ZBS2, HOCHPATHOGENE MIKROBIELLE ERREGER

KL FÜR FRANCISELLA TULARENSIS, KL FÜR BACILLUS ANTHRACIS,

KL FÜR YERSINIA PESTIS; KL FÜR HUMANPATHOGENE VIBRIONEN

Präanalytikhandbuch

Inhaltsverzeichnis

1 Zweck ... 3

2 Abkürzungen und Definitionen ... 3

3 Präanalytische Informationen und Hinweise ... 4

3.1 Allgemeine Informationen und Hinweise ... 4

3.2 Leistungsangebot ... 4

3.3 Formblätter ... 5

3.4 Hinweise zur Ausfüllung der Formblätter ... 6

3.5 Informationen für Patienten bzw. Probanden zur Vorbereitung der Probenentnahme ... 6

3.6 Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben ... 6

3.7 Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten ... 7

3.8 Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probentransports ... 7

3.9 Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien ... 8

3.10 Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben ... 9

3.11 Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen ... 9

3.12 Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben ... 9

3.13 Rückmeldungen und Reklamationen ... 9

3.14 Gebühren ... 10

4 Besondere Sicherheitsmaßnahmen ... 10

5 Verweise ... 11

5.1 Mitgeltende Dokumente (Metadaten hinterlegt) ... 11

5.2 Literatur ... 11

1 Zweck

Im Rahmen dieses Primärprobenhandbuchs werden den Einsendern spezifische Anweisungen für die ordnungsgemäße Entnahme und Handhabung von Primärproben gegeben, mit dem Ziel der Optimierung der präanalytischen Phase von Untersuchungsverfahren, die durch ZBS2 angeboten werden. ZBS2 stellt zudem das nationale Konsiliarlaboratorium (KL) für *Francisella tularensis*, das KL für *Bacillus anthracis*, das KL für *Yersinia pestis* sowie das KL für humanpathogene Vibrionen dar.

Das Primärprobenhandbuch enthält insbesondere

- Anweisungen zu Probenahme und Versand (4.6, 4.8),
- eine Aufstellung über die zur Verfügung stehenden Laboruntersuchungen (Leistungsangebot, 4.2),
- Einsendeinformationen über die medizinischen Indikationen und/oder die adäquate Auswahl von zur Verfügung stehenden Laborleistungen (4.2),
- Hinweise zur Ausfüllung des Probenbegleitscheines (4.3, 4.4),
- Verweise auf Formblätter für Einverständniserklärungen (4.2),
- Verfahrensbeschreibungen und Anweisungen über die richtige Auswahl und Entnahme sowie den Versand von Proben (4.6, 4.8),
- Verfahren zur Identitätskennzeichnung der Primärprobe einschließlich der Art und Menge der Probe (4.6, 4.7),
- Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probentransportes (4.8)
- Anweisungen für die sichere Entsorgung des bei der Probenentnahme verwendeten Materials (4.9),
- Anweisungen zu den Aufbewahrungsbedingungen untersuchter Proben (4.10),
- Regelungen zur Möglichkeit von zusätzlichen und/oder Wiederholungsuntersuchungen (4.11),
- Kriterien zur Annahme oder Zurückweisung von Proben (4.12),
- Informationen zu Rückmeldungen und Reklamationen (4.13) sowie Gebühren (4.14).

2 Abkürzungen und Definitionen

Abkürzung	Ausdruck
ADR	Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par route
BSL	Biosicherheitslabor
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
HPME	Hochpathogene mikrobielle Erreger
IATA	International Air Transport Association
IfSG	Infektionsschutzgesetz
(rt) PCR	(Real Time) Polymerasekettenreaktion
STAKOB	Ständiger Arbeitskreis der Kompetenz- und Behandlungszentren für Krankheiten durch hochpathogene Erreger
ZBS	Zentrum für biologische Gefahren und Spezielle Pathogene

3 Präanalytische Informationen und Hinweise

3.1 Allgemeine Informationen und Hinweise

Leitung: PD Dr. Holger Scholz

Vertretung: Dr. Daniela Jacob (Diagnostik), PD Dr. Klaus Heuner (Forschung)

Das ZBS2 für HPME nutzt verschiedene Methoden der Diagnostik zur Identifizierung von Infektionen und Kontaminationen mit HPME.

Neben klassischen bakteriologischen Methoden werden moderne molekulare und immunologisch-serologische Methoden eingesetzt und weiterentwickelt, um eine schnelle verlässliche Erkennung von Infektionen mit HPME zu ermöglichen. Weitere ausführliche Informationen zu diesen bakteriellen Krankheitserregern sind auf der Homepage des RKI der Allgemeinheit zugänglich. Neben den Erregern von Anthrax, Tularämie und Pest sowie humanpathogenen Vibrionen im Rahmen der konsiliarlaboratorischen Tätigkeit werden auch andere, meist zoonotische HPME diagnostiziert bzw. differential-diagnostisch ausgeschlossen (s. Anlage, „Diagnostikangebot ZBS2“).

Vor der Einsendung der Proben muss mit dem ZBS2 Kontakt aufgenommen werden (möglichst telefonisch, alternativ auch per E-Mail), um Ablauf und Art, sowie den Zeitrahmen der Analysen abzuklären. Der Eingang von Proben sollte möglichst nicht an einem Wochenende oder an Feiertagen erfolgen, da nur für Notfälle eine 24/7 Laborbereitschaft vorgehalten wird. Unser Notfalldienst ist telefonisch 24 h, 7 Tage in der Woche (24/7) erreichbar. Die Annahme von Proben an der Pforte der RKI-Liegenschaft Seestr. 10 ist jederzeit möglich. Während der üblichen Arbeitszeit (Mo-Fr von 8.30 bis 17 Uhr) kann mit der Laborarbeit unmittelbar begonnen werden. Am Abend oder in der Nacht startet die Laborarbeit unter Umständen mit einem Zeitverzug von einigen Stunden. An Wochenenden ermöglicht eine Labor-Rufbereitschaft die Laborarbeit 1 Stunde nach Eingang des Notrufes zu beginnen. Notruf: RKI-Zentrale Tel. 030/18754-0.

