

ROBERT KOCH INSTITUT



KL FÜR POCKENVIREN

# Präanalytikhandbuch



Deutsche  
Akkreditierungsstelle  
D-ML-13113-01-02  
D-PL-13113-01-02

## 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 |
| 4.3  | Formblätter.....   | 5 |
| 4.4  | Hinweise zur Ausfüllung der Formblätter.....   | 5 |
| 4.5  | Informationen für Patienten bzw. Probanden zur Vorbereitung der Probenentnahme.....                  | 5 |
| 4.6  | Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben .....  | 5 |
| 4.7  | Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten .....                   | 6 |
| 4.8  | Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probenverkehrs ..... | 6 |
| 4.9  | Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien .....                                  | 6 |
| 4.10 | Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben.....                                | 6 |
| 4.11 | Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen .....   | 6 |
| 4.12 | Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben.....                                       | 6 |
| 4.13 | Rückmeldungen und Reklamationen.....   | 6 |
| 4.14 | Gebühren.....  | 7 |
| 5    | Besondere Sicherheitsmaßnahmen .....   | 7 |
| 6    | Verweise.....  | 7 |
| 6.1  | Mitgeltende Dokumente .....  | 7 |
| 6.2  | Literatur .....  | 7 |

## 1 QM-Dokumentenlenkung

|                       |                                       |
|-----------------------|---------------------------------------|
| Erstellt              | 20.04.2023, Janine Michel             |
| Geprüft               | 03.05.2023, Prof. Dr. Andreas Nitsche |
| Freigegeben/Gültig ab | 03.05.2023, Dr. J. Kleymann-Hilmes    |

## 2 Zweck

In diesem Präanalytikhandbuch werden spezifische Anweisungen für die ordnungsgemäße Entnahme und Handhabung von Primärproben mit dem Ziel der Optimierung der präanalytischen Phase von Untersuchungsverfahren, die durch das Konsiliarlabor für Pockenviren angeboten werden, dokumentiert und Einsenden von Proben bereitgestellt. Das Präanalytikhandbuch enthält insbesondere

- Das Leistungsangebot als Aufstellung der zur Verfügung stehenden Laboruntersuchungen
- Benötigte Informationen des Einsenders über die medizinischen Indikationen
- Hinweise zum Ausfüllen des Einsendeformulars
- 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 für die sichere Entsorgung des bei der Probenentnahme verwendeten Materials
- Anweisungen zu den Aufbewahrungsbedingungen untersuchter Proben

## 3 Abkürzungen und Definitionen

Entfällt.

## 4 Präanalytische Informationen und Hinweise

### 4.1 Allgemeine Informationen und Hinweise

**Leitung:** Prof. Dr. Andreas Nitsche

**Vertretung:** Dr. Livia Schrick, Dr. Janine Michel

Das Konsiliarlaboratorium für Pockenviren nutzt verschiedene Methoden der Diagnostik zur Identifizierung von Pockenvirusinfektionen.

Neben klassischen virologischen Methoden werden moderne molekulare Methoden weiterentwickelt, um eine schnelle verlässliche Erkennung und Typisierung von Pockenviren zu ermöglichen. Ausführliche Informationen zu den humanen Pocken und zur Impfung gegen Pocken sind auf der Homepage des Konsiliarlabors für Pockenviren der Allgemeinheit zugänglich:  
[http://www.rki.de/cln\\_151/nn\\_494682/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/konsiliar\\_pockenviren.html](http://www.rki.de/cln_151/nn_494682/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/konsiliar_pockenviren.html)

Neben humanen Pockenviren (Variolavirus/Smallpox) können auch andere humanpathogene Pockenviren wie Affenpockenviren (MPXV), Kuhpockenviren (CPXV), Parapockenviren sowie weitere Pockenviren differenziert werden.

Der Einsender von Proben wird gebeten nach Möglichkeit vor der Einsendung der Proben mit dem Konsiliarlabor telefonisch Kontakt aufzunehmen, um Ablauf und Art sowie den Zeitrahmen der Analysen abzuklären.

