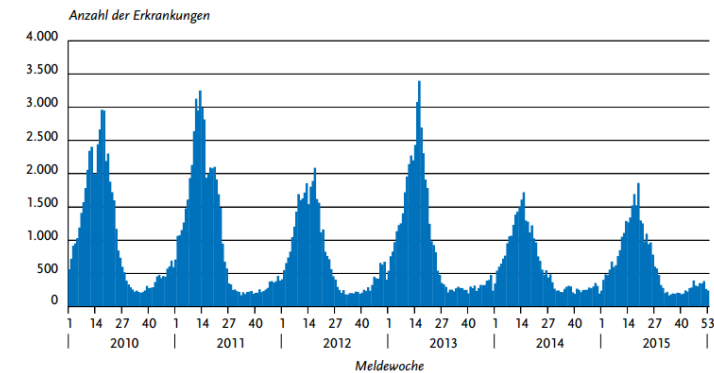
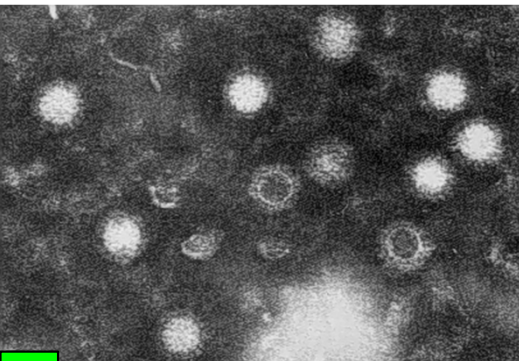


Gastroenteritis durch Viren und deren Diagnostik

7. Hygienetag Köln
Krankenhaushygienisch relevante Virusinfektionen
26.10.2016

*O. Adams, Institut für Virologie des Universitätsklinikums Düsseldorf,
Geb. 22.21, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf*



- **Infektiöse Enteritis**
- **Noroviren**
- **Rotaviren**
- **Diagnostik**

Lokalisationen und Manifestationen von Enteritis-Erregern

nicht entzündliche Diarrhoe:

Typische Symptome:

wässrige Diarrhoe

Erbrechen

kein Blut

kein Fieber

Typische Erreger:

Noroviren

Rotaviren

ETEC

S. aureus

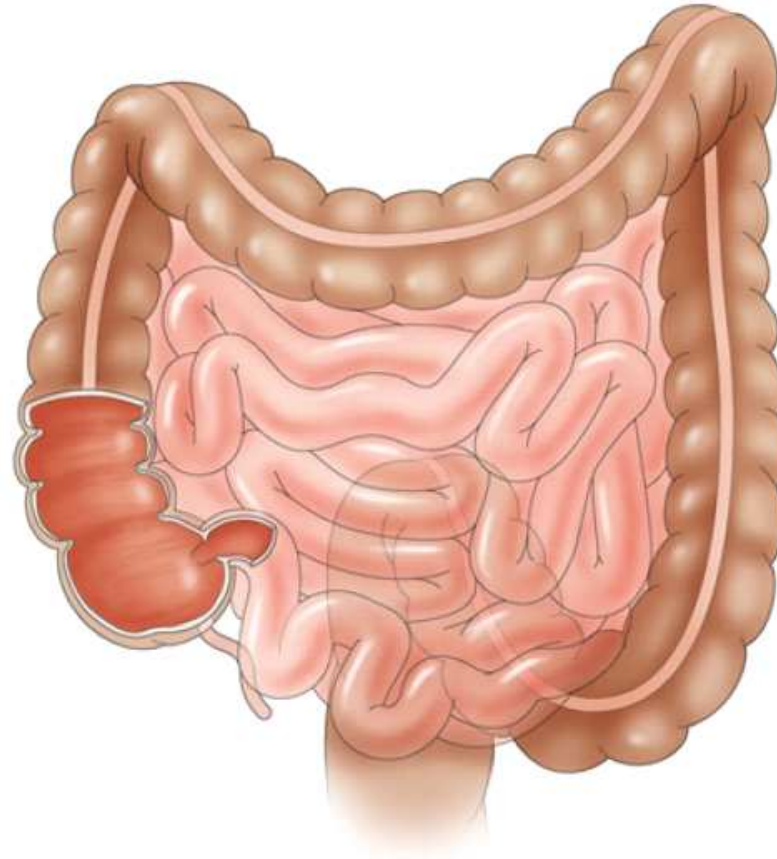
Vibrio cholerae

Giardia lamblia

Cryptosporidium parvum



überwiegend im Dünndarm



entzündliche Diarrhoe:

Typische Symptome:

blutige Diarrhoe

schleimige Diarrhoe

Fieber

Typische Erreger:

Salmonellen

Shigellen

Campylobacter

EAEC, EHEC

EIEC

Yersinien

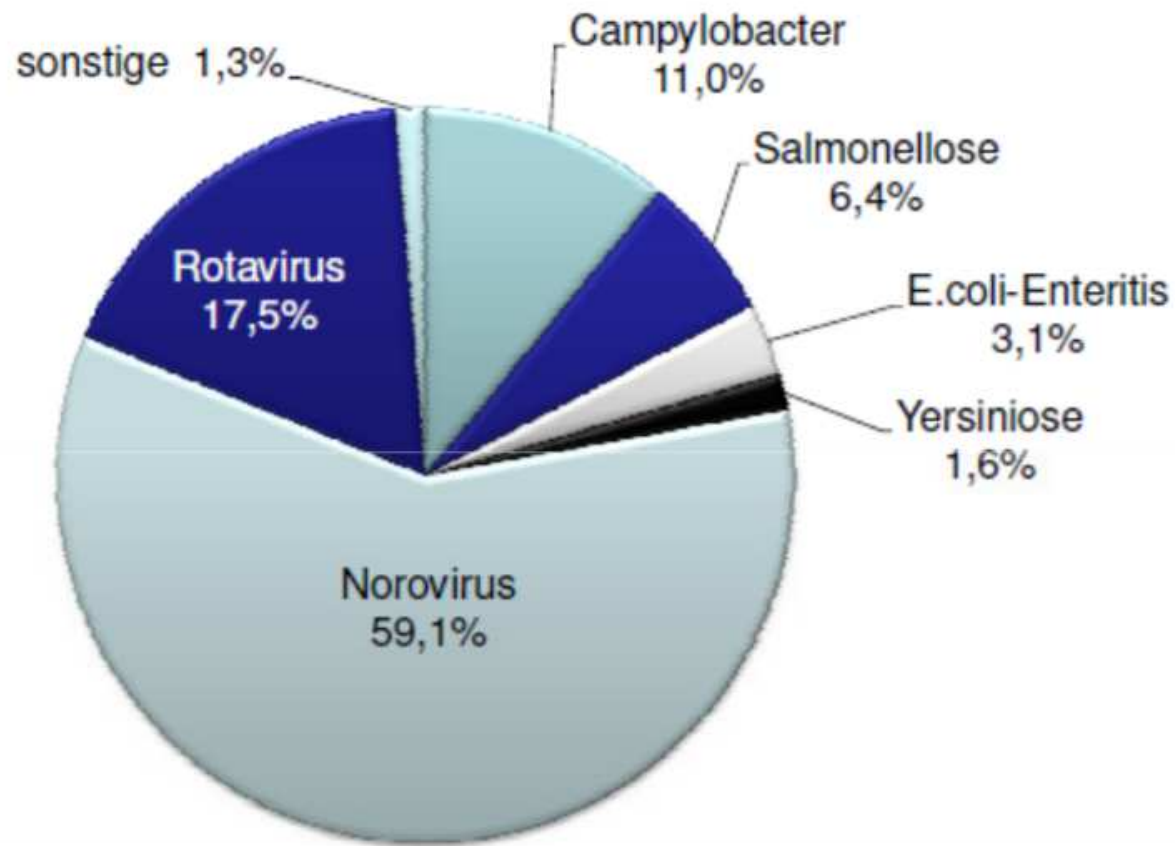
C. difficile



überwiegend im Colon

Die häufigsten meldepflichtigen (!) Gastroenteritiserreger in Deutschland

(Beispiel: Thüringen 2011)



Graphik: Dr. Schroeder, TLLV Dezernat 31

Noroviren

Rotaviren

Campylobacter

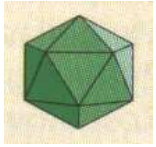
Salmonellen

E. coli

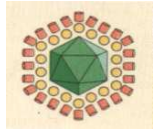
Yersinien



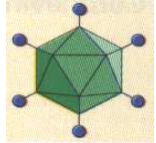
Häufige virale Durchfallserreger:



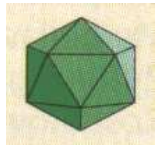
Noroviren



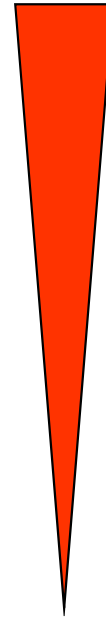
Rotaviren



Adenoviren



Astroviren

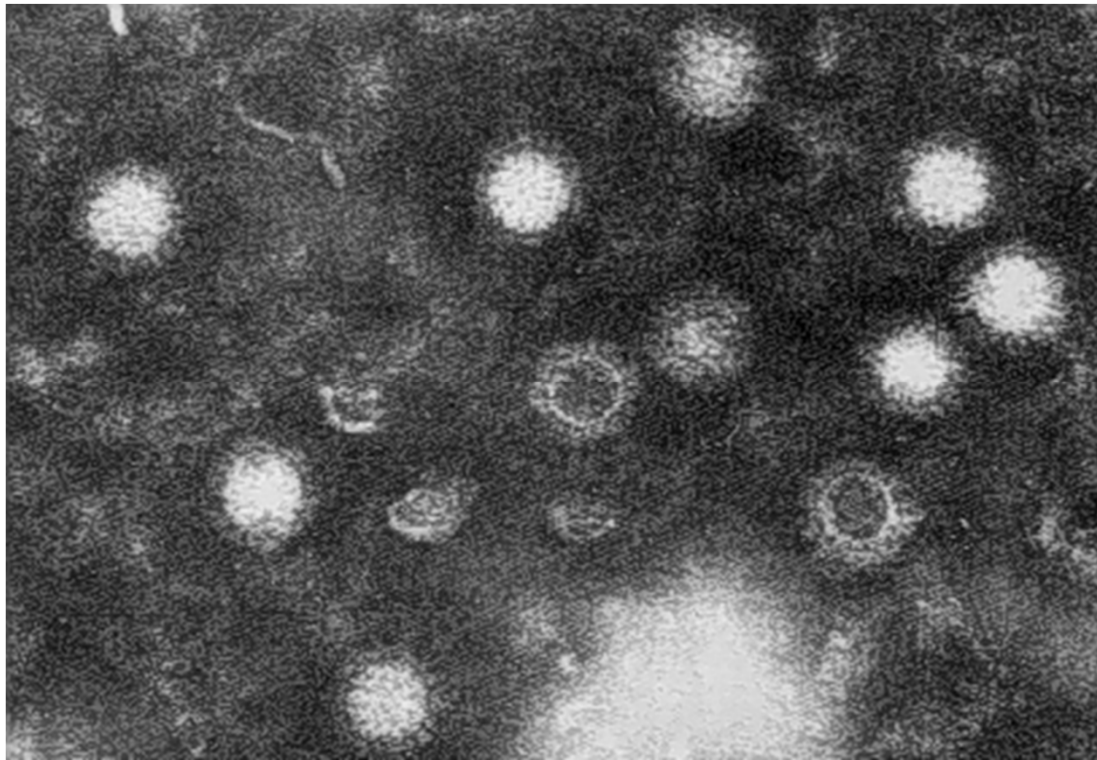


- Infektiöse Enteritis
- **Noroviren**
- **Rotaviren**
- **Diagnostik**

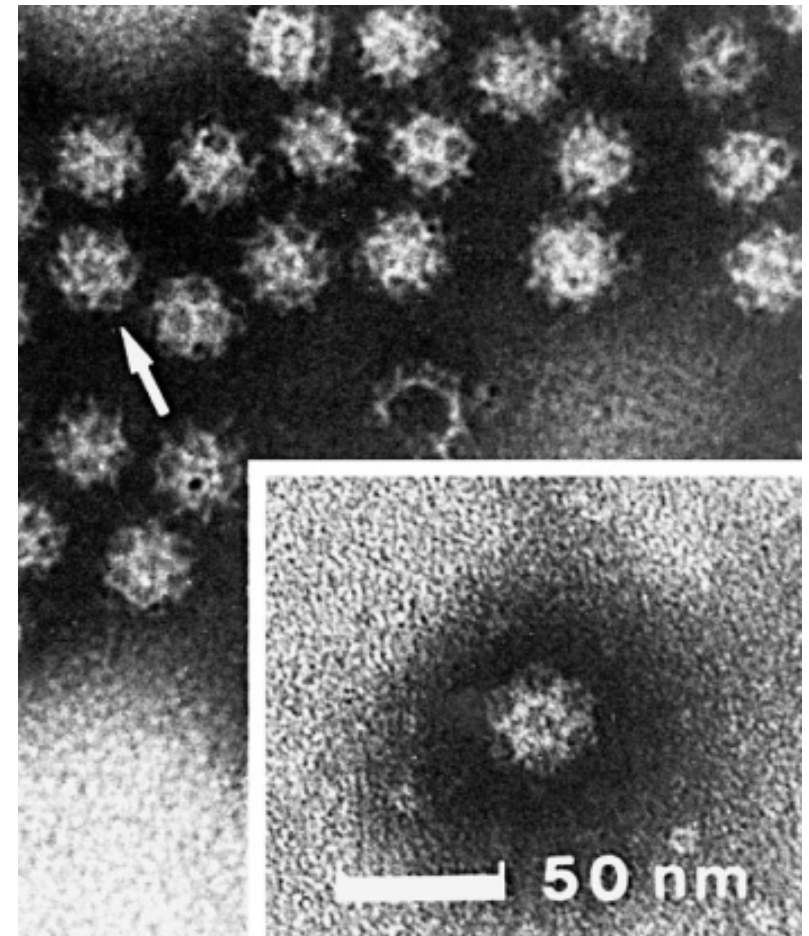


Noroviren

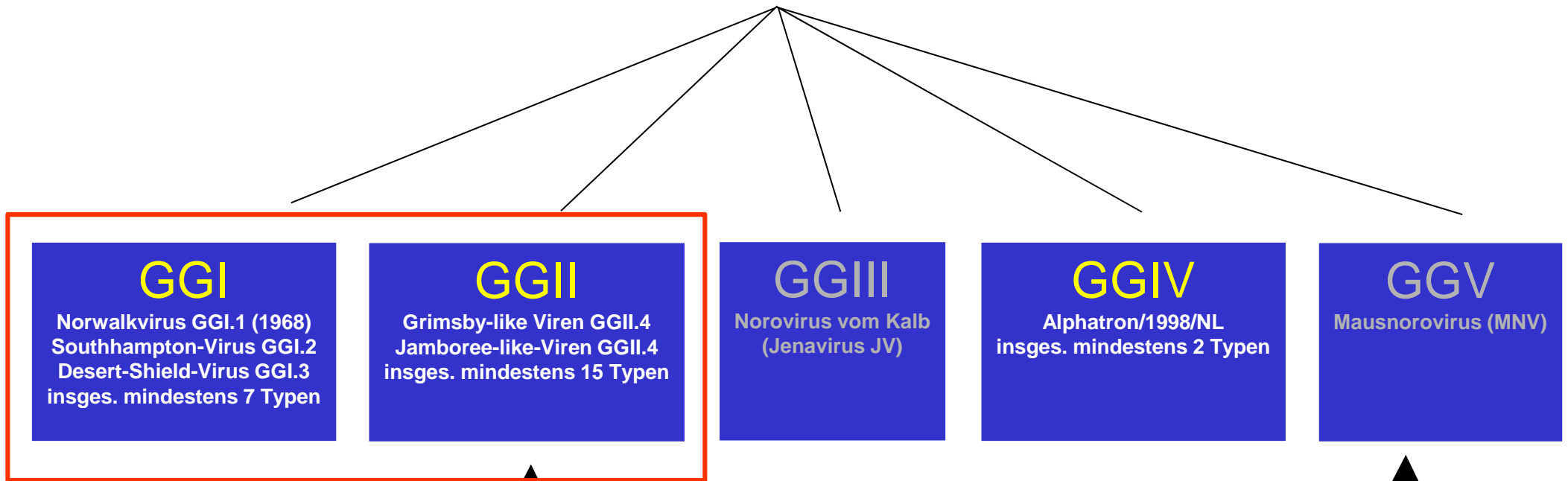
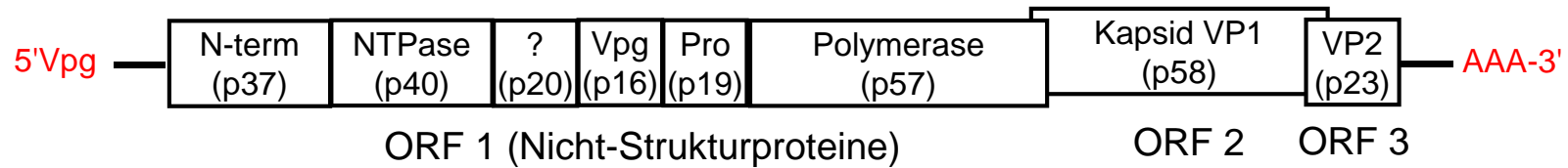
Caliciviren im Elektronenmikroskop:



aus: Lambert et al: Farbatlas der Infektionskrankheiten, Thieme Verlag 1984



Noroviren: Genomorganisation, Gruppen und Typen



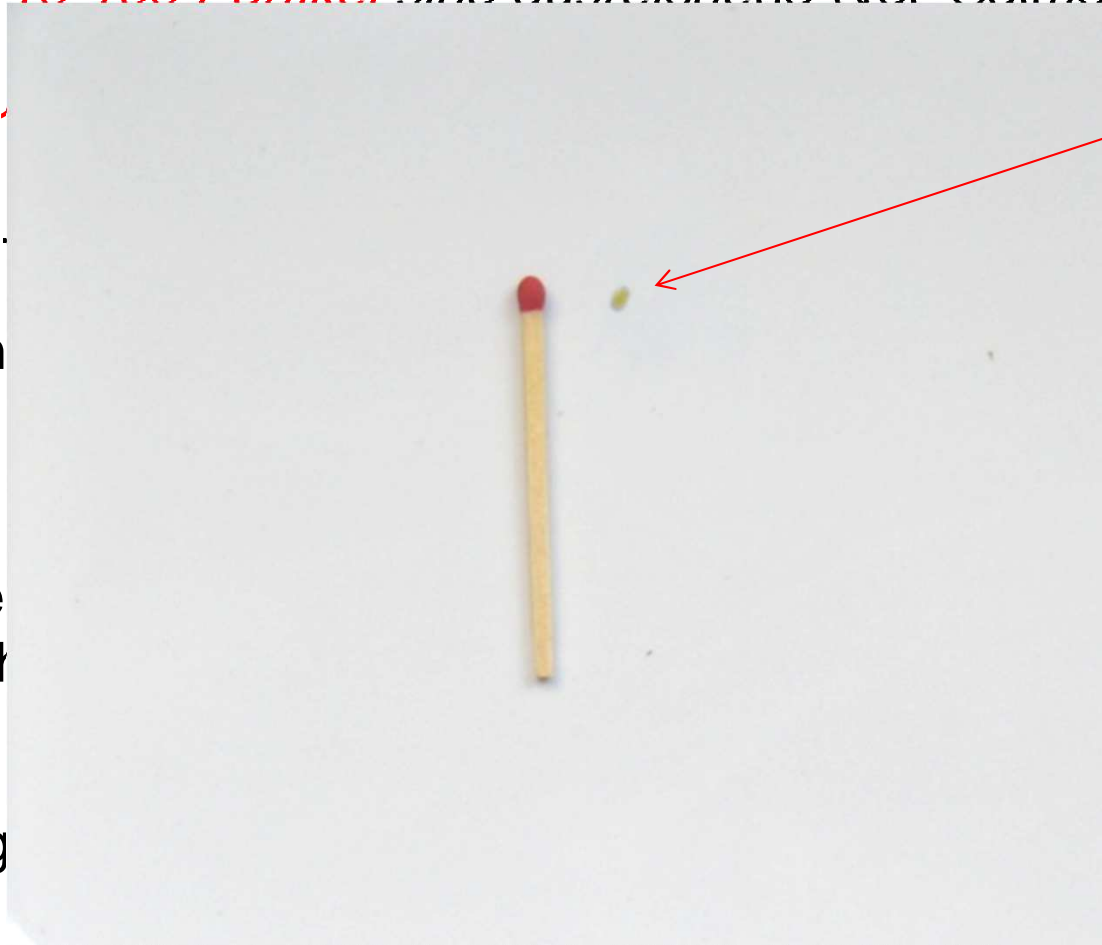
in Europa dominierend
(nicht anzüchtbar)

Surrogatvirus
(anzüchtbar)



Charakteristika der Norovirus-Infektionen

- Infektionsdosis: **10-100 Partikel** sind ausreichend (vgl. Salmonellen-Mindestdosis: 10^5 Bakterien!)
Ausscheidung: ✓
- Inkubation von 1-2 Tagen
- massives, unkonventionelles Krankheitsbild (Erbrechen, Schläffheit) bis zu einer Woche
- Ausscheidung über Stuhl und Erbrochenes
Übertragung über Aerosole möglich
Tage
- Übertragung möglich (z.B. durch Schmutz, Früchte)
- Viruspartikel können einige Tage in der Umwelt überleben

