



NRZ FÜR STAPHYLOKOKKEN UND ENTEROKOKKEN

Präanalytikhandbuch



Deutsche
Akkreditierungsstelle
D-ML-13113-01-04



Deutsche
Akkreditierungsstelle
D-PL-13113-01-04

Inhaltsverzeichnis

1	QM-Dokumentenlenkung	3
2	Zweck	3
3	Abkürzungen und Definitionen	3
4	Präanalytische Informationen und Hinweise	3
4.1	Allgemeine Informationen und Hinweise	3
4.2	Leistungsangebot.....	4
4.2.1	Staphylokokken	4
4.2.2	Enterokokken	5
4.2.3	Dauer der Untersuchungen.....	6
4.3	Formblätter.....	6
4.4	Hinweise zur Ausfüllung der Formblätter.....	6
4.5	Informationen für Patienten bzw. Probanden zur Vorbereitung der Probenentnahme.....	6
4.6	Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben	6
4.6.1	Auswahl von Isolaten zur Typisierung.....	7
4.6.2	Probenentnahme und -versand	7
4.7	Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten	7
4.8	Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probentransports	8
4.9	Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien	8
4.10	Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben.....	8
4.11	Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen	8
4.11.1	Bereich Staphylokokken:	8
4.11.2	Bereich Enterokokken:.....	9
4.12	Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben.....	9
4.13	Rückmeldungen und Reklamationen.....	9
4.14	Gebühren.....	10
5	Besondere Sicherheitsmaßnahmen	10
6	Verweise.....	10
6.1	Mitgeltende Dokumente	10
6.2	Literatur	10
6.2.1	Staphylokokken.....	10
6.2.2	Enterokokken	12

1 QM-Dokumentenlenkung

Erstellt	28.08.2019, Dr. Birgit Strommenger
Geprüft	30.08.2019, Prof. Guido Werner
Freigegeben/Gültig ab	30.08.2019, Dr. J. Kleymann-Hilmes

2 Zweck

Im Rahmen dieses Präanalytikhandbuchs werden spezifische Anweisungen für die ordnungsgemäße Entnahme und Handhabung von Primärproben und Stämmen mit dem Ziel der Optimierung der präanalytischen Phase von Untersuchungsverfahren, die durch das NRZ angeboten werden, dokumentiert und an die Einsender kommuniziert. Das Präanalytikhandbuch enthält insbesondere

- eine Aufstellung über die zur Verfügung stehenden Laboruntersuchungen (Leistungsangebot)
- Einsenderinformationen über die medizinischen Indikationen und/oder die adäquate Auswahl von zur Verfügung stehenden Laborleistungen
- Hinweise zur Ausfüllung der Anforderungsformulare
- Verweise auf Formblätter für Einverständniserklärungen
- Verfahrensbeschreibungen und Anweisungen über die richtige Auswahl und Entnahme sowie den Versand von Proben
- Verfahren zur Identitätskennzeichnung der Primärprobe einschließlich der Art und Menge der Probe
- Anweisungen über besondere zeitliche Festlegungen hinsichtlich der Entnahme und ggf. des Probenverkehrs
- Anweisungen für die sichere Entsorgung des bei der Probenentnahme verwendeten Materials
- Anweisungen zu den Aufbewahrungsbedingungen untersuchter Proben
- Regelungen zur Möglichkeit von zusätzlichen und/oder Wiederholungsuntersuchungen aus der gleichen Primärprobe

3 Abkürzungen und Definitionen

Abkürzung	Ausdruck
NRZ	Nationales Referenzzentrum
RKI	Robert Koch-Institut
spa	Gen für <i>S. aureus</i> Protein A
MLST	Multi Lokus Sequenz Typisierung
NGS	Next Generation Sequencing
cgMLST	Core Genome MLST

4 Präanalytische Informationen und Hinweise

4.1 Allgemeine Informationen und Hinweise

Leitung: Prof. Dr. Guido Werner
 Vertretung -Bereich Staphylokokken-: Dr. Franziska Layer, Dr. Birgit Strommenger, Dr. Christiane Cuny
 Vertretung -Bereich Enterokokken-: Dr. Ingo Klare, Dr. Jennifer Bender, Dr. Robert Weber
 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.

Neben der Analyse für den Einsender erfolgt die Bearbeitung eingehender Proben mit dem Ziel, allgemeingültige und möglichst repräsentative Aussagen treffen zu können. Hierzu besteht ein Netzwerk mit Untersuchungsämtern, Einrichtungen des öffentlichen Gesundheitswesens, Universitätsinstituten und -kliniken, Krankenhäusern und privaten Laboratorien, das durch gezielte Studien mit Relevanz für unterschiedliche klinische Fächer kontinuierlich erweitert wird. In enger Zusammenarbeit werden hier Fragen der Ätiologie und Infektiologie von Staphylokokken- und Enterokokkeninfektionen bearbeitet.