Das Robert Koch-Institut hat ein Risikomanagementsystem implementiert mit dem Ziel der Vermeidung von Schäden für den Patienten und zur Verbesserung der Patientenversorgung. Dieser Prozess umfasst die systematische Erfassung und Bewertung von Risiken, um fehlerhafte Ergebnisse möglichst gering zu halten. Hierbei werden kritische Aspekte des Probeneingangs, Untersuchungsphase und postanalytischen Phase regelmäßig überwacht. Mögliche Maßnahmen zur Behandlung von Risiken werden abgeleitet, sodass die Dienstleistungen mit größtmöglicher Wahrscheinlichkeit in einem angemessenen Umfang erbracht werden können. Unter Berücksichtigung der Erfüllung der Sorgfaltspflicht ist ein mögliches Restrisiko dennoch nicht vollumfänglich auszuschließen.

3.2 Leistungsangebot

- Die angebotenen Leistungen beinhalten die Beratung zu Fragen der Diagnostik, der epidemiologischen Analyse, der pathogenetischen Relevanz eingesandter Isolate sowie die Interpretation der diagnostischen Ergebnisse. Therapieempfehlungen im Einzelfall kann das ZBS2 nicht abgeben; hier hat es lediglich beratende Funktion. Bei besonders schwierigen klinischen Fällen kann der Ständige Arbeitskreis der Kompetenz- und Behandlungszentren für Krankheiten durch hochpathogene Erreger (STAKOB) einbezogen werden (www.stakob.de).
- Quantitative Real-Time PCR (qPCR): Der zurzeit schnellste und hochsensitive Nachweis von HPME ist der Nachweis der Nukleinsäure der Bakterien mittels qPCR. Dabei werden

verschiedene Zielstrukturen der Erreger-DNA erfasst, womit die diagnostische Sicherheit erhöht wird. Weiterführende molekulare Typisierungsmethoden sind möglich.

- Mikroskopie und Anzucht/Isolierung: Für die Bestätigung des Vorhandenseins lebender Bakterien und deren weitere Charakterisierung stellt die Anzucht ein entscheidendes Element der Diagnostik dar. Darüber hinaus kann die Anzucht unter optimalen Bedingungen auch den sensitivsten Nachweis der Bakterien darstellen. Parallel zur Kultivierung der Bakterien und für eine erste Identifizierung können Färbungen und mikroskopische Verfahren eingesetzt werden. In ZBS2 sind verschiedene Verfahren zur Isolierung der Bakterien über deren Kultivierung mittels verschiedener Nährmedien, einschließlich Selektivnährmedien, etabliert.
- Serologie: Neben dem direkten Nachweis der Erreger mit Hilfe der qPCR oder der Anzucht können Expositionen mit diesen Bakterien bei Menschen und Tieren auch indirekt mit serologischen Methoden nachgewiesen werden. Antikörper gegen die Bakterien können mit spezifischen ELISA bestimmt werden. Darüber hinaus stehen für eine zusätzliche Bestätigung der Antikörper Westernblots zur Verfügung. Für den Nachweis des Cholera-Toxins aus Bakterienkulturen werden ebenfalls immunologische Methoden angewendet.

Die Tabelle in der Anlage „Diagnostikangebot ZBS2“ zeigt die in unserem Labor etablierten und evaluierten Methoden für HPME.

Die Durchführung der PCR- und Serologie-Untersuchungen erfordert eine Bearbeitungszeit von bis zu 2 Werktagen. Ein schriftlicher Bericht wird im Allgemeinen ca. 2-3 Werktage, bei serologischen Fragestellungen innerhalb von 2-5 Werktagen nach Probeneingang erstellt. Die Durchführung der Anzucht und Identifizierung dauert bis zu 5 Werktage für *Bacillus anthracis* und weitere Anthrax-Erreger der *Bacillus cereus*-Gruppe und schnell wachsende HPME sowie bis zu 10 Werktage für *Francisella tularensis* und andere langsam wachsende HPME. Wird die Anzucht der Erreger durchgeführt, kann sich der Zeitraum bis zum endgültigen Bericht verzögern oder das Anzuchtergebnis wird im positiven Fall nachgeliefert (entsprechender Vermerk auf dem Bericht wird eingefügt). Bei begründeter klinischer Fragestellung (z. B. akuter Fall) oder Umweltproben mit dringender Fragestellung (z.B. Proben mit Bioterrorverdacht) kann ein vorläufiger Bericht zu einzelnen Untersuchungsergebnissen angefordert werden. Der vorläufige Bericht wird vorzugsweise telefonisch (für dringende Fälle sollte die Nummer eines Mobiltelefons angegeben werden) an eine vom Einsender benannte autorisierte Person übermittelt. Nach Abschluss aller Untersuchungen folgt ein endgültiger Bericht. Die Rückstellproben bzw. die gewonnenen Isolate gehen in das Repository von ZBS2 zur etwaigen pseudonymisierten Weiterverwendung im Rahmen von QM-Maßnahmen oder wissenschaftlichen Fragestellungen über. Es wird davon ausgegangen, dass von dem Patienten ein Einverständnis vorliegt, das von ihm stammende biologische Material oder persönliche Daten in pseudonymisierter Form für wissenschaftliche Zwecke weiterzuverwenden. Wenn dies abgelehnt wird, muss es auf dem Probenbegleitschein (s. 4.3) entsprechend angekreuzt werden.

