



Nationale Referenzzentrale für Diphtherie – Labor



Jahresbericht 2023

Dr. Stefanie Schindler

01.10.2024

Inhalt

Einleitung.....	5
Ergebnisse.....	6
Einsendungen gesamt.....	6
Fälle gesamt.....	8
Resistenztestung.....	9
<i>C. diphtheriae</i>	9
<i>C. ulcerans</i>	12
Diskussion.....	12
Situation in Österreich.....	12
Situation in Europa.....	13
Kontroll- und Präventionsmaßnahmen.....	14
Therapeutische Herausforderungen und Aspekte.....	15
Diagnostische Herausforderungen und Aspekte.....	16
Erregerspektrum der Diphtherie.....	17
Ansprechperson.....	19
Danksagung.....	20
Tabellenverzeichnis.....	21
Abbildungsverzeichnis.....	22
Literaturverzeichnis.....	23

Zusammenfassung

Im Jahr 2023 wurden an der Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor 128 Proben untersucht. In 30 Fällen wurde *Corynebacterium (C.) diphtheriae* und in drei Fällen *Corynebacterium (C.) ulcerans* identifiziert. Vier dieser Isolate (drei *C. diphtheriae*, ein *C. ulcerans*) zeigten einen positiven Toxingen- und Toxinproduktionsnachweis mittels PCR und Elek-Test. Bei einem *C. diphtheriae*-Isolat (4,3 %) wurde eine Resistenz gegen Penicillin festgestellt, jeweils zwei Isolate wiesen eine Resistenz gegenüber Amoxicillin und Erythromycin auf, wobei es sich bei allen resistenten Isolaten um nicht-toxigene Stämme handelte. Es wurde keine kombinierte Resistenz gegenüber Penicillinen und Makroliden festgestellt. Im Vergleich zum Vorjahr ist in Österreich sowohl die Zahl der eingesendeten Proben als auch die Anzahl der nachgewiesenen Toxin-produzierenden Corynebakterien im Vergleich zum Vorjahr deutlich zurückgegangen.

Summary

In 2023, the National Reference Center for Diphtheria – Laboratory analyzed 128 samples. *Corynebacterium (C.) diphtheriae* was identified in 30 cases, and *Corynebacterium (C.) ulcerans* in three cases. Four of these isolates (three *C. diphtheriae*, one *C. ulcerans*) tested positive for toxigenicity and toxin production through PCR and the Elek test. One *C. diphtheriae* isolate (4.3%) exhibited resistance to penicillin. Two isolates showed resistance to amoxicillin and erythromycin, with all resistant isolates being non-toxigenic strains. No combined resistance to both penicillins and macrolides was detected. Compared to the previous year, Austria saw a significant decrease in both the number of submitted samples and the number of toxin-producing corynebacteria detected.

Einleitung

Corynebakterien sind grampositive, fakultativ anaerobe, nicht sporenbildende, irregulär geformte (keulenförmige) Stäbchenbakterien („Coryne“ von griechisch κορύνη korýnē, deutsch „Keule“). Die meisten Vertreter dieser Gruppe sind opportunistische Keime (d. h. nur unter speziellen Bedingungen "krankmachend"). Die größte klinische Bedeutung hat *Corynebacterium (C.) diphtheriae*, der klassische Erreger der Diphtherie, wobei nur Toxinproduzierende Stämme eine Diphtherie verursachen können. Neben *C. diphtheriae* können auch andere Spezies, wie *C. ulcerans* und *C. pseudotuberculosis*, Ursache einer Diphtherie sein.

Die Übertragung erfolgt hauptsächlich über die Luft (aerogen) in Form von Tröpfchen oder durch direkten Kontakt mit respiratorischen Sekreten oder Wundexsudaten. Auch Erbrochenes oder kontaminierte Lebensmittel (Rohmilch) bzw. Gegenstände können eine Rolle bei der Übertragung spielen.

Das klinische Bild der Diphtherie wird in erster Linie durch die Wirkung des Diphtherietoxins verursacht. Je nach Lokalisation wird die Diphtherie in unterschiedliche Formen eingeteilt: Hautdiphtherie (Hautläsion), Respiratorische Diphtherie (milde respiratorische Diphtherie mit Erkrankung der oberen Atemwege ohne Vorliegen einer adhärenen Membran/Pseudomembran; klassisch respiratorische Diphtherie mit Erkrankung der oberen Atemwege mit Vorliegen einer adhärenen Membran/Pseudomembran) und sonstige Diphtherie (Läsion der Augenbindehaut oder der Schleimhäute).

Die Diphtherie, insbesondere die klassisch respiratorische Form der Diphtherie, ist eine oft schwer verlaufende Infektionskrankheit, die ohne adäquate Therapie letal enden kann. In den entwickelten Ländern ist die Inzidenz der Erkrankung sehr niedrig. Die Diphtherie ist in vielen Regionen der Welt, einigen Länder Afrikas, Asiens, des Südpazifiks und Osteuropas, endemisch.

Die diagnostische Methode der Wahl ist die Anzucht des Erregers aus klinischem Untersuchungsmaterial. Zur Untersuchung eignen sich bei Verdacht auf respiratorische Diphtherie Abstriche aus dem Oro-/Nasopharynx bzw. bei Verdacht auf Hautdiphtherie von (Schleim)Hautläsionen, wobei Abstriche von mehreren Bereichen die Sensitivität erhöhen. Alternativ können auch Gewebestücke eingesandt werden. Beim Vorliegen einer Pseudomembran sollten Proben vorzugsweise darunter entnommen werden (Cave: Blutungsgefahr). Nach Identifikation von potenziell Toxinproduzierenden Corynebakterien

ist der Nachweis der Toxinproduktion für die Diagnosesicherung erforderlich. Beide Untersuchungsschritte werden an der Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor durchgeführt.