Ausgehend von Kenntnissen über die Populationsstrukturen bei *S. aureus*, Koagulase-negativen Staphylokokkenspezies (KNS) sowie *E. faecium* und *E. faecalis* werden Bakterienisolate, die lokal als Verursacher von Ausbrüchen auftreten, mit konventionellen und molekularen Verfahren typisiert. Hierzu stehen verschiedene Verfahren mit unterschiedlicher Auflösungsfähigkeit zur Verfügung. (*S. aureus*: *spa*-Typisierung, alle: *Sma*I-Makrorestriktion/PFGE, MLST, cgMLST, NGS).

Bakterienisolate werden weiterhin im Hinblick auf relevante Resistenz- und Virulenzeigenschaften (phänotypische Resistenz- und Toxin/Superantigenbestimmung sowie Gen-Nachweis mittels PCR bzw. aus NGS-Daten) charakterisiert.

Untersuchungsergebnisse werden in Datenbanksysteme eingepflegt, die den Ausgangspunkt für Vergleiche mit molekularen Typisierungsergebnissen anderer Einrichtungen im In- und Ausland darstellen. Die Typisierungsdaten für *S. aureus* fließen außerdem in ein Netzwerk der europäischen Referenzlaboratorien für Staphylokokken ein.

Durch die Verordnung zur Anpassung der Meldepflicht gemäß § 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) wurde die Meldepflicht auf den direkten Nachweis von Methicillin-resistenten *Staphylococcus 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 (Link Epi Bull 26/2009 und 29/2009).

4.2 Leistungsangebot

4.2.1 Staphylokokken

- Phänotypische und genotypische Identifizierung und Charakterisierung von Staphylokokkenisolaten [Biochemie („Bunte Reihe“, VITEK™), Genotypie (*nuc*, *coa*, *spa*, SA442, u.a.)]
- Prüfung der Antibiotikaempfindlichkeit durch Ermittlung der Minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) nach EUCAST.

Folgende Antibiotika werden geprüft:

Penicillin (BEN), Oxacillin (OXA), Fosfomycin (FOS), Gentamicin (GEN), Linezolid (LIN), Erythromycin (ERY), Clindamycin (CLI), Tetracyclin (TET), Tigecyclin (TIG), Vancomycin (VAN), Teicoplanin (TEI), Ciprofloxacin (CIP), Trimethoprim Sulfamethoxazol (TRS), Fusidinsäure (FUS), Rifampicin (RIF), Mupirocin (MUP), Moxifloxacin (MOX), Daptomycin (DAP), Cefoxitin (CXI)

Die Auswertung erfolgt nach klinischen Grenzwerten bzw. ECOFF (Epidemiologischer Cut-off) nach EUCAST (<http://www.eucast.org/>).

- *spa*-Typisierung (Harmsen et al., 2003)
- Multilocus Sequenz Typisierung (Enright et al., 2000)
- Typisierung der SCCmec-Kassette (SCCmec-Typen I bis V und Subtypen, Witte et al., 2005, Boye et al. 2007, Kondo et al. 2007)
- *Sma*I-Makrorestriktionsanalyse entsprechend international standardisierter Protokolle (Murchan et al., 2003), insbesondere für KNS
- PCR-basierte Detektion wichtiger Virulenz- und Resistenzdeterminanten
- Phänotypischer und genotypischer Nachweis des Toxinbildungsvermögens

- Für ausgesuchte Stammsammlungen nach Sichtung der Standard-Typisier-Ergebnisse und in Absprache mit dem Einsender: NGS und ggf. cgMLST

Für Staphylokokken werden **routinemäßig** folgende Untersuchungen für jedes eingesandte Isolat durchgeführt:

phänotypische Untersuchungen: Speziesidentifikation, Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung

genotypische Untersuchungen: DNA-Präparation, Nachweis *mecA*-Gen, *spa*-Typisierung (nicht für KNS)

Der abschließende Bericht beinhaltet neben dem *spa*-Typ den Resistenzphänotyp, ggf. nachzuweisende Resistenz- und Virulenz-assoziierte Gene, sowie mittels Latex-Agglutinationstest nachgewiesene Superantigene. Ausgehend vom *spa*-Typ werden die Isolate sog. klonalen Komplexen (entsprechend der MLST/eBURST, <http://saureus.mlst.net/>) zugeordnet. Im Falle des Auftretens von *spa*-Typen, für die bisher keine bekannte Assoziation mit bestimmten klonalen Komplexen besteht, erfolgt hierzu ggf. eine BURP-Cluster-Analyse bzw. eine MLST. Weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem Anschreiben zur Einführung der *spa*-Typisierung, sowie der kurzen Einführung in die *spa*-Typisierung. Hier finden Sie auch eine Tabelle zum Abgleich der häufigsten *spa*-Typen mit den korrespondierenden klonalen Komplexen und MLSTs.

