



Die EHEC-O104:H4-Epidemie

Ein Keim macht Karriere

**Durch spektakuläre Todesfälle brachte es ein Winzling zu Welt-
ruhm. Nun ist die größte Aufregung um EHEC vorbei, doch der
Keim bleibt weiterhin eine große medizinische Herausforderung.**

**BIORON Diagnostics
works for you:**

Multiplex EHEC Kit

**Multiplex - PCR zur Identifizierung
von enterohämorrhagischen E.coli
(EHEC), HUS & enteropathogenen
E.coli (EPEC)**

- **Eindeutiger Nachweis der
Verotoxinkodierenden Gene
sowie von Intimin & Haemolysin**
- **Aus Reinkultur oder
Anreicherungsbouillon möglich**
- **Auch direkt aus Primärmaterial
(Stuhl / Tupfer)**
- **Einfache Testdurchführung**
- **Individuelle Test-
zusammenstellung**
- **Zuverlässig, sicher & schnell**

**BIORON Diagnostics GmbH
Germany**

In jedem Gramm Stuhl befinden sich Millionen von Enterobakterien. Sie erfüllen wichtige Aufgaben, da sie Nährstoffe spalten und für die Abwehr von Krankheitserregern sorgen. Prominentester Vertreter ist Escherichia coli, kurz E. coli, ein natürlicher Darmbewohner und zugleich Indikator für fäkale Verunreinigungen, beispielsweise im Trinkwasser.

Enterohämorrhagische E. coli (EHEC) sind eine Sonderform dieser Bakterienart. Sie produzieren im Gegensatz zu „normalen“ Kolibakterien Giftstoffe, die beim Menschen blutige Durchfälle sowie Blutzerfall und Nierenschäden (das sogenannte hämolytisch-urämische Syndrom – HUS) auslösen können. Ihr natürliches Reservoir sind vor allem Rinder und andere Wiederkäuer. Die Tiere tragen die Einzeller im Darm, ohne daran zu erkranken. In den menschlichen Körper gelangen die Keime hauptsächlich über Lebensmittel. Im Falle der aktuellen Infektionswelle mit einem EHEC-Keim des Serotyps O104:H4 (auch HUSEC041 genannt) wurden Sprossen als Krankheitsüberträger ausgemacht.

Schon im Jahr 1996 waren sie die Hauptverdächtigen bei einer EHEC-Epidemie in Japan. 10.000 Menschen, vor allem Schulkinder, erkrankten seinerzeit nach dem Verzehr von Rettichsprossen. Diese konnten damals nur durch Indizien als Ursache für den Krankheitsausbruch identifiziert werden, da sie kurze Zeit später verzehrt waren. Im neuerlichen EHEC-Fall in Deutschland gelang es gerade

noch rechtzeitig, HUSEC041 auf Sprossen eines niedersächsischen Herstellers eindeutig festzustellen – nicht zuletzt dank verbesserter Nachweisverfahren wie der Hochdurchsatz-Gensequenzierung.

Der Mensch als Infektionsquelle

HUSEC041 wurde bereits vor zehn Jahren in die Referenzsammlung des Hygiene-Instituts des Universitätsklinikums Münster aufgenommen und trat interessanterweise bisher nur beim Menschen auf. Die Stämme von 2001 und 2011 sind zwar genetisch nicht absolut identisch, zeigen aber das gleiche Anheftungsmuster an Darmzellen. Von einer Neuentwicklung zu sprechen, wäre also nicht angemessen, meint auch Prof. Helge Karch, Leiter des Hygiene-Instituts in Münster in einer Pressemeldung vom 10. Juni 2011. Er vermutet, dass die Mikrobe durch horizontalen Gentransfer zwischen zwei verschiedenen E. coli-Stämmen in den Tiefen des menschlichen Darmtraktes entstanden sein könnte. Dabei muss ein Stamm das Gen für das gefährliche Shiga Toxin 2, ein anderer die Fähigkeit zum Anhaften an allen möglichen Oberflächen übertragen haben.

Diese Kombination von Eigenschaften ist möglicherweise der Grund, warum der Keim so aggressiv ist – so die Vermutung der Wissenschaftler. Sollte sie sich bestätigen, dann sind die Keime über menschliche Fäkalien in die Umwelt und auf die Sprossen gelangt. Wo auch immer die Quelle des Übels liegt – klar ist, dass

EHEC-Bakterien äußerst ansteckend sind. Schon weniger als 100 Zellen können für eine Infektion ausreichen. Knapp 4.000 EHEC- oder HUS-Fälle wurden dem Robert-Koch-Institut (RKI) seit Anfang Mai übermittelt, darunter etwa 50 Todesfälle (Stand 7. Juli 2011). Der Gipfel an Neuerkrankungen wurde am 22. Mai erreicht; seit Mitte Juni nimmt die Rate wieder ab – und damit leider auch das mediale Interesse. Noch immer kämpfen Hunderte mit den schwerwiegenden Folgen des HUS.

