



## Masern aktuell aus der Sicht des Labors

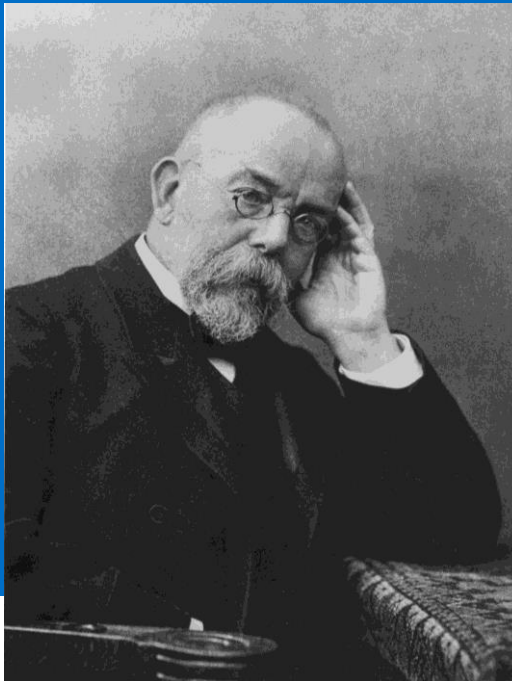
*Sabine Santibanez*

*Annette Mankertz*

*NRZ Masern, Mumps, Röteln und WHO RRL*

*Robert Koch-Institut*

MRE Netzwerktreffen, LK Stendal,  
22.05.2019

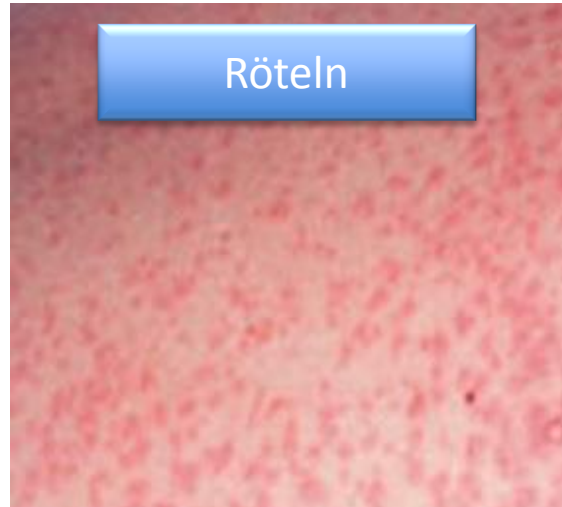




## Aufgaben NRZ MMR

- Labordiagnostik bei Verdachtsfällen
- Beratung zu Diagnostik, Interpretation von Ergebnissen
- **Molekulare Surveillance** (genetische Charakterisierung von aktuell zirkulierenden Masern-, Mumps- und Rötelnviren)
- Impfversagen
  - Unterscheidung von Impf- und Wildviren
  - Aufklärung von Impfversagen (primär, sekundär)

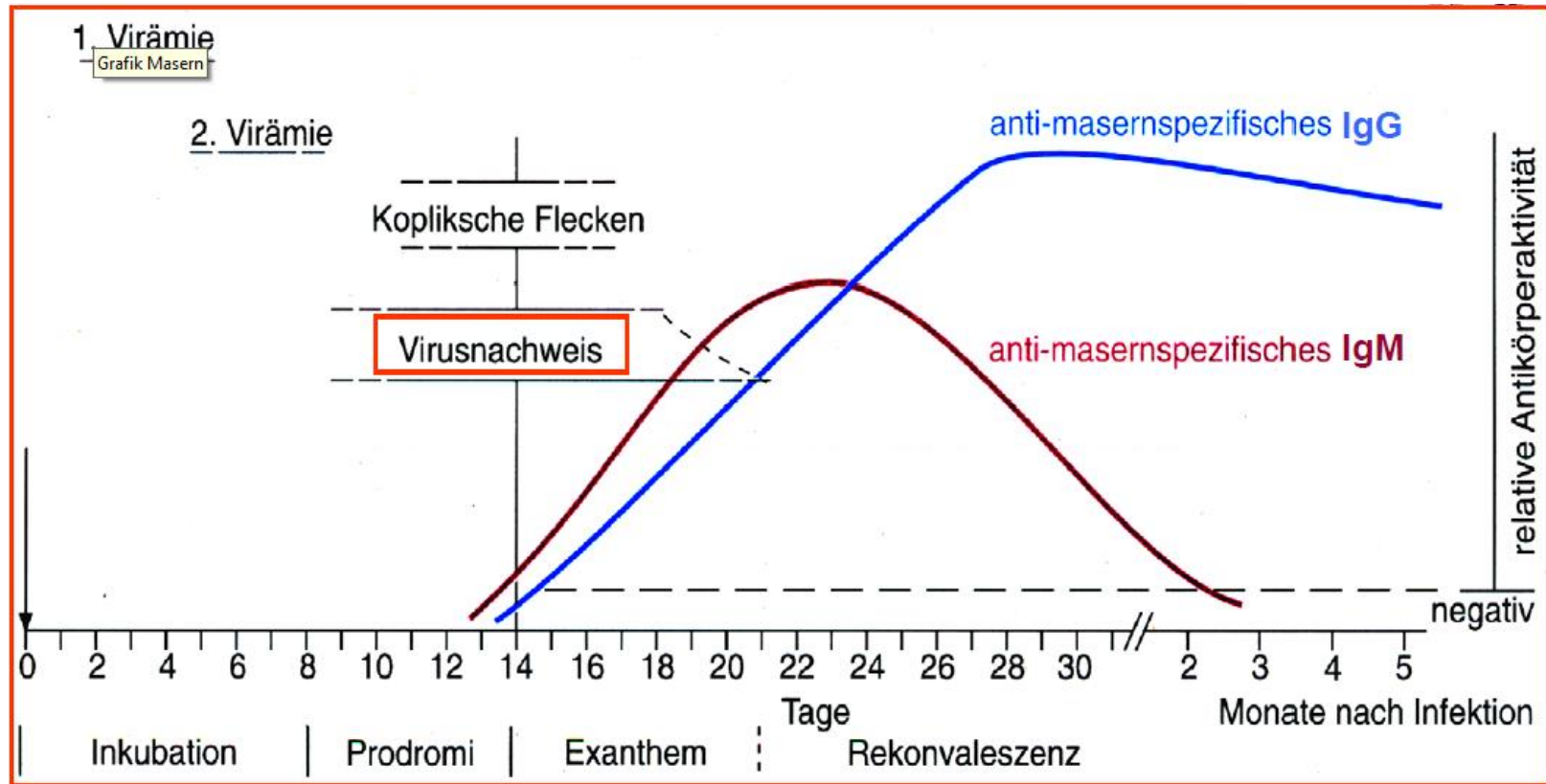
# Exanthem und Fieber: welcher Erreger?



