

NATIONALES REFERENZZENTRUM FÜR MASERN, MUMPS, RÖTELN

Tätigkeitsbericht für das Jahr 2022

Zusammenfassung

Im NRZ MMR werden Proben von **Masern-, Mumps- und Rötelnverdachtsfällen** mit dem Ziel der **molekularen Charakterisierung der aktuell zirkulierenden Viren** untersucht. Für Masern und Röteln werden auf Basis der Ergebnisse der molekularen Surveillance Einschätzungen zum Stand des **Eliminationsprogramms der WHO** erarbeitet. Im Jahr 2022 sank aufgrund der Maßnahmen zur Bekämpfung der SARS-CoV2-Pandemie die Anzahl der gemeldeten Fälle sowie der Einsendungen an das NRZ und der positiven Nachweise merklich. International wird inzwischen ein Wiederaufflammen der Masernaktivität beobachtet.

2022	IfSG Meldungen	An das NRZ MMR eingesandte Fälle	Im NRZ bestätigte Fälle
Masern	15 (10)	60 (43)	8 (6)
Mumps	259 (112)	179 (51)	42 (0)
Röteln	3 (5)	20 (22)	0 (1)

Tabelle 1: Überblick über gemeldete und im NRZ MMR untersuchte bzw. bestätigte Verdachtsfälle von Masern, Mumps und Röteln. Stand der IfSG Meldungen vom 12.04.2023 lt. SURVSTAT (<https://survstat.rki.de/>). Zahlen in Klammern beziehen sich auf das Vorjahr.

Im Jahr 2022 wurde für 6 Fälle der Masernvirus (MV)-Genotyp im NRZ MMR bestimmt, ein weiterer Fall wurde am Bayerischen Landesamt genotypisiert. **Genotyp B3** wurde bei **5 Fällen** (3 Varianten) und **Genotyp D8** bei **2 Fällen** (2 Varianten) nachgewiesen.

Rötelnfälle wurden im Jahr 2022 nicht durch das NRZ MMR bestätigt. Um die von der WHO zuerkannte Elimination der Röteln in Deutschland zu stützen, führt das NRZ MMR eine verstärkte Surveillance von IgM-Zufallsbefunden ohne Symptome durch.

Mumpsausbrüche traten in 2022 erstmalig wieder auf, die im NRZ MMR analysierten Viren gehörten wiederum überwiegend dem Genotyp G an.

Für den Stand der Masernelimination ist die Dauer der beobachteten Transmissionsketten ein wichtiger Indikator. Die seit März 2018 anhaltende Zirkulation der N-450 Hauptvariante „D8-Gir Somnath“ brach im Frühjahr 2020 ab. Seitdem kam es in Deutschland nicht zur Etablierung einer neuen Transmissionskette.

Demzufolge kann Deutschland im dritten Jahr in Folge angeben, dass die endemische Maserntransmission unterbrochen ist.

In Bezug auf die Röteln hatte die WHO Deutschland den Status der Rötelnelimination für die Jahre 2017-19 zuerkannt (WHO EURO, 2021); dieser Zustand wird fortgeschrieben.

English summary

At the NRC MMR, samples of suspected measles, mumps and rubella cases are examined in order to molecularly characterize currently circulating viruses. For measles and rubella, this molecular surveillance serves as a basis for the evaluation of the status of the WHO elimination program. In 2022, the number of reported cases as well as the number of submissions to the NRC and the confirmation rate fell markedly due to the measures taken to combat the SARS-CoV2 pandemic and remained equally low for measles and rubella in 2022. Globally, a resurgence of measles is now being observed.

In 2022, the measles virus (MV) genotype B3 was determined for 6 cases at the NRC MMR. An additional case of genotype B3 probably imported from Austria was detected at the Bavarian Public Health Office. The MV genotype D8 was determined for 2 sporadic cases.

No suspected rubella case was confirmed in 2022. To consolidate rubella elimination, incidentally found positive anti-rubella IgM results were analyzed at the NRC MMR.

Mumps outbreaks reoccurred in 2022 after no mumps case was confirmed at the NRC MMR in 2021.

For the status of measles elimination, transmission chain length is an important indicator. Circulation of the N-450 major variant "D8-Gir Somnath", which had been ongoing since March 2018, broke off in the spring of 2020. There was no establishment of a new transmission chain in Germany. Consequently, Germany can demonstrate for the third consecutive year that endemic measles transmission has been interrupted. Regarding rubella, the WHO had granted Germany rubella elimination status for 2017-19 (WHO EURO, 2021); this status continues.

Berichterstattung entsprechend des Aufgabenkatalogs

I Entwicklung bzw. Verbesserung diagnostischer Verfahren, Koordination bei der Standardisierung und Verbreitung allgemein gültiger Testverfahren. Initiierung von Untersuchungen zur Qualitätssicherung.

I.1 Ringversuch zum Genomnachweis von Masern-, Mumps- und Rötelnviren in Zusammenarbeit mit Instand e.V. und der WHO

Das von Instand e.V. in Zusammenarbeit mit dem NRZ MMR etablierte Qualitätssicherungsverfahren für den Genomnachweis und die Genotypisierung von Masern-, Mumps- und Rötelnviren per PCR wird kontinuierlich weiterentwickelt. Wir stellen Instand e.V. Materialien für den jeweiligen Ringversuch zur Verfügung und führen als Expertenlabor die Vorversuche für die Sollwertbestimmung durch.

I.2.1 Implementierung einer Ganzgenomsequenzierungs-Routine für Masernvirus (MV)

Für die Surveillance der MV-Zirkulation ist die erreichte Informationstiefe durch Genotypisierung per Sequenzierung des N-450 Fensters in der Eliminationsphase nicht mehr ausreichend, da von ehemals 24 Genotypen weltweit nur noch 2 nachgewiesen werden. Deswegen wird an neuen Strategien zur verbesserten

Stratifizierung von MV-Varianten gearbeitet, die zunächst das MF-Fenster und später die Ganzgenomsequenzierung zum Ziel hatten.

Wir haben inzwischen die Ganzgenomsequenzierung weitgehend entwickelt und arbeiten jetzt an der Verfeinerung der Methode, um MV aus Patientenproben sequenzieren zu können. Für diese Herangehensweise werden Anreicherungsverfahren („Hybridization Capture“) wesentlich, die momentan im Rahmen einer Doktorarbeit entwickelt werden.

2 Diagnostik und Feintypisierung von Erregern einschließlich molekularbiologischer Untersuchungen zur Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge

2.1 Masern

Das NRZ MMR hat im Jahr 2022 Einsendungen zu 60 Masernverdachtsfällen untersucht, davon 7 Fälle in zeitlichem Zusammenhang mit einer MMR-Impfung. Von den 53 Einsendungen zu akuten Verdachtsfällen wurde in 8 Fällen die Diagnose Masern bestätigt (15 %). Davon erfolgte die Bestätigung in allen Fällen mittels PCR und in einem Fall zusätzlich durch Masern-IgM. Für 4 bestätigte Fälle wurde der Genotyp B3 bestimmt, für 2 Fälle der Genotyp D8. In 2 Fällen konnte kein Genotyp ermittelt werden. Von den 7 Einsendungen mit Verdacht auf Impfmern wurde in 3 Fällen das Impfvirus mit dem Genotyp A nachgewiesen. In 2 Fällen wurde das MV-Genom mittels PCR nachgewiesen, eine Differenzierung zwischen Impf- und Wildvirus war jedoch aufgrund der geringen Menge an viraler RNA nicht möglich. In den beiden anderen Fällen wurde kein MV nachgewiesen.

Da das klinische Bild von Masern und Röteln ähnlich ist, empfiehlt die WHO, negative Materialien auf den jeweils anderen Erreger zu testen. Die retrospektiv für Masern durchgeführte Untersuchung von 33 Röteln-negativen Materialien (7 Seren und 26 PCR-Proben) von 20 Patient*innen (6 davon geimpft, 8 ungeimpft, 6 mit unbekanntem Impfstatus) ergab **keinen zusätzlichen Masernfall**.