4.2.2 Enterokokken

- Genotypische Identifizierung und Charakterisierung von Enterokokkenisolaten
- Prüfung der Antibiotikaempfindlichkeit durch Ermittlung der Minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) nach DIN 58940 bzw. EUCAST.
- Folgende Antibiotika werden geprüft:
Penicillin (BEN), Ampicillin (AMP), Gentamicin (GEN), Streptomycin (STR), Vancomycin (VAN), Teicoplanin (TEI), Daptomycin (DAP), Clindamycin (CLI), Erythromycin (ERY), Ciprofloxacin (CIP), Moxifloxacin (MOX), Linezolid (LIN), Tetracyclin (TET), Tigecyclin (TIG), Rifampicin (RIF), Trimethoprim Sulfamethoxazol (TRS), Chloramphenicol (CMP), Mupirocin (MUP)
Die Auswertung erfolgt nach klinischen Grenzwerten bzw. ECOFF nach EUCAST.
- Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-basierte Detektion wichtiger Resistenzdeterminanten
- *Sma*I-Makrorestriktionsanalyse im PFGE
- Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) (Homann et al., 2002)
- Für ausgesuchte Stammsammlungen nach Sichtung der Standard-Typisier-Ergebnisse und in Absprache mit dem Einsender: NGS und ggf. cgMLST

Für Enterokokken werden **routinemäßig** folgende Untersuchungen für jedes eingesandte Isolat durchgeführt:

phänotypische Untersuchungen: Empfindlichkeitsprüfung

genotypische Untersuchungen: DNA-Präparation, PCR bzw. Multiplex PCR zur Speziesidentifikation und zum Nachweis einzelner und Resistenzgene (*van*-Gene)

Hinweise zur PFGE-Typisierung bei Enterokokken

Bei Verdacht auf Häufungen von Besiedlungen und Infektionen mit, vor allem Vancomycin-resistenten, Enterokokken erfolgte bislang die Typisierung mittels *Sma*I-Makrorestriktionsanalyse in der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE). Die Methode ist vergleichsweise aufwändig. Alternative Typisierungsmethoden wie MLVA, MLST, Ribotyping oder PCR Typisierung sind weniger diskriminierend und erlauben keine gesicherten Aussagen. Als Alternative steht die Genomsequenzierung mit nachfolgender cgMLST zur Verfügung, deren Durchführung allerdings ausgesprochen kostenintensiv ist und daher nur bei begründetem Interesse in Absprache mit dem Einsender durchgeführt werden kann.

Anlagen

- Anlage 3: Berichtsbogen des NRZ für Staphylokokken
- Anlage 4: Berichtsbogen des NRZ für Enterokokken
- Anlage 5: Typisierungsvergleich bei *S. aureus*: *spa*-MLST-PFGE
- Anlage 6: FAQs Genomsequenzierung, Datenanalyse und Interpretation
- Anlage 7: Anschreiben Mai 2018

4.2.3 Dauer der Untersuchungen

Die Durchführung der phänotypischen Untersuchungen erfordert eine Bearbeitungszeit von ca. 3 bis 5 Tagen, die der genotypischen Untersuchungen von 10 bis 21 Tagen. Ein abschließender schriftlicher Bericht wird daher im Allgemeinen nach ca. 21 - 28 Tagen erstellt. Bei begründeter klinischer Fragestellung (z. B. Nachweis wichtiger Pathogenitätsdeterminanten oder des Toxin-Bildungsvermögens) kann ein vorläufiger Bericht zu einzelnen Untersuchungsergebnissen angefordert werden. Bitte geben Sie daher besondere Dringlichkeiten auf dem Einsendebogen an oder kontaktieren Sie uns per E-Mail oder Telefon.

4.3 Formblätter

- Einsendescheine (Anlagen 1 und 2; Links Einsendeschein NRZ Bereich Staphylokokken und Bereich Enterokokken)
- Die Abgabe von Referenzstämmen durch das NRZ darf nur an solche Laboratorien erfolgen, die nach § 52 Infektionsschutzgesetz (IfSG) eine Erlaubnis zum Arbeiten mit Krankheitserregern besitzen. Der Nachweis erfolgt durch Vorlage einer entsprechenden Bescheinigung der zuständigen Behörde. Das NRZ gibt keine Stämme ab, die ursprünglich aus anderen Stammsammlungen stammen (ATCC, DSMZ, NCTC).
- Einverständniserklärungen für die Entnahme oder Untersuchungen von Proben im Rahmen des Leistungsangebotes des NRZ sind nicht erforderlich.