**Exanthematische Erkrankungen werden leicht verwechselt.  
Die Labordiagnostik zur Bestätigung ist deshalb notwendig.**



# Verlauf und Diagnostik der Masernvirusinfektion



Untersuchungs-  
material:

Rachenabstrich  
Oral fluid  
Urin

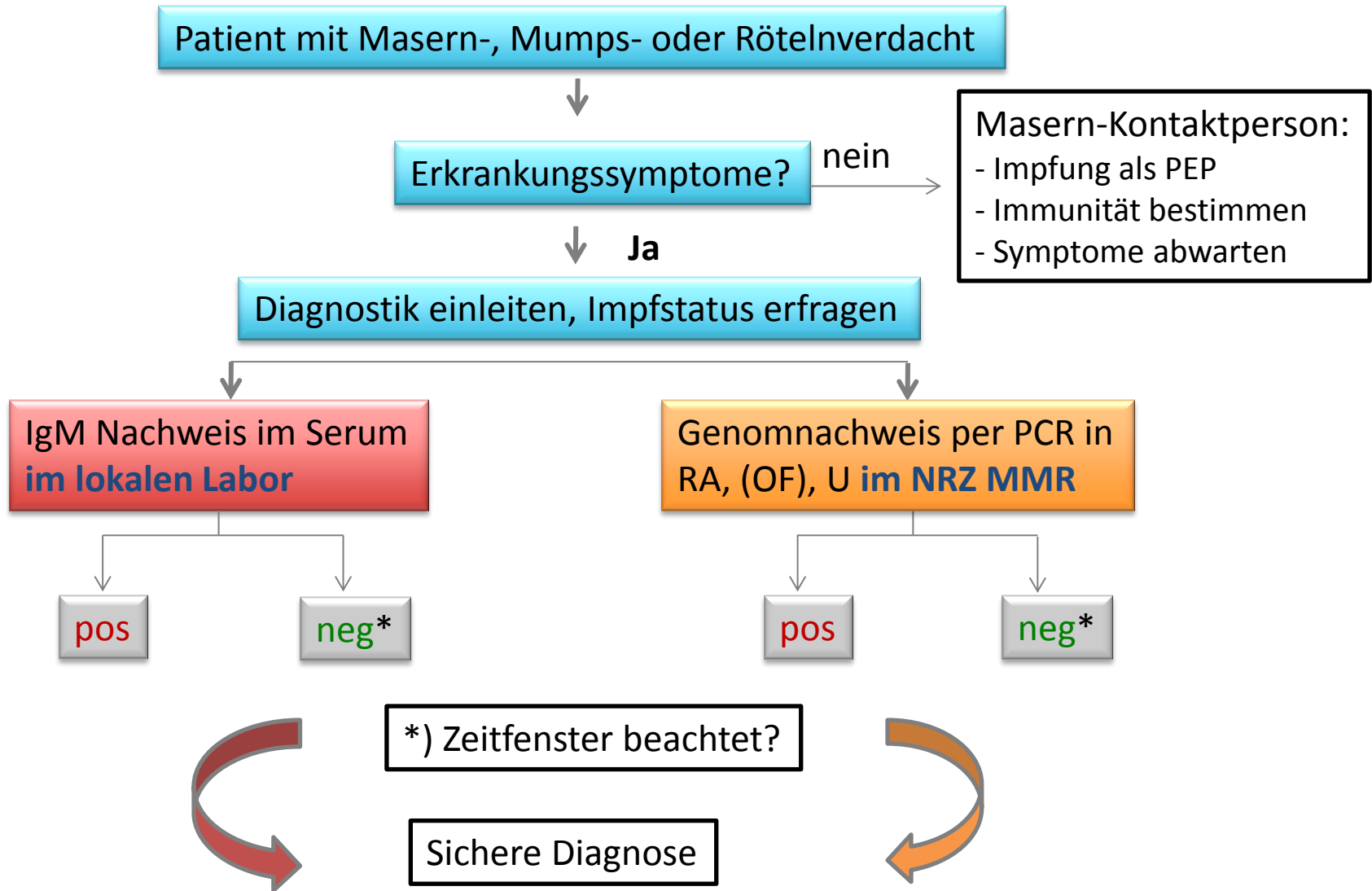
Serum bzw. Serumpaer

## Bestätigung eines Verdachtsfalls

- Virusgenom-Nachweis über PCR in RA, (OF), U innerhalb von 7 Tagen nach Ex.
- IgM-Nachweis im Serum (4 – 28 Tage nach Exanthembeginn)



# Flussdiagramm Diagnostik





## Masern-, Mumps-Röteln im Vergleich Diagnostik im NRZ, 2017-2018

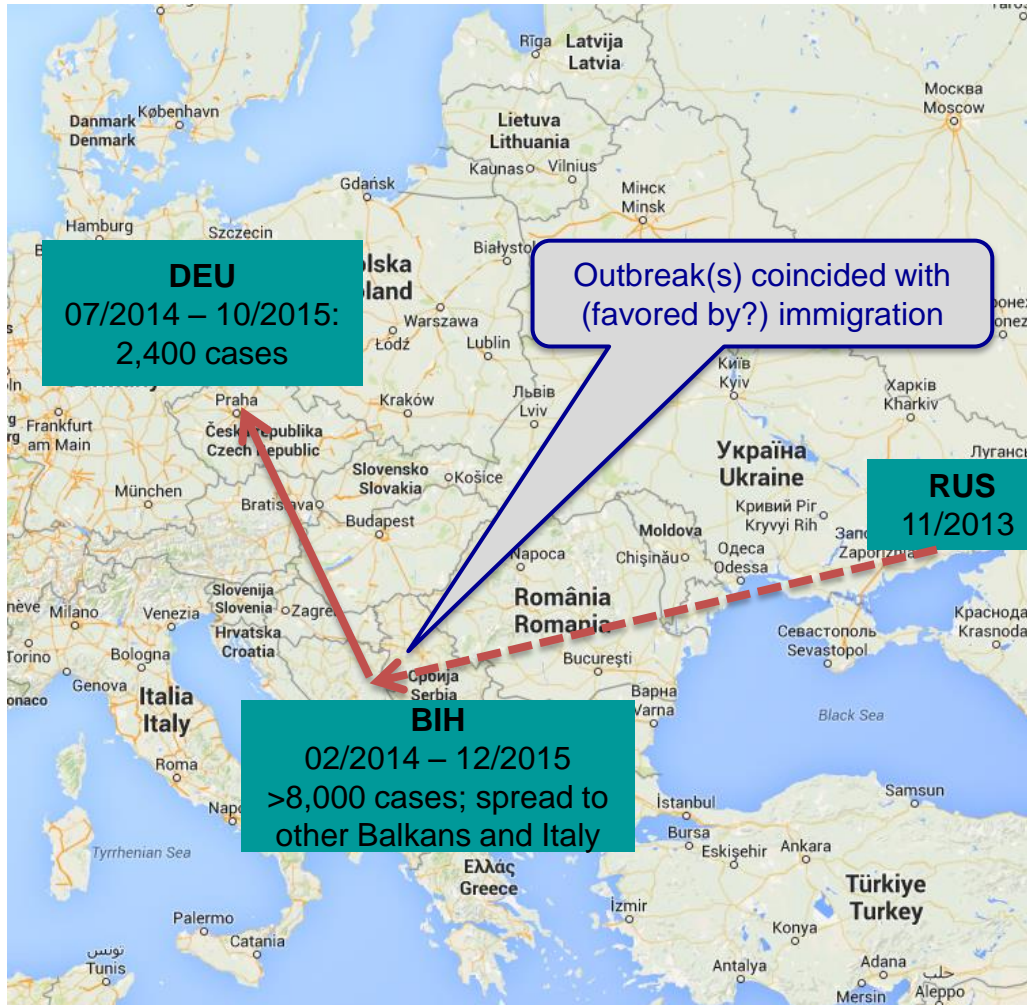
	<b>Masern</b>	<b>Mumps</b>	<b>Röteln</b>
Einsendungen von Verdachtsfällen	660, 537	338, 235	58, 82
Bestätigungsquote	50%	8% - 10%	sehr gering
Support durch Globales Labornetzwerk der WHO	ja (kontin.)	gelegentlich	ja (kontin.)



# Aufgaben der Molekularen Surveillance von Masern- Mumps- und Rötelviren

- Geographische **Herkunft** und **Transmissionswege** nachgewiesener Viren aufklären
- **Transmissionsketten** erkennen und analysieren  
→ **Endemische** Transmission einer Virus-Variante (über  $\geq 12$  Monate anhaltend)?
- Unterscheidung von **Impf-** und **Wildviren**

# Herkunft und Transmissionsweg aufklären




Beispiel:  
Masernvirus-Variante  
„D8-Rostov on Don-2987“  
in 2013 – 2015



# Molekulare Surveillance im NRZ MMR

- Ärzte, GA, Kliniken können von MMR-Verdachtsfällen Proben entnehmen und einsenden
- Entnahmesets (Box + Porto, Besteck für Rachenabstrich und Urinmonovette + Umverpackung, Probenbegleitschein)
- Erhebung zusätzlicher Daten (Impfstatus, Symptome, Reiseanamnese etc.)