## 4.2 Leistungsangebot

- Beratung zu Fragen der Diagnostik, der epidemiologischen Analyse, der pathogenetischen Relevanz eingesandter Isolate sowie zur Interpretation der diagnostischen Ergebnisse. Therapieempfehlungen im Einzelfall kann das KL nicht abgeben; hier hat es lediglich beratende Funktion.
- **Real-time PCR (rtPCR):** Der zurzeit sensitivste und schnellste Nachweis von Pockenviren ist der Nachweis der Nukleinsäure des Virus mittels real-time PCR. Tabelle 1 zeigt die im Konsiliarlabor für Pockenviren etablierten und evaluierten Methoden.
- **Genomsequenzierung:** Mit Hilfe der DNA Sequenzierung (Illumina, ON AmpliSeq) ist eine Genotypisierung und damit eine genaue Identifizierung des Virus möglich.
- **Serologie:** Antikörper gegen Orthopockenviren können mittels Immunfluoreszenztest, ELISA oder Neutralisationstest quantitativ bestimmt werden. Aufgrund der antigenen Ähnlichkeit sind Antikörper gegen verschiedene Orthopockenviren mit üblichen Labormethoden nicht differenzierbar. Eine Aussage über den Infektionsstatus des Patienten/der Patientin kann nur mit einer Verlaufsbewertung oder eindeutigem IgM-Nachweis getroffen werden.
- **Elektronenmikroskopie (EM):** In enger Zusammenarbeit mit dem Konsiliarlabor für elektronenmikroskopische Diagnostik von Krankheitserregern (EM-Erregerdiagnostik) am RKI (ZBS 4) besteht die Möglichkeit der EM-Diagnostik, die bei klinischen Proben schnell und meist sensitiv genug ist. Eine genauere Typisierung unterhalb des Genus ist mit der EM nicht ohne Weiteres möglich.
- **Zellkultur:** Die Anzucht von Orthopockenviren in Zellkultur oder auf der Chorioallantoismembran kann zur biologischen Charakterisierung (CPE, CAM) durchgeführt werden, ist aber zeitintensiv und deswegen für eine Primärdiagnostik von geringerer Bedeutung. In Zellkultur kann die erfolgreiche Anzucht von Orthopockenviren mit spezifischen Antikörpern mit dem Immunfluoreszenztest bestätigt werden.

Die Durchführung der PCR- und Serologie-Untersuchungen erfordert i.d.R. eine Bearbeitungszeit von < 5 Werktagen, die der genotypischen Untersuchungen von < 14 Werktagen. Ein abschließender schriftlicher Bericht wird daher im Allgemeinen nach Abschluss aller Untersuchungen erstellt. Bei begründeter klinischer Fragestellung (z.B. akut behandlungsbedürftiger Fall, mögliche Übertragung auf Kontaktpersonen) kann ein vorläufiger Bericht zu einzelnen Untersuchungsergebnissen angefordert werden.

Tabelle 1: Mittels PCR im Konsiliarlabor nachweisbare humanpathogene Pockenviren

| Unterfamilie     | Genus                                  | Spezies-Differenzierung (PCR)   |
|------------------|--|---|
| Chordopoxvirinae | Orthopockenviren (OPXV)<br>(generisch) | Variolavirus (VARV)<br>Kuhpockenvirus (CPXV)<br>Affenpockenvirus (MPXV) |
|                  | Parapockenviren<br>(generisch)         | Orf virus<br>Pseudokuhpockenvirus<br>Bovines Papuläres Stomatitis Virus |
|                  | Molluscipockenvirus                    | Molluscum contagiosum Virus   |
|                  | Yatapockenviren                        | Tanapockenvirus   |
|                  |  | Yabapockenvirus   |

### 4.3 Formblätter

- Einverständniserklärungen für die Entnahme oder Untersuchungen von Proben im Rahmen des Leistungsangebotes des Konsiliarlabors werden von den behandelnden Ärzten eingeholt
- Einsendeformular zum Ausfüllen durch den Einsender bzgl. weiterer Informationen über das Probenmaterial (Link Probeneinsendeformular: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Pockenviren/PEF.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Pockenviren/PEF.pdf?__blob=publicationFile))
- Probenannahme im RKI und Transport zum zuständigen Labor (siehe VAW\_LAB\_proeingang)

### 4.4 Hinweise zur Ausfüllung der Formblätter

Jede eingesendete Probe sollte von einem möglichst ausführlich ausgefüllten Einsendeformular ([http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Pockenviren/PEF.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Pockenviren/PEF.pdf?__blob=publicationFile)) des Konsiliarlabors für Pockenviren begleitet sein. Mit dem Einsendeformular werden – neben den Einsenderdaten auch Angaben zur eingesendeten Probe und den angeforderten Untersuchungen – sowohl patientenbezogene als auch epidemiologisch relevante Daten erfasst. Diese Daten ermöglichen dem Labor die epidemiologische Überwachung des Auftretens und der Verbreitung von Mpox und z.B. Kuhpocken als Zoonoseerreger auf lokaler, regionaler und nationaler Ebene.