Masernvirus-Varianten 2022

Der Rückgang der global nachgewiesenen MV-Genotypen von 24 auf nur 2 bis zum Jahr 2021 zeigt den **Fortschritt der Masernelimination**. Weltweit zirkulieren seit 2021 nur noch die MV-Genotypen B3 und D8. Infolge der COVID-19 Pandemie hatte sich die Anzahl der MV-Nachweise in Deutschland und der WHO Region Europa (WHO EUR) seit dem 2. Quartal 2020 drastisch reduziert. Im Jahr 2022 wurde weltweit ein Anstieg der gemeldeten Masernfälle gegenüber 2021 registriert.

In 2022 wurden am NRZ MMR 6 Masernfälle genotypisiert, von denen 4 eine Assoziation mit Afghanistan aufwiesen und dem Genotyp B3 angehörten. Diese Fälle traten alle im Februar auf (Woche 5 und 7). Es handelte sich bei den Erkrankten um 3 Kinder im Alter von 1 bis 4 Jahren und um eine Frau im Alter von 19 Jahren, die in Unterkünften für Schutzsuchende in Brandenburg (LK Teltow-Fläming/Luckenwalde), Schleswig-Holstein (Kreis Bad Segeberg), Baden-Württemberg (Stuttgart) bzw. in Bayern (LK Bamberg) untergebracht waren. In drei Fällen erfolgte die Infektion noch in Afghanistan; der Fall aus Baden-Württemberg ist vermutlich auf dem Flug von Afghanistan nach Deutschland durch den im selben Flugzeug gereisten Fall aus Brandenburg infiziert worden. Folgefälle durch Übertragung in Deutschland sind nicht bekannt. Die **molekulare Analyse basierend auf der N-450 Region des MV-Genoms** ergab für die Fälle aus Brandenburg und Baden-Württemberg entsprechend ihrer epidemiologischen Verbindung die **Sequenzvariante „B3-6418“** (Abb. 1A). Auch für den Fall aus Bayern aus Woche 7 wurde die **Sequenzvariante „B3-6418“** bestimmt. Im Fall aus Schleswig-Holstein aus Woche 5 handelte es sich um die **Sequenzvariante „B3-8254“**; dieser steht somit nicht in direkter Verbindung mit den drei erstgenannten Fällen. Weiterhin ist in Bayern in Woche 1 ein Fall mit der

Variante „B3-6485“ nachgewiesen worden, der sich vermutlich in Tirol/Österreich infiziert hatte; die Genotypisierung erfolgte im Labor des Bayerischen Landesamtes (LGL).

Im November und Dezember traten in Hessen die beiden am NRZ MMR als Genotyp D8 registrierten Fälle auf. D8 war 2020 in Deutschland die dominierende Variante, wurde seit 2021 jedoch nicht mehr nachgewiesen. Beide Fälle aus 2022 wurden in Frankfurt am Main gemeldet. Es handelte sich um einen 51-jährigen ungeimpften Patienten mit Symptombeginn in Woche 46 ohne wissentlichen Kontakt zu erkrankten Personen und ohne Auslandsanamnese. Im zweiten Fall handelte es sich um einen 9 Monate alten Säugling aus dem LK Limburg/Weilburg mit Symptombeginn in Woche 48. Auch hier ist keine epidemiologische Verbindung mit erkrankten Personen bekannt und als Infektionsgebiet wird Deutschland genannt.

Die molekulare Analyse basierend auf der N-450 Region des MV-Genoms ergab im Fall aus Woche 46 die Sequenzvariante „D8-2279“ und im Fall aus Woche 48 die Sequenzvariante „D8-5963“ (Abb. 1B). Es handelte sich somit um sporadisch in Deutschland aufgetretene Masernfälle.

Einschätzung der Situation im Hinblick auf die Elimination der Masern

Im Jahr 2022 wurden zwei Masernvirus-Genotypen bei Fällen mit Infektionsgebiet Deutschland nachgewiesen. Die geringe Anzahl der Fälle, ihre überwiegende Import-Assoziation sowie das nur kurzzeitige Auftreten der nachgewiesenen Sequenzvarianten sprechen deutlich gegen eine endemische Masernvirus-Transmission (Übertragung einer Variante über > 12 Monate) in Deutschland. Diese Einordnung wird im dritten Jahr in Folge beobachtet.