Bei klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer Diphtherie soll neben der Probennahme zur Diagnosesicherung so früh wie möglich eine Therapie eingeleitet werden. Diese besteht sowohl aus einer antibiotischen Therapie als auch – im Falle einer respiratorischen Diphtherie sowie in Einzelfällen bei Hautdiphtherie mit Vorliegen großer Hautläsionen – einer Therapie mit Diphtherieantitoxin (DAT). Seit 2016 ist die 4. Med. Abteilung mit Infektions- und Tropenmedizin der Klinik Favoriten (Kundratstraße 3, 1100 Wien) als Nationale Auskunftsstelle bezüglich der Verfügbarkeit von Diphtherieantitoxin in Österreich und bevorratet dieses für Notfälle.

Die Prävention der Erkrankung beginnt entsprechend dem österreichischem Impfplan im Kindesalter und besteht aus einer aktiven Immunisierung mit einem Toxoid-Impfstoff (inaktiviertes Diphtherietoxin). Nach der Grundimmunisierung soll alle zehn Jahre eine Auffrischungsimpfung erfolgen, ab dem vollendeten 60. Lebensjahr alle fünf Jahre (1). Die Impfung erzeugt keine sterile Immunität.

Ergebnisse

Einsendungen gesamt

Im Jahr 2023 erfolgten 128 Einsendungen zur Diphtherie-Diagnostik an die Nationale Referenzzentrale für Diphtherie – Labor (Einsendung 2023 nach Auftragsdatum). Die 128 Einsendungen stammten von 69 Patientinnen und Patienten.

Bei 34 Einsendungen handelte es sich um Reinkulturen/Isolate von potenziell Toxinproduzierenden Corynebakterien, bei 94 Einsendungen handelte es sich um Primärmaterial (beide in Folge zusammengefasst als „Proben“ bezeichnet). Bei den meisten Proben handelte es sich um Nasen-/Rachenabstrichen bzw. Isolate aus diesen (82 Proben), gefolgt von Wundabstrichen bzw. Isolat aus diesen (31 Proben), respiratorische Sekrete bzw. Isolate aus diesen (6 Proben) sowie 3 Isolat aus Blutkulturen. Von 6 Proben ist der Materialursprung unbekannt.

Nach dem vermehrten Vorkommen von Diphtherie in Österreich im Jahr 2022 und einer hohen Anzahl an Probeneinsendung, vor allem im vierten Quartal, nahm die Anzahl der Einsendungen im Jahr 2023 im Jahresverlauf weitgehend ab: Im ersten Quartal wurden 45 Proben, im zweiten Quartal auf 16, im dritten Quartal 43 und im vierten Quartal 24 Proben eingesendet.

In insgesamt 33 Proben wurden potenziell Toxin-produzierenden Corynebakterien nachgewiesen: In drei Proben wurde *C. ulcerans*, in 30 Proben *C. diphtheriae* identifiziert (davon 11 *C. diphtheriae* biovar *gravis*, 18 *C. diphtheriae* biovar *mitis*, 1 *C. diphtheriae* biovar *belfanti*). In den übrigen Proben (95) konnte keine potenziell Toxin-produzierenden Corynebakterien nachgewiesen werden.

Von diesen 33 Proben wurde bei allen ein Toxingen-Nachweis mittels PCR durchgeführt, der bei vier Proben ein positives (3 *C. diphtheriae*, 1 *C. ulcerans*) und bei 29 Proben ein negatives (27 *C. diphtheriae*, 2 *C. ulcerans*) Ergebnis brachte. Bei allen vier Proben mit positivem Toxingen-Nachweis zeigte sich im Elek-Immunpräzipitationstest ein positiver Nachweis der Toxinproduktion. Bei drei Proben handelte es sich um ein Toxin-produzierendes *C. diphtheriae*, bei einer Probe um ein Toxin-produzierendes *C. ulcerans*.

Eine grafische Darstellung aller Proben, welche in den Jahren 2010-2023 an die Nationale Referenzzentrale für Diphtherie-Labor eingesendet wurden sowie die Aufschlüsselung der jeweiligen Anzahl an positiv auf Toxin-produzierende Corynebakterien getesteten Proben, ist in Abbildung 2 und Abbildung 1 dargestellt.

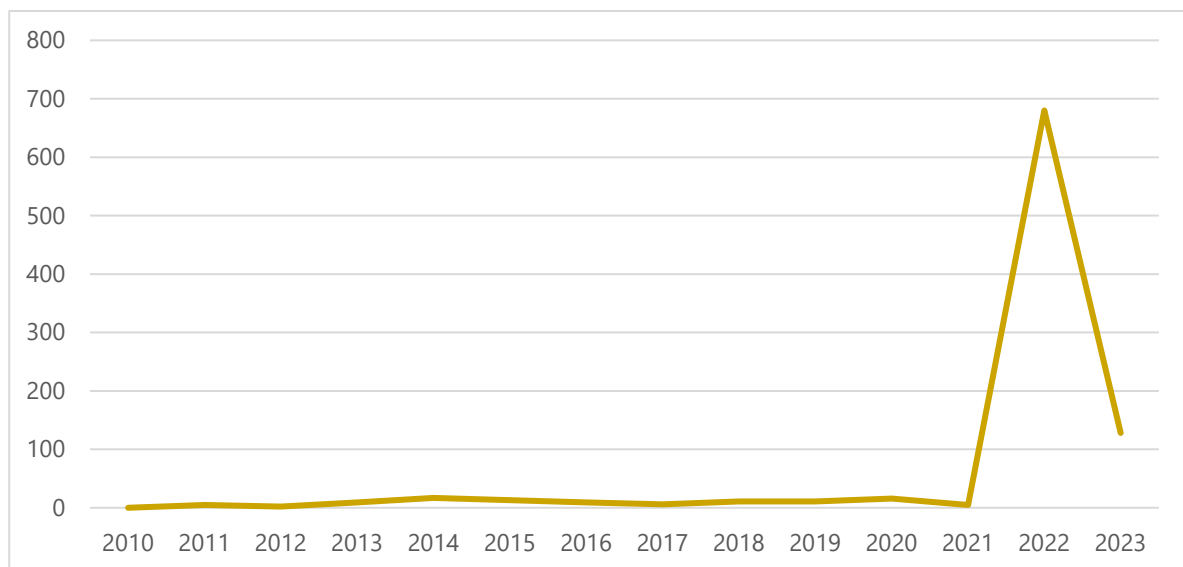


Abbildung 1: Gesamtanzahl der Proben, die in den Jahren 2010-2023 jeweils an die Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor eingesandt wurden.