### 4.5 Informationen für Patienten bzw. Probanden zur Vorbereitung der Probenentnahme

Entfällt.

### 4.6 Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben

Indikation für eine Untersuchung ist das Auftreten von Effloreszenzen, Papeln, Pusteln oder Krusten. Der Kontakt zu Tieren, vor allem Katzen, Ratten, Schafen, Kühen oder Ziegen kann ein Hinweis auf eine Orthopocken- oder Parapockenvirus-Infektion sein. Für die PCR-Diagnostik von Vesikeln ist es bei Abstrichen wichtig darauf zu achten, dass nach Möglichkeit Vesikelflüssigkeit mit dem Tupfer aufgenommen wird. Bei Krusten sollte Krustenmaterial mit einer Pinzette in ein steriles Röhrchen überführt werden.

Serum wird nach Standardverfahren entnommen. Zur Interpretation serologischer Ergebnisse ist der Impfstatus des Patienten bezüglich der Pockenimpfung zu erfragen. Da für eine Aussage über den Infektionsstatus der Verlauf des Antikörpertiters zu bewerten ist (zwei Serumproben im Abstand von 1-3 Wochen), ist der direkte Virusnachweis aus Wundabstrich/Kruste/Organ/Gewebe mittels rtPCR meist zielführender.

Zweckmäßigerweise sollten Proben zur Untersuchung mittels PCR ohne Transportmedium versendet werden. Bei Proben mit Transportmedium muss ggf. die Probenahme wiederholt werden, falls das Transportmedium die PCR inhibiert. Ein gekühlter Versand ist nur bei Organ- und Gewebeproben erforderlich, alle anderen Proben können bei Raumtemperatur versendet werden, sofern die üblichen Transportzeiten nicht deutlich überschritten werden.

Tabelle 2: Untersuchungsmaterialien

| Methode                     | Material   | Menge              | Transport                               |
|-----------------------------|--|--------------------|---|
| PCR                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Abstrich Läsion (Papel, Pustel, Vesikel)</li> <li>• Wundsekret (flüssig)</li> <li>• Kruste</li> </ul> | Nach Verfügbarkeit | Raumtemperatur, ohne Transportmedium    |
|                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Organ/Gewebe</li> </ul>   | Nach Verfügbarkeit | Möglichst gekühlt, ohne Transportmedium |
|                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sonstiges</li> </ul>  | Nach Absprache     | Abhängig vom Material                   |
| Serologische Untersuchungen | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vollblut</li> <li>• Serum</li> </ul>  | 2-10 ml            | Raumtemperatur                          |

#### 4.7 Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten

Jede eingesendete Probe muss mit einer eindeutigen Proben-Nr. (Labor-Nr. des Einsenders) gemäß dem Einsendeformular  gekennzeichnet  sein.

[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Pockenviren/PEF.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Pockenviren/PEF.pdf?__blob=publicationFile)

#### 4.8 Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probenverkehrs

Die Verpackung der Proben muss nach den geltenden Vorschriften (Europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße, ADR) erfolgen. In der Regel erfolgt die Kennzeichnung von Erregern der Kategorie „B“ nach UN 3373 und die Verpackung gemäß Vorschrift P650. Beachten Sie die besondere Kennzeichnungspflicht, Verpackung und Versand beim Verdacht auf Erreger der Kategorie „A“ (spezielle Erreger der Risikogruppe 3, auch Isolate von S3 Erregern und bekannt Mpx positive Proben sowie alle Erreger der Risikogruppe 4). Weitere Hinweise finden Sie unter [www.rki.de](http://www.rki.de) > Infektionsschutz > Biologische Gefahren > Probenverkehr. Weitere Hinweise: ([https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Probenverkehr/Probenverkehr\\_node.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Probenverkehr/Probenverkehr_node.html) )

#### 4.9 Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien

Die Entsorgung der infektiösen Materialien erfolgt durch Autoklavieren nach im RKI etablierten Standardarbeitsanweisungen gemäß dem Stand von Wissenschaft und Technik.

