

Epidemiologisches *Bulletin*



Aktuelle Daten und Informationen
zu Infektionskrankheiten und Public Health

45/98

Infektionen durch Marburg- und Ebolavirus Übersicht und Möglichkeiten der Labordiagnostik

Seit der Entdeckung des Marburgvirus 1967 und des bekannteren Ebolavirus einige Jahre später hat die Bedeutung von Filovirusinfektionen als »Emerging/Re-emerging Infectious Diseases« und »Imported Viral Diseases« stark zugenommen. Die schlechte klinische Prognose, die Übertragung von Mensch zu Mensch sowie das Fehlen eines kausal-therapeutischen und prophylaktischen Ansatzes stellen die Gesundheitssysteme, nicht nur in Entwicklungsländern, vor Probleme. Der Import einer Infektion über Reisende (Touristen, Dienstreisende, Tropenrückkehrer), Asylbewerber oder über Tierimporte kann zu einer erheblichen Belastung der betroffenen Gesundheitseinrichtungen und ggf. auch zu einer Bedrohung des Umfeldes führen. Neben der klinischen Diagnose ist die sichere und schnelle Labordiagnostik entscheidend für notwendige antiepidemische und präventive Maßnahmen sowie damit zusammenhängende Entscheidungen von politischer Relevanz. Wegen der großen Bedeutung der Labordiagnostik in solchen Situationen sollen in diesem Beitrag speziell die methodischen Möglichkeiten vorgestellt und diskutiert werden.

Virologie und Epidemiologie: Filovirusinfektionen (Infektionen durch das Marburg- und das Ebolavirus, die gemeinsam die Familie Filoviridae bilden) werden zu den Zoonosen gezählt, wobei das tierische Erregerreservoir noch nicht aufgeklärt werden konnte. Nach heutigem Wissen sind humanpathogene Marburg- und Ebolaviren endemisch in der tropischen Regenwaldzone Zentralafrikas. Der als nicht humanpathogen eingestufte Subtyp Ebola-Reston scheint dagegen in bestimmten Regionen Asiens (Philippinen) endemisch zu sein. Die Übertragung einer Filovirusinfektion erfolgt vorwiegend durch engen physischen Kontakt mit Infizierten und deren Ausscheidungsprodukten. Die aerogene Übertragung ist zwar experimentell nachgewiesen, scheint allerdings von nur untergeordneter Bedeutung für die Übertragung von Mensch zu Mensch zu sein. Der primäre Übertragungsweg von Tier zu Mensch ist unbekannt.

Klinik: Die Erkrankung beginnt akut nach einer Inkubationszeit von etwa 4–16 Tagen mit wenig charakteristischen Symptomen wie Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Halsschmerzen und Myalgien. Bei schweren Verläufen entwickeln sich häufig Symptome einer massiven Gastroenteritis wie Übelkeit, Erbrechen, abdominale Beschwerden und Diarrhöen. Erste Zeichen von Hämorrhagien (Petechien, konjunktivale Einblutungen) sind oft schon bei Einweisung ins Krankenhaus vorhanden. Schwere hämorrhagische Manifestationen zeigen sich am 5.–8. Tag mit Blutungen im Gastrointestinaltrakt, in der Lunge und den Schleimhäuten des Oropharyngealbereiches. Der Tod tritt zwischen dem 7. und dem 16. Tag ein und ist meistens mit schweren Hämorrhagien und einem hypovolämischen Schock assoziiert, wobei die Todesursache auf ein Herz-Kreislauf-Versagen zurückzuführen ist. Die Letalität beträgt, abhängig vom jeweiligen Subtyp, bis zu 88%. Es kommt jedoch nach neueren Erkenntnissen auch zu weitaus mildereren oder gar asymptomatischen Verläufen.

