

Aktuelle Diagnostik von Verotoxin bildenden *Escherichia coli*

Unter allen Typen Durchfall erzeugender *E. coli* nehmen die Verotoxin bildenden Stämme (VTEC, syn. STEC, EHEC) eine Sonderstellung ein. Je nach Autor werden sie unterschiedlich bezeichnet; neben VTEC werden auch die Begriffe STEC (Shigatoxin bildende *E. coli*) und EHEC (enterohämorrhagische *E. coli*) verwendet. Die klinische und epidemiologische Bedeutung der VTEC basiert auf der Tatsache, dass die Stämme über Lebensmittel tierischer Herkunft in die Nahrung gelangen und die daraus resultierenden Infektionen zum Teil schwere Komplikationen (hämorrhagische Colitis, hämolytisch-urämisches Syndrom) hervorrufen können. Weil Antibiotika den Verlauf der Infektion ungünstig beeinflussen können, ist eine frühzeitige mikrobiologische Diagnose unerlässlich. Der in verschiedenen Ländern besonders verbreitete Serotyp von VTEC, *E. coli* O157:H7, ist in der Schweiz relativ selten. Der systematische Nachweis von VTEC im mikrobiologischen Labor bedingt daher die Anwendung von speziellen Verfahren (Toxin-ELISA oder PCR).

TYPEN DURCHFALL ERZEUGENDER *E. COLI*

Die relevanten Merkmale der aktuell bekannten Gruppen Durchfall erzeugender *E. coli* sind in der Tabelle zusammengefasst. Bemerkenswert ist, dass der Mensch das Reservoir für die meisten Typen dieser *E. coli* ist. Diese Adaptation der *E. coli* an den menschlichen Wirt führt dazu, dass die Übertragung von Infektionen mit diesen Keimen immer von Mensch zu Mensch erfolgt, sei es direkt als Schmutz-Schmierinfektion oder indirekt über kontaminierte Lebensmittel und Wasser. Daraus folgt auch, dass Infektionen mit ETEC, EIEC, EPEC und EAEC (Tabelle) in der Regel auf Reisen in Ländern mit mangelhafter Hygiene erworben werden.

Im Gegensatz dazu haben Verotoxin bildende *E. coli* (VTEC) ein breites Wirtsspektrum, und ihr Reservoir umfasst vor allem asymptomatisch kolonisierte Tiere (Rinder, Schafe). Die Übertragung auf den Menschen erfolgt hauptsächlich über Lebensmittel. Wegen der geringen Infektionsdosis sind aller-

dings auch Schmutz-Schmierinfektionen und Infektionen durch Trink- und Badewasser möglich.

Wegen ihrer besonderen klinischen und epidemiologischen Bedeutung beschränkt sich der vorliegende Artikel im Folgenden auf Erkrankungen, welche durch VTEC verursacht werden.

VIRULENZFAKTOREN VON VTEC

Der Hauptvirulenzfaktor und gemeinsames Merkmal aller VTEC ist die Fähigkeit, eine Gruppe von potenten Zytotoxinen herzustellen, welche als Verotoxine bezeichnet werden, weil ihr Nachweis zuerst an der Vero-Zelllinie (Affennierenzellen) gelang. Das Verotoxin 1 (VT₁) ist mit dem Shigatoxin von *Shigella dysenteriae* Typ 1 fast identisch, so dass in der Literatur neben VTEC auch der Begriff Shigatoxin produzierende *E. coli* (STEC) gebräuchlich ist. Unter der Bezeichnung Verotoxin 2 (VT₂, synonym Shigatoxin 2) wird eine ganze Gruppe von Toxinen mit einer ähnlichen Wirkung zusammengefasst, welche sich je-

doch immunologisch vom VT₁ unterscheiden lassen. Diese Toxine werden von Bakteriophagen (Bakterienviren) codiert. Durch Befall mit einem toxincodierenden Phagen könnte im Prinzip jeder Stamm von *E. coli* in einen VTEC umgewandelt werden. Die Weltgesundheitsorganisation nannte schon vor Jahren eine Liste von weit über 100 Serotypen von VTEC, welche im Zusammenhang mit Erkrankungen beim Menschen beobachtet worden sind.