#### 4.10 Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben

Eingesendete Proben werden bis zur Analyse gekühlt bei 4°C gelagert. Nach den Analysen erfolgt eine längerfristige Lagerung bei -70°C.

#### 4.11 Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen

Entfällt.

#### 4.12 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 werden.
- Zu Einsendungen, die nicht von einem ausgefüllten Probeneinsendeformular begleitet sind, wird unter Umständen kein abschließender Untersuchungsbericht erstellt.

#### 4.13 Rückmeldungen und Reklamationen

Für Anfragen zu Einsendungen oder Berichten, Rückmeldungen sowie Reklamationen steht die Laborleitung des Konsiliarlabors für Pockenviren zur Verfügung.

Kontakte:

##### **KL Pockenviren**

Telefon: +49 (0)30 - 18754-5111

E-Mail: [KL-Pocken@rki.de](mailto:KL-Pocken@rki.de)

##### **Prof. Dr. Andreas Nitsche**

Telefon: +49 (0)30 - 18754-2313

E-Mail: [NitscheA@rki.de](mailto:NitscheA@rki.de)

**Dr. Livia Schrick**

Telefon: +49 (0)30 - 18754-2763

E-Mail: SchrickL@rki.de

**Dr. Janine Michel**

Telefon: +49 (0)30 - 18754-2764

E-Mail: MichelJ@rki.de

**4.14 Gebühren**

Durch die Diagnostik entstehen dem Einsender keine Kosten.

**5 Besondere Sicherheitsmaßnahmen**

Proben sind potentiell infektiös, daher ist die Probenaufarbeitung unter der Sicherheitswerkbank durchzuführen. Aktuelle Betriebsanweisung für S2 und S3-Laboratorien.

**6 Verweise****6.1 Mitgeltende Dokumente**

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

**6.2 Literatur**

**Michel J, Targosz A, Rinner T, Bourquain D, Brinkmann A, Sacks JA, Schaade L, Nitsche A (2022).** Evaluation of 11 commercially available PCR kits for the detection of monkeypox virus DNA, Berlin, July to September 2022. *Eurosurveillance* 27 (45): [2200816](#).

Diaz-Cánova D, Mavian C, **Brinkmann A, Nitsche A, Moens U, Okeke MI (2022).** Genomic Sequencing and Phylogenomics of Cowpox Virus. *Viruses* 14 (10): 2134.

Diaz-Cánova D, Moens UL, **Brinkmann A, Nitsche A, Okeke MI (2022).** Genomic Sequencing and Analysis of a Novel Human Cowpox Virus With Mosaic Sequences From North America and Old World Orthopoxvirus. *Front Microbiol* 13: 868887.

Bourquain D, **Schrick L, Tischer BK, Osterrieder K, Schaade L, Nitsche A (2021).** Replication of cowpox virus in macrophages is dependent on the host range factor p28/N1R. *Virology J* 18 (1): 173.

Mavian C, López-Bueno A, Martín R, **Nitsche A, Alcamí A (2021).** Comparative pathogenesis, genomics and phylogeography of mousepox. *Viruses* 13 (6): 1146.

Wendt R, Tittelbach J, **Schrick L, Kellner N, Kalbitz S, Ruehe B, Michel J, Schliemann S, Elsner P, Lübbert C, Nitsche A (2021).** Generalized cowpox virus infection in an immunosuppressed patient. *Int J Infect Dis* 106 (May): 276–278.

Esparza J, **Nitsche A, Damaso CR (2020).** Investigations on the historical origin and evolution of the smallpox vaccine. *Gaceta Médica de Caracas* 128 (Supl 1): S88–S97.

**Brinkmann A**, Souza ARV, Esparza J, **Nitsche A**, Damaso CR (2020). Re-assembly of nineteenth-century smallpox vaccine genomes reveals the contemporaneous use of horsepox and horsepox-related viruses in the USA. *Genome Biol* 21 (1): 286.

Esparza J, Lederman S, **Nitsche A**, Damaso CR (2020). Early smallpox vaccine manufacturing in the United States: Introduction of the “animal vaccine” in 1870, establishment of “vaccine farms”, and the beginnings of the vaccine industry. *Vaccine* 28 (30): 4773–4779.