Abb. 1A

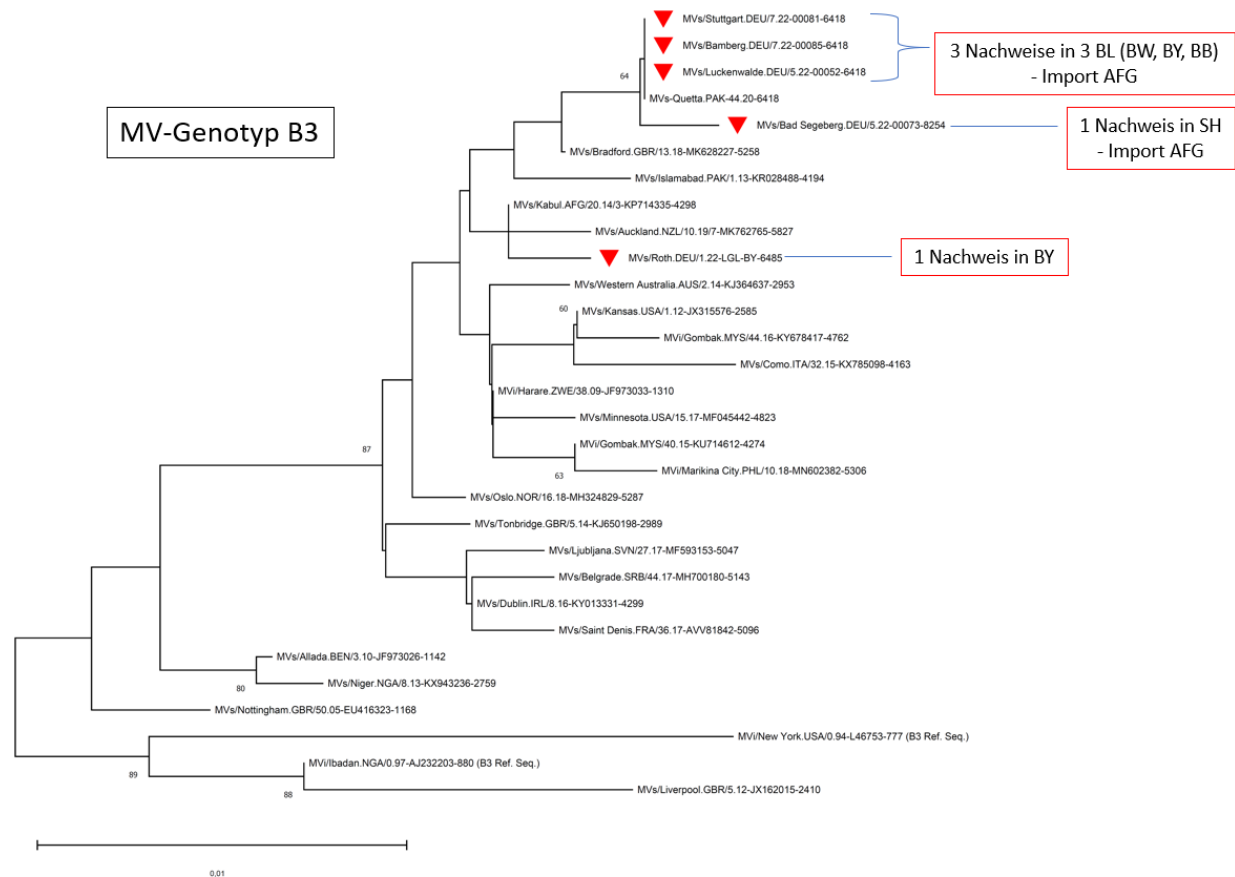


Abb. 1B

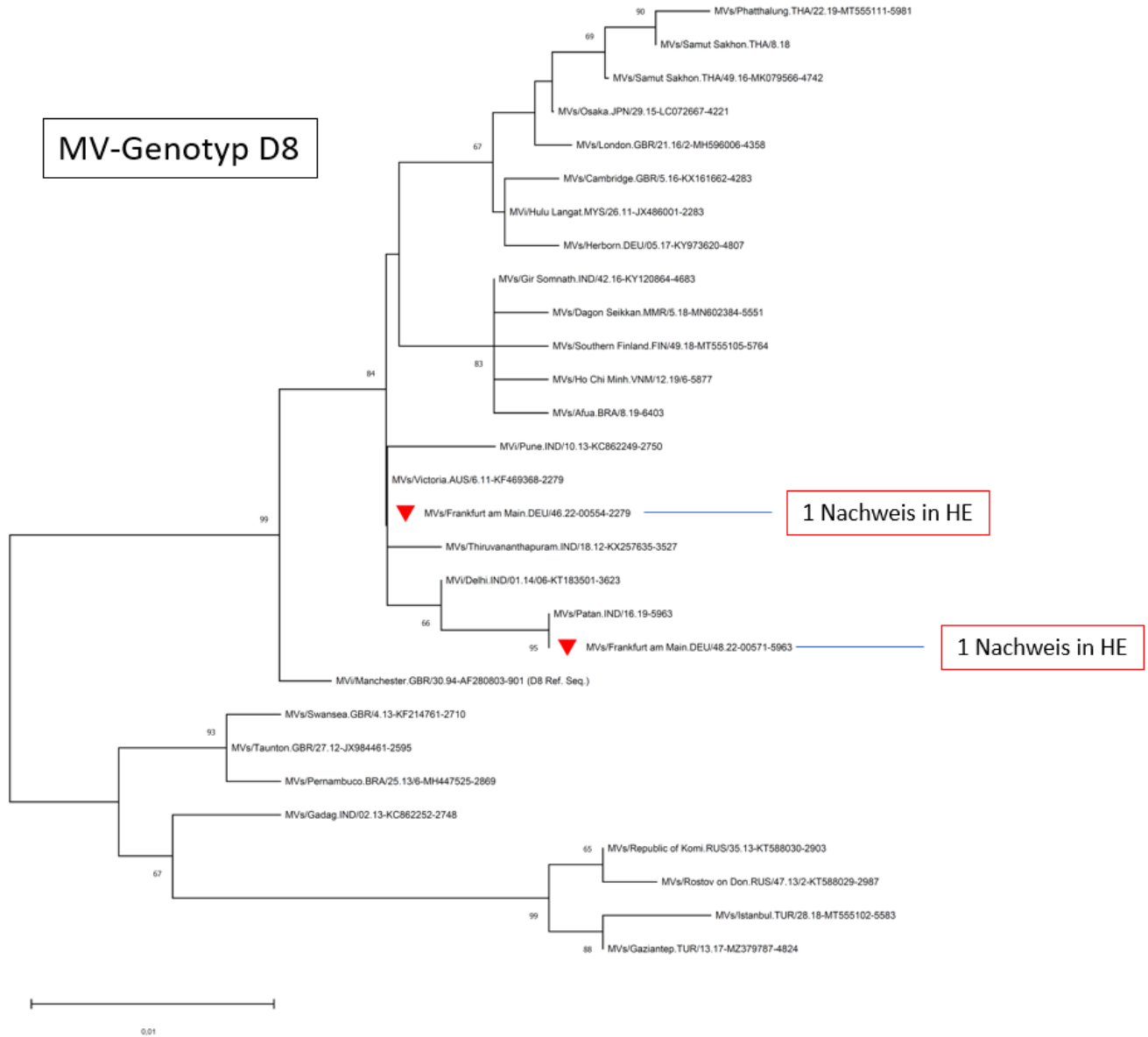


Abb. 1: Phylogenetische Analyse auf der Basis der N-450 Sequenz für die in Deutschland 2022 nachgewiesenen MV-Varianten des Genotyps B3 (Abb. 1A) und des Genotyps D8 (Abb. 1B) mit den WHO-Referenzstämmen (Stand: 31.12.2022).

2.2 Mumps

Das NRZ MMR hat in 2022 179 Einsendungen aus 14 Bundesländern zu Fällen mit klinischem Verdacht auf Mumps erhalten; es wurden 42 Fälle bestätigt (23,5 %). Betroffen waren Niedersachsen (15 Fälle, 35,7 %), Baden-Württemberg (14 Fälle, 33,3 %), Thüringen (6 Fälle, 14,3 %), Bayern (3 Fälle, 7,1 %), Nordrhein-Westfalen (2 Fälle, 4,8 %), Berlin (1 Fall, 2,4 %) und Sachsen-Anhalt (1 Fall, 2,4 %). Mittels direktem Erregernachweis (PCR) wurden 40 Verdachtsfälle bestätigt. Von diesen wurden in 8 Fällen zusätzlich Mumpsspezifische IgM-Antikörper untersucht. Die Ergebnisse fielen für 5 Fälle positiv, für 2 Fälle grenzwertig und für 1 Fall negativ aus. Bei 2 weiteren Fällen fiel der serologische Nachweis (IgM) positiv aus; PCR-Material stand nicht zur Verfügung.

Bei einem weiteren Fall fiel der serologische Nachweis nach kürzlich erfolgter Impfung positiv aus, der direkte Erregernachweis aber negativ. Bei 9 Fällen fiel der serologische Nachweis fraglich aus; unter Verwendung

zweier unterschiedlicher Testverfahren (Sandwich-ELISA und μ -Capturetest) zeigte sich ein diskrepantes Ergebnis für Mumps-Virus spezifische IgM-Antikörper. Von den 9 serologisch fraglichen Fällen hatten wir für 7 auch PCR-Material erhalten; bei allen fiel der direkte Erregernachweis negativ aus, sodass alle diese Fälle nicht als akute Fälle bestätigt wurden.

Für 28 der 40 PCR-positiven Fälle gelang die Genotypisierung des Mumpsvirus. Überwiegend traten 2022 Mumpsviren des weltweit dominierenden Genotyps G in Deutschland auf (Abb. 2 und 3). Genotyp D wurde bei einem Fall aus Baden-Württemberg nachgewiesen (Abb. 2 und 3). Bei 25 der 43 bestätigten Fälle wurde ein Bezug zur Ukraine ermittelt, da es sich um Bewohnerinnen und Bewohner von Unterkünften für Schutzsuchende handelte. Fälle, die sich noch im Ausland infiziert hatten, sind uns nicht übermittelt worden.

Mumps kann inapparent auftreten und die klinische Diagnose ist nicht immer zuverlässig. Aus diesem Grund führt das NRZ MMR in Einzelfällen auch Untersuchungen durch, ohne dass die Falldefinition zwingend erfüllt sein muss. Im Jahr 2022 hatten wir 23 Fälle zur Überprüfung erhalten, von diesen wurden 12 Fälle aufgrund eines serologischen Zufallsbefund (IgM) übermittelt. Bei 2 Fällen fiel der serologische Nachweis positiv aus, aber nur für einen Fall stand PCR-Material zur Verfügung (Genomnachweis negativ). Zusammenfassend konnten damit mit einer Ausnahme alle Fälle ohne Klinik aber mit IgM-Vorbefund im NRZ MMR ausgeschlossen werden.