Ein Teil der VTEC besitzen neben der Fähigkeit zur Verotoxinbildung noch weitere Virulenzfaktoren. Eine so genannte Pathogenitätsinsel mit einer Gruppe von etwa 50 chromosomalen Genen ist verantwortlich für die starke Adhäsion der VTEC an Darmepithelzellen und die Zerstörung des Microvillus-Saumes. Diese Gengruppe wird als «locus of enterocyte effacement» oder LEE-Lokus bezeichnet und kommt in ähnlicher Form auch bei EPEC vor. Weiterhin besitzen einige VTEC auch ein grosses Virulenzplasmid mit etwa hundert Genen, deren Funktion im Krankheitsgeschehen noch nicht im Detail geklärt ist. Infektionen mit VTEC, welche diese zusätzlichen Virulenzgene aufweisen, scheinen beim Menschen besonders häufig schwere Krankheitsverläufe auszulösen. Der Prototyp dieser besonders virulenten VTEC gehört zur *E. coli*-Serogruppe O157. Das Krankheitsbild der hämorrhagischen Colitis wurde 1982 anlässlich einer Gruppenerkrankung mit *E. coli* O157:H7 erstmals in den USA beschrieben [1]. Besonders virulente Stämme von VTEC, welche eine hämorrhagische Colitis auslösen können, werden daher auch als EHEC («enterohämorrhagische *E. coli*») bezeichnet.

EPIDEMIOLOGIE

Seit dem 1. März 1999 besteht eine Meldepflicht der Laboratorien für nachgewiesene VTEC-Infektionen. In den Jahren zuvor hat das Nationale Zentrum für Enteropathogene Bakterien anhand mehrerer Querschnittstudien in Zusammenarbeit mit verschiedenen Laboratorien die epidemiologische Situation regelmässig untersucht. Das Monitoring

der Infektionslage basierte dabei auf der Erregerisolierung aus Proben verschiedener Patientengruppen. Die aktuelle epidemiologische Lage wird zudem anhand der in spezialisierten Kliniken behandelten pädiatrischen Fälle von HUS (das SPSU-Programm, Swiss Pediatric Surveillance Unit) überwacht. Die Zahlen des Nationalen Zentrums sind die einzigen Daten über die Verteilung der Serogruppen von VTEC beim Menschen in der Schweiz. Unter Berücksichtigung der Stichprobenzahlen ist der Anteil an VTEC der besonders gefährlichen Serogruppe O157 in diesem Zeitraum konstant geblieben (Abbildung). Die absolute Zahl gefundener VTEC ist kein Mass für die Häufigkeit der Erreger in der Bevölkerung, da sie stark von der Anzahl durchgeführter Untersuchungen abhängig ist. Hingegen ist der relative Anteil der Serogruppe O157 an der Gesamtzahl der VTEC-Isolate eine robuste Schätzung. Die gegenwärtig sehr günstige Lage ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass VTEC der Serogruppe O157 in der Nutztierpopulation der Schweiz selten sind. Während in Nordamerika und England Rindvieh der Hauptwirt für diesen Erreger ist, wurden VTEC der Serogruppe O157 bisher in der Schweiz im Rinderkot in mehreren ausgedehnten Studien nicht gefunden [2,3].