Formblatt, Liste, Tabelle  
Form, List, Table

ROBERT KOCH INSTITUT  


**Probenbegleitscheine Nationale Referenzzentrum Mumps, Masern, Röteln**

Dokumenten-ID-Code: FIT\_MMR\_probenbegleitschein\_005      Gültig ab: 25.01.2016  
Version-Nr.: 5      Seite 1 von 2

**Nationales Referenzzentrum Masern, Mumps, Röteln**  
Seestraße 10, 13353 Berlin  
Prof. Dr. A. Mankertz, Dr. S. Santibanez  
Tel.: 030 / 18754 -2516 / -2308 ; Fax: 030 / 1810754 -2598  
E-Mail: [MankertzA@rki.de](mailto:MankertzA@rki.de), [SantibanezS@rki.de](mailto:SantibanezS@rki.de)

RKI-Labor-Nr.: \_\_\_\_\_      RKI-Eingang: \_\_\_\_\_

BEGLEITSCHIN / EINSENDEBOGEN	
<b>EINSENDER:</b> Adresse, Tel.-Nr. (Stempel, Etikett oder Eintrag)	<b>ANGABEN zum PATIENTEN (evtl. Aufkleber):</b> Name, Vorname (Patienten-Nr.): .....  Geburtsdatum: .....  Geschlecht: <input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich
Gemeinschaftseinrichtung betroffen? <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein	<b>Infektionsgebiet:</b> <input type="checkbox"/> Deutschland <input type="checkbox"/> Ausland (welches?) .....
<b>Verdacht auf:</b> <input type="checkbox"/> Masern <input type="checkbox"/> Mumps <input type="checkbox"/> Röteln  <b>Probenentnahmedatum:</b> ____ Tag ____ Monat ____ Jahr	<b>Eingesandtes Untersuchungsmaterial:</b> <input type="checkbox"/> Serum/Blut <input type="checkbox"/> Oral fluid <input type="checkbox"/> Rachenabstrich <input type="checkbox"/> Urin <input type="checkbox"/> sonstiges: .....
<b>ANGABEN ZUR KLINIK:</b> Falldefinition erfüllt? <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein <i>(s. Rückseite)</i>	<b>Erkrankungsbeginn:</b> ____ Tag ____ Monat ____ Jahr <b>Exanthebeginn:</b> ____ Tag ____ Monat ____ Jahr
<b>Verdacht auf Impfvirusinfektion?</b> <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein <b>IMPFFANAMNESE:</b> Patient geimpft? <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> unklar  Wenn nicht geimpft: <input type="checkbox"/> <11 Monate; zu jung <input type="checkbox"/> med. Kontraindikation <input type="checkbox"/> Impfung nicht gewünscht <input type="checkbox"/> Impfung vergessen	<b>Impfdaten:</b> <b>Datum 1. Dosis:</b> ____ Tag ____ Monat ____ Jahr <input type="checkbox"/> MMR <input type="checkbox"/> MM <input type="checkbox"/> Röteln <input type="checkbox"/> Masern <input type="checkbox"/> MMRV  <b>Datum 2. Dosis:</b> ____ Tag ____ Monat ____ Jahr <input type="checkbox"/> MMR <input type="checkbox"/> MM <input type="checkbox"/> Röteln <input type="checkbox"/> Masern <input type="checkbox"/> MMRV
<b>Hinweise zur Einsendung:</b>   	



Diagnostik in NRZ und Konsiliarlaboren

Liste aller Referenzzentren und Konsiliarlabore

Bacillus anthracis

Clostridium botulinum

EM-Erregerdiagnostik

Influenza

Kryptokokkose, Scedosporiose und importierte Systemmykosen

Listerien

» Masern, Mumps, Röteln

» Primärprobenhandbuch

» Leistungen

» Diagnostik

» Entnahmesets

» Probenversand

» Publikationen

» FAQ

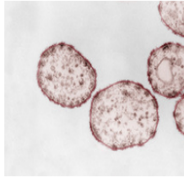
Noroviren

Poliomyelitis und Enteroviren

Respiratorische Syncytialviren, Parainfluenzaviren und Metapneumoviren

Nationales Referenzzentrum für Masern, Mumps, Röteln

Leitung: Annette Mankertz  
Stellvertreter: Sabine Santibanez



Masern-Viren unter dem Transmissions-Elektronenmikroskop.  
Quelle: Gelderblom, Koloniering: Schmatendorf/RKI

Masern, Mumps und Röteln sind virale Erkrankungen des Kinder- und Jugendalters, die aber auch ungeschützte Erwachsene betreffen können. Schutz wird durch Impfung mit dem MMR-Kombinationsimpfstoff entsprechend der STIKO-Empfehlung aufgebaut. Mit der Impfung wird auch den gefürchteten Komplikationen wie SSPE und Maserenzephalitis, Erlaubung nach Mumps oder den schwerwiegenden Missbildungen von Neugeborenen bei einer Rötelininfektion in der Schwangerschaft vorgebeugt.

Aufgrund der Bedeutung dieser Erkrankungen wurde von der WHO in der Region Europa die Elimination der Masern und Röteln sowie die Verhinderung der konnatalen Rötelnkrankung bei Neugeborenen bis zum Jahr 2015 beschlossen. Diesem Ziel hat sich auch Deutschland mit dem Interventionsprogramm Masern, Mumps, Röteln\* angeschlossen. Die wichtigste Maßnahme ist dabei die Erhöhung der MMR-Impfraten für die erste und zweite Dosis der MMR-Impfung auf jeweils über 95% der gesamten Bevölkerung. Damit könnte die jährliche Inzidenz auf unter 1 Fall pro 1 Million Einwohner gesenkt werden. Im Jahr 2013 traten in Deutschland aber statt der für die Elimination geforderten Höchstzahl von 80 noch 1.771 Masernfälle auf, fast alle davon bei Ungeimpften.

Aufgaben

Das NRZ MMR übernimmt im Eliminationsprogramm die Rolle der laborgestützten Surveillance. Aktuell zirkulierende Masern-, Mumps- und Rötelnviren werden genetisch charakterisiert, um Transmissionswege aufzuklären bzw. zur Untersuchung von Ausbrüchen beizutragen. Damit können wir wichtige Informationen zum Fortschreiten des Eliminationsprozesses zur Verfügung stellen. Außerdem führen wir Studien zur Sicherheit und Wirksamkeit von aktuellen Impfstoffen und Seroprävalenzstudien durch; letzteres um Aussagen zur Rate von Ungeschützten in der Bevölkerung machen zu können.

Infektionskrankheiten A-Z

Gesundheit A-Z

Aktuelles

Der Berliner Masernausbruch aus Sicht des Nationalen Referenzzentrums Masern, Mumps, Röteln

08.10.2015

AWMF: Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen

Datenbank SurvStat

SurvStat@RKI

Akkreditierung

Akkreditierung ausgewählter Verfahren auf der Basis der DIN EN ISO 15189 und DIN EN ISO/IEC 17025



Entnahmesets MMR

Hinweis für Ärzte und Gesundheitsämter: Bitte entnehmen Sie bei Verdacht auf Masern, Mumps oder Röteln Untersuchungsmaterial (s. Diagnostik) und senden Sie diese zur kostenfreien Untersuchung an das NRZ Masern, Mumps, Röteln. Entnahmebestecke können über das untenstehende Kontaktformular angefordert werden.