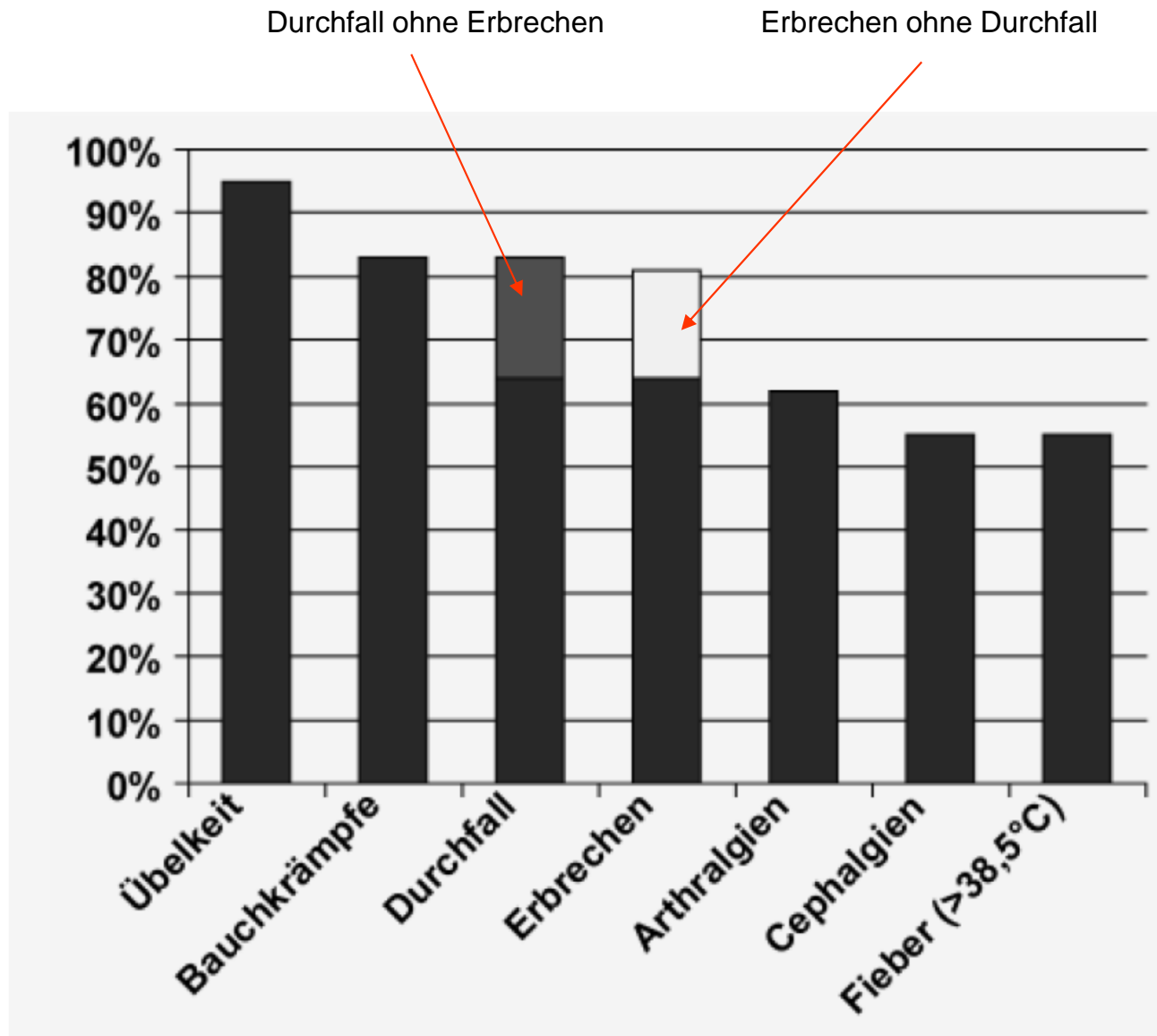


1 μ l Flüssigkeit =
ca. 10^6 - Viruspartikel

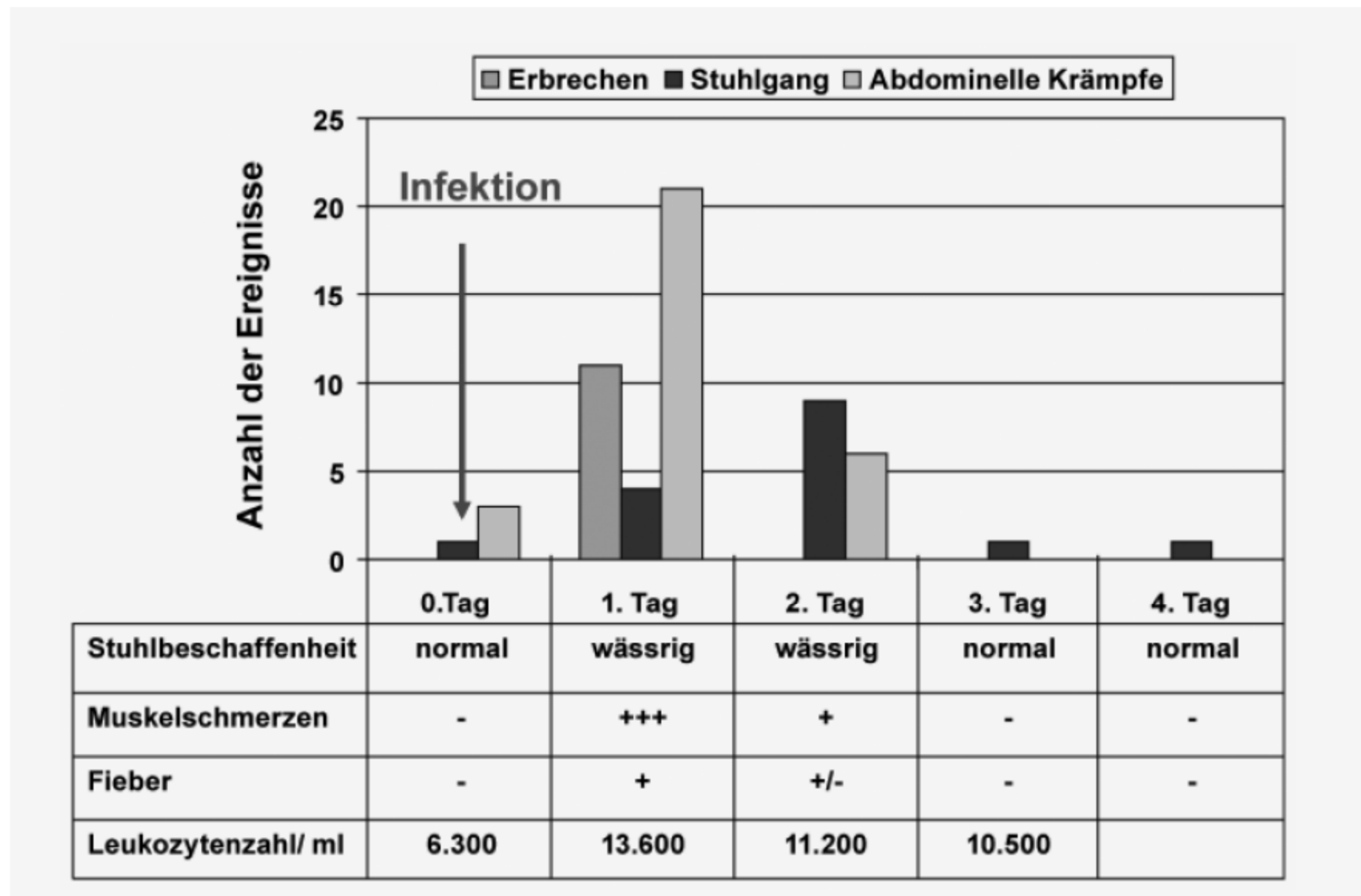


Norovirusinfektion: Verteilung der klinischen Symptome

(im Rahmen eines Ausbruchs von 2002/2003, n = 42)