Was oft vergessen wird: Selten ist EHEC nicht; seit der Einführung der Meldepflicht im Jahr 2001 werden pro Jahr rund 1.000 EHEC-Fälle, die vor allem Kinder betreffen, registriert. Die Dunkelziffer ist allerdings hoch, da die vorgeschriebenen Stuhluntersuchungen oft unterbleiben.

Schneller Erregernachweis

Eine Schutzimpfung gegen EHEC gibt es nicht und die Antibiotikatherapie ist problematisch. Sie führt in einigen Fällen sogar zu einer vermehrten Freisetzung von Giftstoffen und dadurch zur Verschlimmerung des Krankheitsverlaufes. Neben einer ausreichenden Hygiene sind deshalb das Melden von Verdachtsfällen, ein guter Informationsaustausch unter den beteiligten Behörden und der schnelle Erregernachweis weiterhin die wichtigsten Maßnahmen im Kampf gegen EHEC-Ausbrüche.

Für das Screening nach den Krankheitskeimen eignen sich unter anderem chromogene Nährmedien wie CHROMagar STEC der Mast Group (Kasten rechts oben). Zum molekulargenetischen Nachweis ist die PCR die Methode der Wahl. Mit ihr können die Gene für die EHEC-typischen Toxine selbst in kleinsten Mengen aufgespürt werden.

Einige Anbieter solcher PCR-Systeme wie BIORON Diagnostics, Qiagen, Roche Diagnostics und TIB MOLBIOL stellen sich auf den Seiten 94 bis 97 vor. Immun-

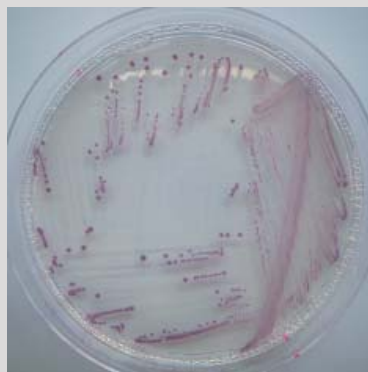
CHROMagar™ STEC

Mast Group



Das neue chromogene Medium zur Identifizierung von Shiga-Toxin bildenden *Escherichia coli* (STEC)

- U. a. zum Screening von *E. coli* O104 bestens geeignet
- Sicheres Ergebnis innerhalb von 24 Stunden
- Für klinische, Lebensmittel- und Umweltproben
- Hoch-selektives Medium
- Mit und ohne Voranreicherung verwendbar



Fachliteratur unter www.CHROMagar.com

Das Foto zeigt das Wachstum von EHEC O104:H4 auf dem CHROMagar™ STEC.

Bildquelle: Priv.-Doz. Dr. Lothar Beutin, Nationales Referenzlabor für *Escherichia coli* (NRL-*E. coli*), Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

Kontaktinformation

Mast Diagnostica GmbH • Feldstraße 20, 23858 Reinfeld • Tel. 04533/2007-0, Fax-68 • www.mastgrp.com

Zuverlässig und schnell von der Probe zum Ergebnis



Der schnelle Nachweis eines Pathogens spielt für die Eindämmung von Epidemien eine entscheidende Rolle, nicht nur wenn es um EHEC geht. QIAGEN stellt hierzu eine Reihe von Produkten für den kompletten Arbeitsablauf zur Verfügung - von der Probenaufbereitung bis zum Nachweis. Ein Beispiel sind unsere Lösungen zur Nukleinsäureisolierung aus einer Vielzahl an Probenotypen.



Beim Nachweis von Pathogenen ist die Real-Time PCR von großer Bedeutung, die hinsichtlich Instrument, Chemie und Software höchste Präzision verlangt. Dem wird nicht nur der Rotor-Gene Q Thermocycler gerecht, sondern

auch Kits wie QuantiFast Pathogen +IC für die effiziente Durchführung selbstentwickelter

Tests. Speziell für den Food Bereich bietet QIAGEN Lösungen für den kompletten Arbeitsablauf an, unter anderem das mericon VTEC Kit für den Nachweis aller verotoxin-produzierenden *E. coli*-Stämme.

Für den höheren Durchsatz wurden außerdem Systeme entwickelt, die den Arbeitsablauf automatisieren. Ein Beispiel ist

der QIASymphony RGQ – Kunden können auf dieser modularen Automationsplattform DNA aus einer Vielzahl von Probenmaterialien extrahieren, sowie selbst- als auch von QIAGEN entwickelte PCR-Tests durchführen.

Kontaktinformation

QIAGEN GmbH • Qiagenstraße 1 • 40724 Hilden • Tel. 02103/29-12400 • orders-de@qiagen.com



Die **Sekisui Virotech GmbH** bietet in Kooperation mit der **Immundiagnostik AG** die komplette EHEC-Diagnostik aus einer Hand an.

Der **ImmunoCard STAT! EHEC** ermöglicht als immunologischer Schnelltest die qualitative Bestimmung von Shigatoxinen in angereicherten Stuhlkulturen. Er erfasst alle EHEC-Serotypen und kann zwischen Shigatoxin 1 und 2 unterscheiden. Sensitivität von 91,4% (gegen den Premier EHEC-ELISA), Spezifität: 99,7%, Zeitbedarf 20 Min., untere Nachweisgrenze für gereinigte Shigatoxine 1+2: 1,25 ng/ml.