KRANKHEITSBILDER UND THERAPIE

Eine Infektion mit VTEC erfordert vermutlich nur eine geringfügige Infektionsdosis. Schätzungen liegen im Bereich von ca. 100 Keimen. Nach einer Inkubationszeit von 3 bis 4 Tagen treten Durchfälle und ausgeprägte Bauchkrämpfe auf. Fieber wird nur ausnahmsweise beobachtet. Die Durchfälle können nach einigen Tagen sichtbar blutig werden. Etwa 10% der Patienten in den Hauptrisiko-Gruppen entwickeln etwa eine Woche nach Einsetzen der Durchfälle ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS). Betroffen sind insbesondere Kleinkinder und Senioren [4]. Ein prognostisch ungünstiges Zeichen ist eine Leukozytose während der diarrhoischen Phase der Erkrankung. Das HUS ist gekennzeichnet durch eine akute hämolytische Anämie und akutes Nierenversagen. Die Pathogenese des HUS beruht auf der Wirkung von Verotoxinen auf die Zellen des Kapillarendothels und der Nieren; Infektionen mit VT₂ produzierenden VTEC führen offenbar besonders häufig zu dieser Komplikation. Die Letalität des HUS liegt je nach Patientenkollektiv bei 5 bis 10%. Zudem wird damit gerechnet, dass in bis zu 20% der HUS-Fälle bei Kindern eine mehr oder weniger ausgeprägte Niereninsuffizienz zurückbleibt [5]. Die Therapie des HUS ist rein symptomatisch und sollte in spezialisierten Kliniken erfolgen; Antibiotika sind wirkungslos, da

das Verotoxin zum Zeitpunkt der Erkrankung bereits an Zellen gebunden ist [6].

Die Therapie der durch VTEC verursachten Durchfälle ist ebenfalls symptomatisch. Motilitätshemmer sind kontraindiziert, da sie das Risiko der Entwicklung eines HUS erhöhen. Ausserdem weisen bis zu 20% der aktuellen VTEC-Stämme Resistenzen gegen gebräuchliche Antibiotika (z. B. Ampicillin und die Sulfamethoxazol-Trimethoprim-Kombination) auf. Die neuesten Daten scheinen zudem darauf hinzuweisen, dass jegliche Gabe von Antibiotika – selbst wenn der Erreger in vitro empfindlich ist – das HUS-Risiko ungünstig beeinflussen kann [7]. Als mögliche Erklärung dieser Beobachtung wird vermutet, dass Antibiotika die Freisetzung von Verotoxin durch die Erreger begünstigen können.

Die Freisetzung und Aufnahme der Toxine, welche zu den postdiarrhoischen Komplikationen führen, findet während der Durchfallerkrankung statt. Eine Prävention des HUS durch Verabreichung von Substanzen, welche Verotoxine im Darm binden, oder monoklonale, toxinbindende Antikörper sind gegenwärtig noch in Erprobung.

LABORDIAGNOSE

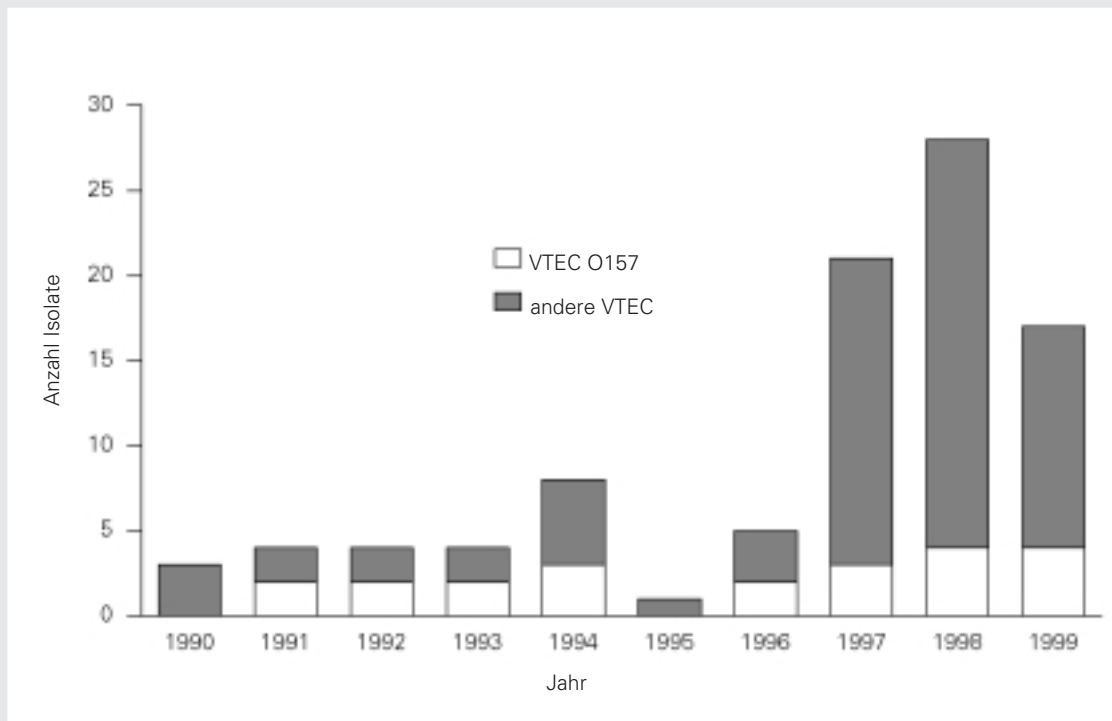
Wegen der klinischen und epidemiologischen Bedeutung der VTEC ist eine Labordiagnose erstrebenswert. VTEC sind biochemisch, sero-

