pink) vor dem grünen Gewebshintergrund sichtbar. Bei höherer Vergrößerung (B) sind dichte Cluster einzelner Bakterien (pink) sichtbar, die ebenfalls von der *T. whipplei*-spezifischen FISH-Sonde (orange) erfasst werden (C). unpubliziert aus dem Konsiliarlabor für *Tropherym whipplei*, © A. Moter

Im Nierengewebe konnte *T. whipplei* in den ableitenden Harnkanälchen gezeigt werden, was dazu führte, dass Morgenurin als nicht invasives Untersuchungsmaterial für den Nachweis und das Monitoring des Therapieerfolges etabliert werden konnte (Abb. 2).

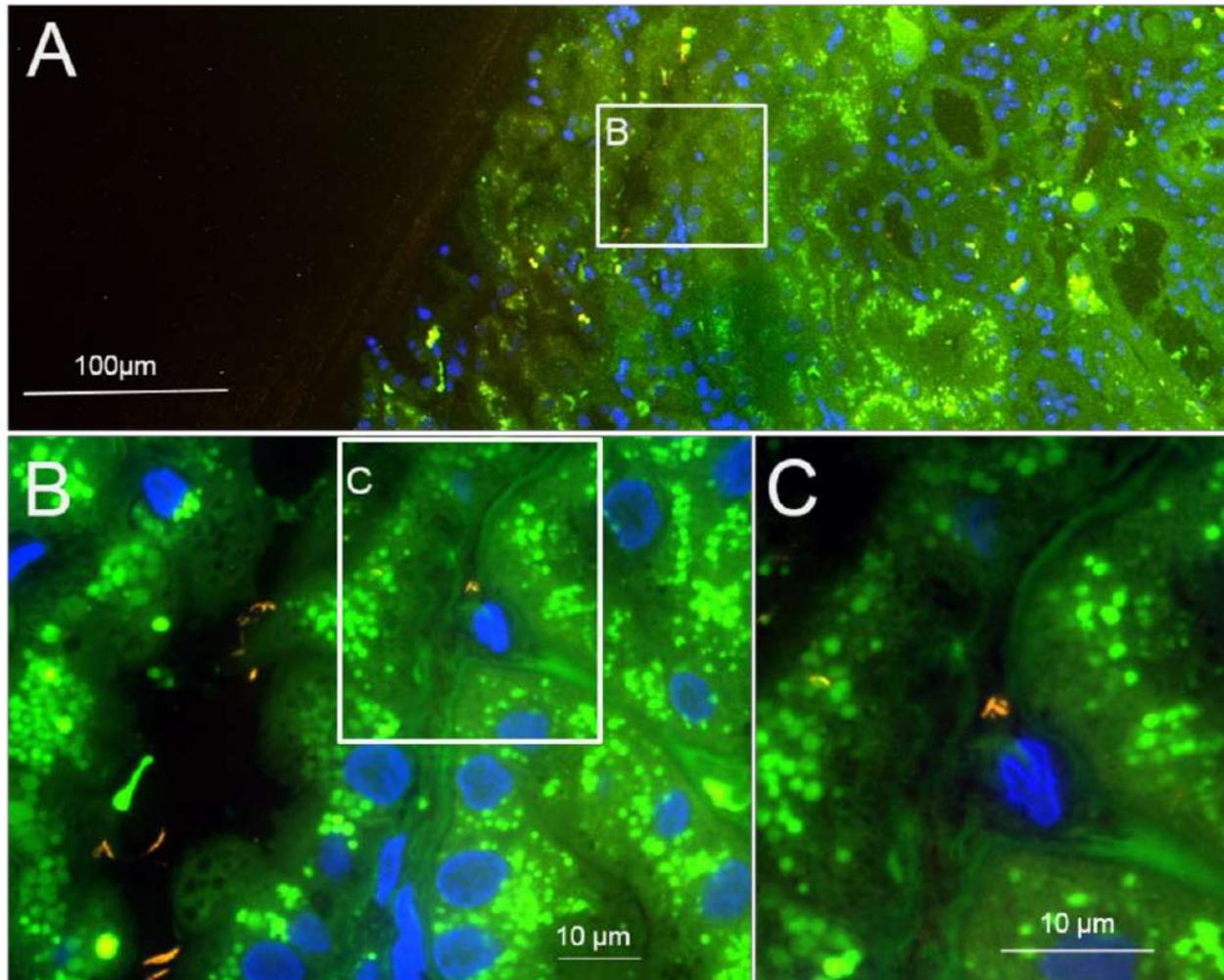


Abbildung 2: FISH einer Nierenbiopsie mit morphologisch intakten *Tropheryma whipplei*-Bakterien. (A) Übersicht über das Nierengewebe mit dem Gewebehintergrund in grün, *T. whipplei* in orange und der Nukleinsäurefärbung DAPI in blau. (B) Bei höherer Vergrößerung sind mehrere *T. whipplei*-Bakterien in Tubuli sichtbar. (C) Bildausschnitt aus B in höherer Vergrößerung, der einzelne, morphologisch intakte *T. whipplei*-Bakterien zeigt. Abbildung aus: Moter A, Janneck M, Wolters M, et al., Potential Role for Urine Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis of Whipple's Disease. Clin Infect Dis. 2019 Mar 19;68(7):1089-1097.