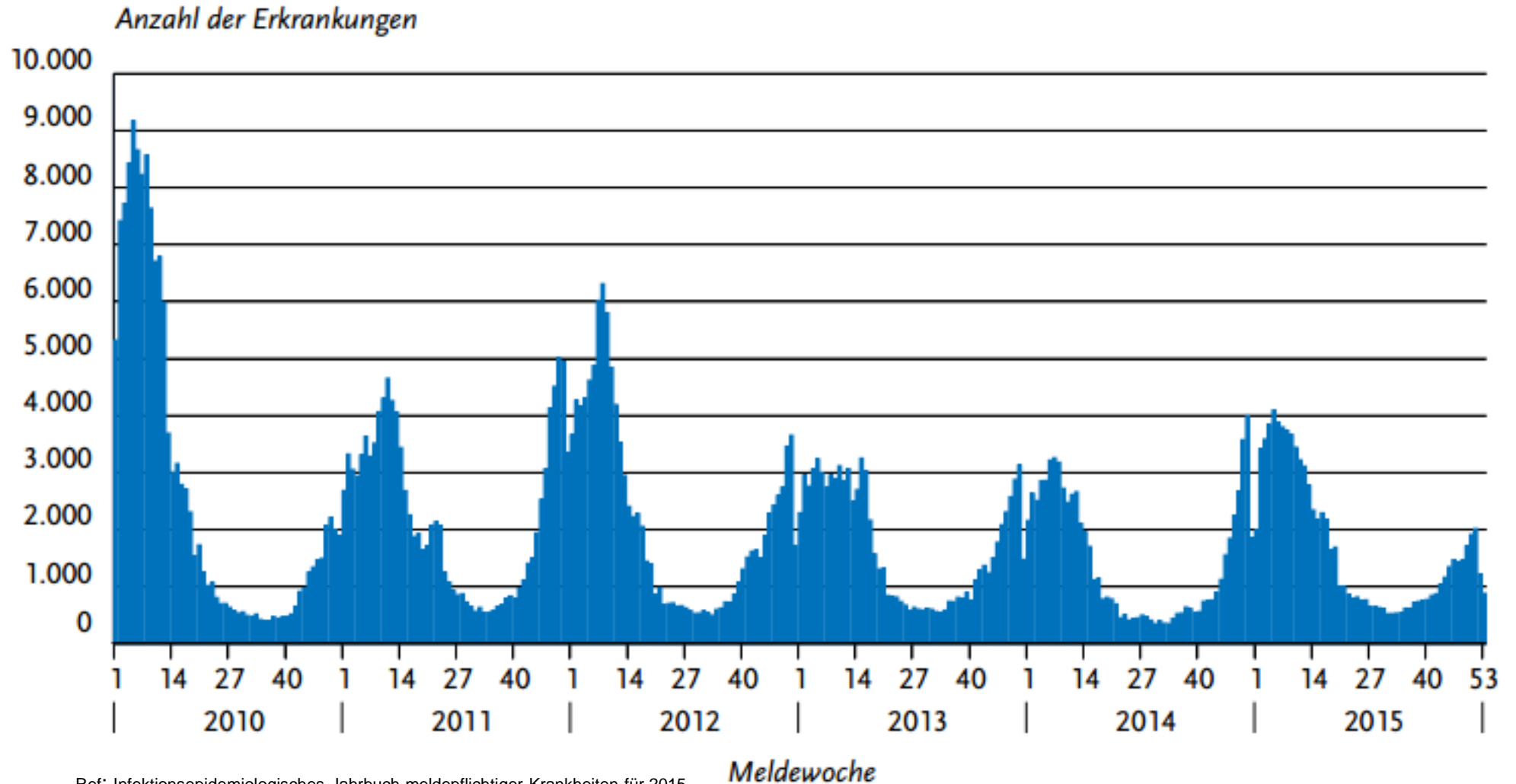


Norovirusinfektion: typischer Verlauf beim Immunkompetenten



Norovirus-Epidemiologie 2001 – 2014

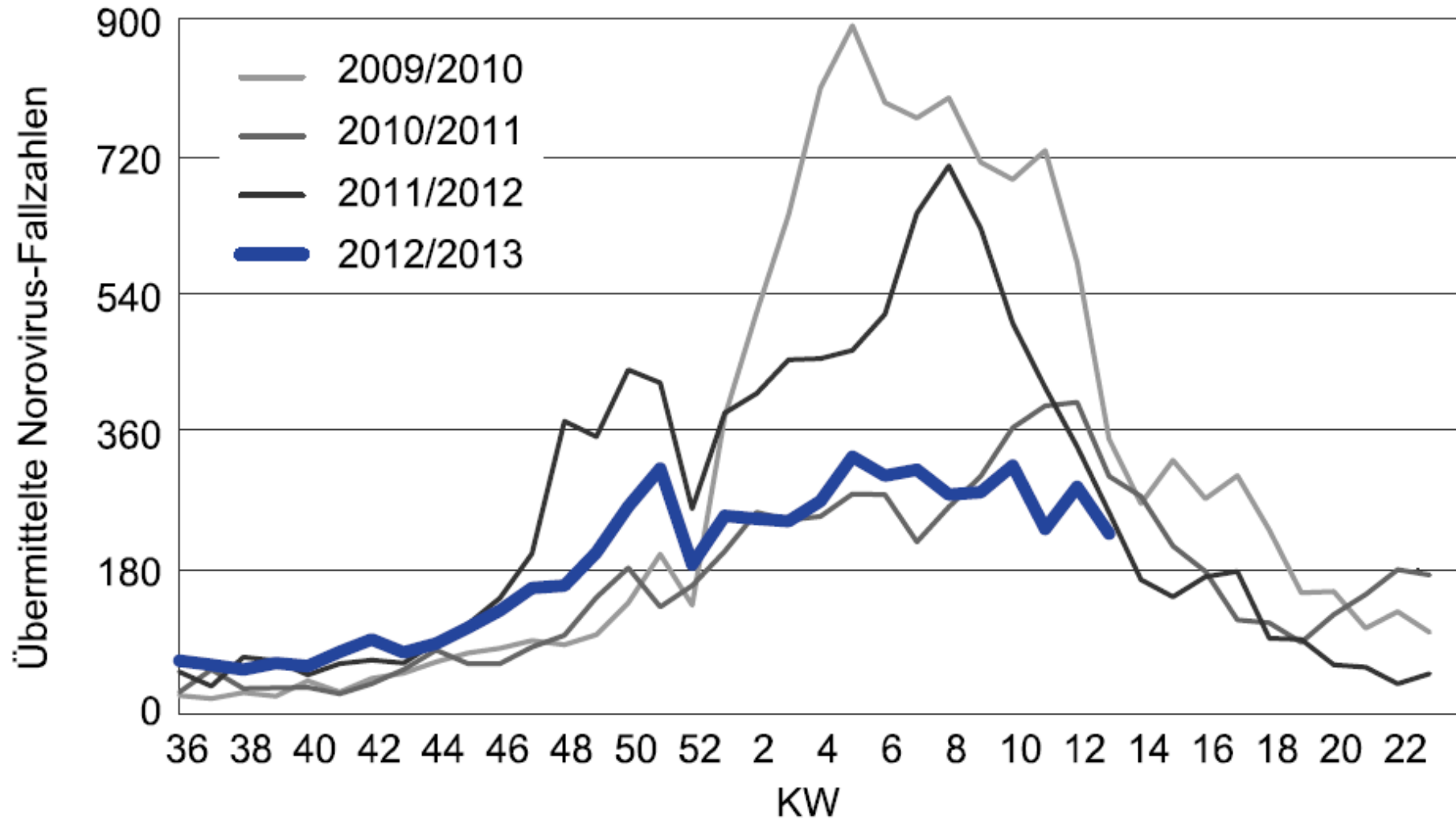
(RKI, Epidemiologisches Bulletin 12. Mai 2014 / Nr. 19)



"Winter vomiting disease"

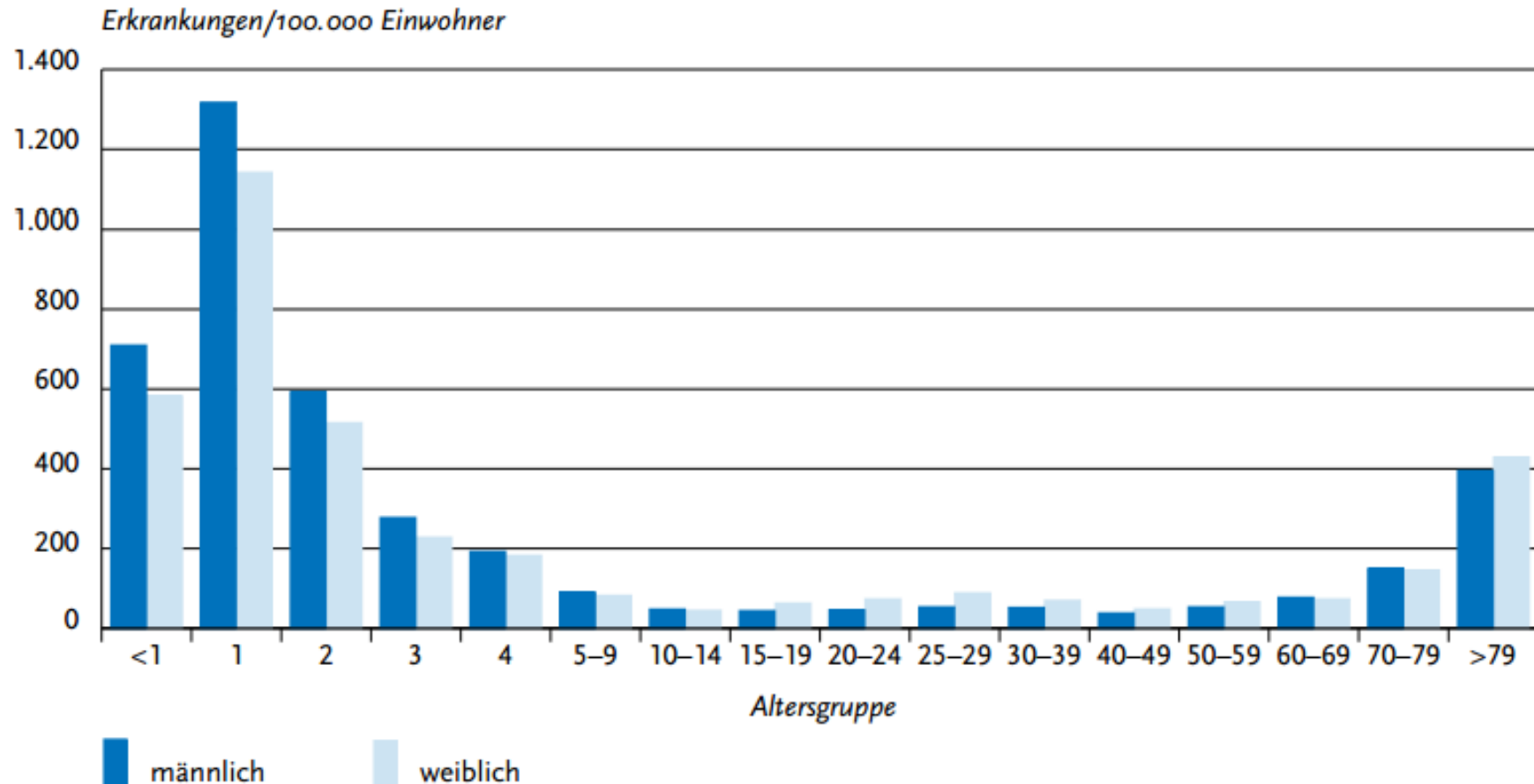
Norovirus-Epidemiologie 2009 – 2013

(Niedersächsisches Gesundheitsamt 5.7.2010)



Gemeldete Erkrankungen durch Noroviren nach Alter und Geschlecht in Deutschland 2015 (Robert Koch Institut)

Übermittelte Norovirus-Gastroenteritiden pro 100.000 Einwohner nach Alter und Geschlecht, Deutschland, 2015 (n=89.045)



Noroviren: Übertragung durch Lebensmittel

- 21% - 40% aller Norovirusausbrüche werden durch Lebensmittel verursacht (Ref: Glass RI et al, J Inf Dis 2000; 181 Suppl2:S254, Mead et al, Emerg Inf Dis 1999; 5:607)
- **Alle Speisen** können Noroviren-Infektionen übertragen, da es sich um Kontaminationen durch den Zubereiter handelt (vgl. Salmonellen → Eierspeisen, Campylobacter → Hühnerfleisch)
- Lebensmittel wurden als Infektionsvehikel identifiziert, die **zwischen 24–48 Stunden bis zum vierten Tagen nach Genesung** des Zubereiters hergestellt wurden (Parashar, 1998; Patterson, 1993; White, 1986).
- von kontaminiertem Schinken und Salat konnten feline Caliciviren (Modellvirus für das Norovirus) noch **nach sieben Tagen Aufbewahrung** bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank angezüchtet werden (Mattison, 2007).

Brechdurchfall auf britischem Luxusliner

Leidet "Queen Victoria" unter "Camilla-Fluch"? Noro-Virus grassiert

Sie haben sich ihre Reise bestimmt anders vorgestellt: Unter den Passagieren des britischen Luxus-Kreuzfahrtschiffes "Queen Victoria" hat sich ein fieser Magen-Darm-Virus ausgebreitet. Ist mangelnde Hygiene oder gar ein böser Fluch Schuld?



