



ZBS3 – BIOLOGISCHE TOXINE

Konsiliarlabor für Neurotoxin-produzierende Clostridien  
(Botulismus, Tetanus) des Bundesministerium für Gesundheit  
Konsiliarlabor für *Clostridium botulinum* der Deutschen  
Gesellschaft für Veterinärmedizin (DVG e.V.)

# Präanalytikhandbuch

## Inhaltsverzeichnis

1	QM-Dokumentenlenkung.....	3
2	Zweck.....	3
3	Abkürzungen und Definitionen .....	3
4	Präanalytische Informationen und Hinweise .....	4
4.1	Allgemeine Informationen und Hinweise.....	4
4.2	Leistungsangebot.....	5
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	Botulismus .....	6
4.6.2	Tetanus .....	9
4.6.3	Rizin.....	9
4.7	Hinweise zur Kennzeichnung der Primärprobe und weiterer erforderlicher Daten .....	9
4.8	Anweisungen über besondere Festlegungen hinsichtlich der Probenentnahme und des Probenverkehrs .....	10
4.9	Entsorgung von bei der Probenentnahme verwendeten Materialien .....	10
4.10	Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben.....	11
4.11	Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen.....	11
4.12	Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben.....	11
4.13	Rückmeldungen und Reklamationen.....	11
4.14	Gebühren.....	12
5	Besondere Sicherheitsmaßnahmen .....	12
6	Verweise.....	12
6.1	Mitgeltende Dokumente .....	12
6.2	Literatur .....	12

## 1 QM-Dokumentenlenkung

Erstellt	19.02.2020, Dr. Martin Dorner
Geprüft	19.02.2020, Dr. Sylvia Worbs
Freigegeben/Gültig ab	20.02.2020, Dr. J. Kleymann-Hilmes

## 2 Zweck

Im Rahmen dieses Präanalytikhandbuches werden den Einsendern spezifische Anweisungen für die ordnungs-gemäße Entnahme und Handhabung von Primärproben gegeben mit dem Ziel der Optimierung der präanalytischen Phase von Untersuchungsverfahren, die durch ZBS3 für Rizin (Intoxikationen mit Rizin bzw. *Ricinus communis*) sowie für die Botulinum Neurotoxine bzw. *Clostridium botulinum* und Tetanus Neurotoxin bzw. *Clostridium tetani* im Rahmen des Konsiliarlabors für Neurotoxin-produzierende Clostridien (Botulismus, Tetanus) angeboten werden.

Das Präanalytikhandbuch enthält insbesondere:

- Anweisungen zur Probenahme, Menge/Volumen und zum Versand (4.6, 4.7, 4.8),
- eine Aufstellung über die zur Verfügung stehenden Laboruntersuchungen (Leistungsangebot, 4.2),
- Einsender-Informationen über die medizinischen Indikationen und/oder die adäquate Auswahl von zur Verfügung stehenden Laborleistungen (4.2, 4.6),
- Hinweise zum Ausfüllen des Probenbegleitscheines (4.3),
- Verfahrensbeschreibungen und Anweisungen über die richtige Auswahl und Entnahme sowie den Versand von Proben (4.6, 4.7),
- Anweisung zur Identitätskennzeichnung der Primärprobe (4.7),
- Informationen zu den Aufbewahrungsbedingungen untersuchter Proben (4.10),
- Regelungen zur Möglichkeit von zusätzlichen und/oder Wiederholungsuntersuchungen aus der gleichen Primärprobe (4.11),
- Kriterien zur Annahme oder Zurückweisung von Proben (4.12),
- Informationen zu Rückmeldungen und Reklamationen (4.13).

## 3 Abkürzungen und Definitionen

Abkürzung	Ausdruck
ADR	Europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße
BMG	Bundesministerium für Gesundheit
BoNT	Botulinum Neurotoxin
BoNT/A, BoNT/B, etc.	Botulinum Neurotoxin Typ A, B, etc.
<i>C. botulinum</i>	<i>Clostridium botulinum</i> u.a. BoNT-produzierende <i>Clostridium</i> spp.
ChemG	Chemikaliengesetz
<i>C. tetani</i>	<i>Clostridium tetani</i>
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.
ELISA	Enzym-gekoppelter Immunosorbent Assay

Abkürzung	Ausdruck
IATA-DGR	<i>International Air Transport Association</i> -Gefahrgutvorschriften
IfSG	Infektionsschutzgesetz
KL	Konsiliarlabor
MS	Massen-Spektrometrie
NTNH	nicht-toxisches nicht-Hämagglutinin
PCR	Polymerasekettenreaktion
qPCR	quantitative PCR (TaqMan)
TeNT	Tetanus Neurotoxin
TRBA	Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe

## 4 Präanalytische Informationen und Hinweise

### 4.1 Allgemeine Informationen und Hinweise

**Leitung:** Dr. Brigitte Dorner

Stellvertretende Leitung: Dr. Martin Dorner

Vertretung: Dr. Sylvia Worbs

[https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik\\_Speziallabore/Toxine/toxine-labor\\_inhalt.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik_Speziallabore/Toxine/toxine-labor_inhalt.html)

Bei ZBS3 ist sowohl das durch das BMG berufene KL für Neurotoxin-produzierende Clostridien (Botulismus, Tetanus) wie auch das KL für *Clostridium botulinum* der DVG angesiedelt.