3.3 Formblätter

- Einverständniserklärungen für die Entnahme oder Untersuchungen von Proben im Rahmen des Leistungsangebotes von ZBS2 sind nicht erforderlich.
- Einsendungen müssen einen Probenbegleitschein enthalten (vorzugsweise sollte der Probenbegleitschein von ZBS2 verwendet werden: https://www.rki.de/zbs2-diagnostik-begleitschein), aus dem mindestens hervorgeht:

- 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.

Probenannahme im RKI und Transport zum zuständigen Labor (siehe VAW Probeneingang)

3.4 Hinweise zur Ausfüllung der Formblätter

Jede eingesandte Probe muss mit einem Probenbegleitschein versehen sein (siehe 4.3). Der Nachweis einer Reihe von HPME ist nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) namentlich meldepflichtig. Entsprechend den Definitionen hat diese Meldepflicht durch den behandelnden Arzt bzw. das erstmalig diagnostizierende Labor zu erfolgen. Für Anthrax ist z. B. gemäß §6 IfSG der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod und gemäß §7 der direkte oder indirekte Erregernachweis zu melden. Für Tularämie gilt eine Meldepflicht für den Erregernachweis gemäß §7 IfSG (https://www.rki.de/meldepflicht). Der Ergebnisbericht beinhaltet dazu eine entsprechende Information. Weitere Informationen über meldepflichtige Erkrankungen sind in der Anlage „Diagnostikangebot ZBS2“ aufgeführt.

3.5 Informationen für Patienten bzw. Probanden zur Vorbereitung der Probenentnahme

Der Patient sollte vom behandelnden Arzt um das Einverständnis gebeten werden, dass das von ihm gewonnene, nach Abschluss der Diagnostik überschüssige Material sowie die pseudonymiserten, personenbezogenen Daten für wissenschaftliche Zwecke weiterverwendet werden dürfen.

3.6 Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben

Die Indikation für eine Untersuchung auf HPME ist auf den entsprechenden Internetseiten des RKI beschrieben, wie z.B.
Ratgeber für Ärzte:
https://www.rki.de/ratgeber.html
Mikrobiologische Untersuchungen und Erregerfeintypisierung am RKI von A-Z:
https://www.rki.de/mikrobiologische-untersuchungen-am-rki
Falldefinitionen:
https://www.rki.de/falldefinitionen

Informationen zu geeigneten Primärproben für die Diagnostik von HPME werden in der Anlage „Diagnostikangebot ZBS2“ zur Verfügung gestellt.
Zweckmäßigerweise sollten Proben zur Untersuchung mittels PCR in Amies-Transportmedium versandt werden. Organ- und Gewebeproben sollten möglichst gekühlt, alle anderen Proben können bei Raumtemperatur versendet werden, sofern die üblichen Transportzeiten für medizinisches Probenmaterial (siehe 4.8) nicht deutlich überschritten werden.

Die für den Transport beauftragte Firma sollte ein Qualitätssicherungssystem nachweisen können.

Bei serologischen Untersuchungen können stark hämolytische Proben, unvollständig geronnene Serumproben sowie Plasmaproben mit Fibrin, hyperlipämische, stark bilirubinhaltige, bakteriell kontaminierte und hitze-inaktivierte Proben oder kreuzreaktive Antikörper (weitestgehend durch Validierung ausgeschlossen) zu falsch-reaktiven Ergebnissen führen. Der Nachweis von Bakterien kann durch Autolyse des Gewebes oder zu lange Transportzeiten negativ beeinflusst werden.

Methode	Material	Menge	Transport
Serologische Untersuchungen	Serum (vorzugsweise) Plasma Vollblut	0,2-10 ml 0,2-10 ml 1-10 ml	Raumtemperatur
PCR, Anzucht	Wundabstrich (Hautabstrich, Ulcusmaterial) Organ/Gewebe (Biopsie) Körperflüssigkeiten (z. B. Urin, Liquor)	Nach Verfügbarkeit	Möglichst gekühlt, Amies-Transportmedium
	Blutkultur	2-10 ml	Raumtemperatur
	Bakterienkultur	wenig Koloniematerial	Raumtemperatur, Tupfer in Amies-Transportmedium
	Weitere Proben (auch tierische Proben oder Umweltproben)	Nach Absprache	Nach Absprache

S. auch Punkt 3.8 dieses Handbuches.

3.7 Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten

Jede eingesendete Probe muss mit einer eindeutigen Proben-Nr. (Labor-Nr. des Einsenders) gemäß dem Probeneinsendeformular gekennzeichnet sein. Abnahmedatum und Zeit muss auf der Probe vermerkt werden. Einsendungen, die nicht von einem ausgefüllten Einsendeschein begleitet sind, können nicht bearbeitet werden. Vorzugsweise sollte der Probenbegleitschein von ZBS2 verwendet werden: https://www.rki.de/zbs2-diagnostik-begleitschein

3.8 Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probentransports

Es ist sicherzustellen, dass die Probe so schnell wie möglich das Untersuchungslabor erreicht. Alle Proben mit Fragestellung der Anzucht von Bakterien müssen auf schnellstem Weg (möglichst innerhalb von 12-24 h nach Abnahme) beim Empfänger eintreffen. Organ- und Gewebeproben sollten möglichst gekühlt (4-8°C) versendet werden. Alle anderen Proben sollten nicht länger als 48 h transportiert werden. Ein Probeneingang an Wochenenden oder Feiertagen ist nach Möglichkeit zu vermeiden oder muss bei hoher Dringlichkeit gesondert verabredet werden.

