Diagnostisches Spektrum von ZBS2 (Hochpathogene Mikrobielle Erreger) aus klinischen Proben im Rahmen der flexiblen Akkreditierung (Stand: Juli 2024)

Nachweismethoden für die Diagnostik von ausgewählten HPME

Erkrankung	Spezies	Subspezies	Nachweis
Milzbrand, Anthrax	*Bacillus anthracis* u.a.*	entfällt	**qPCR, Kultur, LM**, **Antikörpernachweis**, Antibiogramm**
Tularämie, Hasenpest	*Francisella tularensis*		**qPCR, Kultur, LM**, **Antikörpernachweis**, Antibiogramm** FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung)
		tularensis, holarctica, novicida, mediasiatica	**Differenzierung der Subspezies mittels konventioneller PCR**
Pest	*Yersinia pestis*	entfällt	**qPCR, Kultur, LM**, Antikörpernachweis, Antibiogramm**
Cholera	*Vibrio cholerae* *V. vulnificus* *V. parahaemolyticus*	entfällt	**qPCR (u. a. zum Nachweis Choleratoxin-Gen und Typisierung O:1, O:139), Biovar-Typisierung (mittels konventioneller PCR), Kultur,** Agglutination, Toxinnachweis (cELISA)
Melioidose, Pseudo-Rotz	*Burkholderia pseudomallei*	entfällt	**qPCR, Kultur, LM**, **Antikörpernachweis**, Antibiogramm**
Rotz, Malleus	*Burkholderia mallei*	entfällt	**qPCR, Kultur, LM**, Antikörpernachweis, Antibiogramm**
Brucellose	*Brucella melitensis* *B. abortus* *B. ovis* *B. suis* u. a.	entfällt	**qPCR und konventionelle PCR zur Differenzierung der Spezies, Kultur, LM**, Antikörpernachweis, Antibiogramm**
Q-Fieber	*Coxiella burnetii*	entfällt	**qPCR**

Fettgedruckt: akkreditierte Nachweisverfahren

HPME: Hochpathogene mikrobielle Erreger

qPCR: quantitative Real-Time PCR; LM: Lichtmikroskopie; cELISA: capture enzyme-linked immunosorbent assay

* Verwandte Anthrax-Erreger, die vergleichbare Virulenzfaktoren wie *B. anthracis* besitzen (z. B. Gene für Toxin- und Kapselsynthese), können mit den o. g. Methoden ebenfalls diagnostiziert werden (z. B. *B. cereus* biovar *anthracis*).

** Durchführung von Antibiogrammen mit Interpretation nach CLSI-Guidelines.

Die Methoden stellen überwiegend In-house Tests dar. Es werden überwiegend klinische Proben bzw. Bakterienisolate untersucht. Untersuchungen anderer Proben, insbesondere aus der Umwelt sind möglich; sie erfordern eine gesonderte Absprache. Für den Auftraggeber wird ein Ergebnisbericht erstellt.

Weitere mikrobiologische Untersuchungsmöglichkeiten am RKI finden sich unter https://www.rki.de/mikrobiologische-untersuchungen-am-rki

Meldepflicht nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) für die bei ZBS2 diagnostizierten Erreger:

Nach **§ 6 IfSG** müssen folgende Krankheiten (Krankheitsverdacht, Erkrankung, Tod) **namentlich** gemeldet werden: Milzbrand, Pest, Cholera.

Nach **§ 7 IfSG** muss der direkte oder indirekte Nachweis folgender Krankheitserreger **namentlich** gemeldet werden: *B. anthracis*, *Y. pestis*, *F. tularensis*, *Brucella* spp., *C. burnetii*. Seit 01.03.2020 gilt diese Meldepflicht auch für den Nachweis humanpathogener Erreger der Gattung *Vibrio* spp. Liegt ausschließlich eine Ohrinfektion vor, gilt dies nur für *Vibrio cholerae*.

Für die Melioidose besteht nach §7 keine namentliche Meldepflicht. Es obliegt jedoch dem Arzt/der Ärztin ob er/sie die Erkrankung als bedrohlich einschätzt und diese gem. §6 Ziffer 5 meldet.

Primärproben zur Untersuchung auf HPME:

Generell sind bei allen Zoonoseerkrankungen berufsmäßige Tier- und Umweltkontakte, Reiseanamnesen in Endemiegebiete sowie Hinweise auf Kontakte mit relevanten Vektoren zu beachten. Die Relevanz von Umweltproben sollte mit dem Einsender vorab geklärt werden.