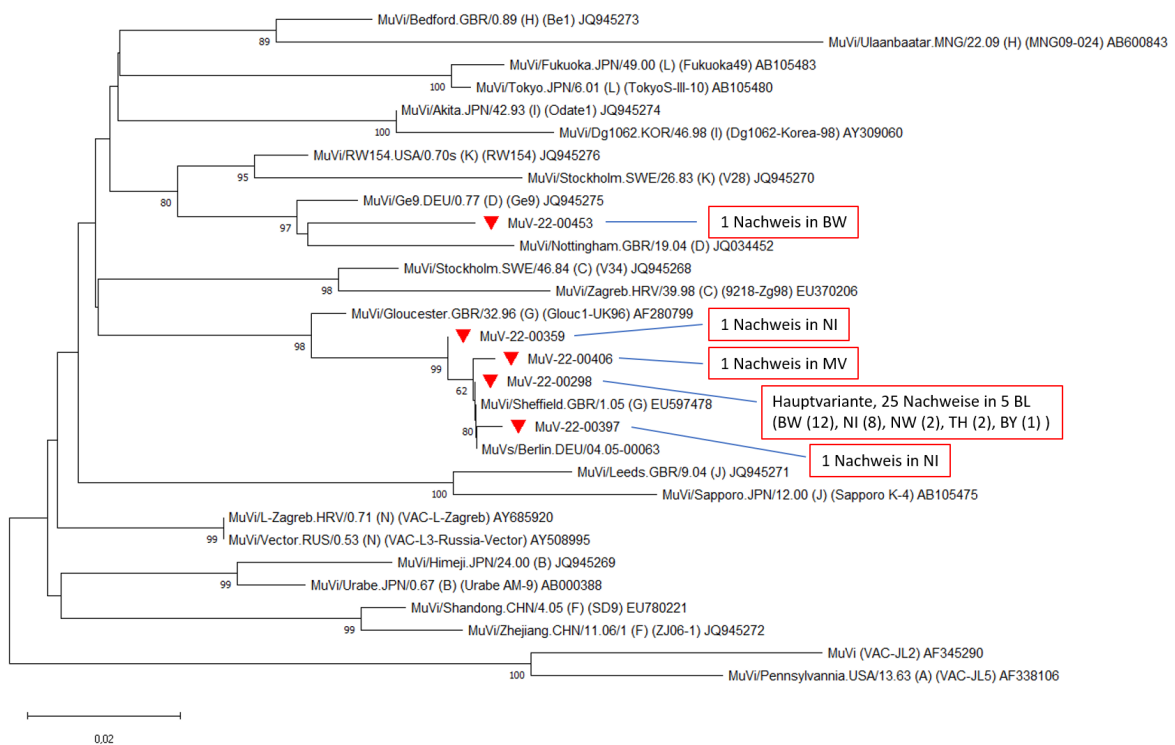


Abb. 2: Phylogenetische Analyse der in 2022 genotypisierten Mumpsfälle. Neben dem weltweit dominierenden Genotyp G (28 Nachweise) trat der Genotyp D auf (1 Nachweis).

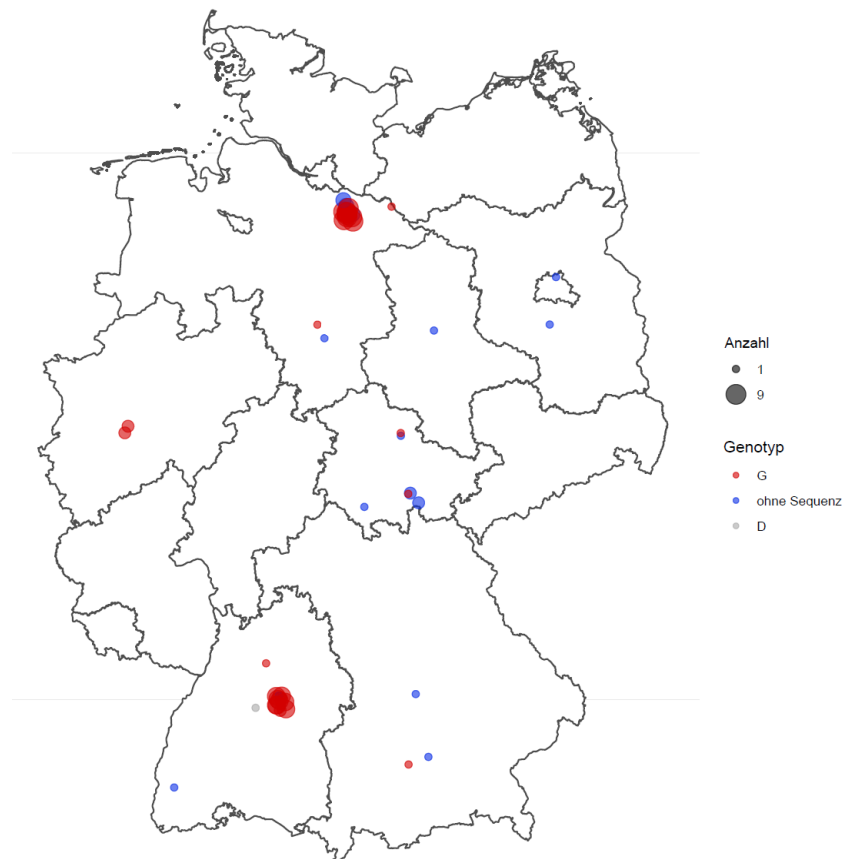


Abb. 3: Geografische Verteilung der bestätigten Mumps Fälle in den verschiedenen Bundesländern mit Angabe des Mumpsvirus-Genotyps.

In den vorpandemischen Jahren wurden viele Mumpsfälle im Rahmen des IfSG gemeldet, wohingegen im NRZ MMR kaum Mumpsverdachtsfälle bestätigt wurden. Es stellte sich die Frage, ob bei den ausgeschlossenen Fällen eine Infektion mit anderen respiratorischen Viren zu einer Mumps-ähnlichen Symptomatik geführt haben könnte. Deswegen wurden die Mumpsvirusgenom-negativen Proben auf andere respiratorische Viren wie Herpes-, Influenza-, Rhino-, Adeno-, Boca-, Parainfluenza-, respiratorisches Synzytialvirus und saisonale Coronaviren untersucht. Die Ergebnisse werden momentan ausgewertet.

2.3 Röteln

Für das Jahr 2022 wurden Materialien von 20 Rötelnverdachtsfällen an das NRZ MMR eingesendet, darunter 2 Fälle mit Verdacht auf Masern oder Röteln. Eine akute Rötelnkrankung wurde in keinem Fall nachgewiesen. Eine Einsendung wies Röteln-IgM bei mediokrem IgG von hoher Avidität und negativem PCR-Ergebnis auf; eine Primärinfektion wurde damit ausgeschlossen.

Um zusätzliche Informationen für die Beurteilung des Stands der Rötelnelimination zu erbringen, wurden im NRZ MMR Seren mit einem positiven IgM-Vorbefund ohne erfüllte Falldefinition weiterführend mit einem μ -Capturetest getestet bzw. die Avidität der IgG-Antikörper bestimmt. Es wurden 63 Fälle zur Überprüfung eingesandt. Davon waren 33 Fälle Röteln-Ausschlussdiagnostik in der Schwangerschaft. In 4 dieser Fälle kam es zu diskrepanten Ergebnissen, d.h. Rötelnvirus-spezifische IgM Antikörper wurden entweder nur im Sandwich-ELISA oder im μ -Capturetest nachgewiesen. In einem Fall wurde Röteln-IgM nur im μ -Capturetest nachgewiesen, nicht jedoch im Sandwich-ELISA. Weitere 4 Fälle wurden sowohl mit dem Sandwich-ELISA sowie dem μ -Capturetest nachgewiesen. In 3 dieser Fälle wurde Röteln-IgG mit einer hohen Avidität nachgewiesen, gegen das E2 Protein gerichtete Antikörper im Western Blot, sodass eine frische Infektion

ausgeschlossen wurde. In einem Fall betrug die Avidität über 40%, welches ebenfalls nicht mit einer akuten Infektion vereinbar ist.

Weiterhin wurden **3 Fälle mit Verdacht auf CRS** untersucht, bei denen das Neugeborene Fehlbildungen aufwies oder Röteln-spezifische IgM während der Schwangerschaft festgestellt wurden. Für diese Fälle fiel der Röteln-Genomnachweis negativ aus. Bei 2 Fällen mit spezieller klinischer Fragestellung (Patient vor Lebertransplantation) wurde die Rötelnimmunität untersucht, in einem Fall wurden Rötelnvirus-spezifische IgM nachgewiesen.

Negativ auf Masern getestete Materialien werden entsprechend den WHO-Vorgaben im Rahmen der „Rash and Fever Surveillance“ retrospektiv auf Röteln untersucht, um unerkannte Rötelnfälle aufzudecken. Durch die Analyse von 45 ausgeschlossenen Masernfällen (64 PCR Proben, 12 Seren / Plasma) wurde kein bislang unerkannter Rötelnfall erkannt.