Probe	Versandmaterial
Serum mind. 200 µl, (Plasma mind. 200 µl, Vollblut mind. 1 ml)	Vorzugsweise Standard-Serumröhrchen abzentrifugiert oder Serumprobe; alternativ (wenn Serum nicht verfügbar) Vollblutröhrchen (Blut mit Antikoagulanz z.B. EDTA oder Heparin, vorzugsweise abzentrifugiertes Plasma).
Abstrich/Wundabstrich (mind. 1 Tupfer)	Tupfer in Transportröhrchen mit halbfestem/flüssigem Transportmedium (vorzugsweise Amies-Medium)
Organmaterial (mind. 0,1-0,5 g)	Transportröhrchen oder –gefäß mit Transportmedium (isotonische NaCl oder PBS, Amies-Medium)
Blutkultur (mind. 2 ml) bzw. Blutkultur-Flasche (BD-System)	Steril abgenommene Blutkultur mit nachgewiesenem Wachstum oder beimpfte Blutkultur-Flasche (Becton-Dickinson-System) nach Absprache
Bakterienkultur (mind. 1 Tupfer/Öse)	Tupfer in Transportröhrchen mit halbfestem/flüssigem Transportmedium (vorzugsweise Amies-Medium)
Weitere Sekrete und Körper-flüssigkeiten (mind. 100 µl)	Transportröhrchen, steril ohne Zusätze oder in Blutkulturflaschen steril abgenommen
Umweltproben	asserviert in geeigneten Probengefäßen, RT oder gekühlt, nach Absprache; 50-100 g oder 50-100 ml
Weitere Proben (auch tierische Proben)	nach Absprache

Einsendungen an das ZBS2 für HPME müssen gemäß den Bestimmungen zum Versand von medizinischem Untersuchungsmaterial verschickt werden, das bedeutet vorzugsweise in dreifacher Verpackung nach der Verpackungsvorschrift P650 (siehe Bestimmungen zum Probentransport nach ADR, https://www.rki.de/probentransport). Die für den Transport beauftragte Firma sollte ein Qualitätssicherungssystem nachweisen können. Verpackung und Transportbedingungen von Umweltproben sind von der jeweiligen Risikobewertung des einzelnen Einsenders abhängig. Diagnostische Proben (Primärproben) mit Verdacht auf Bakterien der Risikogruppe 3 (z. B. *B. anthracis*, *F. tularensis*, *Brucella* spp.) gehören zur Kategorie B, UN 3373, und müssen mit der Bezeichnung „Biological substance, category B“ versehen sein. Dies gilt auch für Bakterienisolate, die noch bestätigt werden müssen bzw. deren Identifizierung auf Grund der angewandten Diagnostik nicht eindeutig ist. Bereits diagnostizierte Reinkulturen von *B. anthracis*, verwandten Anthrax-Erregern, *F. tularensis* oder anderen Erregern der Risikogruppe 3 bzw. als Kategorie A nach IATA oder ADR klassifiziert, die zur weiteren Charakterisierung an das ZBS2 eingesandt werden, müssen entsprechend UN 2814 (P620) verpackt und versendet werden.
Unsachgemäß verpackte Einsendungen stellen eine Gefährdung für die transportierenden oder annehmenden Mitarbeiter dar und können daher zurückgewiesen bzw. sachgerecht entsorgt werden.

3.9 Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien

Die Entsorgung von infektiösen Materialien muss gemäß dem Stand von Wissenschaft und Technik (vorzugsweise durch Autoklavieren) erfolgen.

3.10 Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben

Proben zur serologischen Untersuchung werden bis zur Analyse bei 4°C aufbewahrt; Proben zur PCR-Untersuchung oder Anzucht ebenfalls bei 4°C, wobei diese in der Regel sofort nach Eingang bearbeitet werden. Nach den Analysen erfolgt eine Lagerung für 6 Monate bei 4°C oder bei -20°C (totes Material) bis -80°C (Bakterien oder bakterienhaltiges Material, das zur Anzucht verwendet werden könnte) in Abhängigkeit von der Art der Probe. Die Aufbewahrungsorte sind Kühlgeräte im akkreditierten Bereich (4°C, -20°C, -80°C). Isolierte Bakterienstämme können in die Stammsammlung von ZBS2 aufgenommen werden, wie auf dem Probenbegleitschein von ZBS2 ausgewiesen.

3.11 Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen

Grundsätzlich sollte die serologische Untersuchung zweimal im Mindestabstand von 2 bis 4 Wochen erfolgen, insbesondere, wenn ein grenzwertiger Erstbefund vorliegt. In Einzelfällen kann ein einmalig hoher Antikörpertiter bereits den Krankheitsverdacht bestätigen. Bei Verdacht auf andere als in der Anforderung beschriebene Krankheitserreger kann eine weitergehende Diagnostik eingeleitet werden (siehe Probenbegleitschein).

3.12 Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben

Eingesandte 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 bzw. entsorgt werden. Der Einsender, wenn ersichtlich, erhält in einem solchen Fall eine Benachrichtigung.
Einsendungen, denen kein ausgefüllter Probenbegleitschein beiliegt, können nicht befundet werden.
Einsendungen, bei denen die Proben beeinträchtigt sind und möglicherweise zu fehlerhaften Untersuchungs-ergebnissen führen (z. B. wegen zu langer Transportdauer), werden unter Vorbehalt angenommen und untersucht. Ein kritischer Zustand der Probe wird im Ergebnisbericht dokumentiert.