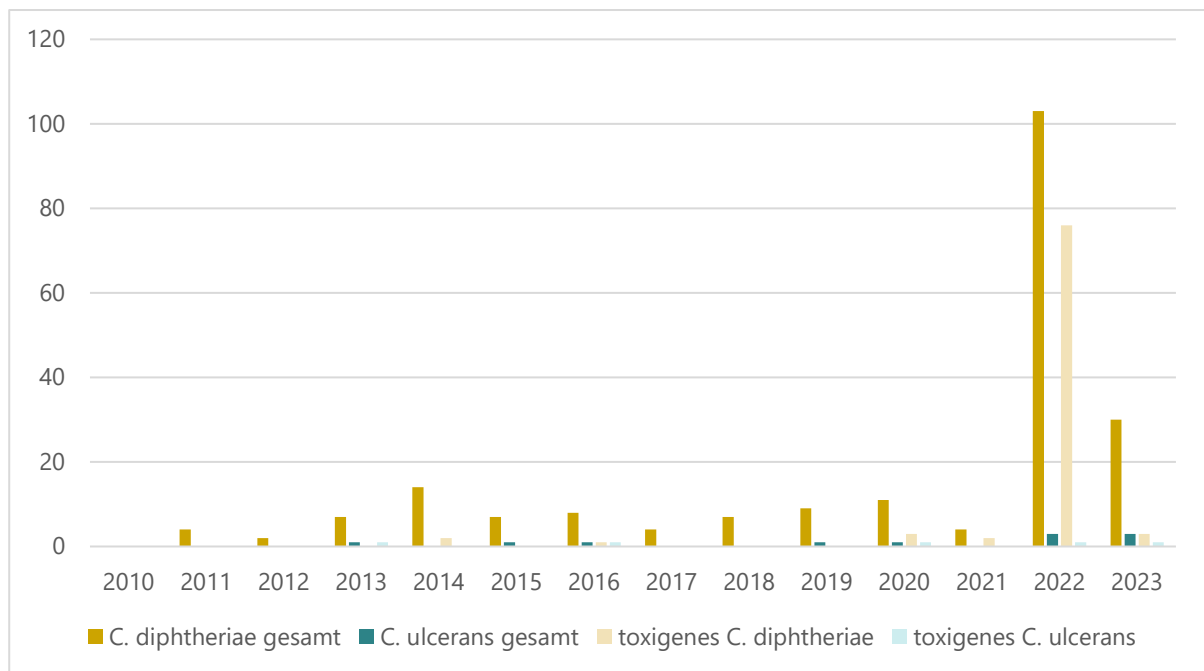


Abbildung 2: Anzahl der Proben, die in den Jahren 2010-2023 an die Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor eingesandt wurden, in denen *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* nachgewiesen wurde. Jeweils aufgeschlüsselt nach Gesamtanzahl und Nachweis von toxigenen (Toxin-produzierenden) Isolate.

Fälle gesamt

Die vier Proben, bei welchen Toxin-produzierende Corynebakterien nachgewiesen werden konnten, entstammen von vier Patientinnen und Patienten. Gemäß der gültigen Falldefinition wurden davon alle vier als bestätigte Fälle klassifiziert und gemeldet (2).

Bei drei Fällen konnte ein Toxin-produzierendes *C. diphtheriae*, bei einem Fall ein Toxin-produzierendes *C. ulcerans* identifiziert werden. Von den vier Fällen präsentierten sich zwei mit dem Bild einer Hautdiphtherie (ein Fall durch *C. diphtheriae*, ein Fall durch *C. ulcerans*) sowie zwei mit klassisch respiratorischer Diphtherie (beide durch *C. diphtheriae*).

Drei der Patient:innen war männlich, eine war weiblich. Die Patient:innen waren im Alter von 16 bis 72 Jahre (Median: 28 Jahre, Mittelwert 36 Jahre). Es war kein Todesfall zu verzeichnen.

Resistenztestung

Von allen kulturell identifizierten potenziell Toxin-produzierende Corynebakterien-Stämmen erfolgte an der Nationale Referenzzentrale für Diphtherie – Labor eine Resistenztestung. Es wurde von allen Stämmen die minimale Hemmkonzentration (MHK) gegenüber Penicillin, Amoxicillin, Clindamycin, Ciprofloxacin, Doxycyclin, Linezolid, Rifampicin, Erythromycin, Azithromycin und Clarithromycin mittels E-Test (Biomerieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) ermittelt. Seit der Vorveröffentlichung der klinischen Breakpoints des European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Version 13.0 (3) im Herbst 2022 existierten Spezies-spezifischen Breakpoints des EUCAST für *C. diphtheriae* und *C. ulcerans*, welche für die Interpretation der Empfindlichkeit herangezogen werden. Für Clarithromycin und Azithromycin existieren weiterhin keine klinischen Breakpoints, weshalb von diesen Substanzen nur die MHK ermittelt wird. Zur Analyse der Resistenzlage wurde jeweils nur das Erstisolat (definiert als erste Ersteinsendung innerhalb eines Monats, unabhängig vom Materialursprung) je Patient:in miteinbezogen.

C. diphtheriae

Zur besseren Übersicht der aktuellen Resistenzlage erfolgte eine Auswertung der Empfindlichkeit mit Interpretation jeweils für alle identifizierten *C. diphtheriae*-Isolate sowie getrennt für toxische und nicht toxische Stämme.