4.4 Hinweise zur Ausfüllung der Formblätter

Jedes eingesandte Isolat muss von einem möglichst ausführlich ausgefüllten Einsendeschein des NRZ für Staphylokokken und Enterokokken begleitet sein (s.o.). Mit dem Einsendeschein werden neben den Einsenderdaten, Angaben zur eingesandten Probe und den angeforderten Untersuchungen sowohl patientenbezogene als auch epidemiologisch relevante Daten erfasst. Diese Daten ermöglichen dem NRZ die epidemiologische Überwachung des Auftretens und der Verbreitung von Staphylokokken und Enterokokkenstämmen mit wichtigen Resistenz- und Virulenzeigenschaften auf lokaler, regionaler und nationaler Ebene. Daher sollte auf dem Einsendeschein auch vermerkt sein, in welchem vermuteten Zusammenhang die zu typisierenden Isolate stehen (Krankenhaus, betroffene Station, Bezug zu ggf. erfolgten früheren Einsendungen). Einsendungen, die nicht von einem ausgefüllten Einsendeschein begleitet sind, können u.U. zurückgesendet werden oder nur unter Berechnung von Gebühren bearbeitet werden.

4.5 Informationen für Patienten bzw. Probanden zur Vorbereitung der Probenentnahme

Im Rahmen des Leistungsangebots des NRZ sind keine besonderen Informationen erforderlich. Zur Isolation von Staphylokokken bzw. Enterokokken aus Primärproben sind die präanalytischen Hinweise der Laboratorien der Primärdiagnostik herazuziehen.

4.6 Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben

Untersuchungen aus klinischen Primärproben werden am NRZ i. A. nicht durchgeführt (Ausnahmen im Rahmen von Studien).

Die vom NRZ für Staphylokokken und Enterokokken durchgeführten Typisierungsuntersuchungen erfolgen an voridentifizierten Isolaten von Staphylokokken und Enterokokken und dienen u. a. der Aufklärung von Infektketten und Lebensmittelinfektionen.

Eine Infektkette ist dann zu vermuten, wenn in einer bestimmten Pflegeeinheit (z. B. Station, Arztpraxis) mehr als zwei Infektionen im gleichen Zeitraum aufgetreten sind. In diesem Zusammenhang sind die folgenden Anweisungen zu beachten.

4.6.1 Auswahl von Isolaten zur Typisierung

- Die Typisierung ist eine epidemiologische Methode. **Einzeltypisierungen haben nur geringen Aussagewert. Es sollten daher immer mehrere Stämme unter Berücksichtigung möglicher epidemiologischer Zusammenhänge eingeschendet werden.** Eine epidemiologische Einschätzung vor dem Einsenden (siehe Einsendeschein NRZ) ist daher sehr nützlich.
- Bei Vorliegen des Verdachts auf eine **Lebensmittelintoxikation** durch *S. aureus* sollten vor einer weiteren Untersuchung der ggf. in diesem Zusammenhang anfallenden Isolate die folgenden Kriterien erfüllt sein: Inkubationszeit: 2-6 Stunden, Keimzahl pro g bzw. ml des Lebensmittels $> 10^5$ (nicht bei erhitzten Lebensmitteln). Die Bestimmung des Enterotoxinbildungsvermögens gibt einen Hinweis auf *S. aureus* als Verursacher. Für die Bestätigung des Intoxikationswegs durch Typisierung müssen sowohl Isolate aus dem angeschuldigten Lebensmittel als auch aus Stuhl/Erbrochenem untersucht werden.