3.13 Rückmeldungen und Reklamationen

Für Anfragen zu Einsendungen oder Ergebnisberichten, Rückmeldungen sowie Reklamationen stehen die wissenschaftlichen Mitarbeiter des ZBS2 in der Regel werktags von 08:30 bis 17:00 zur Verfügung.
Kontakte:
PD Dr. Holger Scholz (Leiter ZBS2)
Telefon: +49 (0)30 - 18754-2100
E-Mail: ScholzH@rki.de
Dr. Daniela Jacob (Stvtr. Leiterin ZBS2)
Telefon: +49 (0)30 - 18754-2934
E-Mail: JacobD@rki.de
Dr. Silke Klee (Wiss. Mitarbeiterin und Qualitätsmanagement-Beauftragte ZBS2)
Telefon: +49 (0)30 - 18754-2673
E-Mail: KleeS@rki.de
Dr. Susann Dupke (Wiss. Mitarbeiterin ZBS2)
Telefon: +49 (0)30 - 18754-2114
E-Mail: DupkeS@rki.de
Weitere Mitarbeiter nach Vereinbarung.

Für einen kontinuierlichen Verbesserungsprozess kann ein Dokument zur Kundenzufriedenheitsumfrage mit dem Laborbericht verschickt werden, um Anregungen, Rückmeldungen, sowie Reklamationen und Lob von den Einsendern entgegen zu nehmen.
Das Robert Koch-Institut ist bestrebt, eine bestmögliche Dienstleistung für alle Patienten und andere Nutzer zu erbringen. Sollten dennoch nichtkonforme Arbeiten durchgeführt worden sein, dann können Sie sich gerne an uns wenden. Hierzu stehen Ihnen die oben genannten Ansprechpartner zur Verfügung. Der Erhalt einer Beschwerde wird dem Nutzer schriftlich bestätigt und im System intern erfasst. Im Anschluss wird geprüft, ob diese sich auf die Tätigkeiten des Robert Koch-Instituts bezieht und gerechtfertigt ist. Dem Beschwerdeführer werden ggf. Fortschrittsberichte und das Ergebnis mitgeteilt. Die Klärung der Beschwerde erfolgt unparteilich und vertraulich durch autorisierte Mitarbeitende, die nicht in die Ursache der Beschwerde involviert gewesen sind.

3.14 Gebühren

In der Regel sind die Untersuchungen bis auf Widerruf kostenlos. Falls Gebühren erhoben werden, wird der Einsender darauf hingewiesen. Die Durchführung der Untersuchungen kann nach GOÄ abgerechnet werden.

Art des eingesetzten Verfahrens	GOÄ-Nr.
Isolierung von Nukleinsäuren	4780
Amplifikation von Nukleinsäuren oder Nukleinsäurefragmenten mittels PCR	4783
Identifizierung von Nukleinsäurefragmenten durch Sequenzermittlung	4787
ELISA (Bestimmung von AK mittels Ligandenassay)	4291
Immunoblot	A-4408
Gramfärbung des Probenmaterials	4511
Rakette oder andere Färbung des Probenmaterials	4513
Gramfärbung des Bakterienkulturausstriches	4553
Bakterien-Nachweis, aerobe Züchtung auf Selektiv-/Anreicherungsmedien, je Nährmedium	4538
Bakterien-Nachweis, Züchtung in CO_2-Atmosphäre, je Nährmedium	4532
Orientierende Identifizierung, Untersuchung von angezüchteten Bakterien mit einfachen Verfahren (z. B. Oxidasetest)	4545
Agglutinationsreaktion (Vibrio O:1, O:139)	4432
Untersuchung zum Nachweis von Bakterientoxinen mittels Ligandenassay (Choleratoxin)	4593
Untersuchung zur quantitativen Prüfung der Empfindlichkeit von Bakterien gegen Antibiotika	4614

4 Besondere Sicherheitsmaßnahmen

Proben sind potentiell infektiös, daher ist die Probenaufarbeitung unter der Mikrobiologischen Sicherheitswerkbank durchzuführen. Es gilt die aktuelle Betriebsanweisung für BSL der Schutzstufe 2 (BioStoffV). Proben von Patienten oder Umweltmaterialien, bei denen bereits bekannt ist, dass sie Erreger der Risikogruppe 3 enthalten, müssen unter Schutzstufe 3 (BioStoffV) bearbeitet werden. Weiterführende Charakterisierungen von Reinkulturen von Erregern der Risikogruppe 3 haben im BSL

der Schutzstufe 3 zu erfolgen, es sei denn, sie wurden nachweislich inaktiviert. Grundlage für die Festlegung der Sicherheitsmaßnahmen sind für den Arbeitsschutz die Technischen Richtlinien für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) des Ausschusses für Biologische Arbeitsstoffe.

5 Verweise

5.1 Mitgeltende Dokumente (Metadaten hinterlegt)

Diagnostikangebot ZBS2
Probenbegleitschein ZBS2

Sämtliche Anweisungen für die angewandten Methoden werden in aktueller und autorisierter Fassung im ZBS2 vorgehalten und beinhalten Verfahrensvorschriften zur Präanalytik, Analytik und Postanalytik. Diese können bei Bedarf und nach Absprache mit dem Leiter und der Qualitätsbeauftragten von ZBS2 eingesehen werden.