Patrono LV, Pléh K, Samuni L, Ulrich M, Röthemeier C, Sachse A, **Muschter S**, **Nitsche A**, Couacy-Hymann E, Boesch C, Wittig RM, Calvignac-Spencer S, Leendertz FH (2020). Monkeypox virus emergence in wild chimpanzees reveals distinct clinical outcomes and viral diversity. *Nat Microbiol* 5 (7): 955-965.

**Nitsche A**, **Schrack L**, Schaade L (2019). Infektionen des Menschen mit Affenpocken. *Flug u Reisemed* 26(01): 18-24.

Gruber CEM, Giombini E, Selleri M, **Tausch SH**, **Andrusch A**, **Tyshaieva A**, Cardeti G, Lorenzetti R, De Marco L, Carletti F, **Nitsche A**, Capobianchi MR, Ippolito G, Autorino GL, Castilletti C (2018). Whole Genome Characterization of Orthopoxvirus (OPV) Abatino, a Zoonotic Virus Representing a Putative Novel Clade of Old World Orthopoxviruses. *Viruses* 10 (10): E546.

Esparza J, **Nitsche A**, Damaso CR (2018). Beyond the myths: Novel findings for old paradigms in the history of the smallpox vaccine. *PLoS Pathog* 14(7):e1007082.

Esparza J, **Schrack L**, Damaso CR, **Nitsche A** (2017). Equination (inoculation of horsepox): an early alternative to vaccination (inoculation of cowpox) and the potential role of horsepox virus in the origin of the smallpox vaccine. *Vaccine* 35(52): 7222-7230.

Stagegaard J, Kurth A, Stern D, Dabrowski PW, Pocknell A, **Nitsche A**, **Schrack L** (2017). Seasonal recurrence of Cowpox virus outbreaks in captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *PLoS One* 12(11): e0187089.

Grönemeyer LL, Baltzer A, Broekaert S, **Schrack L**, Möller L, **Nitsche A** et al. (2017). Generalised cowpox virus infection. *Lancet* 390(10104): 1769.

**Grossegeesse M**, Doellinger J, Haldemann B, Schaade L, **Nitsche A** (2017): A Next-Generation Sequencing Approach Uncovers Viral Transcripts Incorporated in Poxvirus Virions. *Viruses* 9 (10): pii: E296.

**Schrack L**, **Tausch SH**, Dabrowski PW, Damaso CR, Esparza J, **Nitsche A** (2017). An early American smallpox vaccine based on horsepox. *N Engl J Med* 377(15): 1491–1492.

Wibbelt G, **Tausch SH**, Dabrowski PW, Kershaw O, **Nitsche A**, **Schrack L** (2017). Berlin Squirrelpox Virus, a new poxvirus in red squirrels, Berlin, Germany. *Emerg Infect Dis* 23(10): 1726–1729.

Leendertz SAJ, Stern D, Theophil D, Anoh E, Mossoun A, Schubert G, Wiersma L, Akoua-Koffi C, Couacy-Hymann E, Muyembe-Tamfum JJ, Karhemere S, Pauly M, **Schrack L**, Leendertz FH, **Nitsche A** (2017). A Cross-sectional Serosurvey of anti-Orthopoxvirus Antibodies in Central and Western Africa. *Viruses* 9(10): pii: E278.



Stern D, Olson VA, Smith SK, Pietraszczyk M, **Miller L**, Miethe P, Dorner BG, **Nitsche A** (2017). Rapid and sensitive point-of-care detection of Orthopoxviruses by ABICAP immunofiltration. *Viol J* 13(1): 207.

Wintergerst U, **Schrick L**, Niederseer R, **Nitsche A** (2016). Kleinkind mit Ulkus am Oberschenkel. *Monatsschr Kinderheilkd* 164(11): 969-971.

**Ziem B**, **Thien H**, Achazi K, **Yue C**, Stern D, **Silberreis K**, Gholami MF, Beckert F, Gröger D, Mülhaupt R, Rabe JP, **Nitsche A**, Haag R (2016). Highly Efficient Multivalent 2D Nanosystems for Inhibition of Orthopoxvirus Particles. *Adv Healthc Mater* 5(22): 2922-2930.

Stern D, Pauly D, Zydek M, Miller L, Piesker J, Laue M, Lisdat F, Dorner MB, Dorner BG, **Nitsche A** (2016). Development of a genus-specific antigen capture ELISA for orthopoxviruses – target selection and optimized screening. *PLoS One* 11: e0150110.