4.6.2 Probenentnahme und -versand

- Die Isolation von Staphylokokken bzw. Enterokokken aus Primärproben erfolgt im Labor des Einsenders.
- Es sollten grundsätzlich zuerst Stämme aus Untersuchungsmaterialien (Eiter, Wundsekret, Blutkultur, Trachealsekret, Lebensmittel, Erbrochenem u. a.) eingeschickt werden; die Entscheidung über die Notwendigkeit von Umgebungsuntersuchungen sollte erst nach der Typisierung dieser Stämme erfolgen.
- Einsendungen sollten stets in Verbindung mit den Einsendebögen des NRZ für Staphylokokken und Enterokokken erfolgen.
- Isolierte Reinkulturen können bis zum Versand im Kühlschrank bei 2 bis 8 °C aufbewahrt werden. **Das Einfrieren von Tupfern im Transportmedium wird nicht empfohlen**, da es hierbei häufig zur Verflüssigung des Mediums kommt. Dies führt häufig zum Auslaufen beim Versand. Ausgelaufene Proben werden aufgrund der Gefährdung für die annehmenden Mitarbeiter nicht bearbeitet.
- Einsendungen an das NRZ für Staphylokokken und Enterokokken müssen gemäß den Bestimmungen zum Versand von medizinischem Untersuchungsmaterial in dreifacher Verpackung erfolgen (UN 3373 nach Verpackungsstandard P650 IATA-DGR). Zweckmäßigerweise sollten Isolate als Tupfer in geeignetem Transportmedium versandt werden. Ein gekühlter Versand ist nicht erforderlich, sofern die üblichen Transportzeiten nicht deutlich überschritten werden. Unsachgemäß verpackte Einsendungen stellen eine Gefährdung für die transportierenden oder annehmenden Mitarbeiter dar und können daher zurückgewiesen werden.

4.7 Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten

Jedes eingesandte Isolat muss mit einer eindeutigen Isolat-Nummer (Labor-Nummer Einsender) gekennzeichnet und von einem, diesem Isolat eindeutig zuordenbaren, ausgefüllten Einsendebogen des NRZ Staphylokokken und Enterokokken begleitet sein. Zur Ermittlung möglicher Infektketten sollte bei Verdacht auf das Vorliegen eines Ausbruchsgeschehens mit Staphylokokken/Enterokokken dies außerdem auf dem Einsendebogen vermerkt werden. Einsendungen, die nicht von einem ausgefüllten Einsendeschein begleitet sind, können nicht bearbeitet werden.

4.8 Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probentransports

Einsendungen an das NRZ für Staphylokokken und Enterokokken müssen gemäß den Bestimmungen zum Versand von medizinischem Untersuchungsmaterial in dreifacher Verpackung erfolgen (UN 3373 nach Verpackungsstandard P650 IATA-DGR). Zweckmäßigerweise sollten Isolate als Tupfer in einem geeigneten Transportmedium versandt werden. Ein gekühlter Versand ist nicht erforderlich, sofern die üblichen Transportzeiten nicht deutlich überschritten werden. Unsachgemäß verpackte Einsendungen stellen eine Gefährdung für die transportierenden oder annehmenden Mitarbeiter dar und können daher zurückgewiesen werden.

4.9 Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien

siehe Vorgaben des Primärlabors; Die Entsorgung von infektiösen Materialien erfolgt durch Autoklavieren gemäß dem Stand von Wissenschaft und Technik.

4.10 Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben

Die Isolation von Staphylokokken und Enterokokken aus Primärproben erfolgt im Labor des Einsenders unter den dort für die Bakterienisolierung vorgegebenen Bedingungen. Isolierte Kulturen können bis zum Versand im Kühlschrank bei 2 bis 8°C aufbewahrt werden. **Das Einfrieren von Tupfern im Transportmedium wird nicht empfohlen**, da es hierbei häufig zur Verflüssigung des Mediums kommt. Dies führt häufig zum Auslaufen beim Versand. Ausgelaufene Proben werden aufgrund der Gefährdung für die annehmenden Mitarbeiter nicht bearbeitet. Eine längerfristige Lagerung bakterieller Isolate sollte bei -80°C in Kryoröhrchen erfolgen.

Im NRZ erfolgt die Lagerung der hier eingehenden Tupfer bei Raumtemperatur mindestens bis zum Abschluss aller durchzuführenden Untersuchungen bzw. bis zur endgültigen Berichtserstellung. So wird sichergestellt, dass ggf. weitere Untersuchungen bzw. Wiederholungsuntersuchungen an identischem Material durchgeführt werden können. Darüber hinaus werden alle eingehenden Isolate nach Überprüfung auf Reinheit kryokonserviert. Außerdem erfolgt eine DNA-Präparation für alle eingesendeten Isolate, um ggf. molekulare Untersuchungen nachträglich durchführen zu können.

4.11 Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen

Es sollten grundsätzlich zuerst Stämme aus Untersuchungsmaterialien eingesandt werden; die Entscheidung über die Notwendigkeit von weiteren Untersuchungen im Patientenumfeld (Umgebungsuntersuchungen, Personal-Screenings) sollte erst nach der Typisierung dieser Stämme in Absprache mit dem NRZ für Staphylokokken und Enterokokken erfolgen.