Im Konsiliarlabor *Tropheryma whipplei* führen wir folgende Arbeiten durch

- Überregionales Angebot spezifischer diagnostischer Laborleistungen zum Nachweis von *T. whipplei* in Liquorproben, Duodenalbiopsien, Gelenkpunktaten, Herzklappengewebe, Kammerwasser und weiterer betroffener Gewebeproben oder Punktate
- Untersuchung von Urinproben als nicht-invasives Material zur Unterstützung der Diagnosestellung
- Beratungstätigkeit zur Probennahme, Stufendiagnostik, weiterführender Diagnostik, Sicherung der Befunde und Therapie (insb. von Laboratorien, niedergelassenen ÄrztInnen, Kliniken und Forschungsinstituten)
- Monitoring von Whipple-PatientInnen unter Therapie
- Forschungsprojekte zur Epidemiologie und Pathogenese der Whipple-Infektion sowie weitere Innovationen in der Diagnostik

Wichtige Publikationen

- Bacterial infection possibly causing autoimmunity: *Tropheryma whipplei* and membranous nephropathy. Wiech T, Reinhard L, Wulf S, Giuffrida AE, Longhitano E, Caruso R, Gröne HJ, Stahl RAK, Zipfel PF, Kikhney J, Moter A, Hoxha E, Santoro D. Lancet. 2022 Nov 26;400(10366):1882-1883. doi: 10.1016/S0140-6736(22)02039-6.
- The spectrum of central nervous system involvement in Whipple's disease. Mecklenburg J, Moos V, Moter A, Siebert E, Nave AH, Schneider T, Ruprecht K, Euskirchen P. Eur J Neurol. 2022 Jul 19. doi: 10.1111/ene.15511.
- Potential Role for Urine Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis of Whipple's Disease. Moter A, Janneck M, Wolters M, Iking-Konert C, Wiessner A, Loddenkemper C, Hartleben B, Lütgehetmann M, Schmidt J, Langbehn U, Janssen S, Geelhaar-Karsch A, Schneider T, Moos V, Rohde H, Kikhney J, Wiech T. Clin Infect Dis. 2019 Mar 19;68(7):1089-1097. doi: 10.1093/cid/ciy664.
- Validation of an rpoB gene PCR assay for detection of *Tropheryma whipplei*: 10 years' experience in a National Reference Laboratory. Moter A, Schmiedel D, Petrich A, Wiessner A, Kikhney J, Schneider T, Moos V, Göbel UB, Reischl U. J Clin Microbiol. 2013 Nov;51(11):3858-61. doi: 10.1128/JCM.01703-13.
- High frequency of *Tropheryma whipplei* in culture-negative endocarditis. Geissdörfer W, Moos V, Moter A, Loddenkemper C, Jansen A, Tandler R, Morguet AJ, Fenollar F, Raoult D, Bogdan C, Schneider T. J Clin Microbiol. 2012 Feb;50(2):216-22. doi: 10.1128/JCM.05531-11.

ABSTRACT

Diagnostic challenges in Whipple's disease – an update

Kikhney J, Moter A

Die Whipple-Krankheit (Morbus Whipple) ist eine seltene, chronische und systemische Infektion, die sehr langsam fortschreitet, aber unbehandelt meist tödlich endet. Obwohl der Erreger ubiquitär vorkommt und auch bei Gesunden in Stuhlproben nachweisbar ist, ist die Erkrankung sehr selten, so dass eine Prädisposition anzunehmen ist. Betroffen sind mehr Männer als Frauen mit einem Altersgipfel um 56 Jahre.

Bei der klassischen Whipple-Krankheit kann die chronische Diarrhöe zunächst mild beginnen. Häufig treten wandernde Gelenkschmerzen auf. Nach einer Prodromalphase, die sich über Jahre hinziehen kann, verschlimmern sich die klinischen Manifestationen bis hin zu einem Wasting-Syndrom.