Hobi S, Mueller RS, Hill M, **Nitsche A** et al. (2015). Neurogenic inflammation and colliquative lymphadenitis with persistent orthopox virus DNA detection in a human case of cowpox virus infection transmitted by a domestic cat. *Br J Dermatol* 173(2): 535-539.

Medaglia ML, Moussatché N, **Nitsche A**, **Dabrowski PW**, Li Y, Damon IK, Lucas CG, Arruda LB, Damaso CR (2015). Genomic analysis, phenotype, and virulence of the historical Brazilian smallpox vaccine strain IOC: Implications for the origins and evolutionary relationships of vaccinia virus. *J Virol* 89(23): 11909-11925.

Świtaj K, Kajfasz P, **Kurth A**, **Nitsche A** (2015). Cowpox after a cat scratch - case report from Poland. *Ann Agric Environ Med* 22(3):456-458.

**Radonić A**, **Metzger S**, **Dabrowski PW**, Couacy-Hymann E, **Schuenadel L**, **Kurth A**, Mätz-Rensing K, Boesch C, Leendertz FH, **Nitsche A** (2014). Fatal monkeypox in wild-living sooty mangabey, Côte d'Ivoire, 2012. *Emerg Infect Dis* 20(6):1009-1011.

Dabrowski PW, Radonić A, **Kurth A**, **Nitsche A** (2013). Genome-wide comparison of cowpox viruses reveals a new clade related to Variola virus. *PLoS One* 8(12):e79953.

Hobi S, Mueller RS, Hill M, **Nitsche A**, Löscher T, Guggemos W, Ständer S, Rjosk-Dendorfer D, Wollenberg A (2013). Neurogenic inflammation and colliquative lymphadenitis with persistent orthopox virus DNA detection in a human case of cowpox virus infection transmitted by a domestic cat. *Br J Dermatol* 173(2):535-539.

Graef S, **Kurth A**, Auw-Haedrich C, Plange N, Kern WV, **Nitsche A**, Reinhard T (2013). Clinicopathological findings in persistent corneal cowpox infection. *JAMA Ophthalmol* 131(8):1089-1091.

Schwarzer H, **Kurth A**, Hermel M, Plange N (2013). Severe ulcerative keratitis in ocular cowpox infection. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 251: 1451-1452.

**Kurth A**, **Nitsche A** (2012). Cowpox in Zoo Animals (chapter 5). In: R. Eric Miller, Murray E. Fowler (eds.), *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy*, Vol. 7. St. Louis, MO: Elsevier/Saunders.

**Kurth A, Nitsche A** (2011). Detection of Human-Pathogenic Poxviruses (chapter 15). In: John R. Stephenson, Alan Warnes (eds.), *Diagnostic Virology Protocols. Methods in Molecular Biology* 665, 2. Aufl. Totowa, NJ: Humana Press.

Schupp CJ, **Nitsche A**, Bock-Hensley O, Böhm S, Flechtenmacher C, **Kurth A**, Saenger K, Hoferer M, Küsters U, Günther P, Engelmann G, Schnitzler P (2011). A 14-year-old girl with a vesicle on her finger and lymphadenitis. *J Clin Virol* 50: 1-3.

Haase O, Moser A, Rose C, **Kurth A**, Zillikens D, Schmidt E (2011). Generalised cowpox infection in a patient with Darier disease. *Br J Dermatol* 164: 1116-1118.

Weingart C, **Kurth A**, Bekmulin W, Gruber AD, Plog S, **Nitsche A**, Kohn B (2011). Pockenvirusinfektion bei zwei Katzen. *Kleintierpraxis* 56(8): 412-418.

**Miller L, Richter M, Hapke C, Stern D, Nitsche A** (2011). Genomic expression libraries for the identification of cross-reactive orthopoxvirus antigens. *PLoS One* 6(7): e21950.

**Kramski M**, Drozd A, Lichtfuss G, **Dabrowski PW, Ellerbrok H** (2011). Rapid detection of anti-Vaccinia virus neutralizing antibodies. *Virology* 431(1): 139.

von Bomhard W, Mauldin EA, Breuer W, Pflieger S, **Nitsche A** (2011). Localized cowpox infection in a 5-month-old Rottweiler. *Vet Dermatol* 22(1): 111-114.