Ihre Angaben

Vor- und Zuname \*

Straße

Postleitzahl

Ort

Telefon

Institution

Betreff \*

Ihre Nachricht \*

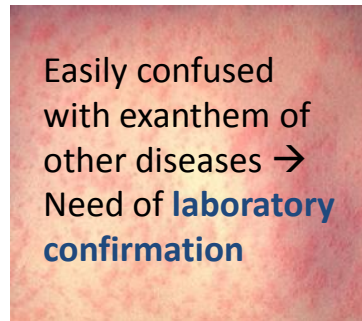
E-Mail: \*

Eine Kopie dieser Nachricht an Ihre E-Mail-Adresse senden



# Measles virus

- highly infectious to humans
- causing a self-limiting febrile illness with maculopapular rash



Easily confused with exanthem of other diseases → Need of **laboratory confirmation**

## Cellular receptor:

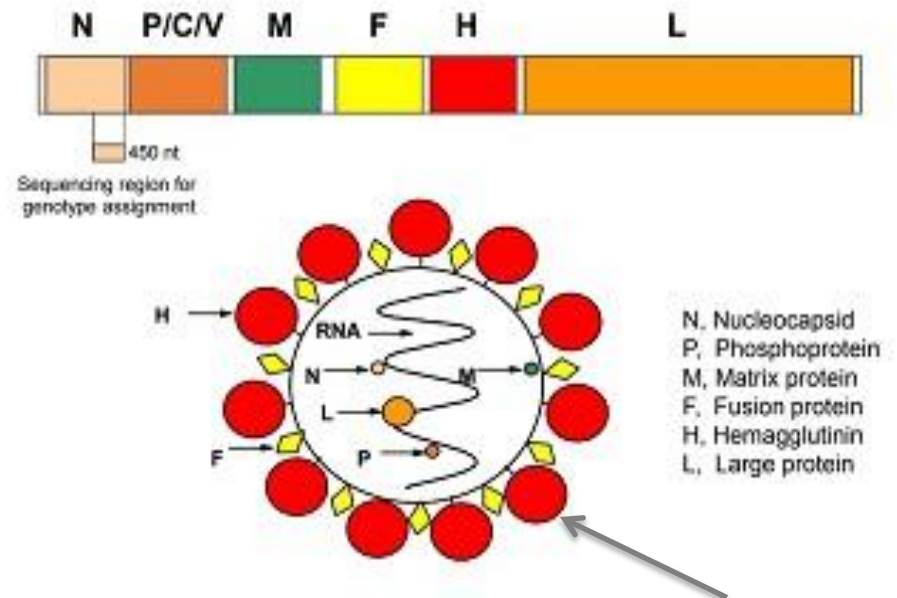
- Alveolar macrophages
- Dendritic cells
- B- and T-lymphocytes

**SLAM  
CD150**

Cells of respiratory epithelium

**Nectin-4**

Figure 1.1 Structure of measles virus



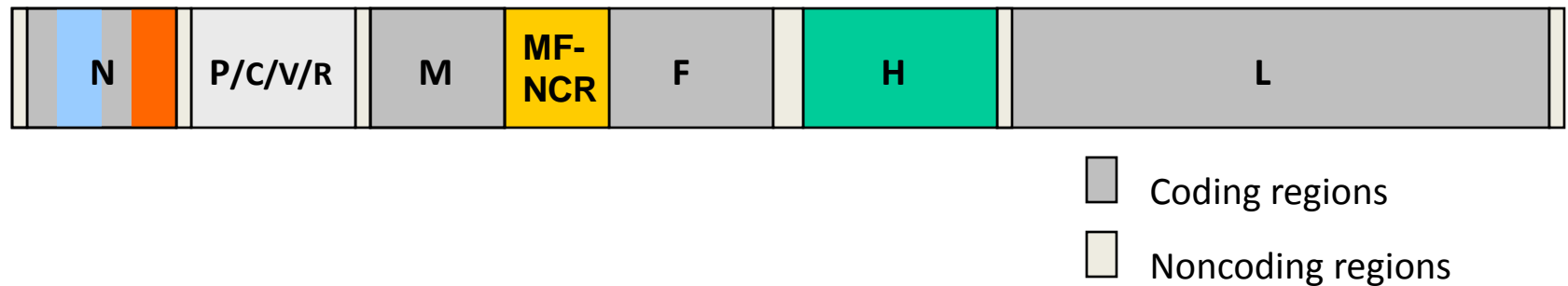
## Viral glycoprotein **Haemagglutinin (H)**:

- binds to the cellular receptor
- main target of (vaccine-induced) MV-neutralizing antibodies



# Masernvirus(MV)-Genom

ss(-)RNA/15 894 nt.



- Hoch konserviert → **Nachweis** der MV-RNA
- Variabel → MV-**Genotypisierung** (standardisiert durch WHO: 450 nt.)
- Zur Unterscheidung zwischen Transmissionsketten geeignet?
- Analyse der antigenen Eigenschaften

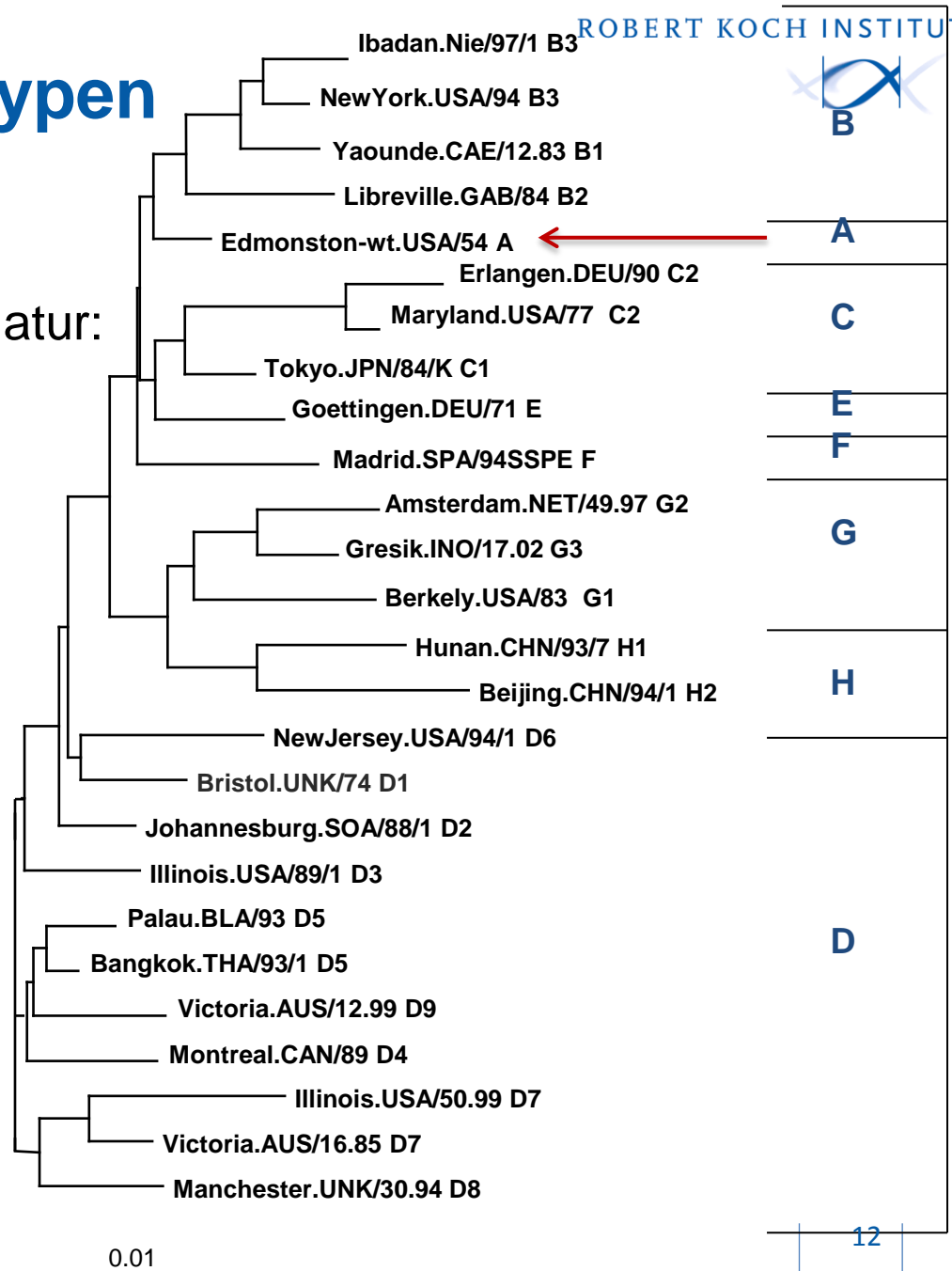
# MV-Clades und Genotypen

## Standardisierte WHO-Nomenklatur:

- 8 Clades (A-H)