[https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Clostridium\\_botulinum/Neurotoxin\\_produzierende\\_Clostridium\\_node.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Clostridium_botulinum/Neurotoxin_produzierende_Clostridium_node.html)

ZBS3 nutzt hier verschiedene Methoden zur Diagnostik von Botulismus und Tetanus (Human- und Veterinärmedizin) bzw. zum Nachweis der Neurotoxine bzw. der Neurotoxin-produzierenden Clostridien (*Clostridium botulinum*, *C. baratii*, *C. butyricum*, *C. tetani*).

Darüber hinaus verfügt ZBS3 über verschiedene Methoden zum Nachweis von Rizin (z.B. bei Intoxikationen mit Rizin bzw. *Ricinus communis*).

Neben klassischen bakteriologischen Methoden werden moderne molekularbiologische, immunologische sowie massenspektrometrische Verfahren eingesetzt. Weitere ausführliche Informationen zu den biologischen Toxinen sowie zu Botulismus/Tetanus sind der Allgemeinheit auf der Homepage des RKI zugänglich.

<https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/R/Rizin/Rizin-Intoxikation.html?nn=2386228>

[https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/B/Botulismus/Botulismus\\_node.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/B/Botulismus/Botulismus_node.html)

Neben Rizin und den Neurotoxinen/Neurotoxin-produzierenden Clostridien können auch andere biologische Toxine (z.B. Abrin, ausgewählte Staphylokokken Enterotoxine) bzw. Erreger differentialdiagnostisch erfasst werden.

Vor der Einsendung der Proben muss mit ZBS3 Kontakt aufgenommen werden (möglichst telefonisch, alternativ auch per E-Mail), um Ablauf und Art, sowie den Zeitrahmen der Analysen abzuklären. Die Einsendung von Proben sollte möglichst nicht unmittelbar vor einem Wochenende oder vor Feiertagen erfolgen, da i.d.R. keine Laborbereitschaft vorgehalten wird.

## 4.2 Leistungsangebot

Beratung zu Fragen der Diagnostik, der epidemiologischen Analyse, der pathogenetischen Relevanz eingesandter Isolate sowie zur Interpretation der diagnostischen Ergebnisse wird durch ZBS3 angeboten. Therapieempfehlungen kann ZBS3 nicht abgeben, hier hat ZBS3 lediglich beratende Funktion.

Für den Nachweis der Neurotoxine bzw. der Neurotoxin-produzierenden Clostridien wählt ZBS3 (ggf. in Rücksprache mit dem Einsender) anhand des folgenden Spektrums geeignete Methoden für die eingesandten Probenarten aus:

- Anaerobe Anzucht von *Clostridium* spp.\*
- Nachweis der BoNTs mittels Maus-Bioassay
- Nachweis von BoNT/A bzw. B mittels ELISA\*
- Nachweis der TeNT/BoNT-Gene mittels quantitativer PCR (qPCR)\*
- Nachweis des nicht-toxischen nicht-Hämagglutinin (NTNH)-Genes als Surrogatmarker für BoNT-produzierende *Clostridium* spp. mittels quantitativer PCR (qPCR)\*
- Sequenzierung, Typisierung und Subtypisierung des Toxin-Gens
- Spezies-Bestimmung anhand der 16S rRNA-Sequenz
- Eindeutige Identifizierung von BoNT/TeNT mittels Massenspektrometrie (MS)
- Endopep-MS: Massenspektrometrischer Endopeptidase-Assay (ausgewählte Serotypen)
- Endopeptidase-ELISA (ausgewählte Serotypen)

\*: akkreditierte Nachweisverfahren

Die Methoden stellen überwiegend in-Haus-Verfahren dar, die sorgfältig validiert und in der Fachliteratur publiziert wurden (siehe 6.2 Literatur). Nähere Informationen können ggf. bei Interesse zur Verfügung gestellt werden.

Die Durchführung des Toxin-Nachweises mittels Maus-Bioassay dauert i.d.R. 2 bis 5 Tage. Der Erregernachweis nach anaerober Anzucht 1 bis 7 Tage. Bei positiven Resultaten übermittelt ZBS3 umgehend (Telefon, E-Mail) ein vorläufiges Ergebnis. Der schriftliche Bericht erfolgt nach Abschluss der Untersuchungen i.d.R. innerhalb von zwei Wochen.