Der **Serazym® ELISA** dient dem direkten Nachweis von Shigatoxin 1+2 in Stuhlproben und Stuhlkulturüberständen mit polyklonalen und monoklonalen Antikörpern (Biotin-Streptavidin). Sensitivität: 84,6% (gegen Zytotoxizitätstest), Spezifität: 98,8%, Zeitbedarf 2,5 Stunden, untere Nachweisgrenze für gereinigte Shigatoxine 1+2: <100 pg/ml.

ProSpecT® ELISA und **Premier® ELISA** dienen ebenfalls dem direkten Nachweis von Shigatoxin 1+2 in Stuhlproben und Stuhlkulturüberständen. Sensitivität: 95,5% bzw. 97,9%, Spezifität: 98,7% bzw. >99,9%, untere Nachweisgrenze für Shigatoxin 1: 52 pg/ml, für Shigatoxin 2: 126 pg/ml

Der Real-Time PCR-Kit **MutaFAST® VTEC** (stx 1/2) ermöglicht den qualitativen Nachweis von Verotoxin-bildenden *E. coli* inkl. EHEC/HUSEC041 in weniger als zwei Stunden. Er kann auf allen offenen Real-Time PCR-Systemen abgearbeitet werden und detektiert die pathogen-spezifischen Gene der Verotoxine stx1 und stx2 direkt aus Stuhlproben (oder auch nach Kulturanreicherung). Er identifiziert die Erreger auch bereits vor Auftreten der durch die Toxine verursachten Symptome zuverlässig. Für die Extraktion der Bakterien-DNA empfehlen wir den **MutaCLEAN® Stool-Kit** von Immundiagnostik AG.

Kontaktinformation

Sekisui Virotech GmbH • Petra Thermann • 06142/6909-83 • petra.thermann@sekisuivirotech.com

Real-Time PCR basierte Tests auf gastrointestinale Infekte

Gastrointestinale Erkrankungen können auf Infektionen mit Bakterien, Viren oder Parasiten beruhen. Anlässlich des Ausbruchs von *E. coli* HUSEC 041 haben wir sofort einen LightMix® Kit EHEC konzipiert, evaluiert und angeboten.

Dieser Kit ergänzt unsere Palette an Roche LightCycler® Nachweissystemen für den schnellen und zuverlässigen Test auf gastrointestinale Erreger. Häufigste Verursacher schwerwiegender Erkrankungen sind hierbei sicherlich die Noroviren.

Ab Sommer 2011 bieten wir zwei neue Hexaplex Real-Time PCR Assays für die Untersuchung von Stuhlproben an, die die Bereiche Bakterien bzw. Parasiten abdecken (LightCycler® 480 II) und gegenwärtig klinisch evaluiert werden.

LightMix® Kits (alle Modelle):

- *E. coli* EHEC stx1/2 40-0315
- *Clostridium difficile*
- *Salmonella spp.*
- *Listeria monocytogenes*
- Adenovirus

LightCycler® 480 Kits:

- Norovirus GGI-GGII CE-IVD



Kontaktinformation

TIB MOLBIOL Syntheselabor GmbH • Eresburgstraße 22–23 • 12103 Berlin • www.tib-molbiol.de



diagnostik, deren Produkte von Sekisui Virotech vertrieben werden, bietet neben der PCR auch einen immunchemischen Bestätigungstest für Shigatoxin 1 und 2 an. Nach Empfehlungen des RKI erfolgt der Shiga Toxin-Nachweis über ELISA direkt aus der *E. coli*-Kultur.

Ebenfalls auf der Proteinebene setzen massenspektrometrische Verfahren an. Mit ihrer Hilfe gelingt es, die Shiga Toxine einschließlich diverser Spaltprodukte sehr schnell und detailliert aufzuschlüsseln. Das Verfahren wird vorwiegend für Forschungszwecke eingesetzt.

Karriere beendet?

Inzwischen scheint der große Sturm in den Medien vorbei zu sein, denn die EHEC-Infektionswelle flacht ab. Aber die Karriere des Keims ist damit keineswegs zu Ende. Was bleiben dürfte, sind über 1.000 EHEC-Infektionen pro Jahr, die von den Medien zu wenig beachtet werden, obwohl sie weiterhin potenziell tödlich sind. Wir haben gelernt, dass der in die Schlagzeilen geratene Subtyp O104:H4 weder ganz neu noch einmalig war. Und wir können schon heute vorhersagen, dass auch in Zukunft neue Subtypen auftauchen werden – und mit ihnen neue Herausforderungen für das Gesundheitswesen. 🌸



Dr. Dr. Anton Hartinger

Städt. Klinikum München GmbH, MEDIZET

anton.hartinger@klinikum-muenchen.de

Stets aktuelle Informationen zum Thema EHEC finden Sie beim Robert-Koch-Institut (www.rki.de) sowie beim Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (www.lgl.bayern.de/gesundheit/ehec.htm).