- 24 Genotypen

- A
- B1–3
- C1-2
- D1–11
- E
- F
- G1–3
- H1-2



# WHO-Datenbanken für Molekulare Surveillance der Masern und Röteln



Entwickelt und betreut durch Public Health England (WHO Global Lab)

Viele *tools* verfügbar, neue entwickelt

The aim of this initiative is to develop a web-accessible and quality-controlled nucleotide database for the WHO Measles Laboratory Network. This database is used as a tool to track measles sequence diversity and monitor elimination of virus strains. This database currently (Sat. 03 May 2014 16:31:28 +0100) has **15497** sample records and **16231** viral sequences.

### More on Measles

Measles remains a leading cause of death among young children, despite the availability of a safe and effective vaccine for the past 40 years. An estimated 345 000 people, the majority of them children, died

Click [here](#) for more details. The quality of all data deposited in the database is high.

- To search a database,
- To find identifiers,
- To genotype (genes)

**Accessing the database**  
To access the data you are required to **register**. If you have any questions, contact the curators (Means-AT-phenomenon). You can also view or download the data at the [MeaNS FAQ](#).

**Citing MeaNS**  
Please cite means using *J Infect Dis.* 2010; 202(10):1093-1094. doi:10.1093/infdis/jir118. **genotypes and measles** et al.

This web database developed by Public Health England



Photo Courtesy of U.S. Centers for Disease Control and Prevention

WHO Name	CRS	Genotype	Country	City or State	Other Geo Info	Exporting Country	Date	Genbank_id	GE	E1	SP	WG	OT	
<a href="#">RV14Hubei_CHN14.14/</a>		1E	China	Shiyan	Hubei		2014-04-03						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Hubei_CHN14.14/2</a>		1E	China	Shiyan	Hubei		2014-04-03						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Hubei_CHN14.14/3</a>		1E	China	Shiyan	Hubei		2014-04-01						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Hubei_CHN14.14/4</a>		1E	China	Shiyan	Hubei		2014-04-03						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Hubei_CHN14.14/5</a>		1E	China	Shiyan	Hubei		2014-04-03						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Hubei_CHN20.14/6</a>		2B	China	Wuhan	Hubei		2014-05-15						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Hubei_CHN20.14/7</a>		2B	China	Wuhan	Hubei		2014-05-15						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Florida_USA09.15/</a>		1J	United States of America	Florida	Miami	Philippines	2015-02-22						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14Massachusetts_USA01.08/</a>		1G	United States of America	Massachusetts	Boston	Cape Verde	2008-08-05						Y	<a href="#">Delete</a>
<a href="#">RV14HongKong_CHN05.15/</a>		1E	China	Hong Kong		Indonesia	2015-01-28	KP876049					Y	<a href="#">Delete</a>

Netzwerk-Labore übermitteln Sequenzen **mit** klin.-epid. Daten



# Disappearance of MV genotypes?



24 genotypes originally recognised in 8 different clades, but:

*Many thanks for this slide go to Dr. Kevin Brown and Dr. David Williams, PHE, London, U.K.*

Genotype	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
<b>B2</b>	1	12	52	7								
<b>B3</b>	17	94	387	336	1082	596	1494	566	721	2673	2778	93
<b>D4</b>	425	338	666	2026	927	134	41	66	53	15	17	
<b>D5</b>	114	17										
<b>D8</b>	76	37	96	246	832	1700	1223	1301	1552	2552	3284	314
<b>D9</b>	26	28	41	225	91	79	91	33	96	46		
<b>D11</b>	0	6	1									
<b>G3</b>	0	0	25	51	1	15	5					
<b>H1</b>	157	144	158	29	66	181	4850	3167	2599	544	33	

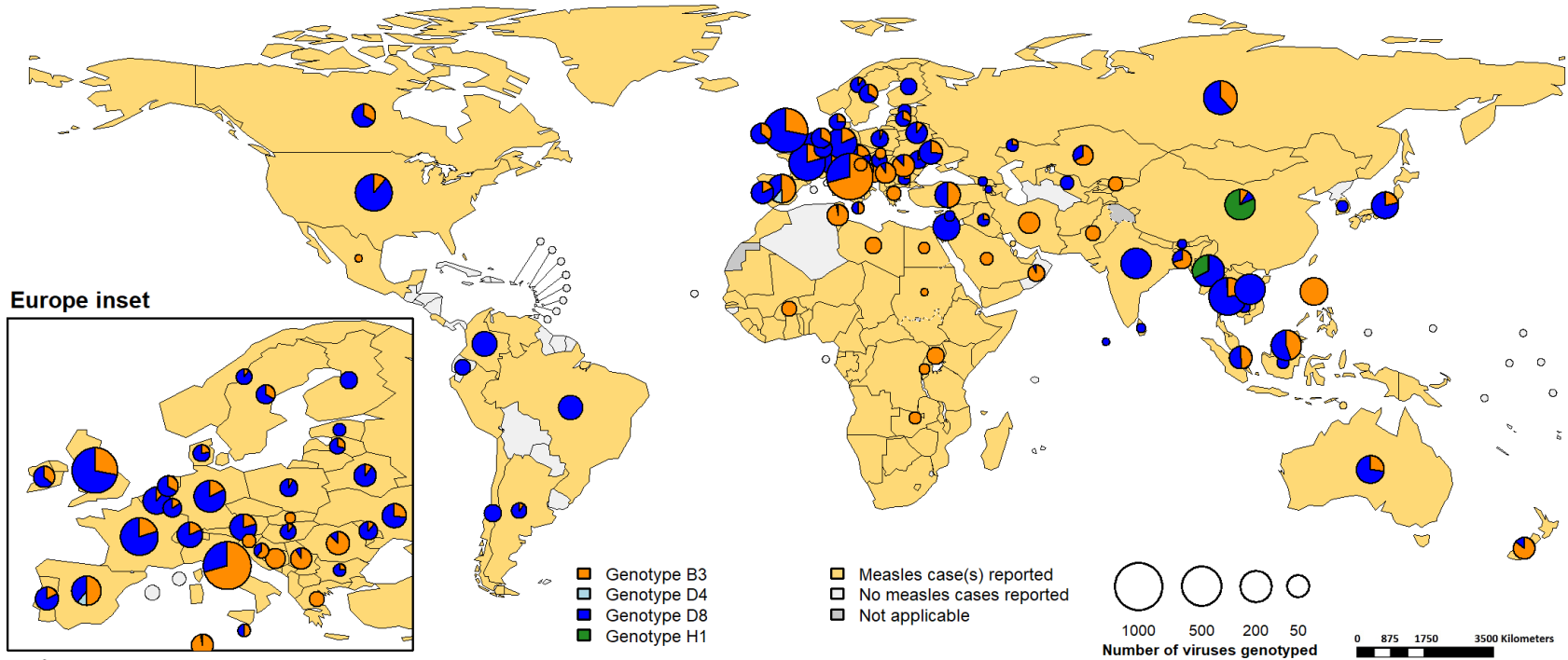
Epidemic in Switzerland 2006-2009

*Indication of progress towards measles elimination?*

Data source: MeaNS database as of 10 March 2019.  
22.05.2019



# Distribution of MV genotypes (last 12 months)



Map production: World Health Organization, WHO, 2019. All rights reserved  
Data source: IVB & MeaNS Databases