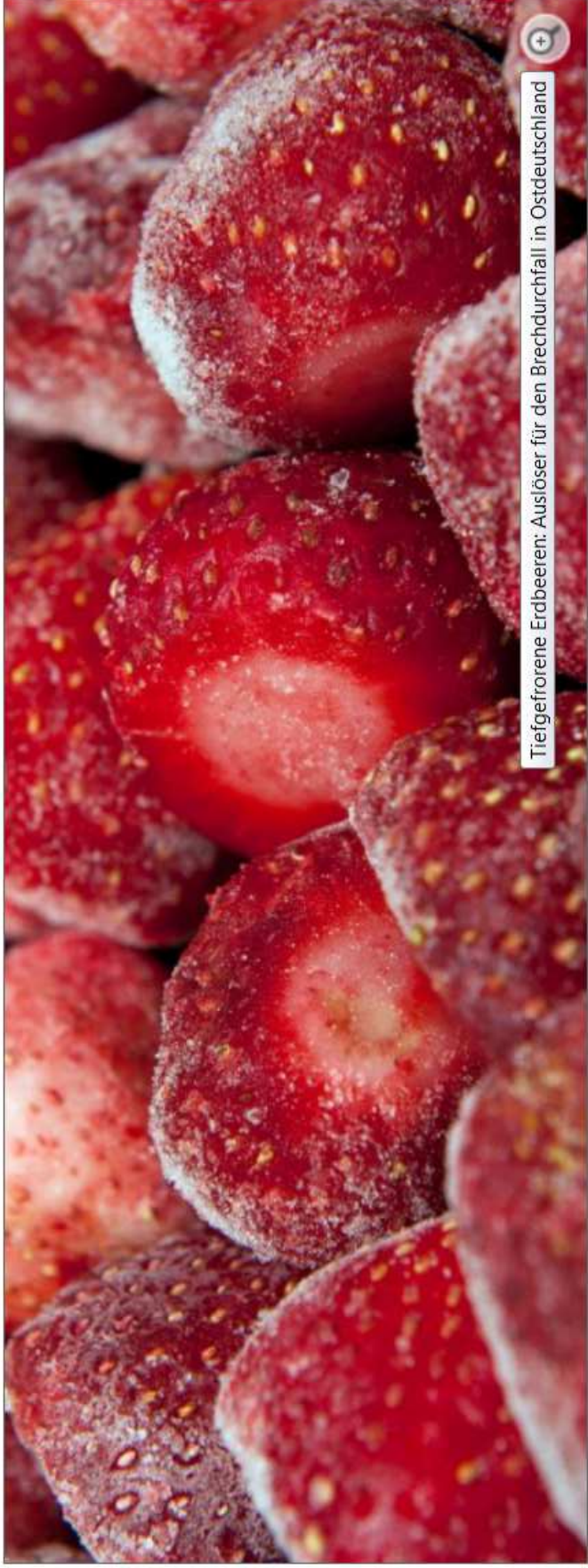
reuters

 Drucken  Versenden

30.12.2007



Brechdurchfall in Ostdeutschland: China-Erdbeeren waren mit Noroviren verseucht



Tiefgefrorene Erdbeeren: Auslöser für den Brechdurchfall in Ostdeutschland

DPA

Tiefgefrorene Erdbeeren: Auslöser für den Brechdurchfall in Ostdeutschland

Über elftausend Menschen litten in Deutschland an Brechdurchfall. Jetzt haben Behörden den Verursacher der Magen-Darm-Grippewelle entlarvt: Die chinesischen Tiefkühl-Erdbeeren waren laut Robert Koch-Institut mit Noroviren verseucht.

i Datum: Montag 08.10.2012 | 18:21 Uhr

Es war der größte lebensmittelbedingte Ausbruch von akutem Brechdurchfall in Deutschland: Mehr als elftausend Kinder und Jugendliche erkrankten vor allem in Ostdeutschland an einer Magen-

Noroviren: Desinfektionsmaßnahmen bei Ausbrüchen

Händedesinfektion: Die Hände werden mit einem Desinfektionsmittel eingerieben und feucht gehalten. Das Desinfektionsmittel muss nach Herstellerangaben gegen Polio- und/oder gegen Adenoviren wirken (meist ethanolische, nicht isopropanolische Lösungen, z.B. Sterillium Virugard[®]). Die hierfür vorgeschriebene Einwirkzeit liegt meist zwischen 1 bis 3 Minuten.

- Modifikation am UKD: zweimaliges Desinfizieren über 2 min mit **nicht-viruziden** Desinfektionsmitteln wegen der höheren Akzeptanz !
- Verwendung eines **viruziden** Desinfektionsmittels (Desderman pure[®] bei Ausbrüchen)

Flächendesinfektion: Die Flächendesinfektion erfolgt entweder mit Natriumhypochlorid (5% = 1000-5000 ppm), einem aldehydischen Flächendesinfektionsmittel (Formalin) oder einem Sauerstoffabspalter (Peroxide) nach der vom Hersteller angegebenen Konzentration und Einwirkzeit.

Noroviren: Desinfektion oder Wasser + Seife?



Reducing viral contamination from finger pads: handwashing is more effective than alcohol-based hand disinfectants

E. Tuladhar^{a,b}, W.C. Hazeleger^{a,*}, M. Koopmans^{b,c}, M.H. Zwietering^a,
E. Duizer^b, R.R. Beumer^a

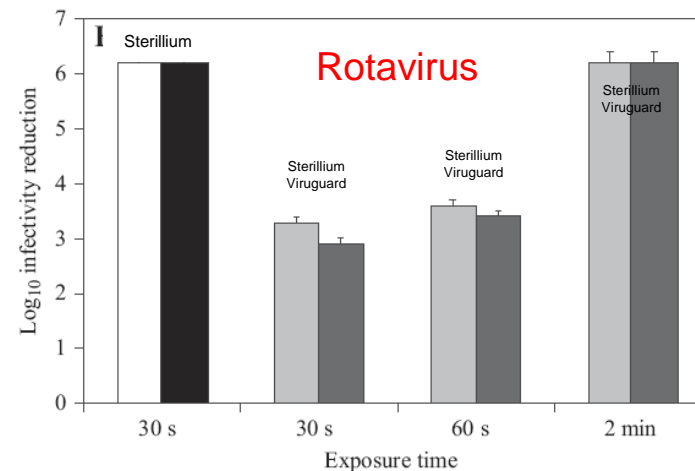
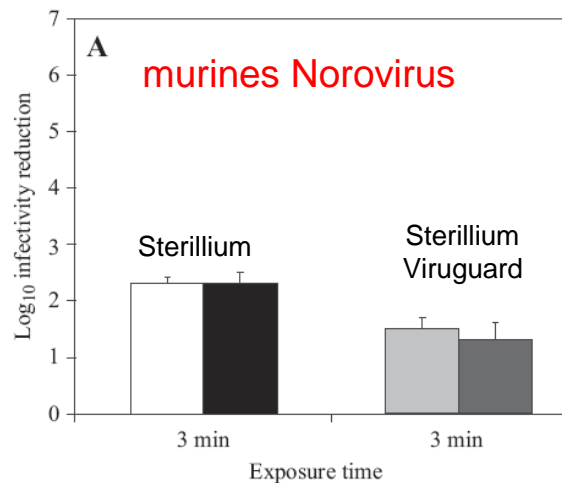
^aLaboratory of Food Microbiology, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands

^bLaboratory for Infectious Diseases and Screening, Center for Infectious Disease Control,
National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands

^cDepartment of Virology, Erasmus Medical Centre, Rotterdam, The Netherlands

Methodik:

- 3 Versuchspersonen
- Kontaminationsexperimente mit verschiedenen Viren (u.a. murinem Norovirus)
- Sterillium – Sterillium Viruguard - Wasser + Seife
- Finger pad tests
- Reduktion der Infektiosität gemessen



Vergleich Sterillium – Wasser+Seife:

12 finger pads:

Sterillium: Reduktion $2.8 \pm 1.5 \log_{10}$

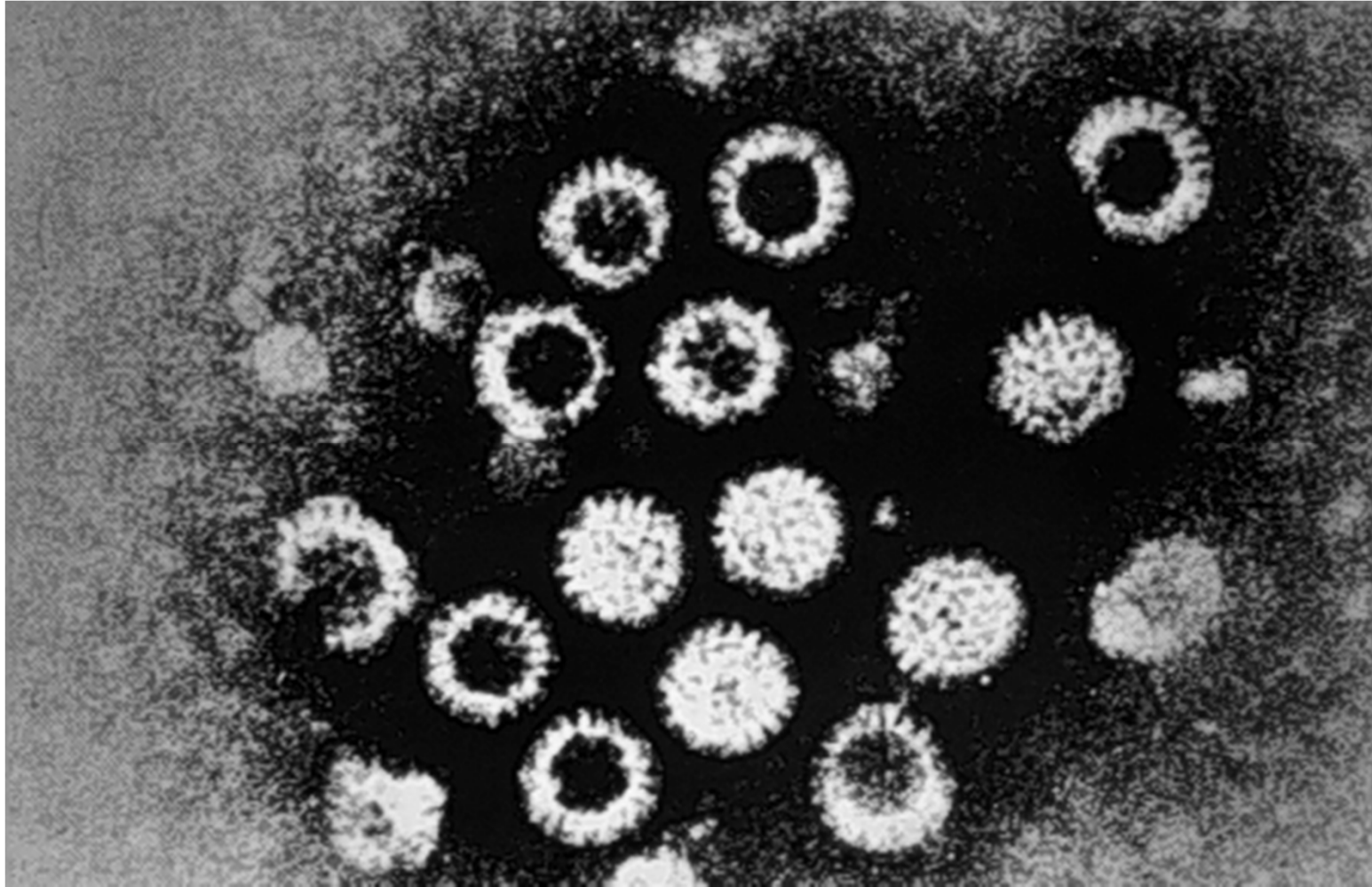
Wasser + Seife: Reduktion $>3.0 \log_{10}$