Zum Nachweis von Rizin aus Vergiftungsfällen (Intoxikationen mit *Ricinus communis*) bzw. aus Lebensmitteln oder Umweltproben wählt ZBS3 ggf. in Rücksprache mit dem Einsender anhand des folgenden Spektrums geeignete Methoden für die eingesandten Probenarten aus:

- Nachweis von Rizin mittels ELISA\*
- Nachweis der Toxizität von Rizin mittels Zytotoxizitäts-Assay (Vero Zell Assay)
- Nachweis der Rizin-Spaltungsaktivität (RNA-N-Glykosidaseassay) mittels Massenspektrometrie (MS)
- Eindeutige Identifizierung von Rizin mittels MS
- Nachweis des Rizin-Gens mittels quantitativer PCR (qPCR)
- Nachweis des Surrogatmarkers Ricinin mittels MS

\*: akkreditierte Nachweisverfahren

Die Methoden stellen überwiegend in-Haus-Verfahren dar, die sorgfältig validiert und in der Fachliteratur publiziert wurden (siehe 6.2 Literatur). Nähere Informationen können bei Interesse zur Verfügung gestellt werden.

Die Durchführung des Toxin-Nachweises dauert i.d.R. 2 bis 5 Tage. Bei positivem Resultat übermittelt ZBS3 umgehend (Telefon, E-Mail) ein vorläufiges Ergebnis. Der schriftliche Bericht erfolgt nach Abschluss der Untersuchungen i.d.R. innerhalb von zwei Wochen.

### 4.3 Formblätter

Einsendungen müssen einen Probenbegleitschein ([www.rki.de](http://www.rki.de)) mit folgenden Informationen enthalten, Punkte (1)–(4) sind Mindestanforderungen:

- (1) Patientenidentifikation
- (2) Auftraggeber und Befundempfänger
- (3) Art der diagnostischen Anforderung
- (4) Materialbeschreibung
- (5) Kurzbeschreibung des klinischen Bildes und anamnestischer Zusammenhänge

Den Begleitschein für Einsendung bezüglich einer Untersuchung auf Botulismus, Botulinum Neurotoxin bzw. BoNT-produzierende *Clostridium* spp. finden Sie unter:

[https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik\\_Speziallabore/Toxine/Probenbegeitschein\\_Botulinumtoxine.pdf?blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik_Speziallabore/Toxine/Probenbegeitschein_Botulinumtoxine.pdf?blob=publicationFile)

Den Begleitschein für Einsendung bezüglich einer Untersuchung auf Tetanus, Tetanus Neurotoxin bzw. *Clostridium tetani* finden Sie unter:

[https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Clostridium\\_botulinum/Probenbegeitschein\\_Tetanus.pdf?blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Konsiliar/Clostridium_botulinum/Probenbegeitschein_Tetanus.pdf?blob=publicationFile)

Der Begleitschein für die Untersuchung bei Verdacht auf Rizin finden Sie unter:

[https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik\\_Speziallabore/Toxine/Probenbegeitschein\\_Ricin.pdf?blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Diagnostik_Speziallabore/Toxine/Probenbegeitschein_Ricin.pdf?blob=publicationFile)

### 4.4 Hinweise zum Ausfüllen der Formblätter

Jede eingesandte Probe muss mit einem ausgefüllten Probenbegleitschein versehen sein (siehe 4.3).

Botulismus beim Menschen stellt nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) eine meldepflichtige Erkrankung dar. Entsprechend den Definitionen hat diese Meldepflicht durch den behandelnden Arzt und das erstmalig diagnostizierende Labor zu erfolgen. Für die namentliche Meldung sind daher der Patienten-Name und das zuständige Gesundheitsamt (Wohnort, ggf. Standort der Klinik) erforderlich. Für Botulismus ist gemäß §6 IfSG der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod und gemäß §7 der direkte oder indirekte Erregernachweis dem zuständigen Gesundheitsamt zu melden. Weitere Information liefert das IfSG.

Für Intoxikationen durch Rizin/Ricinus communis besteht eine Meldepflicht nach §16e für Vergiftungen für behandelnde Ärzte im Rahmen des Chemikaliengesetzes (ChemG). Weitere Information liefert das ChemG.