Im NRZ für Staphylokokken und Enterokokken werden **routinemäßig folgende Untersuchungen für jedes eingesendete Isolat** durchgeführt:

4.11.1 Bereich Staphylokokken:

phänotypische Untersuchungen: Speziesidentifikation, Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung

genotypische Untersuchungen: DNA-Präparation, Nachweis *mecA*-Gen, *spa*-Typisierung

Bei begründeter klinischer Fragestellung (z. B. Toxic Schock Syndrom, Dermatitis exfoliativa, Lebensmittelintoxikation, CA-MRSA-Infektion, schwer verlaufende invasive Infektionen) werden zusätzliche Untersuchungen (z. B. Nachweis wichtiger Pathogenitätsdeterminanten oder des Toxin-Bildungsvermögens) durchgeführt. Deren Notwendigkeit wird aus den Angaben im Einsendeschein des NRZ für Staphylokokken und Enterokokken-ggf. nach Rücksprache mit dem Einsender- abgeleitet.

4.11.2 Bereich Enterokokken:

phänotypische Untersuchungen: Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung
genotypische Untersuchungen: DNA-Präparation, Speziesidentifikation, van-Gen-PCR

Die Notwendigkeit zusätzlicher Untersuchungen wird aus den Angaben im Einsendeschein des NRZ für Staphylokokken und Enterokokken-ggf. nach Rücksprache mit dem Einsender- abgeleitet.

4.12 Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben

- Eingesendete Proben müssen den o. g. Anforderungen an die Verpackung gemäß den Bestimmungen zum Versand von medizinischem Untersuchungsmaterial entsprechen; unsachgemäß verpackte Einsendungen stellen eine Gefährdung für die transportierenden oder annehmenden Mitarbeiter dar und können daher zurückgewiesen werden.
- Einsendungen, die nicht von einem ausgefüllten Einsendeschein begleitet sind, können nicht bearbeitet werden.

4.13 Rückmeldungen und Reklamationen

Für Anfragen zu Einsendungen oder Berichten, Rückmeldungen sowie Reklamationen stehen die Mitarbeiter des NRZ Staphylokokken und Enterokokken zur Verfügung.

Kontakte:

Prof. Dr. Guido Werner

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4210

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

Bereich Staphylokokken:

Dr. Franziska Layer

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4249

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

Dr. Birgit Strommenger

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4260

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

Dr. Christiane Cuny

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4346

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

Bereich Enterokokken:

Dr. Ingo Klare

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4247

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

Dr. Jennifer Bender

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4333

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

Dr. Robert Weber

Telefon: +49 (0)30 - 18754-4373

Fax: +49 (0)30 - 18754-4317

E-Mail: FG13@rki.de

4.14 Gebühren

Um einen besseren Überblick über Ausbrüche von Infektionen mit *S. aureus*/MRSA bzw. Enterokokken zu erhalten, können wir Typisierungen nur dann ohne Berechnung von Kosten durchführen, wenn wir für die jeweils von einer Infektkette betroffene Einrichtung (Krankenhaus, Abteilung) in Verbindung mit den eingesandten Stämmen, einen ausgefüllten Einsendeschein (Link) mit epidemiologischen Begleitinformationen erhalten. Diese umfassen die Anzahl von Isolaten als Besiedler oder Erreger verschiedener Arten von Infektionen in den Bereichen der verschiedenen klinischen Disziplinen.

Für die Typisierung eingesandter Isolate, die nicht von den o. g. Dokumenten begleitet sind, bzw. für Typisierungen, die nicht der Aufdeckung epidemiologischer Zusammenhänge innerhalb eines Ausbruchsgeschehens dienen, können Gebühren berechnet werden. In begründeten Einzelfällen (insbesondere bei Vorliegen eines besonderen wissenschaftlichen Interesses) kann nach Absprache mit dem NRZ für Staphylokokken auf die Berechnung von Gebühren verzichtet werden. Kostenfrei bleibt in jedem Fall die Bearbeitung von *S. aureus*- und Enterokokken-Isolaten aus Blutkulturen sowie von *S. aureus*-Isolaten aus Toxic Shock-Syndrom, Dermatitis exfoliativa (Morbus Ritter v. Rittershain) und community acquired MRSA (caMRSA).

5 Besondere Sicherheitsmaßnahmen**6 Verweise****6.1 Mitgeltende Dokumente**

Sämtliche Methoden-SOPs werden in aktueller und autorisierter Fassung im NRZ für Staphylokokken und Enterokokken vorgehalten und beinhalten Verfahrensvorschriften zur „internen“ Präanalytik und Analytik. Diese können bei Bedarf und nach Absprache mit dem Leiter und dem Qualitätsbeauftragten des NRZ eingesehen werden.