2022 wurden in Deutschland 3 Rötelnfälle nach IfSG gemeldet. Im NRZ MMR wurde von 20 eingesendeten Röteln-Verdachtsfällen kein einziger bestätigt. Weiterhin lieferten die 76 Proben von 45 ausgeschlossenen Masernverdachtsfällen ein negatives Ergebnis für Röteln. **Unsere Daten unterstützen die Annahme, dass die Rötelntransmission in Deutschland weiterhin unterbrochen ist.**

3 Führen einer Stammsammlung und Abgabe von Referenzstämmen bzw. diagnostischen Referenzpräparaten

Die im März 2020 aufgrund einer möglichen Kontamination mit SARS-CoV2 eingestellte Anzucht von Viren wurde im August 2022 wieder aufgenommen. Zur Verhinderung von Verunreinigungen der Zellkultur durch humane respiratorische Viren und zum Schutz der Beschäftigten werden alle Proben, die für eine Anzucht verwendet werden, auf respiratorische Viren getestet. Im Falle eines positiven Ergebnisses wird die Anzucht abgebrochen.

Die von uns angezüchteten Masern- bzw. Rötelnviren sind in den globalen WHO-Sequenzdatenbanken MeaNS bzw. RubeNS registriert und können von den Laboren des WHO-Netzwerks angefordert werden.

Im Jahr 2022 wurden 3 Mumpsvirus-Isolate (3 x G) angezüchtet. Es wurden keine Referenzmaterialien angefordert.

4 Aufbau und Pflege eines Netzwerkes diagnostischer Einrichtungen

Wir sind in folgenden Netzwerken und Gremien vertreten:

- Globales Masern- und Röteln-Labornetzwerk der WHO (GMRLN)
- Steuerungskommission für die MeaNS- und RubeNS-Datenbanken der WHO
- ständiger Gast der Nationalen Verifizierungskommission Masern/Röteln (NAVKO) beim RKI
- AG MMR der STIKO
- Diagnostik-Kommission der DVV und GfV, FA „Infektionsschutz in der Schwangerschaft“

5 Beratungstätigkeit für ÖGD, Laboratorien, niedergelassene Ärztinnen und Ärzte, Kliniken und Forschungsinstitute. Durchführung von Weiterbildungen und Öffentlichkeitsarbeit

Die Vorträge zur Weiterbildung für Ärztinnen und Ärzte bzw. den ÖGD sind im Anhang gelistet. Wir beantworten Anfragen, die sich überwiegend auf folgende Themenkomplexe beziehen:

- Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf Masern-, Mumps- und Rötelerkrankungen
- Grenzwertlegung und Interpretation von serologischen Befunden
- Fehlende Serokonversion nach (mehrfacher) Impfung
- Auftreten von Masern-, Mumps- und Rötelninfektionen bei Geimpften
- Versehentliche Rötelnimpfung in der Schwangerschaft

6 Zusammenarbeit mit Referenzlaboratorien anderer Länder sowie mit den Kollaborationszentren der WHO, internationale Kooperationen einschließlich der Teilnahme an internationalen Ringversuchen

6.1 Zusammenarbeit mit den WHO Kollaborationszentren und dem CDC:

- CDS/VPI - Regional Measles/Rubella Laboratory Coordinator; WHO - Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark
- WHO Collaborating Centre for Measles; Institut für Virologie und Immunbiologie an der Universität Würzburg, Deutschland
- WHO Collaborating Centre for Measles; Dept. of Infection and Immunity, Luxembourg Institute of Health, Luxemburg
- WHO Global Specialized Reference Laboratory of the Measles/Rubella Laboratory Network; Public Health England, London, Großbritannien
- Rubella Laboratory, Measles Virus Section; Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA

6.2 Tätigkeit als Regionales Referenzlabor (RRL) der WHO für eine Region Europas im globalen Masern/Röteln-Labornetzwerk:

Unser Labor ist als **Regionales Referenzlabor (RRL) der WHO Region Europa** benannt. Wir fungieren als Ansprechpartnerinnen für 19 nationale Masern/Rötelnlabore (NMRL) in Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Norwegen, Österreich, Polen, Rumänien, Slowakische Republik, Slowenien, Schweden, Schweiz, Tschechische Republik und Ungarn und transferieren Methoden und Materialien, koordinieren die Qualitätskontrolle für WHO-Ringversuche und führen das Rücktesten von diagnostischen Serumproben durch. Für die NML von Bulgarien, Slowakei, Island führen wir die Genotypisierungen durch. Eine Vor-Ort-Akkreditierung des Nationalen Referenzlabors Lettland erfolgte in Riga im Oktober 2022.

6.3 Erfolgreiche Teilnahme an nationalen und internationalen Ringversuchen 2022

- Instand e.V. indirekter Nachweis von Masern-, Mumps- und Rötelnviren (2 x jährlich)
- Instand e.V. Genomnachweis von Masern-, Mumps- und Rötelnviren (2 x jährlich)
- WHO ring trial: Serology Proficiency Test for Measles/Rubella IgM
- WHO ring trial: Genome detection and genotyping of measles and rubella virus

7 Auswertung und Interpretation der Daten zur Beschreibung der epidemiologischen Situation in Deutschland. Initiierung von und Mitarbeit bei Surveillanceprojekten

Zu Masern wurde belegt, dass 6 der 9 nachgewiesenen Fälle (8 Fälle am NRZ MMR, 1 Fall am LGL Bayern) aus Afghanistan importiert worden sind. Eine endemische Transmission der Masern in Deutschland kann ausgeschlossen werden.

Für Röteln wurde kein Fall im NRZ MMR bestätigt. Dies legt den Schluss nahe, dass für die Röteln das seit 2017 erreichte Eliminationsziel aufrechterhalten werden konnte.

Zu Mumps haben wir ein differenzialdiagnostisches Projekt begonnen, dass bei einer extrem niedrigen Laborbestätigungsrate für eine Mumpsinfektion andere mögliche Ursachen für die Symptomatik untersucht.

8 Überwachung der eingehenden Daten zur zeitnahen Aufdeckung von Ausbrüchen. Unterstützung des Öffentlichen Gesundheitsdienstes und des RKI

Es besteht eine enge Zusammenarbeit mit dem FG33 Impfprävention des RKI. Auch im Jahr 2022 wurden Gesundheitsämter und Landesstellen bei der Untersuchung von sporadischen Fällen unterstützt. Für den ÖGD wurden Vorträge zu Labordiagnostik, molekularer Surveillance und dem Stand der Masernelimination gehalten (s. Anhang).

9 Epidemiologische Analyse und Bewertung der Resistenz- & Virulenzentwicklung

Die epidemiologische Analyse ist dem Berichtspunkt 2 zu entnehmen.

9.1 Projekt „Masernvirus-neutralisierende Antikörper“, Dr. S. Santibanez

In Deutschland empfiehlt die STIKO für Individuen, die nicht durch die Impfung mit der attenuierten Masern-Lebendvakzine geschützt werden können (Säuglinge < 6 Monate, seronegative Schwangere, Immundefiziente) nach Kontakt zu einem Masernfall die passive Immunisierung mit humanen Immunglobulinen (hIG). Säuglinge geimpfter Mütter sind durch die maternal erworbenen Antikörper im Durchschnitt meist nur für die ersten 3 Lebensmonate geschützt, sodass eine Schutzlücke bis zum Zeitpunkt der ersten MMR-Impfung mit 11 Monaten entsteht. Infolge des ansteigenden Anteils geimpfter Mütter wächst der Anteil der Säuglinge mit zeitweise fehlendem Masernschutz. Die Konzentration MV-neutralisierender Antikörper in kommerziell verfügbaren hIG-Präparaten ist deutlich gesunken. Für die passive Immunisierung wird die intravenöse Gabe von 400 mg hIG/kg KG empfohlen. Auf Grund der begrenzten Verfügbarkeit, der medizinischen Risiken und

der für den Empfänger unangenehmen Verabreichung der hohen Dosis stellt sich die Frage nach einer Alternative zu hIG-Präparaten. Wir untersuchen den Einsatz monoklonaler Antikörper (mAk) für die passive Masernimmunsierung. Die rekombinant hergestellten chimären (Mensch/Maus) mAk RKI-12b und RKI-34c, die kombiniert eingesetzt werden, hemmen in vitro die Infektion durch MV der Genotypen B3, D8 und H1 mit hoher Wirksamkeit. Im Jahr 2022 wurde untersucht, ob MV-H-Escape-Varianten entstehen, wenn ein Masernwildvirus des Genotyps D8 unter dem ständigen Druck der mAk RKI-12b und RKI-34c in Vero/hSLAM-Zellen passagiert wird. Der analytische Teil eines über 8 Passagen geführten Langzeitexperimentes befindet sich noch in Bearbeitung; die bereits vorliegenden Befunde geben keinen Hinweis auf Escape-Varianten. Weiterhin wurde in Kooperation mit dem Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie (IZI) ein Assay zur Untersuchung der Bindung MV-spezifischer mAk an zellfrei synthetisiertes MV-H-Protein aufgebaut. Mit diesem Assay wurde u.a. gezeigt, dass immundominante neutralisierende Epitope auf dem MV-H-Protein über eine lange Zeit (> 100 Jahre) stabil geblieben sind.