Es wurden insgesamt 23 *C. diphtheriae*-Isolate in die Analyse miteinbezogen. Bei einem Isolat (4,3 %) konnte eine phänotypische Resistenz gegenüber Penicillin festgestellt werden, alle Isolate zeigten eine Sensibilität bei erhöhter Exposition gemäß EUCAST. Bei je zwei Isolaten konnte eine phänotypische Resistenz gegenüber Amoxicillin, Erythromycin, Clindamycin, Doxycyclin und Ciprofloxacin festgestellt werden, es handelt sich bei allen um nicht-toxische Stämme. Gegenüber Linezolid und Rifampicin zeigten alle Isolate eine Sensibilität. Bei keinem der Isolate konnte eine kombinierte Resistenz gegenüber der Substanzklassen Penicilline und Makrolide festgestellt werden. Die Ergebnisse der Resistenztestung sind in Abbildung 3 und Tabelle 1 zu finden.

Tabelle 1: Auflistung der Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 22 *C. diphtheriae*-Isolaten aus dem Jahr 2023 – gesamt und aufgeteilt nach Toxingen-Status; Interpretation gemäß klinischen Breakpoints des EUCAST Version 13.0; R = Resistent, I = sensibel bei erhöhter Exposition, S = sensibel in Standarddosierung.

		S	I	R
Penicillin	<i>Toxigen</i>	0,0 % (0)	100,0 % (3)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	0,0 % (0)	95,0 % (19)	5,0 % (1)
	Gesamt	0,0 % (0)	95,7 % (22)	4,3 % (1)
Erythromycin	<i>Toxigen</i>	100,0 % (3)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	90,0 % (18)	0,0 % (0)	10,0 % (2)
	Gesamt	91,3 % (21)	0,0 % (0)	8,7 % (2)
Amoxicillin	<i>Toxigen</i>	100,0 % (3)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	90,0 % (18)	0,0 % (0)	10,0 % (2)
	Gesamt	91,3 % (21)	0,0 % (0)	8,7 % (2)
Ciprofloxacin	<i>Toxigen</i>	0,0 % (0)	100,0 % (3)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	0,0 % (0)	90,0 % (18)	10,0 % (2)
	Gesamt	0,0 % (0)	91,3 % (21)	8,7 % (2)
Linezolid	<i>Toxigen</i>	100,0 % (3)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	100,0 % (20)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	Gesamt	100,0 % (23)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
Clindamycin	<i>Toxigen</i>	100,0 % (3)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	90,0 % (18)	0,0 % (0)	10,0 % (2)
	Gesamt	91,3 % (21)	0,0 % (0)	8,7 % (2)
Rifampicin	<i>Toxigen</i>	100,0 % (3)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	100,0 % (20)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	Gesamt	100,0 % (23)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
Doxycyclin	<i>Toxigen</i>	100,0 % (3)	0,0 % (0)	0,0 % (0)
	<i>Nicht-toxigen</i>	90,0 % (18)	0,0 % (0)	10,0 % (2)
	Gesamt	91,3 % (21)	0,0 % (0)	8,7 % (2)