Jedoch können gastrointestinale Symptome auch gänzlich fehlen und eine Vielzahl von klinischen Befunden auftreten. So wurde *T. whipplei* bei isolierten Infektionen des zentralen Nervensystems (ZNS), der Herzklappen, Augen, Lunge oder Haut nachgewiesen.

In den meisten Fällen ist die Whipple-Erkrankung mit Antibiotika gut behandelbar, wenn sie rechtzeitig erkannt wird. Jedoch ist auch heute noch die frühzeitige Diagnose eine Herausforderung. Gründe dafür sind die Vielfalt und Unspezifität der Symptome.

Die Sicherung der Diagnose erfolgte früher beim klassischen klinischen Bild durch histologische Untersuchung (PAS-Färbung) einer Duodenalbiopsie. Die kulturelle Anzucht des Erregers ist nicht für die Routinediagnostik geeignet. Seit der Etablierung des molekularbiologischen Erregernachweises wurde jedoch deutlich, dass fast alle weiteren Organsysteme befallen sein können. Somit ist heute für den eindeutigen Erregernachweis und Sicherung der Diagnose einer Whipple-Erkrankung die molekularbiologische Diagnostik entscheidend. Dennoch ist für die Erstdiagnose der Infektion, die eine teilweise jahrelange Therapie nach sich zieht, ein isolierter PCR Befund nicht ausreichend. Ein positiver Befund sollte durch eine zweite Methode oder zweites aussagekräftiges Probenmaterial gesichert werden.

Neben dem DNA-Nachweis kann der mikroskopische Nachweis des Erregers durch Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) im Gewebe Aufschluss über Anzahl, Lokalisation, Ausbreitung und Aktivität des Erregers geben. Dadurch konnten wir *T. whipplei* eindeutig in Biofilm-Formationen auf Herzklappen identifizieren.

Im Nierengewebe konnte *T. whipplei* in den ableitenden Harnkanälchen gezeigt werden, was dazu führte, dass Morgenurin als nicht-invasives Untersuchungsmaterial für den Nachweis etabliert werden konnte. Ein möglicher Pathomechanismus ist, dass *T. whipplei* in Verbindung mit PLA₂R₁ zur Entwicklung von Autoantikörpern gegen PLA₂R₁ führt.

Konsiliarlabor für *Yersinia pestis*



PD Dr. Holger C. Scholz

Leitung

PD Dr. Holger C. Scholz

Institut

Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene ZBS 2 – Hochpathogene mikrobielle Erreger,
Robert Koch-Institut

Adresse

Seestr 10, 13353 Berlin

E-Mail

ScholzH@rki.de

Telefon

+49 30 18754-2100

Das Konsiliarlabor (KL) für *Yersinia pestis* ist seit Januar 2023 beim Fachgebiet für Hochpathogene Mikrobielle Erreger (ZBS₂) am Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene des Robert Koch-Instituts angesiedelt und in eine moderne Labor-Infrastruktur eingebettet. Das KL ist eng mit der Forschungsgruppe Pest des Fachgebietes verbunden, welche sich mit verschiedenen Forschungsthemen zur modernen- aber auch zur historischen Pest beschäftigt.

Die Expertise des KL reicht von der Anzucht aus klinischem Material über serologische und molekulare Nachweisverfahren bis hin zur molekularen Feintypisierung mittels verschiedener Techniken (MLST, cgMLST, CRISPR, MLVA, SNP-Analysen). Auch die Vollgenomsequenzierung mittels Oxford Nanopore-Technologie einschließlich der vergleichenden Genomanalyse gehören zum Methodenspektrum. Das Labor verfügt über eine umfangreiche, qualitätsgeprüfte Genomdatenbank, bestehend aus über 600 *Y. pestis*-Genomen, welche sowohl für den exakten Erregernachweis auf Isolat-Ebene

sowie für molekular-epidemiologische Ausbruchsanalysen und Rückverfolgungsanalysen bei einer absichtlichen Ausbringung des Erregers, eingesetzt werden kann. Darüber hinaus verfügt das Fachgebiet über eine umfangreiche *Y.-pestis*-Stammsammlung. Für die Anzucht und Detektion des Pesterreger mittels PCR existieren akkreditierte Nachweisverfahren.

Der Leiter des KL verfügt über eine langjährige Erfahrung in Fragestellungen zur Erkrankung und Epidemiologie der Pest und bietet eine kompetente Beratung für eine Beurteilung aktueller Ausbruchsgeschehen an.