9.2 Projekt „Teratogenität von Rötelnviren“

Eine primäre Rötelnvirusinfektion im ersten Schwangerschaftstrimester verursacht beim ungeborenen Kind schwere Schäden wie das kongenitale Röteln Syndrom (CRS). Im Gegensatz zum Wildvirus verursacht das Impfvirus keine Schäden bei Frauen, die in Unkenntnis der Schwangerschaft geimpft wurden. Demzufolge muss die Attenuierung der Rötelnwildviren zum Verlust von pathogenen und teratogenen Eigenschaften geführt haben.

Zur Aufklärung molekularer Mechanismen der Rötelnvirus Teratogenität ergaben **Transkriptomanalysen in human Endothelzellen aus der Nabelschnurvene (HUVEC)**, dass nach Infektion mit Rötelnvirus **Gene der angeborenen Immunantwort hochreguliert** waren, die in der Interferon Expression involviert und als Restriktionsfaktoren anderer Viren wie HIV, Hepatitis C, Influenza oder SARS-CoV2 beschrieben sind. Auch die Transkription von Detektorproteinen viraler RNA war in infizierten Proben deutlich erhöht. In Kooperation mit dem MDC zeigte sich, dass in Rötelnvirus-infizierten Zellen bestimmte mRNAs verstärkt gebunden werden (Doktorarbeit E. Behrsing). Weiterhin wurden die entsprechenden Signalwege im Rahmen einer Rötelnvirusinfektion in HUVEC näher untersucht. Die antivirale Antwort umfasst die Aktivierung durch **Phosphorylierung der Regulationsfaktoren IRF3 und IRF7**, die in den Nukleus translozieren und die Interferonexpression regulieren. Diese wiederum aktivieren den **JAK/STAT Signalweg**, welches zur Expression von Interferon-stimulierten Genen (ISGs) führt. Es konnte gezeigt werden, dass IRF3 und STAT1 nach Rötelnvirusinfektion phosphoryliert werden. Zudem wurden eine erhöhte Transkription und Ausschüttung von Interferonen beobachtet. Auch IRF7 wurde nach Infektion von HUVEC mit Rötelnvirus verstärkt phosphoryliert (Masterarbeiten S. Ndonwi und B. Irmak). Weiterhin wurde die Expression von ISGs wie IFIT1, IFIT2, MX2, IFNBI, CXCL10 und ISG15 untersucht (Masterarbeit Y. Yue). Allerdings wurden bislang keine Wildtyp- und Impfstamm-spezifischen Unterschiede festgestellt. Fortführend wird der **Effekt von Interferon-β und -γ** auf das Rötelnviruswachstum und die pStat1 und pIRF3 Translokation in den Nukleus infizierter HUVEC untersucht (Masterarbeit C. Bräuer).

Eine vorangegangene Doktorarbeit (P. Rennert) hatte sich mit der nach Rötelnvirus-Infektion beobachteten Aktivierung der Apoptose über MAP-Kinasen (mitogen associated protein kinase) befasst und zeigte Unterschiede der p38 Expression in HUVEC, die mit Impfstamm oder Wildtyp infiziert waren. Die **MAP-Kinase p38** ist neben der Produktion von Zytokinen und der Aktivierung des NF-κB-Signalwegs auch für die **Regulation des Zellzyklus** und die Aktivierung der **Apoptose** zuständig. Anhand von Western Blots wurde eine erhöhte Phosphorylierung in Impfstamm infizierten HUVEC detektiert. Überdies wurde der Einfluss verschiedener Inhibitoren des MAPK Signalwegs ERK1/2, p38 sowie von NF-κB auf das Rötelnviruswachstum und die Caspase Aktivierung untersucht (Masterarbeit N. Barke). Der NF-κB Signalweg scheint im Gegensatz zu ERK1/2 während einer Rötelnvirusinfektion eine Rolle bei der Apoptose Induktion zu spielen. Beide Signalwege sind vermutlich relevant für die Replikation des Virus. Diese Beobachtungen werden mittels Durchflusszytometrie verifiziert (Masterarbeit J. Schneider).

10 Berichterstattung sowie Beratung des RKI, Mitwirkung an der Erarbeitung von Empfehlungen des RKI für Diagnostik, Therapie und Prävention sowie in der angewandten Infektionsepidemiologie

- Mitarbeit im gemeinsamen Ausschuss der DVV und GfV „Diagnostik“
- Ständiger Gast der Nationalen Verifizierungskommission Masern/Röteln
- Mitarbeit für den DVV Fachausschuss „Infektionsschutz in der Schwangerschaft“
- Mitarbeit bei der Aktualisierung der AWMF S2K-Leitlinie zur „Virusdiagnostik in der Schwangerschaft“, neue Ausgabe in 2/2022 erschienen
- AG MMR der STIKO

Genotyp	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
A	3	-	2	2	10	2	5	11	12	5	3	3
B2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	8	3	3	32	21	61	184	63	49	5	5	4
C2	-	-	-	-	-	-	-	-	1*	-	-	-
D4	270	27	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D8	19	1	234	77	521	83	85	170	191	31	-	2
D9	-	1	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-
G2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H1	1	-	-	1	2	4	-	-	-	-	-	-

* SSPE Fall mit zurückliegender Infektion.

Tabelle 4: Im NRZ MMR für Deutschland nachgewiesene Mumpsvirus-Genotypen, 2011 bis 2022. In Deutschland nicht mehr nachgewiesene Genotypen sind grau unterlegt.

Genotyp	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
A	-	-	1	-	-	1	-	1	5	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
F	-	-	1	6	7	9	12	7	23	21	-	-
G	41	1	14	-	1	-	-	-	-	1	-	27
H	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

Tabelle 5: Im NRZ MMR für Deutschland nachgewiesene Rötelnvirus-Genotypen, 2011 bis 2022. In Deutschland nicht mehr nachgewiesene Genotypen sind grau unterlegt.

Genotyp	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
1a	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-
2B	-	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-
1E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1**	-
1G	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-

** Persistierende Infektion eines immundefizienten Patienten.

Im NRZ durchgeführte Ausschlussdiagnostik zur verbesserten Surveillance insbesondere von Mumps und Röteln

Im Jahr 2022 war die Zahl der Einsendungen zur Ausschlussdiagnostik (Fälle ohne klinische Symptomatik) für Masern und Mumps gering, für Röteln lag sie deutlich höher (Abb. 3).

Bei den Aufträgen zur Ausschlussdiagnostik handelte es sich überwiegend um IgM-Zufallsbefunde, bei denen aufgrund fehlender klinischer Symptome auch von falsch-positiven Untersuchungsergebnissen, anderen Grunderkrankungen oder Fällen mit persistierendem IgM ausgegangen werden konnte. Im NRZ MMR werden zur Bewertung dieser Fälle weitergehende diagnostische Verfahren angewendet (z.B. μ -Capturetest, IgG-Aviditätsbestimmung, E2-Western-Blot).