Tabelle

Merkmale der gegenwärtig bekannten Gruppen Durchfall erzeugender *E. coli*

| Bezeichnung | Synonyme | Virulenzmechanismen | Krankheitsbild | Reservoir |
|-------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| ETEC | Enterotoxin bildende <i>E. coli</i> | hitzelabiles (LT) und hitzestabiles (ST) Enterotoxin | sekretorische Diarrhoe, «Turista» | Mensch |
| EIEC | enteroinvasive <i>E. coli</i> | Invasion in die Epithelzellen der Colonmucosa | Dysenterie | Mensch |
| EPEC | enteropathogene <i>E. coli</i> | säuglingspathogene <i>E. coli</i> | Adhärenz an Enterozyten und Zerstörung der Mirovilli | Mensch |
| EAEC | enteroaggregative <i>E. coli</i> | EAggEC | ? | Mensch? |
| VTEC | Verotoxin bildende <i>E. coli</i> | STEC, SLTEC, EHEC | Bildung von Verotoxin (teilweise auch andere Virulenzfaktoren, siehe Text) | Diarrhoe, z. T. hämorrhagische Colitis (HC) oder hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) Tier |

Häufigkeit der VTEC-Typen in klinischem Untersuchungsmaterial des Menschen, Schweiz 1990–1999



logisch und bezüglich ihrer Virulenzeigenschaften sehr uneinheitlich. Der Nachweis im Labor basiert daher auf ihrem einzigen gemeinsamen Merkmal: der Fähigkeit, Verotoxin zu produzieren. Es stehen heute zwei etwa ebenbürtige Methoden zur Auswahl: der immunologische Nachweis der Verotoxine aus klinischen Proben und Kulturen mittels ELISA oder der Nachweis der Verotoxin-Gene mittels PCR. Obwohl es technisch möglich ist, VTEC der Serogruppe O157 gezielt nachzuweisen (z. B. Sorbitol McConkey Agar), lohnt sich wegen der geringen Prävalenz dieses Erregers in der Schweiz die spezifische Suche nach dieser Serogruppe nicht.

Verschiedene Verotoxin-ELISA-Kits sind kommerziell erhältlich; ein wesentlicher Vorteil ist, dass die Technologie zur Durchführung dieses Tests in jedem Labor zur Verfügung steht. Die Durchführung einer PCR hingegen erfordert besondere Laboreinrichtungen und speziell geschultes Personal. Trotzdem gibt es

in der Schweiz eine Reihe von Laboratorien, welche PCR-Tests für den VTEC-Nachweis anbieten.