Wichtige Publikationen

- Harbeck M, Seifert L, Hänsch S, Wagner DM, Birdsell D, Parise KL, Wiechmann I, Gruppe G, Thomas A, Keim P, Zöller L, Bramanti B, Riehm JM, Scholz HC. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6(th) century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathog.* 2013. 9:e1003349.
- Wagner DM, Klunk J, Harbeck M, Devault A, Waglechner N, Sahl JW, Enk J, Birdsell DN, Kuch M, Lumibao C, Poinar D, Pearson T, Fourment M, Golding B, Riehm JM, Earn DJ, Dewitte S, Rouillard JM, Grupe G, Wiechmann I, Bliska JB, Keim PS, Scholz HC, Holmes EC, Poinar H. *Yersinia pestis* and the Plague of Justinian 541-543 AD: a genomic analysis. *Lancet Infect Dis.* 2014 Jan 27. pii: S1473-3099(13)70323-2. doi:10.1016/S1473-3099(13)70323-2.
- Vallès X, Stenseth NC, Demeure C, Horby P, Mead PS, Cabanillas O, Ratsitorahina M, Rajerison M, Andrianaivoarimanana V, Ramasindrazana B, Pizarro-Cerda J, Scholz HC, Girod R, Hinnebusch BJ, Vigan-Womas I, Fontanet A, Wagner DM, Telfer S, Yazdanpanah Y, Tortosa P, Carrara G, Deuve J, Belmain SR, D'Ortenzio E, Baril L. Human plague: An old scourge that needs new answers. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020 Aug 27;14(8):e0008251. Doi: 10.1371/journal.pntd.0008251. eCollection 2020 Aug.
- Born F, Braun P, Scholz HC, Grass G. Pathogens. Specific Detection of *Yersinia pestis* Based on Receptor Binding Proteins of Phages. 2020 Jul 27;9(8):611. doi: 10.3390/pathogens9080611.
- Baril L, Vallès X, Stenseth NC, Rajerison M, Ratsitorahina M, Pizarro-Cerdá J, Demeure C, Belmain S, Scholz H, Girod R, Hinnebusch J, Vigan-Womas I, Bertherat E, Fontanet A, Yazdanpanah Y, Carrara G, Deuve J, D'Ortenzio E, Angulo JOC, Mead P, Horby PW. Can we make human plague history? A call to action. *BMJ Glob Health.* 2019 Nov 10;4(6):e001984. doi: 10.1136/bmjgh-2019-001984. eCollection 2019.

ABSTRACT

Was macht eigentlich das KL für *Yersinia pestis*?

Scholz H

Yersinia pestis ist der Erreger der Pest (auch bekannt als der Schwarze Tod), eine der gefährlichsten und gefürchtetsten bakteriellen Erkrankungen, die unbehandelt meist rasch zum Tod führt. Jährlich werden aus Endemiegebieten bis zu 3000 humane Pestinfektionen an die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gemeldet. Obwohl es seit vielen Jahrzehnten keine Pest-Fälle in Europa gab, besteht in der Bevölkerung die Besorgnis einer möglichen Einschleppung aus Endemiegebieten, die zugleich beliebte Urlaubsziele sind (z. B. Madagaskar). Dies hat der in 2017 stattgefundenen Ausbruch von Lungenpest auf Madagaskar besonders deutlich gemacht. Auch wenn aus fachlicher Sicht eine Einschleppung sehr unwahrscheinlich ist, kann diese nicht vollkommen ausgeschlossen werden. In diesem Fall wären in Deutschland nur wenige Labore in der Lage, den Pesterreger zweifelsfrei nachzuweisen. Zudem besitzt *Yersinia pestis* als potentieller biologischer Kampfstoff auch eine bioterroristische Relevanz. Der Vortrag skizziert die diagnostischen Fähigkeiten des Konsiliarlabors. Insbesondere der Aufbau genom-basierter Datenbanken für molekular-epidemiologische Ausbruchsanalysen sowie für Rückverfolgungsanalysen bei einer möglichen absichtlichen Ausbringung sollen dargestellt werden. Aktuelle Projekte zum Thema pest sollen ebenfalls kurz vorgestellt werden.

Impressum

NRZ/KL-RKI Netzwerktreffen 2023

**Vorstellung aller NRZ und KL und der infektionsepidemiologischen Fachgebiete des RKI
sowie Abstracts zu den Kurzvorträgen**

Herausgeber

Robert Koch-Institut
Nordufer 20
13353 Berlin

Redaktion

Geschäftsstelle Wissenschaftlicher Beirat Public Health Mikrobiologie

Satz

Nadja Harendt

Druck

RKI-Hausdruckerei

Bildnachweis

Bilder der Akteure wurden jeweils von den Akteuren zur Verfügung gestellt.



Das Robert Koch-Institut ist ein Bundesinstitut im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Gesundheit.