Von 20 Fällen zum **Masern**-Ausschluss wurden 19 ausgeschlossen (gemäß IgM- und/oder PCR-Ergebnis). Ein Fall lieferte ein positives IgM-Ergebnis, es waren keine PCR-Materialien verfügbar. Da in diesem Fall keine klinischen Symptome vorlagen und Masern für gewöhnlich nicht inapparent verlaufen, wurde trotz positivem IgM-Befund nicht von einer Masern-Erkrankung ausgegangen und der Fall als „fraglich“ bewertet.

Von insgesamt 23 Fällen zum **Mumps**-Ausschluss wurden 19 ausgeschlossen (gemäß IgM- und/oder PCR-Ergebnis). Ein Fall wurde aufgrund diskrepanter IgM-Ergebnisse in Sandwich-ELISA und μ -Capturetest als „fraglich“ bewertet. Für 3 Fälle wurde ein positives IgM-Ergebnis ermittelt. In einem dieser Fälle war das PCR-Ergebnis negativ, für die anderen beiden Fälle waren keine Materialien für PCR eingesendet worden. Ein positives PCR-Ergebnis wurde für keinen Mumps-Ausschlussfall erhalten.

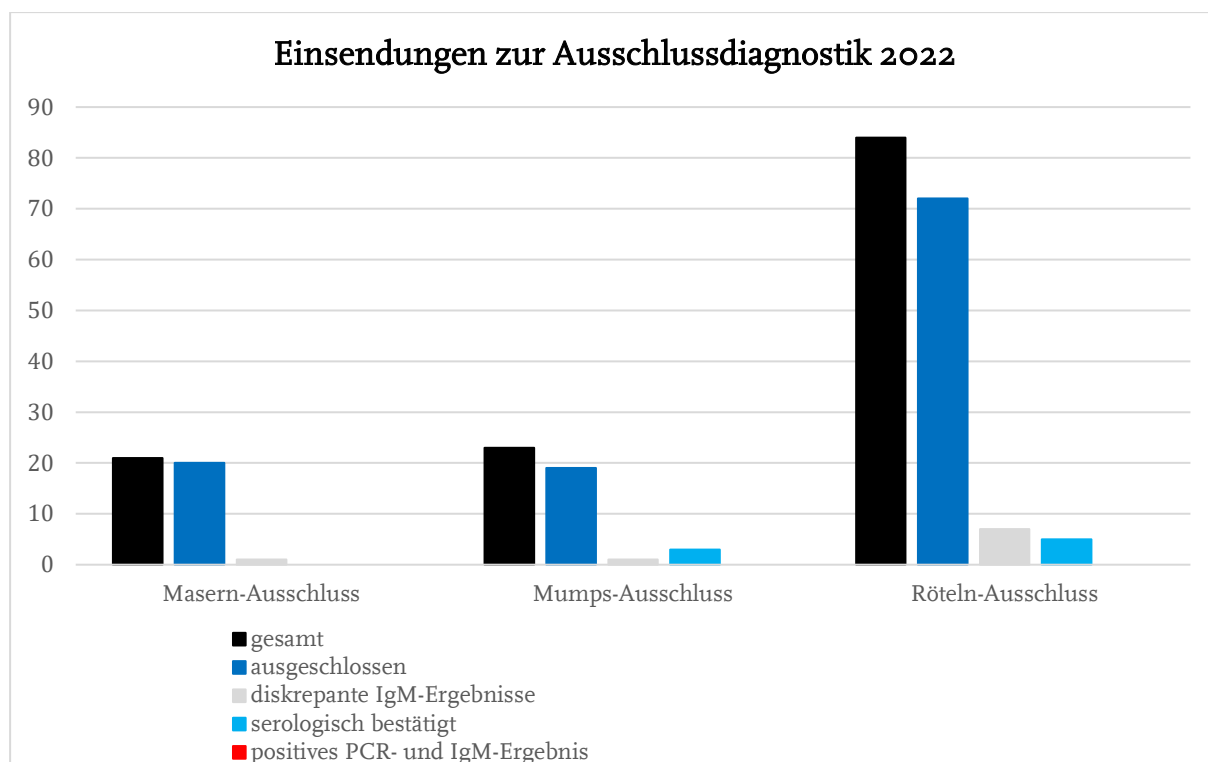


Abb. 3: Einsendungen mit Auftrag zur Masern-, Mumps- und Rötelausschlussdiagnostik, d.h. von Asymptomatischen, überwiegend mit IgM-Vorbefund an das NRZ MMR im Jahr 2022. Gezeigt sind für Masern-, Mumps- und Röteln alle Fälle zur Ausschlussdiagnostik, die an das NRZ MMR gesendet wurden („gesamt“), davon diejenigen Fälle, die ausgeschlossen wurden („ausgeschlossen“); Fälle, die ein fragliches Ergebnis lieferten, d.h. bei Einsatz zweier unterschiedlicher Testverfahren abweichende IgM-Ergebnisse („diskrepante IgM-Ergebnisse“); Fälle, die bei ausschließlich serologischer Untersuchung ein positives IgM-Ergebnis lieferten („serologisch bestätigt“) sowie Fälle, die sowohl in der PCR als auch serologisch bestätigt wurden („positives PCR- und IgM-Ergebnis“). Fälle der letzten Kategorie traten in 2022 nicht auf.

Die Fälle zum Röteln-Ausschluss werden im Folgenden (Abb. 4) differenziert beschrieben.

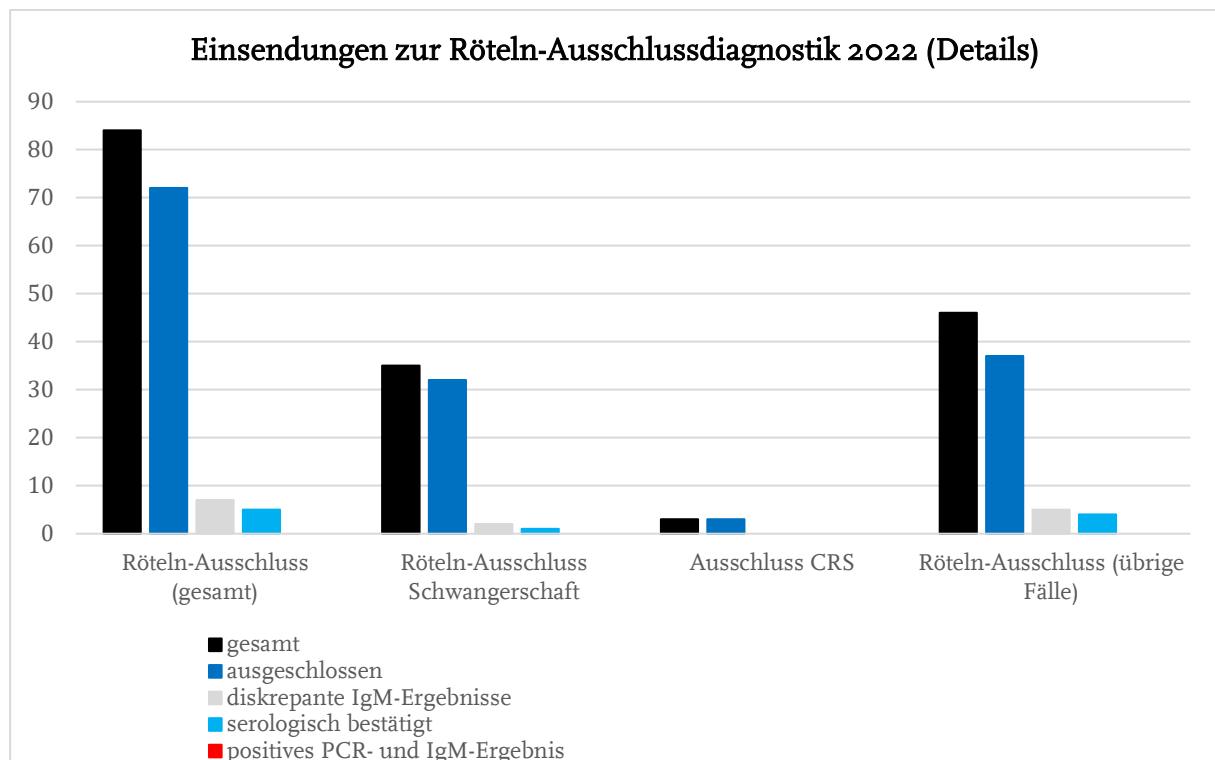


Abb. 4: Einsendungen mit Auftrag zur Röteln-Ausschlussdiagnostik 2022, differenziert nach Ausschluss in Bezug auf Schwangerschaft, CRS (kongenitales Röteln Syndrom) und übrige Fälle. Gezeigt sind die Summe der Fälle zur Röteln-Ausschlussdiagnostik, die an das NRZ MMR gesendet wurden (gesamt); Fälle zum Röteln-Ausschluss in der Schwangerschaft; Fälle zum Ausschluss von CRS sowie die übrigen Röteln-Ausschlussfälle. Wie in Abb. 3 sind die Zahlen je Kategorie nach „gesamt“, „ausgeschlossen“, „diskrepante IgM-Ergebnisse“, „serologisch bestätigt“ sowie „positives PCR- und IgM-Ergebnis“ aufgeschlüsselt. 2022 wurden keine Röteln-Ausschlussfälle in PCR und serologisch positiv getestet.