Anlagen:
Diagnostikangebot ZBS2
(https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Diagnostik/Diagnostikangebot_ZBS2.pdf)
Probenbegleitschein ZBS2 (https://www.rki.de/zbs2-diagnostik-begleitschein)

5.2 Literatur

Köppen K, Fatykhova D, Holland G, Rauch J, Tappe D, Graff M, **Rydzewski K**, Hocke AC, Hippenstiel S, **Heuner K** (2023) Ex vivo infection model for *Francisella* using human lung tissue. Front Cell Infect Microbiol 13:1224356.

Köppen K, Rydzewski K, Doellinger J, Myrtennäs K, Forsman M, **Appelt S, Scholz H, Heuner K** (2023) Phenotypic and genotypic discrimination of *Francisella tularensis* ssp. *holarctica* clades. Int J Med Microbiol 313(4):151583.

Scholz HC, Heckers KO, **Appelt S**, Geier-Dömling D, Schlegel P, Wattam AR (2023) Isolation of *Brucella inopinata* from a White's tree frog (*Litoria caerulea*): pose exotic frogs a potential risk to human health? Front Microbiol 14:1173252.

Cloeckaert A, Roop RM 2nd, **Scholz HC**, Whatmore AM, Zygmunt MS (2024) Editorial: Pathogenomics of the genus *Brucella* and beyond, volume II. Front Microbiol 15:1370330.

Gummelt C, Dupke S, Howaldt S, Zimmermann F, Scholz HC, Laue M, **Klee SR** (2023) Analysis of sporulation in *Bacillus cereus* biovar anthracis which contains an insertion in the gene for the sporulation factor σ^K. Pathogens 12(12):1442.

Schmidt K, Scholz HC, Appelt S, Michel J, Jacob D, Dupke S (2023) Virulence and resistance patterns of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 acquired in Germany and other European countries. Front Microbiol 14:1282135.

Nürnberg M, Martinez GE, **Jacob D, Dupke S**, Graf B, Kotsias-Konopelska S, Kampmann B, Mockenhaupt FP, K Lindner AK (2023) Two cases of imported cholera in Germany after short business travel to Yaoundé, Cameroon. J Travel Med 30(5):taad098.

Dupke S, Buchholz U, Fastner J, Förster C, Frank C, Lewin A, Rickerts V, Selinka H-C (2023) Auswirkungen des Klimawandels auf wasserbürtige Infektionen und Intoxikationen. J Health Monit 8(Suppl 3):62-77.

Schaudinn C, **Rydzewski K**, **Meister B**, **Grunow R**, **Heuner K** (2023) *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* wild-type is able to colonize natural aquatic ex vivo biofilms. Front Microbiol. 14:1113412.

Borgschulte HS, **Jacob D**, Zeeh J, **Scholz HC**, **Heuner K** (2022) Ulceroglandular form of tularemia after squirrel bite: a case report. J Med Case Rep. 16(1):309.

Pfeil J, **Heuner K**, **Scholz H**, Strozyk T, **Jacob D** (2022) Ulkus und Lymphadenitis nach Zeckenstich. *Monatsschr Kinderheilkd* (2022). https://doi.org/10.1007/s00112-022-01671-w

Appelt S, Rohleder AM, Jacob D, von Buttlar H, Georgi E, Mueller K, Wernery U, Kinne J, Joseph M, Jose SV, **Scholz HC** (2022) Genetic diversity and spatial distribution of *Burkholderia mallei* by core genome-based multilocus sequence typing analysis. PLoS One 17(7):e0270499.

Köppen K, Prensa GI, **Rydzewski K, Tlapák H**, Holland G, **Heuner K** (2021) First Description of a Temperate Bacteriophage (vB_FhiM_KIRK) of *Francisella hispaniensis* Strain 3523. Viruses. 13(2):327.

Brehm TT, **Dupke S**, Hauk G, Fickenscher H, Rohde H, Berneking L (2021) Nicht-Cholera-Vibrionen – derzeit noch seltene, aber wachsende Infektionsgefahr in Nord- und Ostsee. Internist (Berl) 62(8):876-886.

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 (2021) German *Vibrio* Study Group. Heatwave-associated *Vibrio* infections in Germany, 2018 and 2019. Euro Surveill. 26(41):2002041.

Sundell D, Uneklint I, Öhrman C, Salomonsson E, Karlsson L, Bäckman S, Näslund J, Sjödin A, Forsman M, **Appelt S**, Drechsel O, **Jacob D**, **Heuner K**, Myrtennäs K (2020) Complete Genome Sequence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* Strain A271_1 (FDC408), Isolated from a Eurasian Beaver (Castor fiber). Microbiol Resour Announc. 9(45):e00738-20.

Ashford RT, Muchowski J, Koylass M, **Scholz HC,** Whatmore AM (2020) Application of Whole Genome Sequencing and Pan-Family Multi-Locus Sequence Analysis to Characterize Relationships Within the Family *Brucellaceae*. Front Microbiol. 11:1329.

Jacob D, Barduhn A, Tappe D, Rauch J, **Heuner K,** Hierhammer D, Vom Berge K, Riehm JM, Hanczaruk M, Böhm S, Böhmer MM, Konrad R, Bouschery B, Dauer M, Schichtl E, Hossain H, **Grunow R** (2020) Outbreak of Tularemia in a Group of Hunters in Germany in 2018 - Kinetics of Antibody and Cytokine Responses. Microorganisms. 8(11):1645.