Alle hier gelisteten Erreger können auch Gegenstand einer vorsätzlichen Freisetzung sein.

Anthrax: Bei Verdacht auf Haut- oder Injektionsmilzbrand sollten Wundabstriche, Krusten oder Vesikelflüssigkeit untersucht werden. Bei Krusten sollte Krustenmaterial mit einer Pinzette in ein steriles Röhrchen überführt werden. Weitere Untersuchungsmaterialen sind respiratorische Sekrete bei Verdacht auf pulmonalen Anthrax, Stuhlproben bei Verdacht auf Darmmilzbrand, oder Blutkulturen bei Verdacht auf septikämische Verläufe (bei jeder klinischen Manifestation). Bei besonders schweren Verläufen mit ZNS-Beteiligung könnte cerebrospinale Flüssigkeit (Liquor) von diagnostischer Relevanz sein. Der Kontakt zu Tieren, vor allem Huftieren, kann ein Hinweis auf eine entsprechende Infektion sein. Bei Verdacht auf Injektionsmilzbrand kommen in erster Linie Blutkulturen, Proben aus betroffenen Geweben und, wenn verfügbar, relevante Drogenproben in Frage. Bei allen klinischen Formen können im Serum Antikörper gegen Erregerkomponenten (meist Toxinkomponenten, z. B. Protektives Antigen) nachgewiesen werden (Serologie).

Tularämie: Die Tularämie kann sich grundsätzlich ähnlich wie Anthrax manifestieren so dass das Probenspektrum wie bei Anthraxverdacht beschrieben werden kann. Hinzu kommen exstirpierte Lymphknoten oder Lymphknotenbiopsien bei Verdacht auf glanduläre Tularämie sowie Konjunktivalflüssigkeit bei Verdacht auf okuläre Tularämie. Der Kontakt zu Tieren, vor allem Nagetieren und Hasenartigen, sowie zu Vektoren wie Zecken und Stechmücken, kann ein Hinweis auf eine entsprechende Infektion sein. Bei allen klinischen Formen können im Serum Antikörper gegen Erregerkomponenten (meist Lipopolysaccharid) nachgewiesen werden (Serologie).

Pest: Bei Verdacht auf Bubonenpest dient als Probenmaterial vor allem eine Lymphknotenbiopsie oder –aspirat, währen bei Pestpneumonie Abstriche der Schleimhaut und Bronchiallavage und beim Verdacht auf eine Pestsepsis Blutkulturen untersucht werden sollten. Weiterhin kann eine Infektion ebenfalls aus Liquor oder Blut nachgewiesen werden. Da die Pest hauptsächlich durch den Rattenfloh übertragen wird, kann ein Kontakt zu Nagetieren Hinweis auf eine Infektion sein, wobei infizierte Hauskatzen durch Niesen, Kratzen oder Beißen ebenfalls den Erreger übertragen können. Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung und die Aufnahme der Keime über die Luft sind bei Lungenpest ebenfalls möglich. Im Serum können Antikörper gegen den Pesterreger nachgewiesen werden (Serologie).

Cholera: Der Nachweis einer Cholerainfektion und die Bestätigung von hochpathogenen Serovaren O1 und O139 sowie von Choleratoxinbildnern erfolgt bei ZBS2 lediglich aus Erregerkulturen. Es werden keine Primärproben verarbeitet. Eine Infektion mit toxinbildenden *V. cholerae* erfolgt meist über kontaminiertes Wasser in entsprechenden Endemiegebieten, während in Europa auch häufig nicht-Toxinbildner diagnostiziert werden. Diese und andere *Vibrio*-Spezies rufen zum Teil ebenfalls Durchfallsymptomatiken hervor (meist weniger schwerwiegend als eine Cholera-Erkrankung), teilweise aber auch gänzlich andere Krankheitsbilder, wie z.B. Wund- und Ohrinfektionen oder eine Sepsis.

Rotz und Melioidose: Bei Verdacht auf eine Infektion mit dem Rotz-Erreger *B. mallei* kann der Nachweis durch Untersuchung von Schleimhautabstrichen, Biopsiematerial, Sputum, Bronchiallavage, Blut oder Liquor erfolgen. Eine Infektion kann durch engen Kontakt zu erkrankten Pferden erfolgen. *B. pseudomallei*, der Erreger der Melioidose, ist eng mit dem des Rotzes verwandt und auch das Probenspektrum kann wie bei diesem beschrieben werden. Allerdings erfolgt hier in endemischen Gebieten (Südostasien, Nord-Australien) eine Infektion meist durch Inokulation des saprophytischen Erregers in kleine Verletzungen oder auf aerogenem Weg. Im Serum können Antikörper gegen Burkholderien nachgewiesen werden, wobei nicht zwischen den beiden Spezies unterschieden werden kann (Serologie).