**Disclaimer:**

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

**Globally:** MVs of only **3** genotypes (**B3**, **D8** and **H1**) widely circulating  
**EUR:** Large outbreaks caused by **B3** and **D8**

- Notes: Data Source: MeaNS database (Genotypes) and IVB Database (Incidence) as of 2019-05-08 and covering the period 2018-04-01 to 2019-03-31 - Pie charts proportional to the number of sequenced viruses





# Vom Genotyp zur Sequenzvariante

- Ein MV-**Genotyp** umfasst **mehrere** Sequenzvarianten
- MV-**Sequenzvariante** durch **Nukleotidsequenz eindeutig** bestimmt (450 nt, N-Gen)
- Jeder MV-Sequenzvariante in WHO-MeaNS-Datenbank **Zahlencode** zugeordnet („**Distinct sequence ID**“)  
→ ***meldet NRZ an Gesundheitsämter!***
- **Weltweit dominierende** Sequenzvarianten erhalten Namen durch WHO („**Named Strain**“)



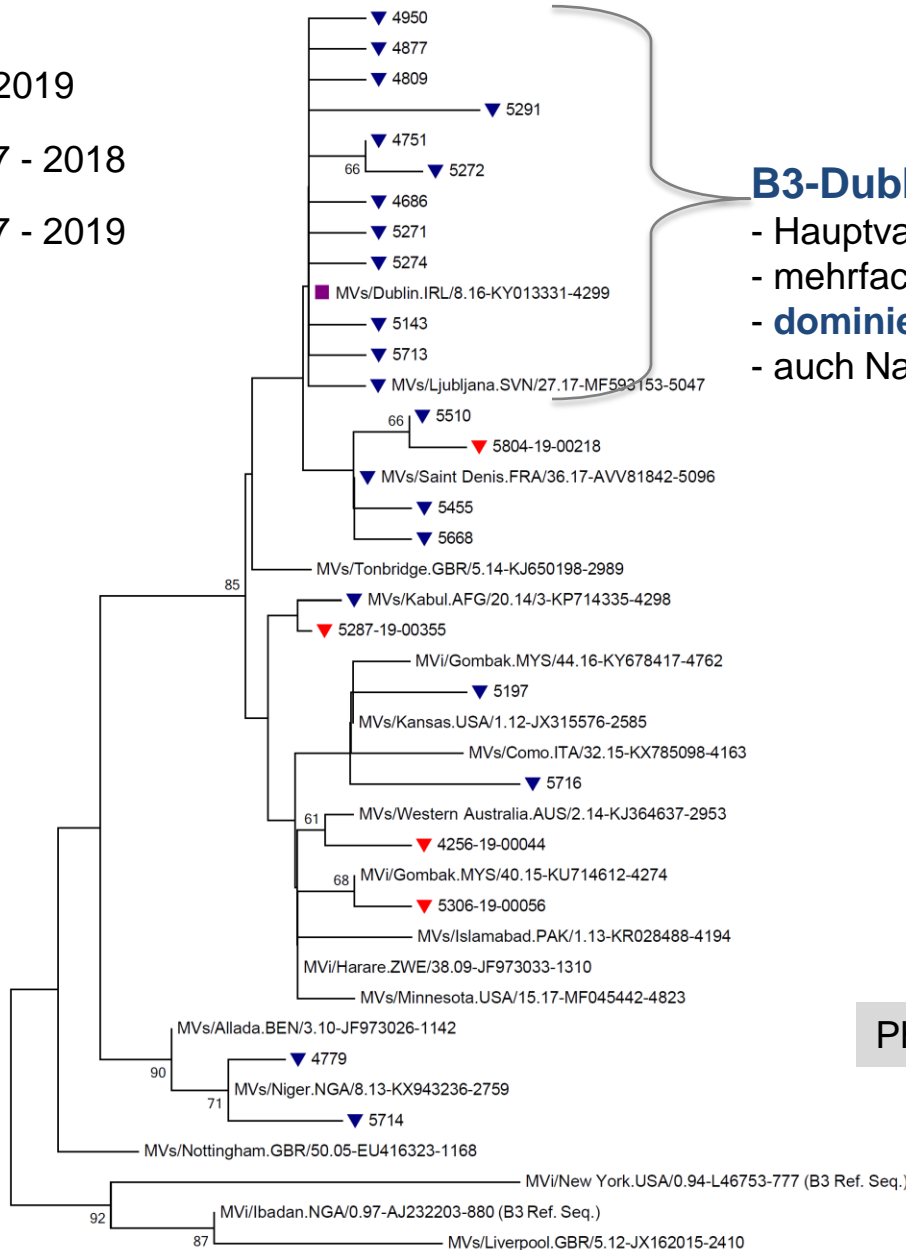
## Analyse der Situation in Deutschland

- Nahezu **alle PCR-positiven** Masern-Fälle im NRZ genotypisiert
- Aktuell (seit 2017) nur noch die MV-Genotypen **B3** und **D8** nachgewiesen
- → *Welche MV-**Sequenzvarianten**?*
- → *Wie ordnen sie sich **phylogenetisch** ein?*

# Sequenzvarianten des MV-Genotyps B3 in DEU, 2017-2019



- ▼ nur in 2019
- ▼ in 2017 - 2018
- in 2017 - 2019



## B3-Dublin-Linie

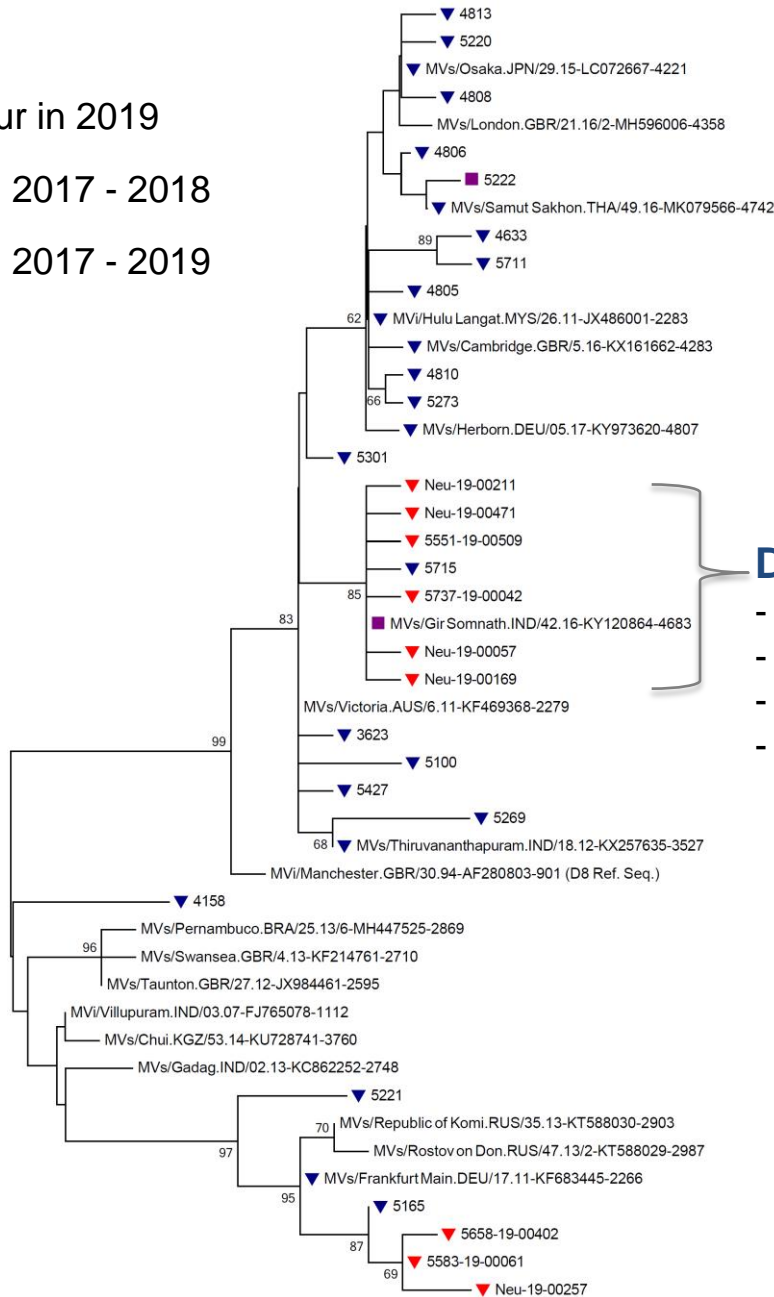
- Hauptvariante „**B3-Dublin-4299**“ und Abkömmlinge
- mehrfach importiert aus **Balkan-Ländern** und **Italien**
- **dominierte** in **2017** in DEU
- auch Nachweise in 2018 und 2019