6.2 Literatur**6.2.1 Staphylokokken**

- Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, et al. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research.** Nat Rev Microbiol. 2019;17(4):203-18.
- Lee JYH, Monk IR, Gonçalves da Silva A, Seemann T, Chua KYL, Kearns A, Hill R, Woodford N, Bartels MD, Strommenger B, Laurent F, Dodémont M, Deplano A, Patel R, Larsen AR, Korman TM, Stinear TP, Howden BP. **Global spread of three multidrug-resistant lineages of *Staphylococcus epidermidis*.** Nat Microbiol. 2018 Oct;3(10):1175-1185. doi: 10.1038/s41564-018-0230-7.
- Deplano A, Dodémont M, Denis O, Westh H, Gumpert H, Larsen AR, Larsen J, Kearns A, Pichon B, Layer F, Schulte B, Wolz C, Spiliopoulou I, Brennan G, Empel J, Hryniewicz W, de Lencastre H, Faria NA, Codita I, Sabat

AJ, Friedrich AW, Deurenberg RH, Tristan A, Laurent F, Vandenesch F.

European external quality assessments for identification, molecular typing and characterization of *Staphylococcus aureus*.

J Antimicrob Chemother. 2018 Oct 1;73(10):2662-2666. doi: 10.1093/jac/dky260.

- Kernberger-Fischer IA, Krischek C, Strommenger B, Fiegen U, Beyerbach M, Kreienbrock L, Klein G, Kehrenberg C.
Susceptibility of Methicillin-Resistant and -Susceptible *Staphylococcus aureus* Isolates of Various Clonal Lineages from Germany to Eight Biocides.
Appl Environ Microbiol. 2018 Jun 18;84(13). pii:e00799-18. doi: 10.1128/AEM.00799-18.
- Weßels C, Strommenger B, Klare I, Bender J, Messler S, Mattner F, Krakau M, Werner G, Layer F.
Emergence and control of linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in an ICU of a German hospital.
J Antimicrob Chemother. 2018 May 1;73(5):1185-1193. doi: 10.1093/jac/dky010.
- Franziska Layer, Birgit Strommenger, Christiane Cuny, Anja Klingenberg, Tim Eckmanns, Guido Werner.
Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Methicillin-resistenten *S. aureus* in Deutschland – Update 2017 aus der Sicht des NRZ für Staphylokokken und Enterokokken.
Umwelt – Hygiene – Arbeitsmedizin. 2018;23.
- Strauß L, Stegger M, Akpaka PE, Alabi A, Breurec S, Coombs G, Egyir B, Larsen AR, Laurent F, Monecke S, Peters G, Skov R, Strommenger B, Vandenesch F, Schaumburg F, Mellmann A.
Origin, evolution, and global transmission of community-acquired *Staphylococcus aureus* ST8.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Dec 5;114(49):E10596-E10604. doi: 10.1073/pnas.1702472114.
- Kinross P, Petersen A, Skov R, Van Hauwermeiren E, Pantosti A, Laurent F, Voss A, Kluytmans J, Struelens MJ, Heuer O, Monnet DL; The European Human LA-Mrsa Study Group.
Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among human MRSA isolates, European Union/European Economic Area countries, 2013.
Euro Surveill. 2017 Nov;22(44). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.44.16-00696.
- Kriegeskorte A, Idelevich EA, Schlattmann A, Layer F, Strommenger B, Denis O, Paterson GK, Holmes MA, Werner G, Becker K.
Comparison of Different Phenotypic Approaches To Screen and Detect *mecC*-Harboring Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.
J Clin Microbiol. 2017 Dec 26;56(1). pii: e00826-17. doi: 10.1128/JCM.00826-17.
- Weber RE, Layer F, Klare I, Werner G, Strommenger B.
Comparative evaluation of VITEK® 2 and three commercial gradient strip assays for daptomycin susceptibility testing of *Staphylococcus aureus*.
J Antimicrob Chemother. 2017 Nov 1;72(11):3059-3062. doi: 10.1093/jac/dkx255.
- Aanensen DM, Feil EJ, Holden MT, Dordel J, Yeats CA, Fedosejev A, Goater R, Castillo-Ramírez S, Corander J, Colijn C, Chlebowicz MA, Schouls L, Heck M, Pluister G, Ruimy R, Kahlmeter G, Åhman J, Matuschek E, Friedrich AW, Parkhill J, Bentley SD, Spratt BG, Grundmann H; European SRL Working Group. Whole-Genome Sequencing for Routine Pathogen Surveillance in Public Health: a Population Snapshot of Invasive *Staphylococcus aureus* in Europe.
MBio. 2016 May 5;7(3). pii: e00444-16. doi: 10.1128/mBio.00444-16.
- Mehraj J, Witte W, Akmatov MK, Layer F, Werner G, Krause G.
Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Patterns in the Community.
Curr Top Microbiol Immunol. 2016;398:55-87. doi: 10.1007/82_2016_497.
- Layer F, Sanchini A, Strommenger B, Cuny C, Breier AC, Proquitté H, Bühner C, Schenkel K, Bätzing-Feigenbaum J, Greutelaers B, Nübel U, Gastmeier P, Eckmanns T, Werner G.
Molecular typing of toxic shock syndrome toxin-1- and Enterotoxin A-producing methicillin-sensitive