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

Entfällt

### 4.6 Anweisungen über die richtige Entnahme von Primärproben

#### 4.6.1 Botulismus

Die Indikation für eine Untersuchung auf Botulismus ist in den entsprechenden Faldefinitionen des RKI beschrieben:

[https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/Falldefinition/faldefinition\\_node.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/Falldefinition/faldefinition_node.html)

Geeignete Probenmaterialien sind:

#### **Verdacht auf Lebensmittel-assoziierten Botulismus:**

**Serum** (5–10 mL) vom frühestmöglichen Zeitpunkt (idealerweise **innerhalb 48 h** nach Auftreten einer Symptomatik); bitte kühl lagern; **Entnahme vor Antitoxingabe.**

**Stuhl** (5–10 g); bitte kühl lagern. Im Stuhl können häufig Sporen aus dem kontaminierten Lebensmittel nachgewiesen werden, Sporen sind i.d.R. für 1–2 Wochen nach Intoxikation, bei Obstipation auch länger, nachweisbar.

**Verdächtige Lebensmittel** (5–50 g), bitte kühl lagern. Dies können i.d.R. sein: hausgemachte Fleisch- oder Wurstwaren, selbst eingewecktes Gemüse oder Obst, selbst marinier/gedorrter Fisch oder Meerestiere, in Öl eingelegte Lebensmittel (Knoblauch, Chili, etc.), mehrfach erwärmte oder ungekühlt gelagerte Speisen. Sehr selten sind kommerzielle Lebensmittel betroffen.

#### **Verdacht auf Säuglingsbotulismus / Intestinale Kolonisation**

**Serum** (5–10 mL) vom frühestmöglichen Zeitpunkt (idealerweise **innerhalb 48 h** nach Auftreten einer Symptomatik); bitte kühl lagern; **Entnahme vor Antitoxingabe.**

**Stuhl** (5–10 g); bitte kühl lagern. Eine Kolonisierung mit *C. botulinum* oder anderen BoNT-produzierenden Clostridien bei gleichzeitiger Toxinproduktion kann bei Säuglingen (< 1 Jahr) auftreten, extrem selten auch bei älteren Patienten mit gastrointestinaler Vorerkrankung (Morbus Crohn, *C. difficile*-Infektion, Transplantation, abdominaler Chirurgie). Im Stuhl kann der Erreger (BoNT-produzierende *Clostridium* spp.) ggf. auch das Toxin nachgewiesen werden.

Materialien wie z.B. Honig, Staub (Staubsaugerbeutel), Kräutertee können Quelle der Toxininfektion sein. Idealerweise werden 200 g eingeschickt.

#### **Verdacht auf Wundbotulismus**

**Serum** (5–10 mL) vom frühestmöglichen Zeitpunkt (idealerweise **innerhalb 48 h** nach Auftreten einer Symptomatik); bitte kühl lagern; **Entnahme vor Antitoxingabe.**

**Wundmaterial/Wundabstrich/Punktat**, bitte kühl lagern; **Entnahme vor Antibiotikatherapie.**

Das Krankheitsbild tritt u.a. bei Drogengebrauchern auf, es kann zum Auskeimen von *C. botulinum*-Sporen in Wunden im Sauerstoff-armen Milieu und paralleler Toxin-Produktion kommen (Toxininfektion).

#### **Isolate**

Abstriche von gut gewachsenen Kulturen auf Nährboden-Agar-Platten oder als Abstrichtupfer entweder in speziellen anaeroben Transportmedien und Gefäßen oder nach Sporulation (nach ca. 48 h) in Amies-Agar Gel Medium.

Gut gewachsene Flüssigkulturen in Nährmedium (anaerober Transport) oder nach Sporulation (nach ca. 48 h) in Standard-Transportröhrchen.

Proben können i.d.R. bei Raumtemperatur versandt werden. Bei hohen Außentemperaturen (>25°C) wird ein Versand unter gekühlten Bedingungen (Kühl-Akku) empfohlen. Zur Vermeidung von langen Lagerzeiten bei hohen Temperaturen wird ein Post-Versand über ein Wochenende nicht empfohlen.



#### 4.6.2 Tetanus

Die Indikation für eine Untersuchung auf Tetanus ist in den entsprechenden Falldefinitionen des RKI beschrieben:

<https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/T/Tetanus/Tetanus.html?nn=2386228>

Geeignete Probenmaterialien sind:

**Serum** (5–10 mL) vom frühestmöglichen Zeitpunkt (idealerweise **innerhalb 48 h** nach Auftreten einer Symptomatik); bitte kühl lagern; **Entnahme vor Antitoxingabe.**

**Wundmaterial**/Wundabstrich/Punktat, bitte kühl lagern; **Entnahme vor Antibiotikatherapie.**

**Isolate:** Abstriche von gut gewachsenen Kulturen auf Nährboden-Agar-Platten oder als Abstrichtupfer entweder in speziellen anaeroben Transportmedien und Gefäßen oder nach Sporulation (nach ca. 48 h) in Amies-Agar Gel Medium. Gut gewachsene Flüssigkulturen in Nährmedium (anaerober Transport) oder nach Sporulation (nach ca. 48 h) in Standard-Transportröhrchen.