Brucellose: Für die Isolierung des Erregers kommen in erster Linie Blutkulturen in Frage, allerdings ist die Anzucht aus Knochenmark meist erfolgreicher. Außerdem kann *Brucella* aus Gewebeproben, Liquor, Synovialflüssigkeit und Abszessmaterial isoliert werden. Besonders gefährdet sind Arbeiter in Fleischereien und Tierarztpraxen, allerdings ist eine Infektion auch über den Verzehr von Ziegenmilch, Schafskäse oder rohem Fleisch möglich. Brucellen stellen eine relativ häufige Quelle für Laborinfektionen dar. Im Serum können Antikörper gegen Brucellen nachgewiesen werden, wobei nicht zwischen den Spezies unterschieden werden kann (Serologie).

Q-Fieber: Zum molekulargenetischen Nachweis von *Coxiella burnetii* eignen sich EDTA- oder Citratblut, Knochenmarkaspirat, Sputum, Urin und Gewebeproben. Kontakt zu Tieren, wie Rindern, Schafen, Ziegen oder Wildtieren kann ein Hinweis auf eine entsprechende Infektion sein. Allerdings kann der Erreger auch über Zeckenbisse oder auf aerogenem Weg übertragen werden. Die Anzucht des Erregers sowie der Antikörpernachweis aus Serum sind möglich, aber nicht im diagnostischen Spektrum von ZBS2 enthalten.

Serologische Untersuchungen auf HPME:

Retrospektiv kann eine Infektion durch den Nachweis spezifischer Antikörper im Serum oder Plasma bestätigt werden. Bei negativem Erregernachweis kann der serologische Befund alleiniger Anhalt für eine entsprechende Infektion sein. Zur Interpretation serologischer Befunde ist der Impfstatus des Patienten bezüglich einer entsprechenden Impfung, die in der Regel bei den in ZBS2 untersuchten Erregern nicht vorliegt, oder einer vorangegangenen identischen Infektion zu erfragen. Gegebenenfalls sind zwei Serumproben im Abstand von mindestens zwei Wochen abzunehmen, um einen Titeranstieg als Ausdruck einer akuten Infektion nachzuweisen. Serum wird nach Standardverfahren entnommen.

Wichtig: Die Untersuchung erfolgt nur nach telefonischer Rücksprache! Die Abnahme und der Versand der Proben sollten so erfolgen, dass eine Erregerisolierung durchgeführt werden kann (sterile Gewinnung, möglichst vor Antibiose, Expressversand). In sehr dringenden Fällen kann eine Untersuchung nach Absprache auch außerhalb der Kernarbeitszeit (in der Regel Mo-Fr von 8.30 bis 17 Uhr) erfolgen. Eine 24/7-Laborbereitschaft wird nur für dringende Notfälle vorgehalten. Unser Notfalldienst ist telefonisch (Tel. 030/18754-0) 24 Stunden, 7 Tage in der Woche erreichbar. Die Annahme von Proben an der Pforte der Liegenschaft Seestr. 10 ist jederzeit möglich.

Kontakt: PD Dr. Holger Scholz, Tel. 030-18754-2100, ScholzH@rki.de
Dr. Daniela Jacob -2934, JacobD@rki.de
Dr. Silke Klee -2673, KleeS@rki.de
Dr. Susann Dupke -2114, DupkeS@rki.de

Adresse: PD Dr. Holger Scholz, Robert Koch-Institut, ZBS2, Seestraße 10, 13353 Berlin

Einsendungen sollten vorzugsweise den Probenbegleitschein von ZBS2 enthalten (https://www.rki.de/zbs2-diagnostik-begleitschein) bzw. es müssen mindestens folgende Informationen mitgeteilt werden:

- Patientenidentifikation (vorzugsweise verschlüsselt, jedoch Angabe von Geschlecht und Geburtsjahr) bzw. Identifikation von Umweltproben
- Auftraggeber und Empfänger des Ergebnisberichtes
- Art der diagnostischen Anforderung
- Materialbeschreibung
- Wenn möglich, Kurzbeschreibung des klinischen Bildes und anamnestischer Zusammenhänge bzw. der Umweltproblematik
- Evtl. Widerruf zur pseudonymisierten Weiterverwendung des Probenmaterials bzw. von Erregerisolaten.