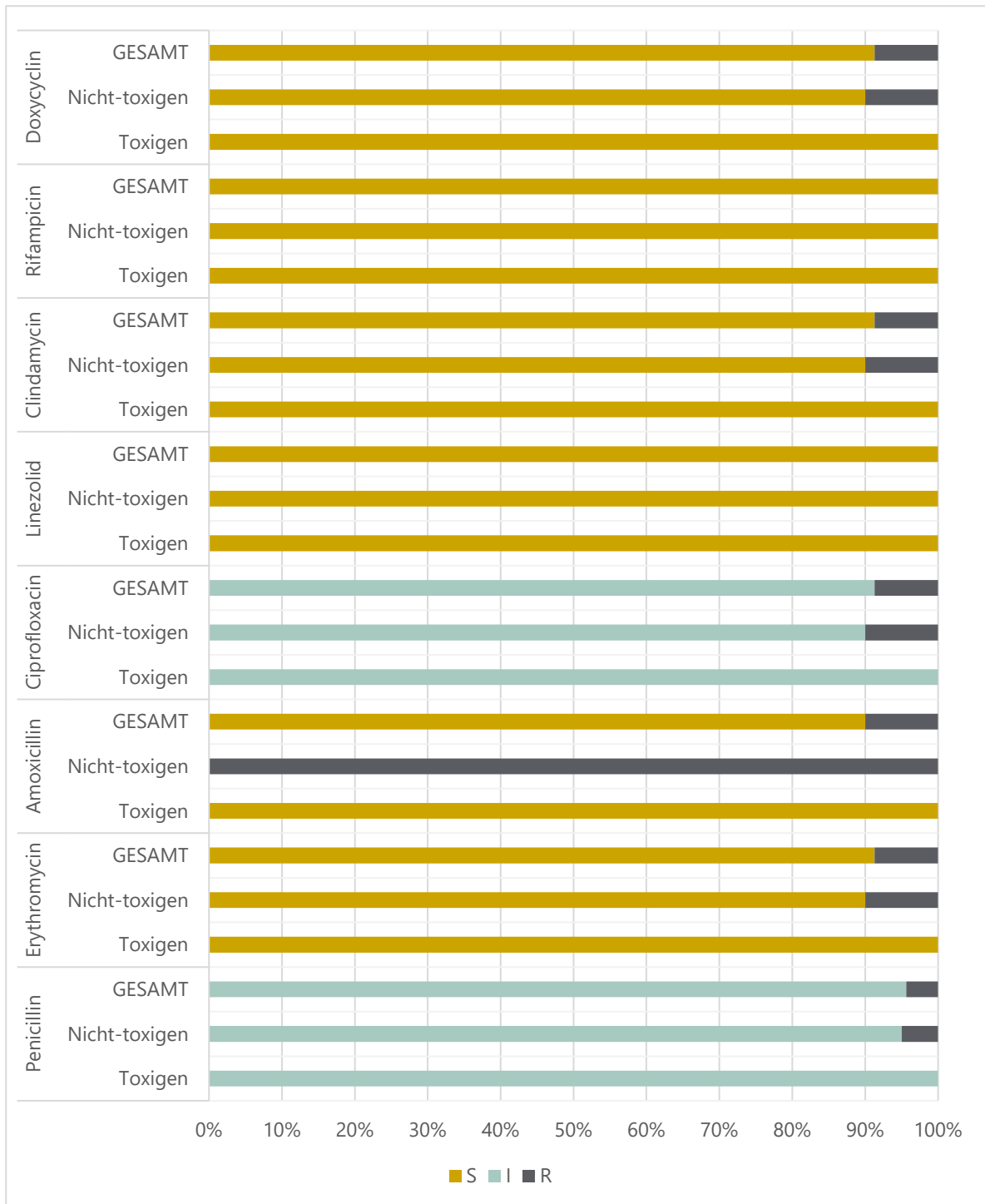


Abbildung 3: Grafische Darstellung der Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 22 *C. diphtheriae*-Isolaten aus dem Jahr 2023 – gesamt und aufgeteilt nach Toxingenen-Status; Interpretation gemäß klinischen Breakpoints des EUCAST Version 13.0. R = Resistent; I = sensibel bei erhöhter Exposition; S = sensibel in Standarddosierung (Gesamt: n = 22, toxigen: n = 3, nicht-toxigen: n = 19).

C. ulcerans

Bei den beiden *C. ulcerans*-Isolaten, welche in die Resistenzanalyse miteinbezogen wurden, handelte es sich um ein toxigenes und ein nicht-toxigenes Isolat. Es zeigte sich bei beiden Isolaten (100,0 %), wie für diese Spezies üblich, eine phänotypische Resistenz gegenüber Clindamycin. Gegenüber allen anderen getesteten Substanzen zeigte sich eine Sensibilität.

Diskussion

Situation in Österreich

Nach fast 20 Jahren ohne Diphtherie-Fälle wurden 2014 in Österreich wieder zwei Fälle von Hautdiphtherie registriert (4). In den folgenden Jahren traten vereinzelt weitere Fälle auf, meist nach Aufenthalten in Endemiegebieten. Auch die Gesamtzahl der Einsendungen an die Nationale Referenzzentrale für Diphtherie – Labor nahmen stetig zu. Seit 2018 ist zudem auch wieder eine kontinuierliche Zunahme von *C. diphtheriae*-Isolaten unter den eingesendeten Proben zu beobachten, jedoch blieben Toxin-bildende Stämme bis 2022 selten (vgl. Abbildung 2).

Im Mai 2022 trat erstmals seit 1993 wieder ein Fall von respiratorischer Diphtherie auf, der tödlich endete (5). Nach diesem ersten Fall einer respiratorischen Diphtherie wurden im Jahresverlauf 2022 weitere Diphtherie-Fälle in Österreich registriert: Insgesamt wurden 2022 in Österreich 62 Diphtherie-Fälle registriert, die meisten im vierten Quartal (6). Ein ähnlicher Anstieg wurde in anderen EU-/EWR-Ländern und im Vereinigten Königreich beobachtet (7), siehe unten.

Zur näheren Untersuchung und Eindämmung des Ausbruches in Europa analysierte ein europaweites Konsortium retrospektiv die genetische Verwandtschaft und der Antibiotika-Empfindlichkeitstestungen von 363 Isolaten Toxingen-tragender *C. diphtheriae*-Stämmen, welche 2022 in Europa in Zusammenhang mit Einrichtungen für Migrantinnen und Migranten detektiert wurden. Es zeigte sich ein gleichzeitiges Auftreten von drei unterschiedlichen Sequenztypen in mehreren Ländern mit stark verwandten Isolaten. Die enge genetische Verwandtschaft innerhalb der einzelnen Cluster unterstützt die Hypothese einer kürzlich stattgefundenen Infektion, höchstwahrscheinlich auf der Migrationsroute

und/oder innerhalb von Migrationseinrichtungen (8). Auch in Österreich gab es einen epidemiologischen Zusammenhang zu Migranteneinrichtungen.

Nachdem im vierten Quartal 2022 noch viele Diphtherie-Fälle in Österreich diagnostiziert wurden, traten im Januar 2023 nur noch zwei weitere Fälle durch *C. diphtheriae* auf, gefolgt von einem deutlichen Rückgang der Infektionszahlen. Im April wurde ein Fall von Diphtherie durch *C. ulcerans* und im Juli ein weiterer durch *C. diphtheriae* registriert, danach gab es keine weiteren Fälle mehr im Jahr 2023. Die drei toxigenen *C. diphtheriae* Isolate aus dem Jahr 2023 zeigen auf Basis der cgMLST Analyse eine enge genetische Verwandtschaft zu den Isolaten aus dem Jahr 2022 (Daten nicht abgebildet) und können demnach dem Ausbruch zugeordnet werden.

Im Jahr 2023 ist die Zahl der Fälle zwar deutlich zurückgegangen, im Vergleich zu den Jahren vor 2022 ist die Anzahl der Probeneinsendungen mit 128 jedoch sehr hoch (siehe Abbildung 1). Diese Tatsache ist sicherlich auf ein erhöhtes Bewusstsein unter den Kliniker:innen und in den Laboratorien für diese Erkrankung bzw. diese Erregergruppe zurückzuführen.

Situation in Europa

Im Jahr 2023 und bis zum 12. Februar 2024 wurden 170 Diphtherie-Fälle im EU-/EWR-Raum über TESSy gemeldet. Die Fälle traten in Deutschland (117), den Niederlanden (14), Belgien (12), Tschechien (7), Slowenien (4), Lettland (3), Norwegen (4), Schweden (3), Luxemburg (2), der Slowakei (2) und Spanien (2) auf. 130 dieser Fälle wurden durch *Corynebacterium diphtheriae* verursacht, die restlichen 40 durch *Corynebacterium ulcerans* (9). Verglichen dazu wurden 2022 im EU-/EWR-Raum insgesamt 359 Diphtherie-Fälle an das ECDC gemeldet, verursacht durch *Corynebacterium diphtheriae* (n = 318) und *Corynebacterium ulcerans* (n = 11) (10).