Phylogenetische Analyse, N-Gen, 456 nt

# Sequenzvarianten des MV-Genotyps D8 in DEU, 2017-2018



- ▼ nur in 2019
- ▼ in 2017 - 2018
- in 2017 - 2019



## D8-Gir Somnath-Linie

- Hauptvariante „**D8-Gir Somnath-4683**“ und Abkömmlinge
- erster Fall in 2018 importiert aus **Thailand**
- ab 2. HJ 2018 überwiegen Importe aus der **Ukraine**
- **dominiert** in **2018** und **2019** in DEU

Phylogenetische Analyse, N-Gen, 456 nt



## Wie verteilen sich die Nachweise der dominierenden Sequenzvarianten in DEU?

- Nach dem Ort (Bundesland)
- Nach der Zeit (Monat)
- *Wie lange **kontinuierlich** nachgewiesen?*
  - **$\geq 12$  Monate** und damit nach WHO-Kriterium **endemisch**?





## Perspektive: Höher feinauflösende Sequenzierung

**Hauptvarianten** „B3-Dublin-4299“ und „D8-Gir Somnath-4683“ **mehrfach** nach DEU **importiert**

→ **Mehrere unabhängige** Transmissionsketten vermutet

→ **Unterscheidung** zwischen diesen Ketten durch **Sequenzierung** einer **weiteren Genomregion** möglich?



**Höchste Variabilität**

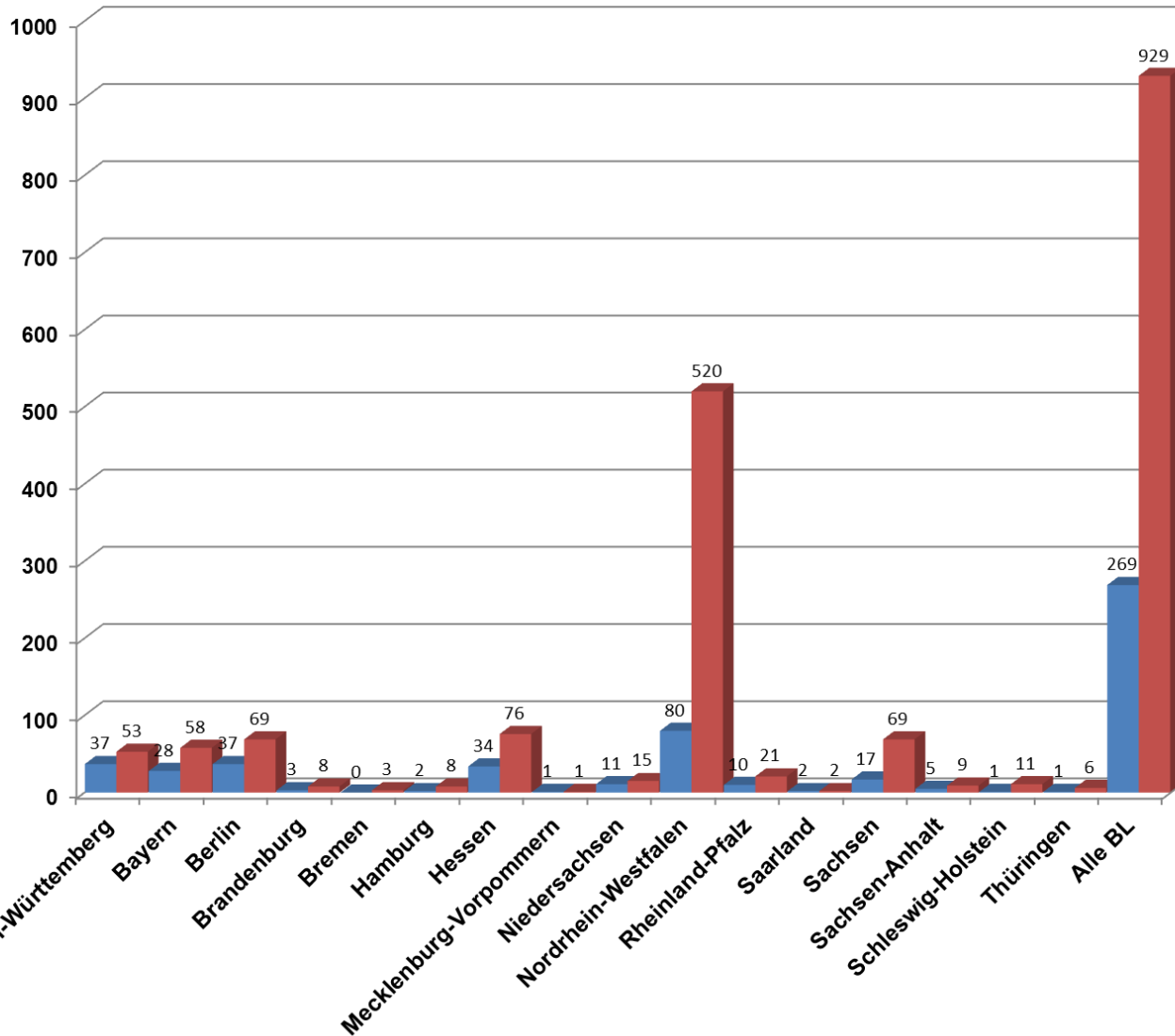
→ **MF-NCR** zur **Unterscheidung zwischen Transmissionsketten** innerhalb der gleichen Variante (im N-Gen) hilfreich?

- Aktuell in Arbeit im WHO Global Measles/Rubella Lab-Net

# Wie repräsentativ sind die molekularen Daten?



2017



29% der gemeldeten Fälle genotypisiert

- Anzahl der Fälle mit MV-Genotyp (Probenentnahme 01.01. - 31.12.2017)
- Anzahl der nach IfSG gemeldeten Fälle