Appelt S, Faber M, **Köppen K, Jacob D, Grunow R, Heuner K** (2020) *Francisella tularensis* Subspecies holarctica and Tularemia in Germany. Microorganisms. 8(9):1448.

Dupke S, Schubert G, Beudjé F, **Barduhn A,** Pauly M, Couacy-Hymann E, **Grunow R,** Akoua-Koffi C, Leendertz FH, **Klee SR** (2020) Serological evidence for human exposure to *Bacillus cereus* biovar *anthracis* in the villages around Taï National Park, Côte d'Ivoire. PLoS Negl Trop Dis. 14(5):e0008292.

Rohde A, Papp S, Feige P, Grunow R, Kaspari O (2020) Development of a novel selective agar for the isolation and detection of *Bacillus anthracis*. J Appl Microbiol. 129:311-318.

Born F, Braun P, **Scholz HC**, Grass G (2020) Specific Detection of *Yersinia pestis* Based on Receptor Binding Proteins of Phages. Pathogens. 9(8):611.

Dupke S, Barduhn A, Franz T, Leendertz FH, Couacy-Hymann E, **Grunow R, Klee SR** (2019) Analysis of a newly discovered antigen of *Bacillus cereus* biovar *anthracis* for its suitability in specific serological antibody testing. J Appl Microbiol. 126(1):311-323.

Appelt S, Köppen K, Radonić A, Drechsel O, **Jacob D, Grunow R, Heuner K** (2019) Genetic Diversity and Spatial Segregation of *Francisella tularensis* Subspecies holarctica in Germany. Front Cell Infect Microbiol. 9:376.

Jacob D, Köppen K, Radonić 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).

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(2):197-199.

Faber M, **Heuner K, Jacob D, Grunow R** (2018) Tularemia in Germany - A Re-emerging Zoonosis. Front Cell Infect Microbiol. 8:40.

Feldman M, Harbeck M, Keller M, Spyrou MA, Rott A, Trautmann B, **Scholz HC**, Päffgen B, Peters J, McCormick M, Bos K, Herbig A, Krause J (2016) A High-Coverage *Yersinia pestis* Genome from a Sixth-Century Justinianic Plague Victim. Mol Biol Evol. 33(11):2911-2923.

Seifert L, Wiechmann I, Harbeck M, Thomas A, Grupe G, Projahn M, **Scholz HC**, Riehm JM (2016) Genotyping *Yersinia pestis* in Historical Plague: Evidence for Long-Term Persistence of *Y. pestis* in Europe from the 14th to the 17th Century. PLoS One. 11(1):e0145194.

Antonation KS, Grützmacher K, **Dupke S**, Mabon P, **Zimmermann F**, Lankester F, Peller T, Feistner A, Todd A, Herbinger I, de Nys HM, Muyembe-Tamfun JJ, Karhemere S, Wittig RM, Couacy-Hymann E, **Grunow R**, Calvignac-Spencer S, Corbett CR, **Klee SR**, Leendertz FH (2016) *Bacillus cereus* Biovar *Anthracis* Causing Anthrax in Sub-Saharan Africa-Chromosomal Monophyly and Broad Geographic Distribution. PLoS Negl Trop Dis. 10(9):e0004923.

Stern D, Richter M, Schrick L, Lasch P, Keeren K, Polleichtner A, **Lemmer K**, Nitsche A, **Grunow R**, Herzog C, Dorner BG, Schaade L (2016) [On-site detection of bioterrorism-relevant agents : Rapid detection methods for viruses, bacteria and toxins - capabilities and limitations]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 59:1577-1586.

Grunow R, **Jacob D**, **Klee S**, Schlembach D, Jackowski-Dohrmann S, Loenning-Baucke V, Eberspächer B, Swidsinski S (2016) Brucellosis in a refugee who migrated from Syria to Germany and lessons learnt, 2016. Euro Surveill. 21(31).

Dupke S, Akinsinde KA, **Grunow R**, Iwalokun BA, Olukoya DK, Oluwadun A, Velavan TP, **Jacob D** (2016) Characterization of *Vibrio cholerae* strains isolated from the Nigerian cholera outbreak in 2010. J Clin Microbiol. 54:2618-2621.

Schulze C, **Heuner K**, Myrtennäs K, Karlsson E, **Jacob D**, Kutzer P, GroßE K, Forsman M, **Grunow R** (2016) High and novel genetic diversity of *Francisella tularensis* in Germany and indication of environmental persistence. Epidemiol Infect. 144:3025-3036.

Slesak G, Fleck R, **Jacob D**, **Grunow R**, Schäfer J (2016) Imported cholera with acute renal failure after a short business-trip to the Philippines, Germany, October 2015. Euro Surveill. 21(1).

Becker S, **Lochau P**, **Jacob D**, **Heuner K**, **Grunow R** (2016) Successful re-evaluation of broth medium T for growth of *Francisella tularensis* ssp. and other highly pathogenic bacteria. J Microbiol Methods. 121:5-7.

Brézillon C, Haustant M, **Dupke S**, Corre JP, **Lander A, Franz T**, Monot M, Couture-Tosi E, Jouvion G, Leendertz FH, **Grunow R**, Mock ME, **Klee SR**, Goossens PL (2015) Capsules, toxins and AtxA as virulence factors of emerging *Bacillus cereus* biovar *anthracis*. PLoS Negl Trop Dis. 9(4):e0003455.

Keim P, **Grunow R**, Vipond R, Grass G, Hoffmaster A, Birdsell DN, **Klee SR**, Pullan S, Antwerpen M, Bayer BN, Latham J, Wiggins K, Hepp C, Pearson T, Brooks T, Sahl J, Wagner DM (2015) Whole genome analysis of injectional anthrax identifies two disease clusters spanning more than 13 years. EBioMedicine. 2:1613-1618.