Insgesamt wurden im EU-/EWR-Raum im Jahr 2023 demnach weniger Diphtherie-Fälle gemeldet als im Vorjahr, was auf einen allgemeinen Rückgang der Fallzahlen hindeutet. In einigen Ländern, wie zum Beispiel Deutschland, wurde jedoch kein solch rascher Abfall der Fallzahlen beobachtet, wie er in Österreich zu sehen war. Die Gründe dafür sind unklar.

In den Jahren vor 2022 wurden zwischen 2017 und 2021 wurden durchschnittlich jährlich 55 Fälle gemeldet (Anon., kein Datum). Im Zeitraum 2016–2020 wurden im EU-/EWR-Raum und im Vereinigten Königreich insgesamt 260 Diphtherie-Fälle gemeldet, darunter

128 Fälle von *C. diphtheriae* und 131 Fälle von *C. ulcerans*. Es wurden sechs Todesfälle verzeichnet (Anon., kein Datum).

Es wurden zuletzt vor allem Fälle von Hautdiphtherie (11, 12), aber auch respiratorischer Diphtherie in Europa gemeldet: Im Jahr 2016 verlief in Belgien ein Fall von respiratorischer Diphtherie bei einem 3-jährigen nicht geimpften Kind tödlich (13). Im Jahr 2015 war ein tödlicher Fall von respiratorischer Diphtherie bei einem 6-jährigen nicht geimpften Kind in Spanien dokumentiert worden (14).

Nachdem eine retrospektive Analyse der zwischen 2000-2009 im europäischen Raum gemeldeten Daten eine kontinuierliche Abnahme der Inzidenz der Erkrankungsfälle durch Toxin-produzierende *C. diphtheriae*-Stämme und eine Zunahme der Fälle von Infektionen mit Toxin-bildenden Stämme von *C. ulcerans* ergab (15), hat die Anzahl der Fälle, die auf *C. diphtheriae* zurückzuführen sind im letzten Jahrzehnt – vor dem Jahr 2022 – wieder zugenommen (7, 16, 17). Es wird sich zeigen, wie sich diese Entwicklung in den kommenden Jahren fortsetzt.

Kontroll- und Präventionsmaßnahmen

Zur Eindämmung einer weiteren Verbreitung der Erkrankung spielen neben der Erhebung des Impfstatus von Risikogruppen und Impfangebote für diese vor allem personenbezogene Kontroll- und Präventionsmaßnahmen eine wichtige Rolle (7). Zu diesem Zweck wurde von Seiten des Bundesministeriums für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz im Jahr 2022 eine Standardverfahrensanleitung (SVA) für die Gesundheitsbehörden in Österreich erstellt (18).

In einer aktuellen Studie der Medizinischen Universität Wien wurde die Prävalenz der Seroprotektion gegen Diphtherie und Tetanus retrospektiv bei 10.247 Österreicher:innen erhoben. Es fand sich eine Gesamtprävalenz der Seroprotektion gegen Diphtherie von nur 63,96 % (95 %-KI: 62,82–65,09) und gegen Tetanus von 95,99 % (95 %-KI: 95,43–96,48). Auf die Notwendigkeit der Sensibilisierung für regelmäßige Auffrischungsimpfungen als Kombination gegen Diphtherie, Tetanus und Keuchhusten wurde hingewiesen (19).

Therapeutische Herausforderungen und Aspekte

Zur Behandlung von Diphtherie kommt gemäß Leitlinien Diphtherie-Antitoxin (DAT) in bestimmten Fällen zum Einsatz (20). In Österreich fungiert die 4. Medizinische Abteilung mit Infektions- und Tropenmedizin der Klinik Favoriten als Nationale Auskunftsstelle zum Diphtherie-Antitoxin und bevorratet dieses für Notfälle. Dadurch ist sichergestellt, dass DAT in Österreich stets zur Verfügung steht.

Neben dem DAT ist die antibiotische Therapie eine wichtige Säule der Therapie (20). Die Nationale Referenzzentrale für Diphtherie – Labor überwacht daher die Resistenzdaten. Im Jahr 2022 galt besonderes Augenmerk auf die Resistenzentwicklung aller Toxin-produzierenden *C. diphtheriae*-Stämme gegenüber First-Line-Antibiotika aus der Gruppe der Penicilline und Makrolide. Es konnten keine Resistenzen gegenüber Penicillin und Amoxicillin gefunden werden, jedoch waren 8,5 % der Isolate resistent gegenüber Erythromycin (für Azithromycin und Clarithromycin existieren keine klinischen Grenzwerte gemäß EUCAST). Im Jahr 2023 konnten unter den Toxin-produzierenden *C. diphtheriae*-Stämme keine gegenüber Penicillinen und/oder Makroliden resistenten Isolate detektiert werden (siehe auch Abbildung 3 und

Tabelle 1).

Diese Resistenzraten müssen weiter im Auge behalten werden, insbesondere in Hinblick auf die Auswahl der empirischen Therapie bei Verdacht auf Diphtherie. Bei der Antibiotikaauswahl der Postexpositionsprophylaxe von Kontaktpersonen soll jedenfalls das Antibiogramm des Indexfalles berücksichtigt werden.

Diagnostische Herausforderungen und Aspekte

Während die klassische Form der respiratorischen Diphtherie mit dem Auftreten von spezifischen Symptomen (Erkrankung der oberen Atemwege mit (Pseudo-)Membranen, Lymphadenopathie usw.) einhergeht, ist eine Hautdiphtherie klinisch kaum von anderen Pyodermien bzw. superinfizierten/chronischen Wunden und Verletzungen zu unterscheiden (20), weshalb hier der Verdacht auf Basis von epidemiologischen Informationen durch eine genaue Anamnese gestellt werden muss. Besonderes Augenmerk soll hier auf Personen (Migrant:innen und Reiserückkehrer:innen) aus Endemiegebieten gelegt werden. Die Hautdiphtherie tritt zudem häufig als Ko-Infektion mit *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pyogenes* und gemeinsam mit Skabies auf.