Der ELISA-Test hat den Vorteil, dass Verotoxin unter Umständen auch ohne vorangegangene Kultur direkt im klinischen Material nachgewiesen werden kann. Bezüglich des Nachweises von Verotoxin respektive VTEC aus Kulturen sind ELISA und PCR wahrscheinlich etwa ebenbürtig, auch wenn bisher nur wenige Vergleichsstudien publiziert worden sind [8]. Allerdings verwenden die meisten Laboratorien eine «hauseigene» PCR für den VTEC-Nachweis, was Quervergleiche erschwert. Wir gehen davon aus, dass die Sensitivität dieser Tests für den VTEC-Nachweis in akuten Erkrankungsfällen bei etwa 95% und die Spezifität bei 98 bis 99% liegt [eigene Daten, unpubliziert].

Diese Werte sind auch bei der Indikationsstellung für den VTEC-Nachweis zu berücksichtigen. Etwa 2% diarrhoischer Stuhlproben von Kindern bis zum Alter von sechs

Jahren sind in der Schweiz VTEC-positiv. Nicht-Antibiotika-assoziierte Fälle von Diarrhoe bei Senioren sind ebenfalls eine Indikation für die Suche nach VTEC, weil in dieser Altersgruppe das Risiko eines HUS relativ hoch ist [5]. Blutige Stühle, welche kulturell negativ für die üblichen Durchfallerreger sind, sind in jeder Altersgruppe eine Indikation für die Suche nach VTEC. Ebenso kann es in Fällen von unklaren Gruptenerkrankungen sinnvoll sein, nach VTEC zu suchen. Hingegen ist es im Allgemeinen nicht angezeigt, in Fällen banaler Diarrhoe bei Adulten VTEC nachzuweisen. Bei einer Sensitivität von 95%, einer Spezifität von 98% und einer VTEC-Prävalenz von 0,5% (oder weniger) liegt die positive Voraussagekraft eines Resultates in diesem Kollektiv bei höchstens 20% – das heisst, dass trotz technisch einwandfreier Durchführung nur jeder fünfte positive Test echt positiv ist.

Aus diesem Grund und im Hinblick auf eine sinnvolle Überwa-

chung der epidemiologischen Lage ist eine Bestätigung positiver VTEC-Nachweise durch eine Erregerisolierung aus den Proben anzustreben. Das Nationale Zentrum kann auf Anfrage diese Untersuchung kostenlos durchführen. Die Virulenzeigenschaften der dabei gefundenen Erreger werden mittels Hybridisierung bestimmt. Die Serotypisierung der VTEC-Isolate geschieht in Zusammenarbeit mit internationalen Referenzlaboratorien. ■

Institut für Veterinär bakteriologie
der Universität Bern
Nationales Zentrum für
enteropathogene Bakterien
A. P. Burnens
3012 Bern

Weitere Informationen

Bundesamt für Gesundheit
Abteilung Epidemiologie und
Infektionskrankheiten
Sektion Bakterielle und parasitäre
Krankheiten

Literatur

1. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983;308:681–5.
2. Busato A, Lentze T, Hofer D, Burnens A, Hentrich B, Gaillard C. A case control study of potential enteric pathogens for calves raised in cow-calf herds. *J. Vet. Med. B* 1998; 45: 519-528.
3. Steiner L, Busato A, Burnens A, Gaillard C. Frequency and etiology of calf losses and calf diseases before weaning in cow-calf farms .2. Microbiological and parasitological diagnoses in diarrhoeic calves. *DTW Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1997; 104:169–173.
4. Su C, Brandt LJ. *Escherichia coli* O157:H7 infection in humans. *Ann. Intern. Med.* 1995; 123: 698–714.
5. Griffin PM, Ostroff SM, Tauxe RV, Greene KD, Wells JG, Lewis JH, Blake PA. Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. *Ann. Intern. Med.* 1988; 109: 705-712.
6. Meyers KEC, Schulman SL, Kaplan BS. Principles of the treatment of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: pay meticulous attention to detail, and do no harm. Ch. 35, pp. 364–373. In: Kaper JB and O'Brien AD, Eds. *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. ASM Press, Washington DC, 1998.
7. Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med* 2000; 342: 1930–1936.
8. Kehl KS, Havens P, Behnke CE, Acheson DWK. Evaluation of the

premier EHEC assay for detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2051–2054.