Lasch P, Wahab T, Weil S, Pályi B, Tomaso H, Zange S, Kiland Granerud B, Drevinek M, Kokotovic B, Wittwer M, Pflüger V, Di Caro A, Stämmler M, **Grunow R**, **Jacob D** (2015) Identification of highly pathogenic microorganisms by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: Results of an interlaboratory ring trial. J Clin Microbiol. 53:2632-2640.

Zasada AA, Formińska K, Zacharczuk K**, Jacob D**, **Grunow R** (2015) Comparison of eleven commercially available rapid tests for detection of *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis* and *Yersinia pestis*. Lett Appl Microbiol. 60:409-413.

Riehm JM, Projahn M, Vogler AJ, Rajerison M, Andersen G, Hall CM, Zimmermann T, Soanandrasana R, Andrianaivoarimanana V, Straubinger RK, Nottingham R, Keim P, Wagner DM, **Scholz HC** (2015) Diverse Genotypes of *Yersinia pestis* Caused Plague in Madagascar in 2007. PLoS Negl Trop Dis. 9(6):e0003844.

Richard V, Riehm JM, Herindrainy P, Soanandrasana R, Ratsitoharina M, Rakotomanana F, Andrianalimanana S, **Scholz HC**, Rajerison M (2015) Pneumonic plague outbreak, Northern Madagascar, 2011. Emerg Infect Dis. 21(1):8-15.

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 (2014) *Yersinia pestis* and the Plague of Justinian 541-543 AD: a genomic analysis. Lancet Infect Dis. pii: S1473-3099(13)70323-2.

Rydzewski K, **Schulz T**, Brzuszkiewicz E, Holland G, Lück C, Fleischer J, **Grunow R**, **Heuner K** (2014).Genome sequence and phenotypic analysis of a first German *Francisella* sp. isolate (W12-1067) not belonging to the species *Francisella tularensis*. BMC Microbiol 14:169.

Epidemiologisches Bulletin, Ausgabe 41/2014 (Melioidose: Fallvorstellung einer Patientin aus dem Rhein-Neckar-Kreis; Hinweise zur Labordiagnostik von *Burkholderia pseudomallei*).

Grunow R, Klee SR, Beyer W, George M, **Grunow D, Barduhn A, Klar S, Jacob D,** Elschner M, Sandven P, Kjerulf A, Jensen JS, Cai W, Zimmermann R, Schaade L (2013) Anthrax among heroin users in Europe possibly caused by same *Bacillus anthracis* strain since 2000. Euro Surveill. 18(13).

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** (2013) *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6(th) century AD reveals insights into Justinianic Plague. PLoS Pathog. 9:e1003349.

Seifert L, Harbeck M, Thomas A, Hoke N, Zöller L, Wiechmann I, Grupe G, **Scholz HC**, Riehm JM (2013) Strategy for Sensitive and Specific Detection of *Yersinia pestis* in Skeletons of the Black Death Pandemic. PLoS One. 8(9):e75742.

Riehm JM, Vergnaud G, Kiefer D, Damdindorj T, Dashdavaa O, Khurelsukh T, Zöller L, Wölfel R, Le Flèche P, **Scholz HC** (2012) *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. PLoS One. 7:e30624.

Kiefer D, Dalantai G, Damdindorj T, Riehm JM, Tomaso H, Zöller L, Dashdavaa O, Pfister K, **Scholz HC** (2012) Phenotypical Characterization of Mongolian *Yersinia pestis* Strains. Vector Borne Zoonotic Dis. 12(3):183-8.

Riehm, JM others and **Scholz HC** (2011) Prevalence of *Yersinia pestis* in small rodents of Mongolia. Emerg Infect Dis. 17:1320-1322.

Riehm JM, Rahalison L, **Scholz HC**, Thoma B, Pfeffer M, Razanakoto LM, Al Dahouk S, Neubauer H, Tomaso H (2011) Detection of *Yersinia pestis* using real-time PCR inpatients with suspected bubonic plague. Mol Cell Probes. 25(1):8-12.

Klee SR, Brzuszkiewicz EB, **Nattermann H**, Bruggemann H, **Dupke S**, Wollherr A, et al. (2010) The genome of a *Bacillus* isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. PLoS ONE 5:e10986.

RKI (Grunow R, Kühn A, Bernard H, Faber M) (2010) Ein dritter Fall von Anthrax bei einem i. v. Heroinkonsumenten in Deutschland. Epid Bull 49.

Klee SR, Nattermann H, Becker S, Urban-Schriefer M, Franz T, Jacob D, Appel B (2006) Evaluation of different methods to discriminate *Bacillus anthracis* from other bacteria of the *Bacillus cereus* group. J. Appl. Microbiol. 100:673-681.

Klee SR, Ozel M, **Appel B**, Boesch C, Ellerbrok H, **Jacob D**, et al. (2006) Characterization of *Bacillus anthracis-like* bacteria isolated from wild great apes from Cote d'Ivoire and Cameroon. J. Bacteriol. 188:5333-44.

Klee SR, Tyczka J, Ellerbrok H, **Franz T**, Linke S, Baljer G, **Appel B** (2006) Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. BMC Microbiol 6:2.

Ellerbrok H, **Nattermann H**, Ozel M, Beutin L, **Appel B**, Pauli G (2002) Rapid and sensitive identification of pathogenic and apathogenic *Bacillus anthracis* by real-time PCR. FEMS Microbiol Lett. 214:51-59.