Von insgesamt 84 Fällen zum Röteln-Ausschluss konnten 72 ausgeschlossen werden (gemäß IgM- und/oder PCR-Ergebnis). 7 Fälle lieferten ein fragliches Ergebnis (diskrepante IgM-Einzelergebnisse). Serologisch, aber nicht PCR-bestätigt wurden 5 Fälle.

Von 35 Fällen zum Röteln-Ausschluss in der Schwangerschaft wurden 32 ausgeschlossen. 2 Fälle lieferten ein fragliches Ergebnis und 1 Fall wurde serologisch bestätigt. Für die 3 somit anfangs nicht eindeutig als negativ bewertbaren Fälle wurden zusätzliche Untersuchungen durchgeführt (Röteln-IgG-Avidität und Western-Blot zur Ermittlung E2-reaktiver IgG-Antikörper). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen dienten dazu, in allen 3 Fällen eine akute Röteln-Infektion auszuschließen.

Alle 3 Fälle zum Verdacht auf CRS (kongenitales Röteln Syndrom) wurden im NRZ MMR ausgeschlossen.

Übersicht der im Jahr 2022 im NRZ MMR abgeschlossenen akademischen Arbeiten

1. „Aktivierung des Interferon-regulatorischen Faktors 7 (IRF7) nach Röteln-Virus-Infektion von Primärzellen“ Masterarbeit von Sirri Bongnwi Ndonwi, Brandenburgische Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
2. „Comparison of the activation of the antiviral interferon signaling pathways by rubella virus wildtype and vaccine strains in human primary endothelial cells“ Masterarbeit von Yue Yu, Freie Universität Berlin.
3. “Untersuchung der Aktivierung der angeborenen Immunantwort des intrazellulären Interferon Signalweges IRF7 und IRF3 von primären humanen Endothelzellen nach Infektion mit Rötelnvirusimpf- und Wildtypstämmen” Masterarbeit von Betül Irmak, Freie Universität Berlin.

Publikationen zum Thema Masern, Mumps, Röteln im Jahr 2022:

ICTV Virus Taxonomy Profile: Matonaviridae 2022. Mankertz A, Chen MH, Goldberg TL, Hübschen JM, Pfaff F, Ulrich RG, Ictv Report Consortium. *J Gen Virol.* 2022 Dec;103(12). doi: 10.1099/jgv.0.001817. PMID: 36748520

Detection of measles virus in Bulgaria from 2012 to 2018. Krumova S, Santibanez S, Andonova I, Stefanova R, Mankertz A, Kantardjiev T. *Croat Med J.* 2022 Oct 31;63(5):475-481. doi: 10.3325/cmj.2022.63.475. PMID: 36325672.

Specifically Increased Rate of Infections in Children Post Measles in a High Resource Setting. Bühl D, Staudacher O, Santibanez S, Rossi R, Girschick H, Stephan V, Schmidt B, Hundsdoerfer P, von Moers A, Lange M, Barker M, Mall MA, Heininger U, Matysiak-Klose D, Mankertz A, von Bernuth H. *Front Pediatr.* 2022 Jun 9;10:896086. doi: 10.3389/fped.2022.896086. PMID: 35813375

Corrigendum: Specifically increased rate of infections in children post measles in a high resource setting. Bühl D, Staudacher O, Santibanez S, Rossi R, Girschick H, Stephan V, Schmidt B, Hundsdoerfer P, von Moers A, Lange M, Barker M, Mall MA, Heininger U, Matysiak-Klose D, Mankertz A, von Bernuth H. *Front Pediatr.* 2022 Sep 8;10:1005990. doi: 10.3389/fped.2022.1005990. PMID: 36160808 Free PMC article.

Im Jahr 2022 gehaltene Vorträge:

1. 03/22 A. Mankertz, S. Santibanez. **Bericht des NRZ MMR.** 16. Sitzung der NAVKO
2. 04/22 A. Mankertz. **Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen. Beispiele aus der aktualisierten S2k Leitlinie der AWMF.** Berliner Mikrobiologische Gesellschaft
3. 05/22 A. Mankertz. **Erfahrungen mit dem Masernschutzgesetz.** Digitale Fortbildung für den ÖGD, Akademie Düsseldorf
4. 06/22 A. Mankertz **Molecular Elimination Strategies for Measles and Rubella in the WHO Region Europe.** World Health Summit, Rome
5. 09/22 A Mankertz, S. Santibanez: **Update RRL Berlin.** RRL Meeting, WHO.
6. 10/22 S. Santibanez, C. Walter, A. Wolbert, M. Dorner, A. Mankertz: **Monoklonale Antikörper als Alternative für die passive Immunisierung gegen Masern.** 17. Sitzung der NAVKO, RKI.
7. 10/22 A. Mankertz, S. Santibanez: **Bericht des NRZ MMR.** 17. Sitzung der NAVKO, RKI.

Impressum

Tätigkeitsbericht des Nationalen Referenzzentrums für Masern, Mumps, Röteln für das Jahr 2022

Robert Koch-Institut, 2022; DOI: 10.25646/11685

Herausgeber

Nationales Referenzzentrum Masern, Mumps, Röteln, Robert Koch-Institut, Berlin
Regionales Referenzlabor für Masern und Röteln der WHO Region Europa

Robert Koch-Institut
FG12 Masern, Mumps, Röteln und Viren bei Abwehrschwäche
Seestr. 10
13353 Berlin

Internet: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/MMR/mmr_node.html

E-Mail: nrz-mmr@rki.de

Redaktion

FG12 Masern, Mumps, Röteln und Viren bei Abwehrschwäche

Autor*innen

Prof. Dr. Annette Mankertz
Dr. Sabine Santibanez
Dr. Agnieszka Bauer
Dr. Nicole Friedrich
Dr. Cosima Zimmermann
Dr. Bernhard Schmid

Wir danken unseren technischen Kolleginnen und Kollegen Katrin Berger, Melanie Fechtner, Martin Körbs, Cornelia Lentz, Amy Lüdde, Cornelia Walter, Anne Wolbert und Rumeysa Yilmaz sehr herzlich für ihre exzellente und engagierte Arbeit.

Titelfoto

Gelderblom, Kolorierung: Schnartendorff/RKI



Im NRZ MMR werden von Gesundheitsämtern und Ärztinnen bzw. Ärzten eingesendete Proben zu Masern-, Mumps- und Rötelnverdachtsfällen untersucht und die nachgewiesenen Viren molekular charakterisiert, um Transmissionswege aufzuklären und Ausbrüche zu untersuchen. Damit werden wichtige Informationen zur Beurteilung des Stands des WHO-Eliminationsziels für Masern und Röteln zur Verfügung gestellt. Das NRZ MMR fungiert darüber hinaus im globalen Masern- und Röteln-Labornetzwerk der WHO als eines von drei europäischen Referenzlaboratorien und koordiniert die Aktivität der nationalen Masern- und Rötelnlabore in 19 Ländern.