Empfohlene Kontrollmaßnahmen zum Schutz vor Norovirusausbrüchen in Krankenhäusern und Altenpflegeeinrichtungen (Ausschnitte)

- erkranktes Personal bis **48 h nach Auftreten der letzten Symptome** freistellen.
(Ausscheidung ca. 7-14 Tage! → "PCR-Monitoring" nicht sinnvoll)
- Personal, das in betroffenen Bereichen gearbeitet hat, **frühestens 48 h** nach Ende der letzten Schicht in anderen Bereichen einsetzen
- Stationen oder Bereiche, die aufgrund eines Norovirusausbruchs für Neuaufnahmen gesperrt waren, **frühestens 72 h** nach Auftreten des letzten Krankheitsfalles wieder öffnen

- Infektiöse Enteritis
 - Noroviren
 - **Rotaviren**
 - **Diagnostik**
-

Rotaviren im Elektronenmikroskop



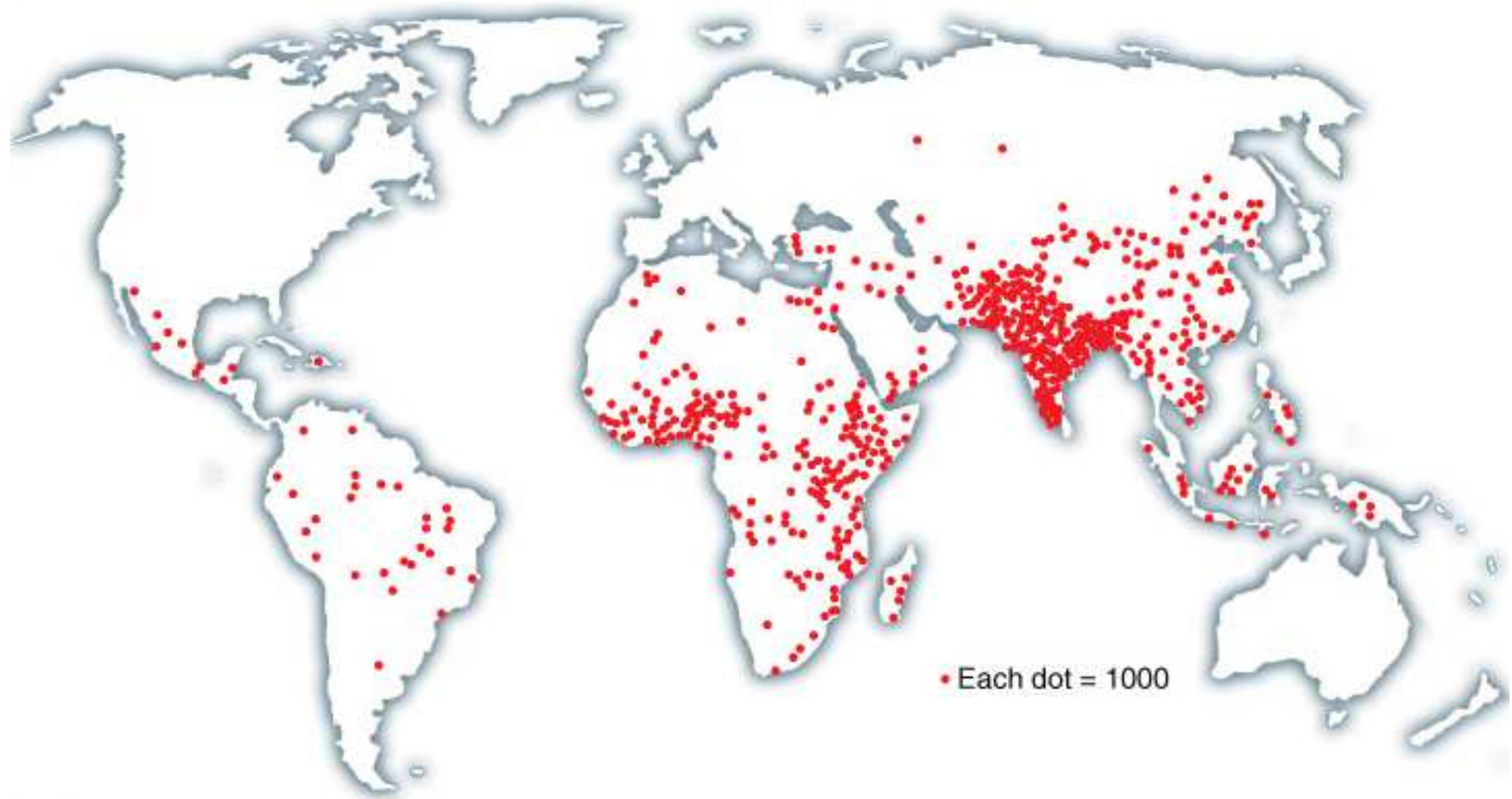
aus: Lambert et al: Farbatlas der Infektionskrankheiten, Thieme Verlag 1984

Rotaviren - Epidemiologie

- weltweit häufigste Ursache von Gastroenteritiden bei Säuglingen und Kleinkindern (Entwicklungsländer und Industrieländer)
 - Ursache für ca. 10-20% der gastroenteritis-assoziierten Todesfälle in Entwicklungsländern. Seit 1985 ca. 50% Reduktion der Todesfälle durch verbesserte Behandlung (Rehydratation!)
 - oft als Nosokomialinfektion auf Neugeborenen/Kinderstationen
 - Infektionen hinterlassen keine komplette Immunität (Reinfektionen!)
 - Übertragung: Schmierinfektionen, Trinkwasser, Lebensmittel
 - Häufung in der kalten Jahreszeit ("winter vomiting disease")
-

Geschätzte Todesfälle durch Rotaviren

*Committee on Issues and Priorities for New Vaccine Development. New Vaccine Development. Establishing Priorities
National Academy Press; 1986*



aus : Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th edition (2005)