Proben können i.d.R. bei Raumtemperatur versandt werden. Bei hohen Außentemperaturen (>25°C) wird ein Versand unter gekühlten Bedingungen (Kühl-Akku) empfohlen. Zur Vermeidung von langen Lagerzeiten bei hohen Temperaturen wird ein Post-Versand über ein Wochenende nicht empfohlen.

#### 4.6.3 Rizin

Weiterführende Informationen zu Rizinintoxikationen unter:

<https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/R/Rizin/Rizin-Intoxikation.html?nn=2386228>

Geeignete Probenmaterialien sind:

**Stuhl** (5–10 g); bitte kühl lagern. Probe bitte vor Gabe von Aktivkohle nehmen. Im Stuhl kann i.d.R. Rizin nach oraler Aufnahme nachgewiesen werden.

**Verdächtige Samen** (Ricinus-Bohnen) auch in Form von z.B. Ethnoschmuck oder Lebensmittel (5–50 g), bitte kühl lagern.

**Serum** (5–10 mL) vom frühestmöglichen Zeitpunkt (idealerweise **innerhalb 48 h** nach Auftreten einer Symptomatik); bitte kühl lagern

**Urin** (5–10 mL), bitte kühl lagern. Im Urin kann häufig das niedermolekulare Alkaloid Ricinin als Surrogatmarker für Vergiftungen mit *Ricinus communis* nachgewiesen werden.

**Umweltproben** wie z.B. Düngemittel (5-100 g), die im Verdacht stehen Rizin/ *Ricinus communis* zu enthalten

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

Jede eingesandte Probe muss eindeutig einem Patienten zugeordnet sein. Bitte Entnahmedatum und ggf. Uhrzeit angeben. Insbesondere der Nachweis der Toxine aus klinischen Probenmaterialien unterliegt engen Zeitfenstern, daher sind zur Prüfung der biologischen Plausibilität Angaben zum Krankheitsbeginn und Einlieferungsdatum hilfreich.

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

(beinhaltet auch, Versandmaterialien und Hilfsmittel)

Diagnostik auf	Probe	notwendige Menge/Volumen	Versandmaterial
BoNT, TeNT, Rizin, Ricinin	Serum	5–10 mL (bei Säuglingen ggf. weniger)	Serumröhrchen (vorzugsweise abgetrenntes Serum).
BoNT, Rizin, Ricinin, <i>C. botulinum u.a.</i>	Stuhl	3–10 g	Stuhlröhrchen
BoNT, Rizin, Ricinin, <i>C. botulinum u.a.</i>	Erbrochenes (Chymus)	3–10 g	Stuhlröhrchen, Transportröhrchen
BoNT, TeNT <i>C. botulinum, C. tetani</i>	Wundabstrich (mind. 1 Tupfer)	1 Tupfer	Tupfer in Transportröhrchen mit halbfestem Transportmedium (vorzugsweise Amies-Medium)
BoNT, TeNT <i>C. botulinum</i>	Wundmaterial	1–10 g	Transportröhrchen oder -gefäß
BoNT, TeNT, Rizin	Organ(biopsie)material	5–25 g	Transportröhrchen oder -gefäß
Ricinin	Urin	5–10 mL	Urinröhrchen
<i>C. botulinum, C. tetani</i> , andere BoNT-produzierende <i>Clostridium spp.</i>	Bakterienkultur	Abstrichtupfer,	Tupfer in Transportröhrchen mit halbfestem Transportmedium (vorzugsweise Amies-Medium)
		Flüssigkultur	(anaerobes) Transportröhrchen
BoNT, Rizin, <i>C. botulinum</i>	Lebensmittel	5–50 g	Standard Transportröhrchen oder -gefäß
Rizin	Samen	1–10 Stück	Standard Transportröhrchen oder -gefäß
Rizin	Umweltproben (z.B. Düngemittel)	5–100 g	Standard Transportröhrchen oder -gefäß

Proben bis zum Transport bitte gekühlt lagern. Bei längerer Lagerung Proben einfrieren. Vor der Lagerung von Serum aus Blut präparieren.

Einsendungen an das ZBS3 müssen gemäß den Bestimmungen zum Versand von medizinischem Untersuchungsmaterial

([http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2005/Ausgabenlinks/04\\_05.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2005/Ausgabenlinks/04_05.pdf?__blob=publicationFile)) nach der Verpackungsvorschrift P650 erfolgen. **Diagnostische Proben** gehören zur Kategorie B infektiöser Stoffe, **UN 3373**, und müssen mit der Bezeichnung „**Biologischer Stoff, Kategorie B**“ versehen sein.