In den meisten mikrobiologischen Laboratorien im EU-/EWR-Raum werden Nasen-/Rachenabstriche in der täglichen Routine im Regelfall nicht mehr mittels Selektiv- oder Indikator Nährmedien (z. B. Hoyle Agar) auf potenziell Toxin-produzierende Corynebakterien untersucht. Lediglich auf spezielle Anforderung hin wird gezielt nach diesen gesucht. Aus diesem Grund ist es unerlässlich, dass das durchführende mikrobiologische Labor bei klinischem Verdacht auf Diphtherie vorab informiert wird.

Bei Identifikation potenziell Toxin-produzierender Corynebakterien ist es unerlässlich einen Toxingen-Nachweis mittels PCR durchzuführen. Diese Untersuchung wird von Seiten der Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor kostenlos angeboten. Während Toxingen-Nachweis mittels PCR und MALDI-TOF-Massenspektrometrie zum Erregernachweis an der Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor bereits seit den Jahren 2011/2012 routinemäßig zum Einsatz kommen, wurden Toxingen-positive Isolate zur Testung der Toxinproduktion mittels Elek-Immunpräzipitationstest bisher an das WHO Collaborating Centre for Diphtheria and Streptococcal Infections (UK Health Security Agency, London) weitergeleitet. Im Zuge des hohen Probenaufkommens im Jahr 2022 entschied man sich schließlich dazu, die Diagnostik der Toxinproduktion mittels Elek-Immunpräzipitationstest an der Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor zu

implementieren und das Verfahren konnte im Herbst 2022 in die Routinediagnostik aufgenommen werden. Es besteht weiterhin eine enge Kooperation mit dem WHO Collaborating Centre for Diphtheria.

An allen bisherigen externen Qualitätssicherungstests zur Diphtherie-Diagnostik, welche von UK NEQAS organisiert werden, hat die Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor erfolgreich teilgenommen.

Von Seiten der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2021 eine neue überarbeitete Version des WHO-Laborhandbuchs für die Diagnose von Diphtherie und anderen verwandten Infektionen herausgegeben (21). In diesem werden Methoden zu Anzucht und Identifizierung, Toxin-Nachweis, Resistenztestung und molekularbiologischer Typisierung sowie serologische Testungen und Qualitätsmanagement behandelt und es dient als Leitlinie für mikrobiologische Laboratorien.

Erregerspektrum der Diphtherie

Zu den potenziell Toxin-produzierenden Corynebakterien gelten *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans* und *Corynebacterium pseudotuberculosis*, da sie in der Lage sind, Diphtherie-Toxin zu produzieren (21).

In den letzten Jahren haben Forschungen bedeutende Fortschritte in der Phylogenie und der damit verbundenen Taxonomie von Corynebakterien erzielt. So zeigen neuere phylogenetische Analysen, dass *Corynebacterium diphtheriae* biovar Belfanti einen klar abgegrenzten Zweig bildet, der sich deutlich von den Stämmen der Biovare Mitis und Gravis unterscheidet. Aufgrund dieser Erkenntnisse schlagen Wissenschaftler:innen vor, die bisher als *C. diphtheriae* biovar Belfanti bekannten Stämme in *Corynebacterium belfantii* sp. nov. umzubenennen (22).

Ähnliche Entdeckungen wurden auch bei *C. ulcerans* gemacht: In Deutschland wurden 34 *Corynebacterium*-Stämme aus Lymphknotenabszessen von Wildschweinen und Rehen isoliert und analysiert. Genomsequenzierungen und biochemische Untersuchungen zeigten, dass diese Stämme eine neue Art repräsentieren, die als *Corynebacterium silvaticum* sp. nov. vorgeschlagen wird (23).

Während *C. diphtheriae* ausschließlich von Mensch zu Mensch übertragen wird, ist bei *C. ulcerans* auch ein tierisches Reservoir möglich. Im Jahr 2011 ist das erste Mal eine

molekularbiologische Bestätigung einer erfolgten Übertragung von einem Toxin-produzierenden *C. ulcerans* vom Haustier auf den Menschen gelungen (24). Im Jahr 2014 wurde in Frankreich ein tödlicher Fall von Wunddiphtherie verursacht von *C. ulcerans* bei einer achtzigjährigen Patientin mit unklarem Impfstatus registriert. Auch in diesem Fall konnte die Übertragung von einem Tier auf den Menschen nachgewiesen werden (25).

Neben den Toxin-bildenden Corynebakterien, den Erregern der Diphtherie, werden seit den späten 1990er Jahren in mehreren Ländern auch nicht-Toxin-produzierende Stämme von *C. diphtheriae* zunehmend als Ursache für schwere invasive Erkrankungen, wie Endokarditis, Fremdkörperinfektion, Gelenkinfektion und Bakteriämie, beschrieben. Alkoholismus, Obdachlosigkeit, intravenöser Drogenkonsum oder Zahnkaries gelten hier als Risikofaktoren (26).

Ansprechperson

Dr.ⁱⁿ Stefanie Schindler

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES)

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene Wien

Währingerstraße 25a

A-1090 Wien

Telefon: 050555-37111

E-Mail: humanmed.wien@ages.at

Danksagung

Wir danken allen unseren Einsenderinnen und Einsendern. Zudem möchten wir uns bei allen Kolleginnen und Kollegen der 4. Medizinischen Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der Klinik Favoriten sowie bei allen beteiligten Gesundheitsbehörden und dem Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung der Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 22 *C. diphtheriae*-Isolaten aus dem Jahr 2023 – gesamt und aufgeteilt nach Toxingen-Status; Interpretation gemäß klinischen Breakpoints des EUCAST Version 13.0; R = Resistent, I = sensibel bei erhöhter Exposition, S = sensibel in Standarddosierung..... 10