Jahreszeitliche Höhepunkte der Rotavirus-Aktivität

USA July 1991 - Juni 1997

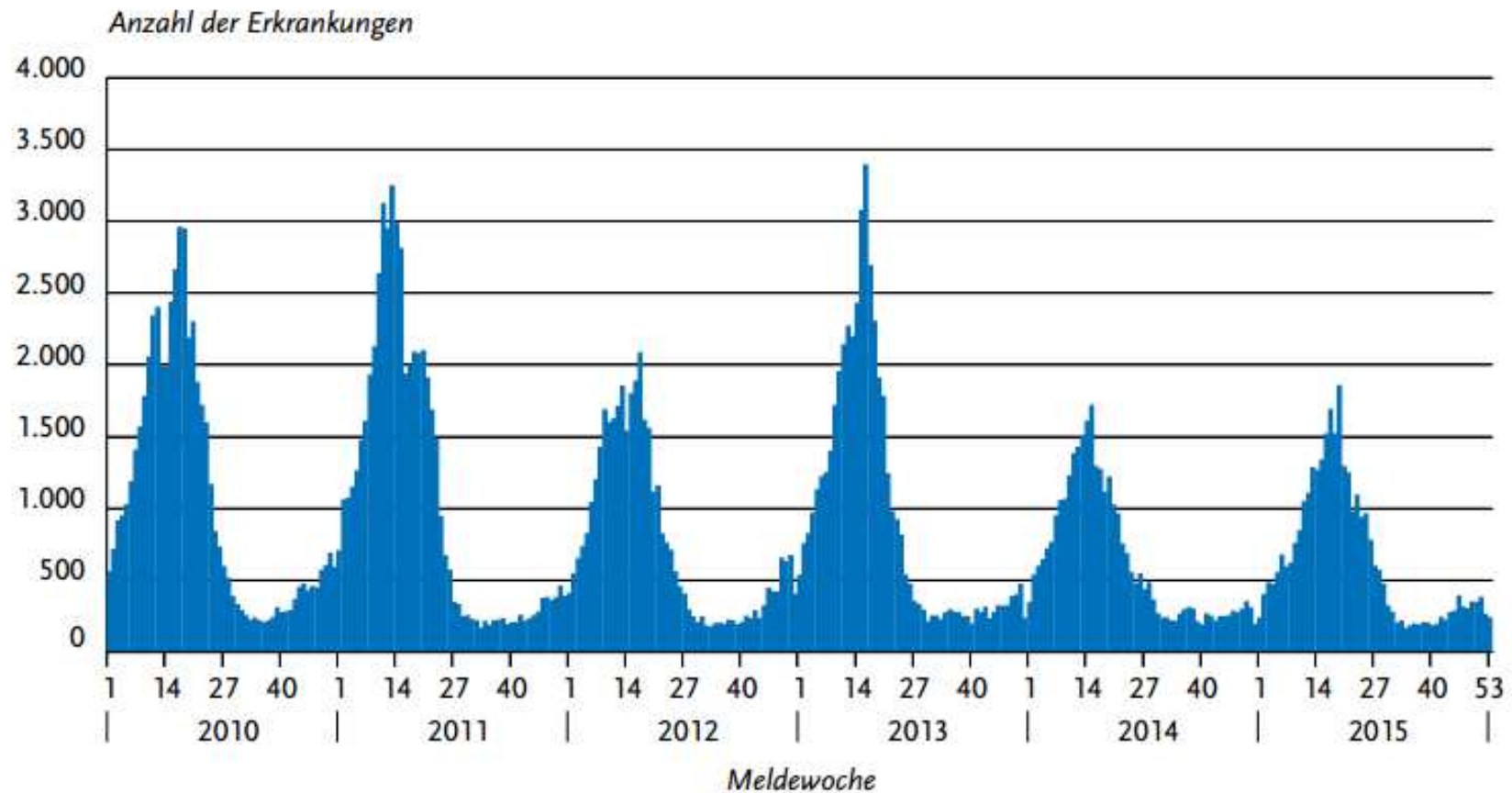


+ teilnehmende Laboratorien

Rotavirus-Meldungen Deutschland

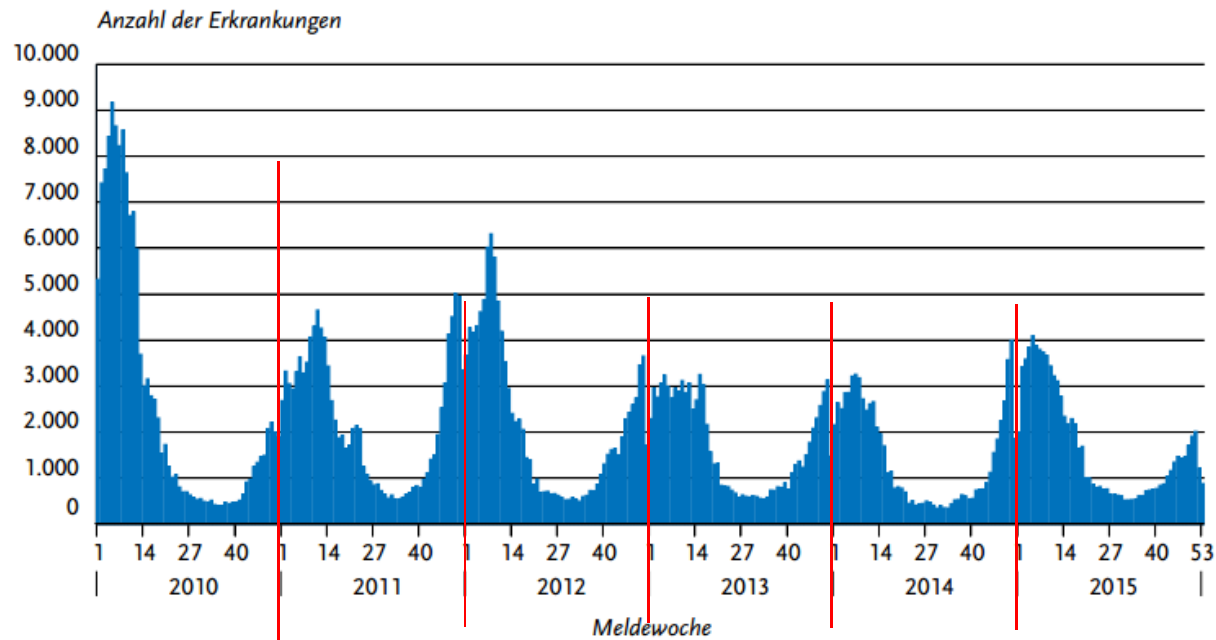
2010 -2015

Übermittelte Rotavirus-Gastroenteritiden nach Meldewoche, Deutschland, 2010 bis 2015

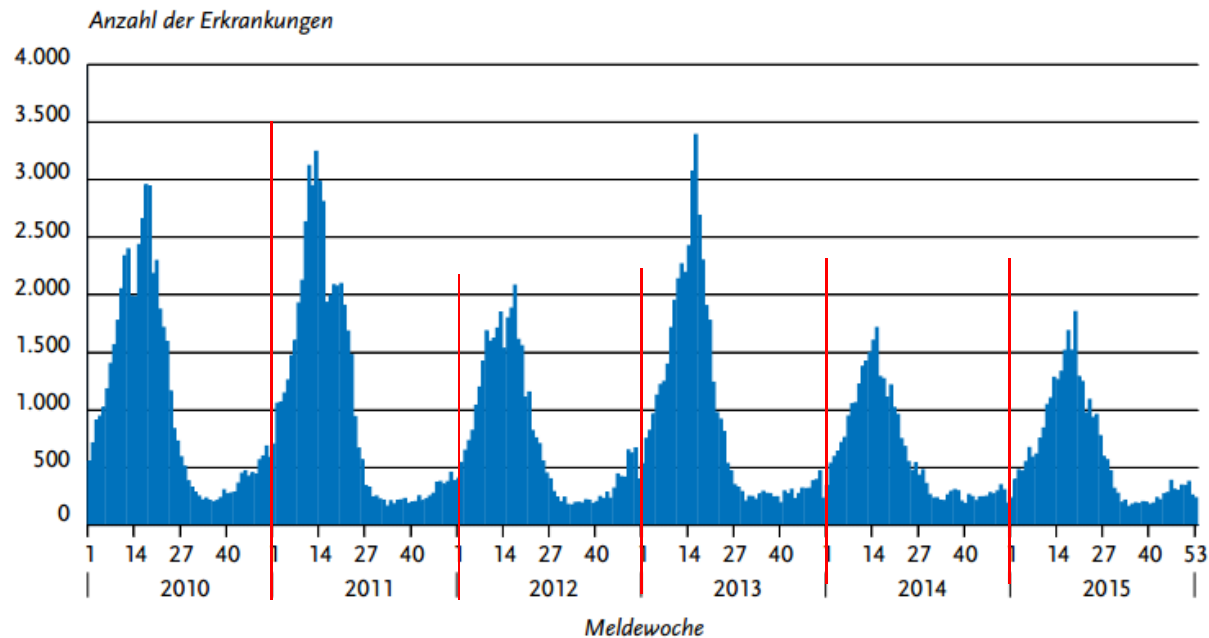


Norovirus-Rotavirus Epidemiologie

Noro



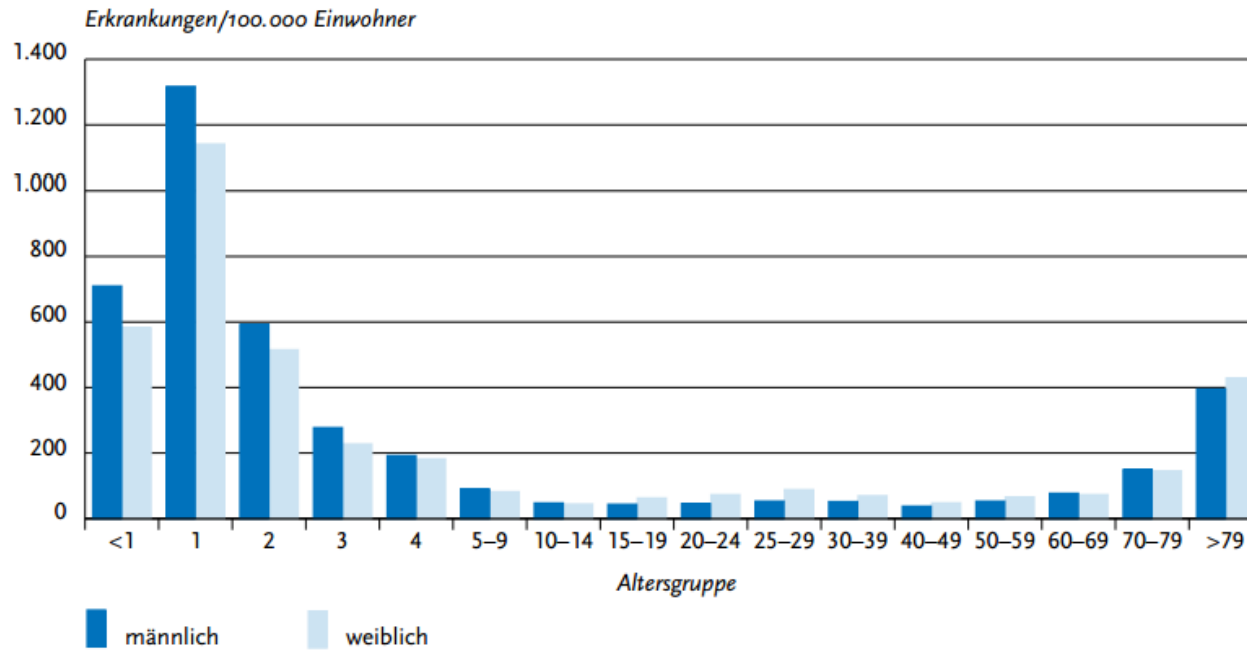
Rota



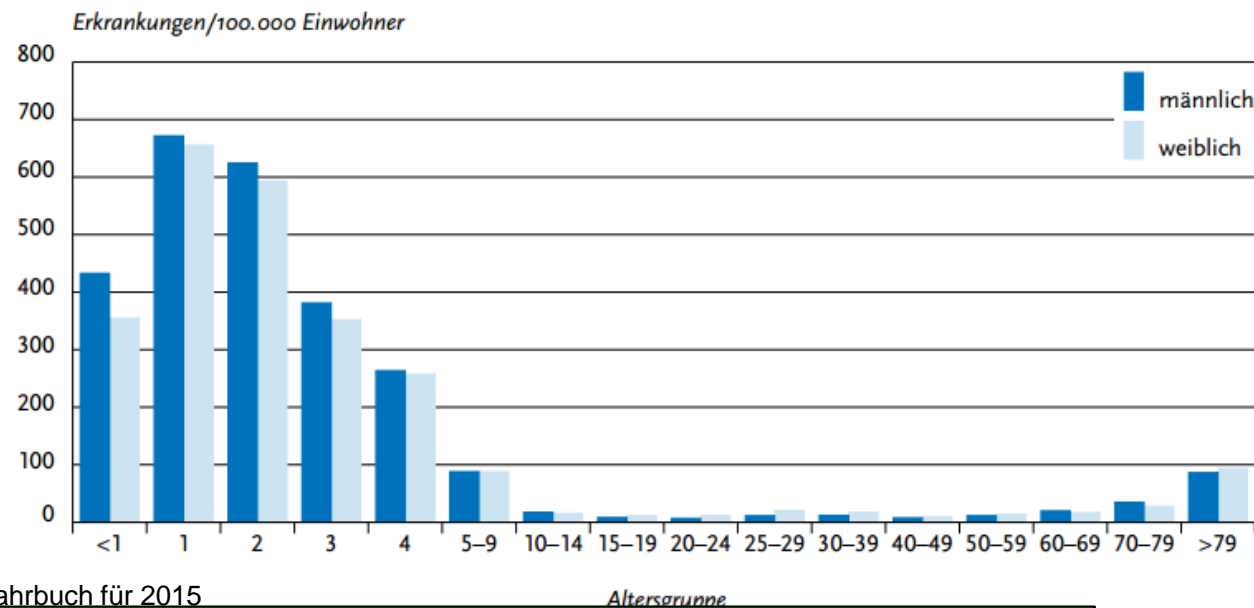
Noro- und Rotaviren nach Alter und Geschlecht in Deutschland 2015

(Robert Koch Institut)