Bereits diagnostizierte **Kulturen von *Clostridium botulinum***, die zur Bestätigung oder weiteren Charakterisierung an ZBS3 eingesandt werden, gehören zur Kategorie A und müssen entsprechend **UN 2814** (P620) verpackt und mit der Bezeichnung „**Ansteckungsgefährlicher Stoff, gefährlich für Menschen**“ versendet werden.

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

Entsprechend der Festlegung der einsendenden Einrichtung

#### 4.10 Aufbewahrungsbedingungen von im Laboratorium untersuchten Proben

Eingesandte Proben werden bis zur Analyse bei 4°C aufbewahrt. Nach den Analysen erfolgt eine Lagerung für mindestens 3 Monate bei –80°C.

#### 4.11 Zusätzliche bzw. Wiederholungsuntersuchungen

Bei zweifelhaften Analyseergebnissen kann ZBS3 weiteres Probenmaterial für Wiederholungsuntersuchungen anfordern. Sollte der Einsender weitere Untersuchungen, z.B. zur eingehenderen Charakterisierung, wünschen, können diese nach Rücksprache mit ZBS3 gegebenenfalls durchgeführt werden.

#### 4.12 Kriterien zur Annahme bzw. Zurückweisung von Primärproben

**Einsendungen werden nur nach telefonischer Rücksprache zur Untersuchung angenommen.**

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 und annehmenden Mitarbeiter dar und können daher zurückgewiesen werden.

Bei Einsendungen, denen kein vollständig ausgefüllter Probenbegleitschein beiliegt, behält sich ZBS3 die Annahme zur Untersuchung vor.

Eine Untersuchung von Proben, die in nicht ausreichenden Mengen eingesandt wurden, behält sich ZBS3 vor. Der Einsender wird darüber zeitnah informiert (telefonisch, per E-Mail) um ggf. weiteres Probenmaterial nachsenden zu können. Können, aufgrund zu geringer Probenmenge nur Teiluntersuchungen durchgeführt werden wird dies im Untersuchungsbericht angegeben.

Einsendungen, bei denen die Proben offensichtlich beschädigt oder anderweitig beeinträchtigt sind und die möglicherweise zu fehlerhaften Untersuchungsergebnissen führen (z. B. wegen zu langer Transportdauer), werden unter Vorbehalt angenommen und untersucht. Hier erfolgt eine zeitnahe Benachrichtigung (telefonisch, per E-Mail) des Einsenders.

Eine Untersuchung unangekündigter oder ohne Absprache oder unfrei eingesandter Proben behält sich ZBS3 vor.

#### 4.13 Rückmeldungen und Reklamationen

Für Anfragen zu Einsendungen, Untersuchungsberichten, Rückmeldungen sowie Reklamationen stehen folgende Mitarbeiter des ZBS3 zur Verfügung.

**Dr. Brigitte Dorner** (Leiterin ZBS3)

Telefon: +49 (0)30 - 18754-2500  
Fax: +49 (0)30 - 1810754-2501  
E-Mail: [DornerB@rki.de](mailto:DornerB@rki.de)

**Dr. Martin Dorner** (Stellvertretender Leiter ZBS3)

Telefon: +49 (0)30 - 18754-2500  
Fax: +49 (0)30 - 1810754-2501  
E-Mail: [DornerM@rki.de](mailto:DornerM@rki.de)

**Dr. Sylvia Worbs** (verantwortliche wissenschaftliche Mitarbeiterin ZBS3)

Telefon: +49 (0)30 - 18754-2194  
Fax: +49 (0)30 - 1810754-2501  
E-Mail: [WorbsS@rki.de](mailto:WorbsS@rki.de)

#### 4.14 Gebühren

Entfällt

## 5 Besondere Sicherheitsmaßnahmen

Humanmedizinische bzw. veterinärmedizinische Proben sind potentiell infektiös. Proben die möglicherweise Toxine enthalten, sind giftig. Es sind durch den Probennehmer/Einsender entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, die geeignet sind, eine Infektion bzw. Intoxikation zu verhindern. Hinweise und Regeln finden sich in der u.a. in der TRBA100 und TRBA250 sowie in der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – Rili-BÄK“ und den Leitlinien des AWMF (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.).

## 6 Verweise

### 6.1 Mitgeltende Dokumente

PPH\_ZBS3\_Leistungen-Anl01-Probenbegleitschein\_Botulinumtoxine

PPH\_ZBS3\_Leistungen-Anl02-Probenbegleitschein\_Ricin

PPH\_ZBS3\_Leistungen-Anl03-Probenbegleitschein\_Tetanus

### 6.2 Literatur

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 100, Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien (TRBA 100).

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 250, Biologische Arbeitsstoffe im Gesundheitswesen und in der Wohlfahrtspflege (TRBA 250).