- Staphylococcus aureus isolates from an outbreak in a neonatal intensive care unit.**
Int J Med Microbiol. 2015 Oct;305(7):790-8. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.08.033.
- Strommenger B, Layer F, Klare I, Werner G.
Pre-Use Susceptibility to Ceftaroline in Clinical Staphylococcus aureus Isolates from Germany: Is There a Non-Susceptible Pool to be Selected?
PLoS One. 2015 May 8;10(5):e0125864. doi: 10.1371/journal.pone.0125864.
 - Cuny C, Layer F, Werner G, Harmsen D, Daniels-Haardt I, Jurke A, Mellmann A, Witte W, Köck R.
State-wide surveillance of antibiotic resistance patterns and spa types of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from blood cultures in North Rhine-Westphalia, 2011-2013.
Clin Microbiol Infect. 2015 Aug;21(8):750-7. doi: 10.1016/j.cmi.2015.02.013.
 - Grundmann H, Schouls LM, Aanensen DM, Pluister GN, Tami A, Chlebowicz M, Glasner C, Sabat AJ, Weist K, Heuer O, Friedrich AW; ESCMID Study Group on Molecular Epidemiological Markers; European Staphylococcal Reference Laboratory Working Group.
The dynamic changes of dominant clones of Staphylococcus aureus causing bloodstream infections in the European region: results of a second structured survey.
Euro Surveill. 2014 Dec 11;19(49).
 - Leopold SR, Goering RV, Witten A, Harmsen D, Mellmann A.
Bacterial whole-genome sequencing revisited: portable, scalable, and standardized analysis for typing and detection of virulence and antibiotic resistance genes.
J Clin Microbiol. 2014 Jul;52(7):2365-70. doi: 10.1128/JCM.00262-14.
 - Strommenger B, Bartels MD, Kurt K, Layer F, Rohde SM, Boye K, Westh H, Witte W, De Lencastre H, Nübel U.
Evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus towards increasing resistance.
J Antimicrob Chemother. 2014 Mar;69(3):616-22. doi: 10.1093/jac/dkt413.
 - Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E (2009):
Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant Staphylococcus aureus screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs.
Clin. Microbiol. Infect. 15 (2): 112-119.
 - Strommenger B, Bräulke C, Heuck D, Schmidt C, Pasemann B, Nübel U, Witte W.
spa Typing of Staphylococcus aureus as a frontline tool in epidemiological typing.
J Clin Microbiol. 2008 Feb;46(2):574-81.

6.2.2 Enterokokken

- Klare I, Bender JK, Fleige C, Kriebel N, Hamprecht A, Gatermann S, Werner G.
Comparison of VITEK® 2, three different gradient strip tests and broth microdilution for detecting vanB-positive Enterococcus faecium isolates with low vancomycin MICs.
J Antimicrob Chemother. 2019 Jul 23. pii: dkz310. doi:10.1093/jac/dkz310.
- Neumann B, Prior K, Bender JK, Harmsen D, Klare I, Fuchs S, Bethe A, Zühlke D, Göhler A, Schwarz S, Schaffer K, Riedel K, Wieler LH, Werner G.
A Core Genome Multilocus Sequence Typing Scheme for Enterococcus faecalis.
J Clin Microbiol. 2019 Feb 27;57(3). pii: e01686-18. doi: 10.1128/JCM.01686-18.
- de Been M, Pinholt M, Top J, Bletz S, Mellmann A, van Schaik W, Brouwer E, Rogers M, Kraat Y, Bonten M, Corander J, Westh H, Harmsen D, Willems RJ. Core
Genome Multilocus Sequence Typing Scheme for High- Resolution Typing of Enterococcus faecium.
J Clin Microbiol. 2015 Dec;53(12):3788-97.
- Poyart C, Quesnes G, Trieu-Cuot P.
Sequencing the gene encoding manganese-dependent superoxide dismutase for rapid species

identification of enterococci.

J Clin Microbiol. 2000 Jan;38(1):415-8.