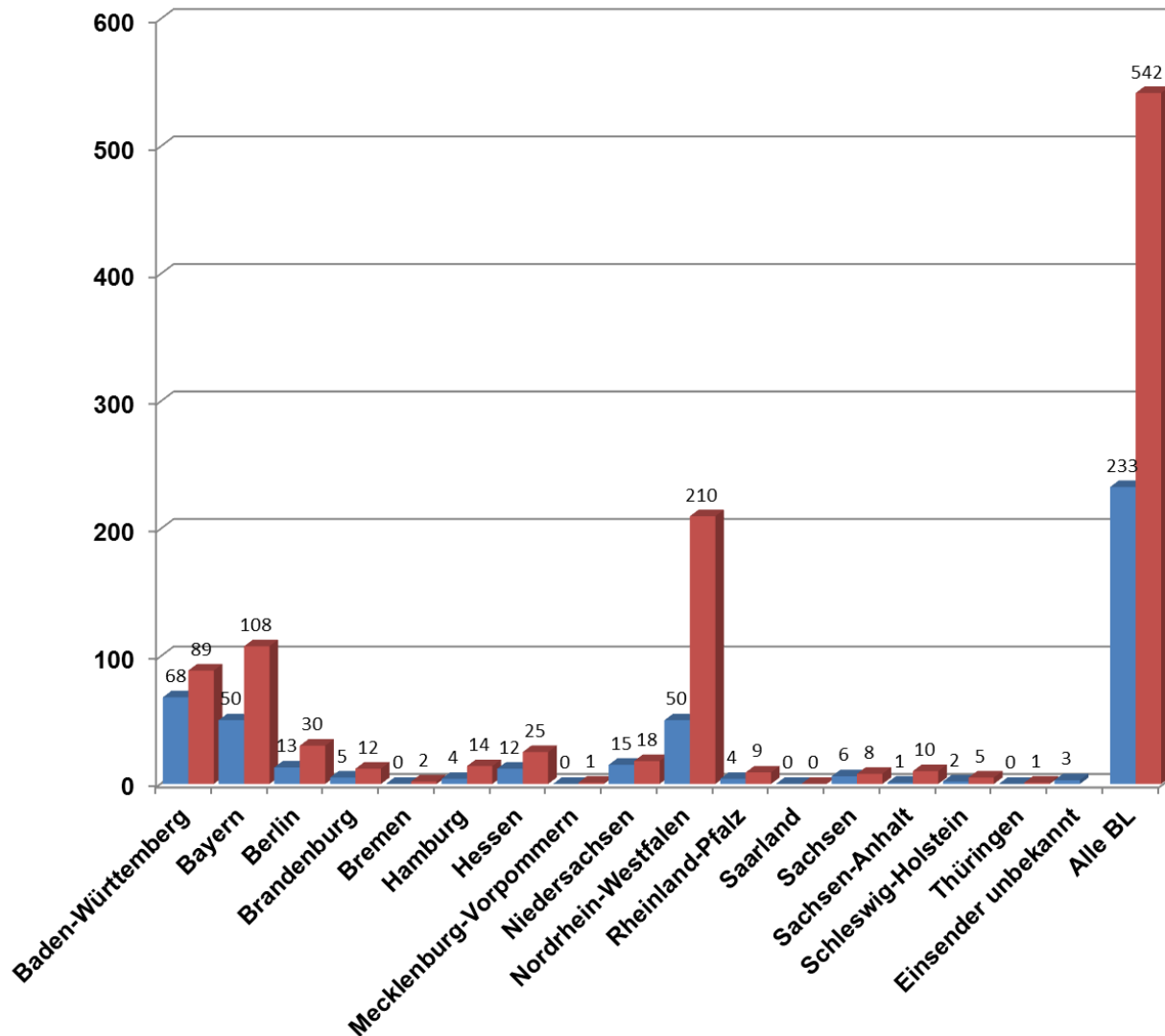




# Wie repräsentativ sind die molekularen Daten?

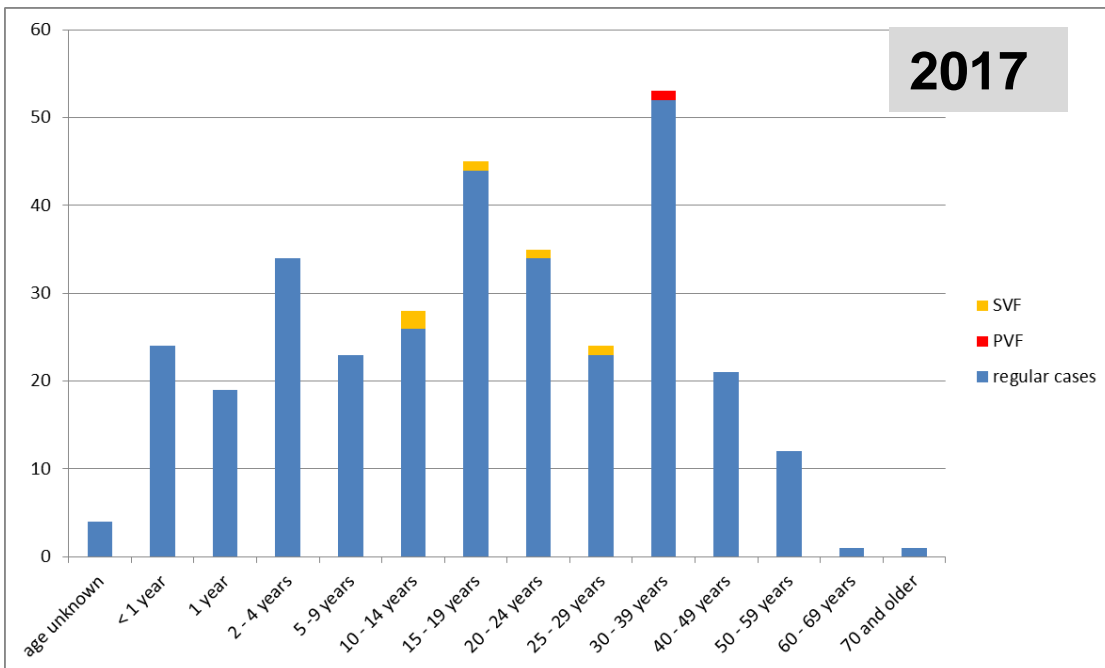
2018

43% der gemeldeten Fälle genotypisiert



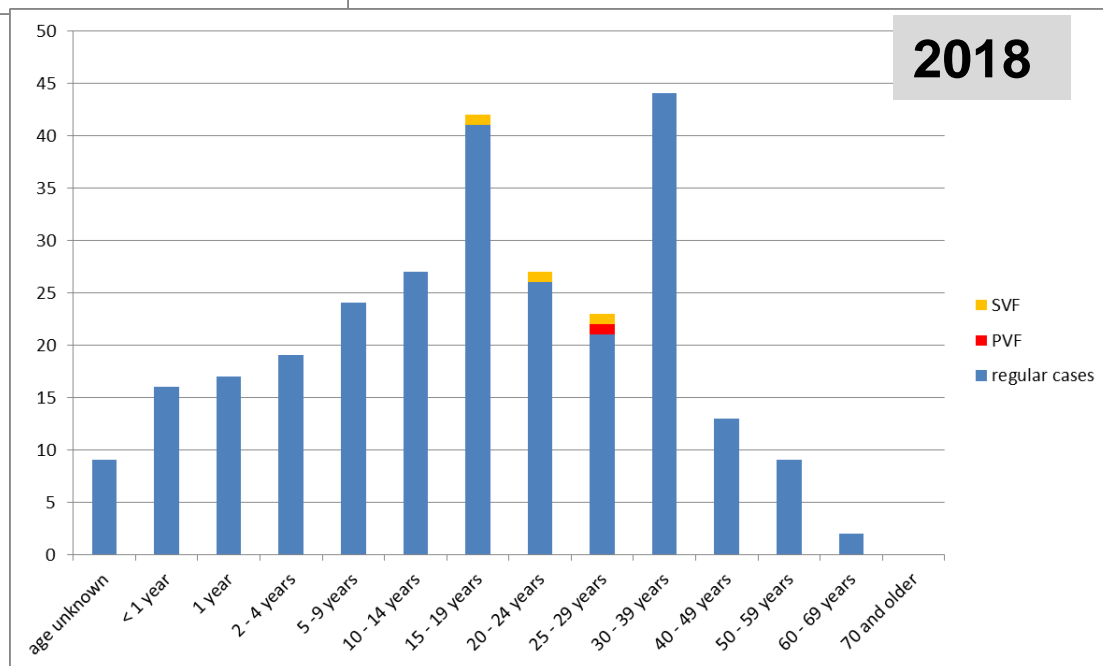
■ Anzahl Fälle mit MV-Genotyp (Probenentnahme 01.01. - 31.12.2018)  
 ■ Anzahl der nach IfSG gemeldeten Fälle (Stand 15.01.2019)

# Altersverteilung der im NRZ bestätigten Masernfälle



**SVF** Sekundäres Impfversagen (Reinfektion nach weit zurückliegender Impfung)

**PVF** Primäres Impfversagen





**Wir danken allen Einsendern für Proben und Daten!**