**Langhammer S, Koban R, Yue C, Ellerbrok H** (2011). Inhibition of poxvirus spreading by the anti-tumor drug Gefitinib (Iressa™). *Antiviral Res* 89(1): 64-70.

**Kramski M**, Mätz-Rensing K, Stahl-Hennig C, Kaup FJ, **Nitsche A, Pauli G, Ellerbrok H** (2010). A Novel Highly Reproducible and Lethal Nonhuman Primate Model for Orthopox Virus Infection. *PLoS One* 5(4): e10412.

**Schroeder K, Nitsche A** (2010). Multicolour, multiplex real-time PCR assay for the detection of human-pathogenic poxviruses. Short Communication. *Mol Cell Probes* 24(2): 110-113.

**Radonic A, Thulke S, Achenbach J, Kurth A, Vreemann A, König T, Walter C, Possinger K, Nitsche A** (2010). Anionic polysaccharides from phototrophic microorganisms exhibit antiviral activities to vaccinia virus. *J Antivir Antiretrovir* 2: 051-055.

**Witkowski PT, Schuenadel L, Wiethaus J, Bourquain DR, Kurth A, Nitsche A** (2010). Cellular impedance measurement as a new tool for poxvirus titration, antibody neutralization testing and evaluation of antiviral substances. *Biochem Biophys Res Commun* 401(1): 37-41.

**Kurth A, Straube M, Kuczka A, Dunsche AJ, Meyer H, Nitsche A** (2009). Cowpox Virus Outbreak in Banded Mongooses (*Mungos mungo*) and Jaguarundis (*Herpailurus yagouaroundi*) with a Time-Delayed Infection to Humans. *PLoS One* 4(9): e6883.

Strenger V, Müller M, Richter S, Revilla-Fernandez S, **Nitsche A, Klee SR, Ellerbrok H, Zenz W** (2009). A 17-year-old girl with a black eschar. Cowpox virus infection. *Clin Infect Dis* 48: 91-92, 133-134.

Kuczka A, **Nitsche A**, Höveler R, Becker C, **Kurth A** (2009). Ein Bericht über durch Heimtierratten auf Menschen übertragene Kuhpockenvirusinfektion. Dt Tierärztebl 3: 316-319.

Becker C, **Kurth A**, Hessler F, Kramp H, Gokel M, Hoffmann R, Kuczka A, **Nitsche A** (2009). Cowpox Virus Infection in Pet Rat Owners: Not Always Immediately Recognized. Dtsch Arztebl Int 106: 329-334.

**Kurth A**, Wibbelt G, Gerber H-P, Petschaelis A, **Pauli G**, **Nitsche A** (2008). Rat-to-elephant-to-human transmission of cowpox virus [letter]. Emerg Infect Dis 14: 670-671.

Bonnekoh B, Falk K, Reckling KF, Kenklies S, **Nitsche A**, Ghebremedhin B, Pokrywka A, Franke I, Thriene B, König W, **Pauli G**, Gollnick H (2008). Cowpox infection transmitted from a domestic cat. J Dtsch Dermatol Ges 6: 210-213.

Zhang XY, **Kurth A**, Pauly D, **Pauli G**, Schade R, **Ellerbrok H** (2008). Application of hightitred IgY antibodies in orthopox virus diagnostics. J Chin Pharmaceut Sci 17(3): 183-191.

**Nitsche A**, Gelderblom HR, Eisendle K, Romani N, **Pauli G** (2007). Pitfalls in diagnosing human poxvirus infections. J Clin Virol 38: 165-168.

**Nitsche A**, **Kurth A**, **Pauli G** (2007). Viremia in human Cowpox virus infection. J Clin Virol 40(2): 160-162.

**Nitsche A**, **Pauli G** (2007). Sporadic human cases of cowpox in Germany. Euro Surv 12(4): E070419.3.

**Nitsche A**, Büttner M, Wilhelm S, **Pauli G**, Meyer H (2006). Real-time PCR detection of Parapoxvirus DNA. Clin Chem 52: 316-319.

**Nitsche A**, Steger B, **Ellerbrok H**, **Pauli G** (2005). Detection of vaccinia virus DNA on the LightCycler by fluorescence melting curve analysis. J Virol Methods 126: 187-195.

**Nitsche A**, **Ellerbrok H**, **Pauli G** (2004). Detection of orthopoxvirus DNA by real-time PCR and identification of variola virus DNA by melting analysis. J Clin Microbiol 42: 1207-1213.