Friesecke I, Sasse J, Boecken G, Gottschalk R, Koch U, Peters G, Peters S, Stich A, Biederbick W (2007): Medizinische Maßnahmen im Management von Betroffenen einer B-Gefahrenlage. In: RKI und BBK (Hrsg), Biologische Gefahren I - Handbuch zum Bevölkerungsschutz, 3. Auflage. Berlin/Bonn: Robert Koch-Institut und Bundesamt für Bevölkerungsschutz,

Friesecke I, Biederbick W, Boecken G, Gottschalk R, Koch HU, Peters G, Peters S, Sasse J, Stich A (2007): Biologische Gefahren II - Entscheidungshilfen zu medizinisch angemessenen Vorgehensweisen in einer B-Gefahrenlage. BBK und RKI (Hrsg), 1.Auflage. Bonn/Berlin: Bundesamt für Bevölkerungsschutz und Robert Koch-Institut.

Dietsche J, Metzner M, Messelhäuser U, Mansfeld R, Sauter-Louis C, Hörmansdorfer S, Hoedemaker M, Dorner M, Knubben-Schweizer G (2018) Bedeutung von potentiell toxinogenen *Clostridium* spp. bei Herdengesundheitsproblemen in bayerischen Milchviehbeständen. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 131: 44-52. doi:10.2376/0005-9366-16078

Dorner BG (2014) „Chronischer Botulismus“: Als neue Krankheit nicht belegt. Dtsch Arztebl International 111: A1468-A1470, A1464

Dorner BG, Zeleny R, Harju K, Hennekinne J-A, Vanninen P, Schimmel H, Rummel A (2016) Biological toxins of potential bioterrorism risk: Current status of detection and identification technology. Trends Analyt Chem 85, Part B: 89-102. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.024

Dorner MB, Schulz KM, Kull S, Dorner BG (2013) Complexity of botulinum neurotoxins: challenges for detection technology. Curr Top Microbiol Immunol 364: 219-255. doi:10.1007/978-3-642-33570-9\_11

Hansbauer E-M, Skiba M, Endermann T, Weisemann J, Stern D, Dorner MB, Finkenwirth F, Wolf J, Luginbühl W, Messelhäuser U, Bellanger L, Woudstra C, Rummel A, Fach P, Dorner BG (2016) Detection, differentiation, and identification of botulinum neurotoxin serotypes C, CD, D, and DC by highly specific immunoassays and mass spectrometry. Analyst 141: 5281-5297. doi:10.1039/C6AN00693K