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Gesamtanzahl der Proben, die in den Jahren 2010-2023 jeweils an die Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor eingesandt wurden. 7
- Abbildung 2: Anzahl der Proben, die in den Jahren 2010-2023 an die Nationalen Referenzzentrale für Diphtherie – Labor eingesandt wurden, in denen *C. diphtheriae* und *C. ulcerans* nachgewiesen wurde. Jeweils aufgeschlüsselt nach Gesamtanzahl und Nachweis von toxischen (Toxin-produzierenden) Isolate. 8
- Abbildung 3: Grafische Darstellung der Ergebnisse der in vitro Empfindlichkeitstestung von 22 *C. diphtheriae*-Isolaten aus dem Jahr 2023 – gesamt und aufgeteilt nach Toxingen-Status; Interpretation gemäß klinischen Breakpoints des EUCAST Version 13.0. R = Resistent; I = sensibel bei erhöhter Exposition; S = sensibel in Standarddosierung (Gesamt: n = 22, toxischen: n = 3, nicht-toxischen: n = 19). 11

Literaturverzeichnis

1. Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK) (Hg.); Impfplan Österreich 2023/2024, Version 2.0 vom 14. Mai 2024. .
2. Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK) (Hg.); Jahresbericht meldepflichtiger Krankheiten 2023, vom 15. April 2024. .
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 13.0, 2023.
4. Huhulescu S, Hirk S, Zeinzinger V, Hasenberger P, Skvara H, Mullegger R, et al. Letter to the editor: cutaneous diphtheria in a migrant from an endemic country in east Africa, Austria May 2014. *Euro Surveill.* 2014;19(26).
5. Traugott MT, Pleininger S, Inschlag-Tisch S, Eder B, Seitz T, Merrelaar A, et al. A case of fulminant respiratory diphtheria in a 24-year-old Afghan refugee in Austria in May 2022: a case report. *Infection.* 2023;51(2):489-95.
6. Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK) (Hg.); Jahresbericht meldepflichtiger Krankheiten 2022, vom 06. Oktober 2023.
7. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control. Increase of reported diphtheria cases due to *Corynebacterium diphtheriae* among migrants in Europe – 6 October 2022. ECDC: 2022.
8. Hoefler A, Seth-Smith H, Palma F, Schindler S, Freschi L, Dangel A, et al. Phenotypic and genomic analysis of a large-scale *Corynebacterium diphtheriae* outbreak among migrant populations in Europe. *medRxiv.* 2023:2023.11.10.23297228.
9. Weekly Communicable Disease Threats Report, Week 7, 11–17 February 2024, European Centre for Disease Prevention and Control, Solna, Sweden.
10. European Centre for Disease Prevention and Control. Diphtheria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2022. Stockholm: ECDC; 2024.
11. Levi LI, Barbut F, Chopin D, Rondeau P, Lalande V, Jolivet S, et al. Cutaneous diphtheria: three case-reports to discuss determinants of re-emergence in resource-rich settings. *Emerg Microbes Infect.* 2021;10(1):2300-2.
12. Alberto C, Osdoit S, Villani AP, Bellec L, Belmonte O, Schrenzel J, et al. Cutaneous ulcers revealing diphtheria: A re-emerging disease imported from Indian Ocean countries? *Ann Dermatol Venereol.* 2021;148(1):34-9.
13. European Centre for Disease Prevention and Control. A fatal case of diphtheria in Belgium, 24 March 2016. Stockholm: ECDC, 2016.

14. European Centre for Disease Prevention and Control. A case of diphtheria in Spain, 15 June 2015. Stockholm: ECDC, 2015.
15. Wagner KS, White JM, Lucenko I, Mercer D, Crowcroft NS, Neal S, et al. Diphtheria in the postepidemic period, Europe, 2000-2009. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(2):217-25.
16. European Centre for Disease Prevention and Control. Diphtheria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; 2021.
17. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological update: Diphtheria cases in Europe – 18 Aug 2023. ECDC: 2023.
18. Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK); Diphtherie: Personenbezogene Kontroll- und Präventionsmaßnahmen, Eine Standardverfahrensanleitung (SVA) für die Gesundheitsbehörden in Österreich, Version 2.0, Februar 2023.
19. Wagner A, Jasinska J, Schmid D, Kundi M, Wiedermann U. Lack of seroprotection against diphtheria in the Austrian population, in light of reported diphtheria cases in Europe, 2022. *Euro Surveill.* 2023;28(17).
20. Luis F Barroso, MD, P Samuel Pegram, MD, FACP. Clinical manifestations, diagnosis, and treatment of diphtheria. In: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (letzter Zugriff: 01.09.2024).
21. WHO laboratory manual for the diagnosis of diphtheria and other related infections. World Health Organization, 2021.
22. Dzas M, Badell E, Carmi-Leroy A, Criscuolo A, Brisse S. Taxonomic status of *Corynebacterium diphtheriae* biovar Belfanti and proposal of *Corynebacterium belfantii* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2018;68(12):3826-31.
23. Dangel A, Berger A, Rau J, Eisenberg T, Kämpfer P, Margos G, et al. *Corynebacterium silvaticum* sp. nov., a unique group of NTTB corynebacteria in wild boar and roe deer. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2020;70(6):3614-24.
24. Epidemiologisches Bulletin 27/2011. Diphtherie: Erkrankung durch toxigene *Corynebacterium ulcerans* nach Katzenkontakt – Fallbericht Epidemiologisches Bulletin 27/2011. .
25. Vandentorren S, Guiso N, Badell E, Boisrenoult P, Micaelo M, Troché G, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in a fatal human case and her feline contacts, France, March 2014. *Euro Surveill.* 2014;19(38).
26. Zakikhany K, Neal S, Efstratiou A. Emergence and molecular characterisation of non-toxigenic tox gene-bearing *Corynebacterium diphtheriae* biovar mitis in the United Kingdom, 2003-2012. *Euro Surveill.* 2014;19(22).



GESUNDHEIT FÜR MENSCH, TIER & PFLANZE

www.ages.at

Eigentümer, Verleger und Herausgeber: AGES – Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191 | 1220 Wien | FN 223056z © AGES, Oktober 2024