Noro



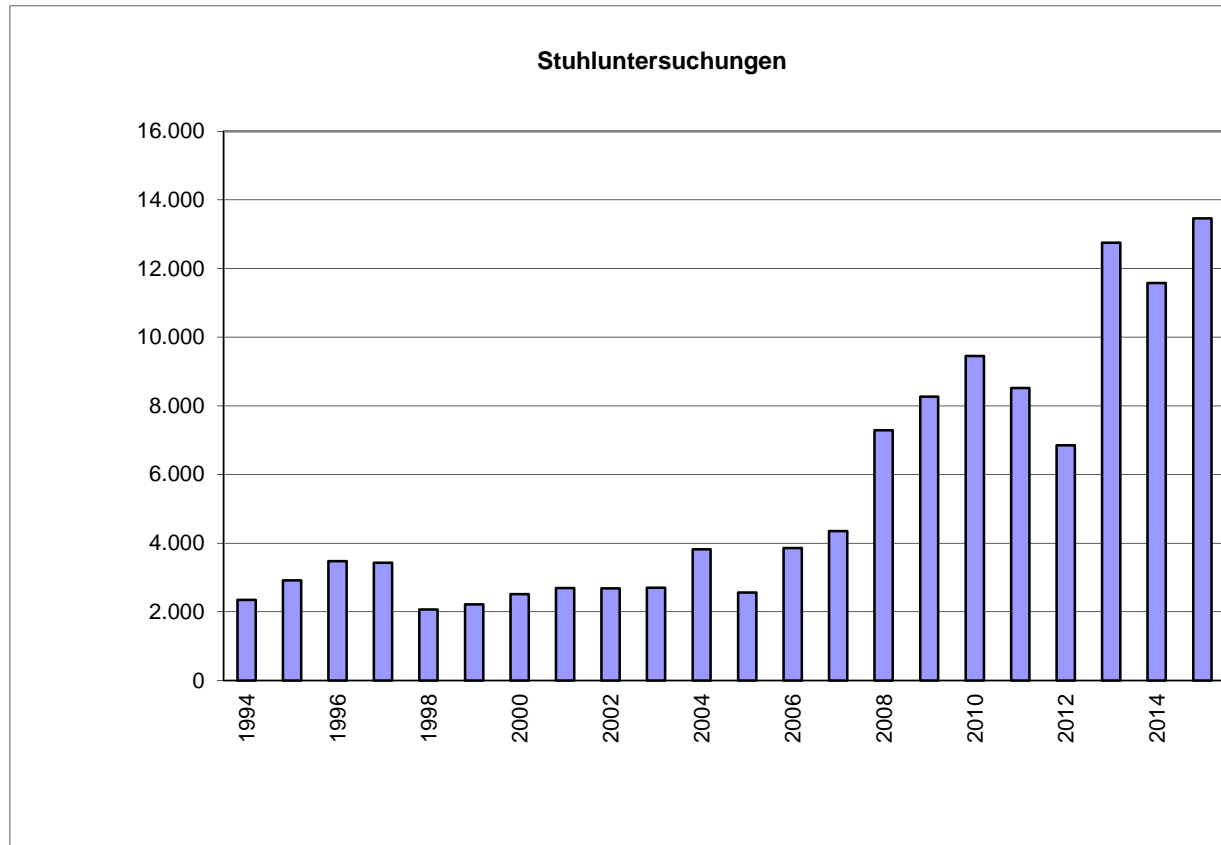
Rota



- Infektiöse Enteritis
 - Noroviren
 - Rotaviren
 - **Diagnostik**
-

Virusnachweise im Stuhl im Universitätsklinikum Düsseldorf

(Institut für Virologie, Zeitraum 1994-2015)



Hinweise zur Labordiagnostik von Norovirus-Infektionen:

RKI-Ratgeber für Ärzte, aktualisierte Fassung vom Juli 2008

Neben dem molekularen Norovirus-RNA-Nachweis kommen derzeit zwei kommerzielle Antigen-EIAs in der Routine zur Anwendung, **die immer wieder hinsichtlich Spezifität und Sensitivität auf dem Prüfstand stehen**. Derzeit kann eingeschätzt werden, dass insbesondere in der Diagnostik von Einzelerkrankungen diese EIAs nicht die einzige Stütze der Norovirus-Diagnostik sein sollten

Um einen Noroviren-Ausbruch als solchen mit einer Wahrscheinlichkeit von $> 90\%$ zu identifizieren, sind mindestens sechs Stuhlproben erforderlich, falls ein ELISA eingesetzt wird und mindestens drei Proben, falls eine RT-PCR zum Einsatz kommt (Duizer et al, J Clin Virol. 2007;11:38-42)

Häufigkeit von positiven Virusnachweisen im Stuhl in den Kliniken Düsseldorf

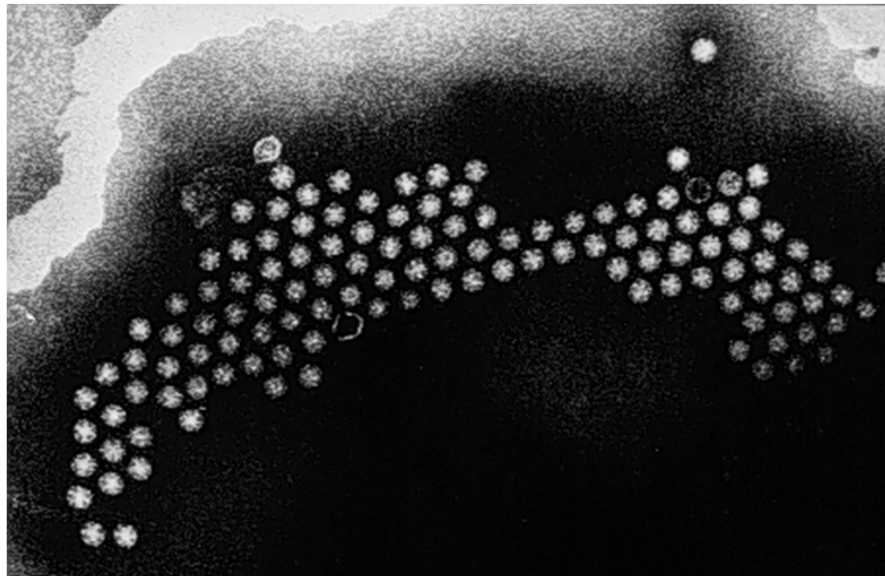
(Institut für Virologie, Zeitraum Mai 2005-Jan. 2011)

	Teste	positiv	%
Noro	11.579	2.036	17,58
Rota	7.844	767	9,78
Adeno	6.964	285	4,09
Astro	5.430	12	0,33 !

Astroviren nach Umstellung der Methodik (EIA → PCR)

(Institut für Virologie, Zeitraum Juli 2016 - Sep 2016)

	Teste	positiv	%
Astro	1013	14 !	1,4



- bei ca. 2-9% der Kinder mit Diarrhoe nachweisbar, seltener bei Erwachsenen
- gemäßigte Klimazonen: **Häufung im Winter/Frühjahr**
- Bis zum 5. Lebensjahr sind > 80 % der Kinder seropositiv

→ Astroviren scheinen häufiger zu sein als früher angenommen!

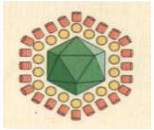
Diagnostik viraler Durchfallserreger:

(Institut für Virologie, UKD)



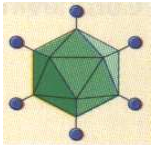
Noroviren

PCR (in house)



Rotaviren

EIA → CLIA (DiaSorin, LIAISON)



Adenoviren

EIA → CLIA (DiaSorin, LIAISON)

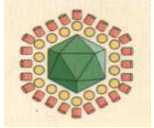


Astroviren

EIA → PCR (in house) seit 07-2016

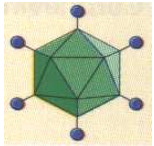
Rota- und Adenovirus im Stuhl: Methodik

(Institut für Virologie, UKD)



Rotaviren

CLIA (DiaSorin, LIAISON®)



Adenoviren

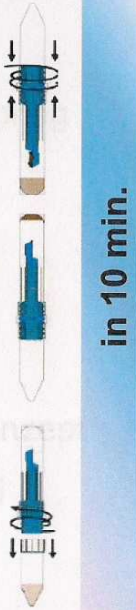
CLIA (DiaSorin, LIAISON®)



1. Stuhlprobe mit integriertem Spatel in Diluent aufnehmen, vortexen, zentrifugieren



2. Filtrieren der Probe durch „überkopf“ Zentrifugation im gleichen Röhrchen



3. Filtrierten Probenüberstand im Meßröhrchen auf LIAISON® laden



Laufzeit: 35 min

Labordiagnostik von Durchfallserkrankungen

	konventionell	alternativ
Viren	EIA, PCR (vor allem Noroviren)	molekulare Multiplex-Nachweise
Campylobacter	Kultur	molekular
Salmonellen	Kultur	molekular
Shigellen	Kultur	molekular
ETEC, EIEC, EAEC	Serotypennachweis	molekular
EHEC	Toxinnachweis im EIA	molekular
C. difficile	Toxin-ZK, GDH, Toxin A und B EIA	molekular
Giardia lamblia	Mikroskopie	molekular
Kryptosporidien	Mikroskopie, EIA	molekular
Entamoeba histolyticum	Mikroskopie, EIA	molekular

xTAG Gastrointestinal Pathogen Product Description

Bacteria and Bacterial Toxins

Campylobacter

Clostridium difficile, Toxin A/B

Escherichia coli 0517

Enterotoxigenic E.coli (ETEC) LT/ST

Shiga-like Toxin producing E.coli (STEC) stx1/stx2

Salmonella

Shigella

Vibrio cholerae

Yersinia enterocolitica

Viruses

Adenovirus 40/41

Norovirus GI/GII

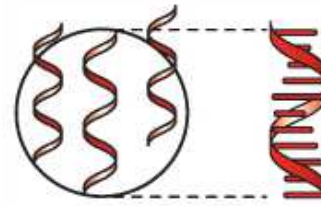
Rotavirus A

Parasites

Giardia

Cryptosporidium

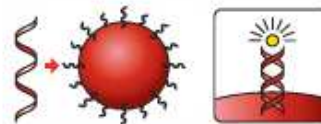
Entamoeba histolytica



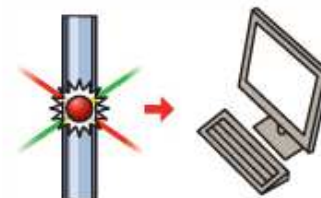
Extraction and purification



Multiplex amplification



Bead hybridization and detection



Data acquisition & analysis

Zusammenfassung:

- Die wichtigsten virologischen Gastroenteritiserreger sind in absteigender Bedeutung: **Noroviren, Rotaviren, Adenoviren, Astroviren**
 - Charakteristika der Noroviren sind: hohe Stabilität, geringe effektive Infektionsdosis, Übertragung über **Aerosole und Lebensmittel**
 - Es ist **keine** Zunahme an viralen Gastroenteritiden in den letzten zehn Jahren in Deutschland zu verzeichnen
 - Die Diagnostik der infektiösen Gastroenteritis tendiert in Zukunft vermutlich zu **molekularen syndromorientierten** Multiplex-Techniken
-

.... ich hoffe, Ihnen ist nicht der Appetit vergangen!
Vielen Dank



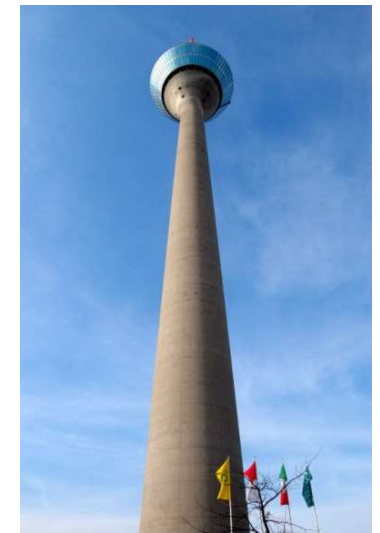
Gehry-Buildings



Institut für Virologie



Düsseldorf-Harbour



Television-Tower