- Hansbauer EM, Worbs S, Volland H, Simon S, Junot C, Fenaille F, Dorner BG, Becher F (2017) Rapid detection of abrin toxin and its isoforms in complex matrices by immuno-extraction and quantitative high resolution targeted mass spectrometry. *Anal Chem* 89: 11719-11727. doi:10.1021/acs.analchem.7b03189
- Kalb SR, Baudys J, Rees JC, Smith TJ, Smith LA, Helma CH, Hill K, Kull S, Kirchner S, Dorner MB, Dorner BG, Pirkle JL, Barr JR (2012) De novo subtype and strain identification of botulinum neurotoxin type B through toxin proteomics. *Anal Bioanal Chem* 403: 215-226. doi:10.1007/s00216-012-5767-3
- Kirchner S, Krämer KM, Schulze M, Pauly D, Jacob D, Gessler F, Nitsche A, Dorner BG, Dorner MB (2010) Pentaplexed quantitative real-time PCR assay for the simultaneous detection and quantification of botulinum neurotoxin-producing clostridia in food and clinical samples. *Appl Environ Microbiol* 76: 4387-4395. doi:10.1128/AEM.02490-09
- König K, Ringe H, Dorner BG, Diers A, Uhlenberg B, Müller D, Varnholt V, Gaedicke G (2007) Atypical tetanus in a completely immunized 14-year-old boy. *Pediatrics* 120: e1355-1358. doi:10.1542/peds.2006-3386
- Kull S, Pauly D, Störmann B, Kirchner S, Stämmler M, Dorner MB, Lasch P, Naumann D, Dorner BG (2010) Multiplex detection of microbial and plant toxins by immunoaffinity enrichment and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 82: 2916-2924. doi:10.1021/ac902909r
- Kull S, Schulz KM, Strotmeier JW, Kirchner S, Schreiber T, Bollenbach A, Dabrowski PW, Nitsche A, Kalb SR, Dorner MB, Barr JR, Rummel A, Dorner BG (2015) Isolation and functional characterization of the novel *Clostridium botulinum* neurotoxin A8 subtype. *PLoS One* 10: e0116381. doi:10.1371/journal.pone.0116381
- Mad'arova L, Dorner BG, Schaade L, Donath V, Avdicova M, Fatkulina M, Strharsky J, Sedliacikova I, Klement C, Dorner MB (2017) Reoccurrence of botulinum neurotoxin subtype A3 inducing food-borne botulism, Slovakia, 2015. *Euro Surveill* 22: 30591. doi:10.2807/1560-7917.es.2017.22.32.30591
- Pauly D, Kirchner S, Stoermann B, Schreiber T, Kaulfuss S, Schade R, Zbinden R, Avondet MA, Dorner MB, Dorner BG (2009) Simultaneous quantification of five bacterial and plant toxins from complex matrices using a multiplexed fluorescent magnetic suspension assay. *Analyst* 134: 2028-2039. doi:10.1039/b911525k
- Pauly D, Worbs S, Kirchner S, Shatohina O, Dorner MB, Dorner BG (2012) Real-time cytotoxicity assay for rapid and sensitive detection of ricin from complex matrices. *PLoS One* 7: e35360. doi:10.1371/journal.pone.0035360
- Peck MW, Smith TJ, Anniballi F, Austin JW, Bano L, Bradshaw M, Cuervo P, Cheng LW, Derman Y, Dorner BG, Fisher A, Hill KK, Kalb SR, Korkeala H, Lindstrom M, Lista F, Luquez C, Mazuet C, Pirazzini M, Popoff MR, Rossetto O, Rummel A, Sesardic D, Singh BR, Stringer SC (2017) Historical perspectives and guidelines for botulinum neurotoxin subtype nomenclature. *Toxins (Basel)* 9: E38. doi:10.3390/toxins9010038
- Ringe H, Schuelke M, Weber S, Dorner BG, Kirchner S, Dorner MB (2014) Infant botulism: is there an association with thiamine deficiency? *Pediatrics* 134: e1436-1440. doi:10.1542/peds.2013-3378
- Sikorra S, Skiba M, Dorner MB, Weisemann J, Weil M, Valdezate S, Davletov B, Rummel A, Dorner BG, Binz T (2018) Botulinum neurotoxin F subtypes cleaving the VAMP-2 Q<sup>58</sup>-K<sup>59</sup> peptide bond exhibit unique catalytic properties and substrate specificities. *Toxins (Basel)* 10: E311. doi:10.3390/toxins10080311
- Simon S, Fiebig U, Liu Y, Tierney R, Dano J, Worbs S, Endermann T, Nevers M-C, Volland H, Sesardic D, Dorner MB (2015a) Recommended immunological strategies to screen for botulinum neurotoxin-containing samples. *Toxins (Basel)* 7: 5011-5034
- Simon S, Worbs S, Avondet M-A, Tracz D, Dano J, Schmidt L, Volland H, Dorner B, Corbett C (2015b) Recommended immunological assays to screen for ricin-containing samples. *Toxins (Basel)* 7: 4967-4986
- Stern D, Pauly D, Zydek M, Müller C, Avondet MA, Worbs S, Lisdat F, Dorner MB, Dorner BG (2016) Simultaneous differentiation and quantification of ricin and agglutinin by an antibody-sandwich surface plasmon resonance sensor. *Biosens Bioelectron* 78: 111-117. doi:10.1016/j.bios.2015.11.020
- Stern D, von Berg L, Skiba M, Dorner MB, Dorner BG (2018) Replacing the mouse bioassay for diagnostics and potency testing of botulinum neurotoxins – progress and challenges. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 131: 375-394. doi:10.2376/0005-9366-17110

von Berg L, Stern D, Pauly D, Mahrhold S, Weisemann J, Jentsch L, Hansbauer EM, Muller C, Avondet MA, Rummel A, Dorner MB, Dorner BG (2019) Functional detection of botulinum neurotoxin serotypes A to F by monoclonal neoepitope-specific antibodies and suspension array technology. *Sci Rep* 9: 5531. doi:10.1038/s41598-019-41722-z

Worbs S, Köhler K, Pauly D, Avondet MA, Schaer M, Dorner MB, Dorner BG (2011) *Ricinus communis* intoxications in human and veterinary medicine — a summary of real cases. *Toxins (Basel)* 3: 1332-1372. doi:10.3390/toxins3101332

Worbs S, Skiba M, Söderström M, Rapinoja M-L, Zeleny R, Russmann H, Schimmel H, Vanninen P, Fredriksson S-Å, Dorner B (2015) Characterization of ricin and *R. communis* agglutinin reference materials. *Toxins (Basel)* 7: 4906-4934

Woudstra C, Le Marechal C, Souillard R, Bayon-Auboyer MH, Anniballi F, Auricchio B, De Medici D, Bano L, Koene M, Sansonetti MH, Desoutter D, Hansbauer EM, Dorner MB, Dorner BG, Fach P (2015) Molecular gene profiling of *Clostridium botulinum* group III and its detection in naturally contaminated samples originating from various European countries. *Appl Environ Microbiol* 81: 2495-2505. doi:10.1128/aem.03915-14