Grundsätze der Labordiagnostik: Der Verdacht auf eine Marburg- oder Ebolavirus-Infektion muß in die Differentialdiagnose einbezogen werden bei oben

Diese Woche:

Filovirusinfektionen:
• Übersicht
• Möglichkeiten der
Labordiagnostik

Echinokokkose:
Erkrankungsregister
im Aufbau

Meldepflichtige
Infektionskrankheiten:
Quartalsstatistik III/98

13. November 1998

ROBERT KOCH
RKI
INSTITUT

genannter Symptomatik und allen Patienten mit unklarem Fieber, Hämorrhagien und Thrombozytopenie im Zusammenhang mit Aufenthalt in endemischen Gebieten sowie Kontakten zu potentiell Erkrankten oder wildlebenden Tieren. Der Umgang mit Untersuchungsmaterial ist kompliziert durch die Klassifizierung der Erreger in die Biologische Sicherheitstufe 4 (BSL 4). Daher sollte bei klinischem und anamnestischem Verdacht auf ein virales hämorrhagisches Fieber unverzüglich die Kontaktaufnahme mit einem entsprechenden Konsiliarlaboratorium (Adressen s. u.) erfolgen. Die Probenentnahme, die Lagerung sowie der Versand von klinischem Untersuchungsmaterial sollten unter entsprechender Anleitung vorgenommen werden. Jegliches Patientenmaterial sollte doppelt verpackt in verschließbaren Plastikgefäßen und mit entsprechender Kennzeichnung (>Vorsicht infektiös<) am besten mit Kurierdiensten verschickt werden. Hierbei sind die geltenden Richtlinien nach dem Gesetz über die Beförderung gefährlicher Güter (BGBI. I, S. 2121) einzuhalten (Verfügung der Deutschen Post für Postversand 630/1989).

Für eine Marburg- oder Ebola-Infektion gelten folgende labormedizinische Charakteristika: (1) Virales Antigen ist im Blut zwischen dem 3.–16. Tag nach Beginn der klinischen Symptomatik nachweisbar. (2) Spezifische IgM-Antikörper sind frühestens am Ende der ersten Krankheitswoche und mindestens bis zum 30. Tag nach Beginn der klinischen Symptomatik nachweisbar. (3) Spezifische IgG-Antikörper treten frühestens am 6.–18. Tag nach Beginn der klinischen Symptomatik auf und persistieren für viele Jahre.

Virusdiagnostik: Die virologische Diagnostik beruht prinzipiell auf dem Nachweis des viralen Erregers oder seiner Bestandteile (virale Proteine, virale RNA) sowie viruspezifischer Antikörper.^{1,2} Die Virusisolation über Zellkultur (Vero-Zellen) oder Tierversuch (Meerschweinchen) ist aufgrund der starken Virämie ein probates diagnostisches Mittel und sollte immer parallel erfolgen. Die Verfahren der Wahl für die Akutdiagnostik sind der *Antigen enzyme-linked immunosorbent assay* (Antigen-ELISA)^{3–5}

und die PCR⁶. Beide Verfahren erlauben die Detektion von viralem Antigen oder RNA in Blut und Gewebehomogenisaten und sind vergleichbar in Spezifität, Sensitivität und Handhabbarkeit. Der Antigen-ELISA arbeitet auf dem *Antigen-capture*-Prinzip, wobei mittels monoklonaler Antikörper virales Antigen abgefangen und an eine Platte gebunden wird. Für die PCR stehen mehrere Ansätze zur Verfügung, welche sich in den jeweiligen Zielregionen des viralen Genoms unterscheiden. Die PCR-Verfahren sind entweder spezies- (Marburg versus Ebola) oder subtypspezifisch (innerhalb der Spezies Ebola). Wegen der Kontaminationsproblematik, besonders bei *nested* PCR-Verfahren, sollte eine positive PCR immer von einem weiteren Testverfahren verifiziert werden. Verfahren der zweiten Wahl sind Elektronenmikroskopie und Immunfluoreszenz zum Nachweis viraler Partikel bzw. viralen Antigens. Diese Verfahren können zur Schnell Diagnostik herangezogen werden, sind jedoch weniger sensitiv und abhängig von der Erfahrung des Diagnostikers. Zusätzlich wurden immunhistochemische Verfahren entwickelt, welche aufgrund der recht zeitaufwendigen Bearbeitung und geringeren Sensitivität nicht zur Akutdiagnostik geeignet sind. Die Centers for Disease Control and Prevention (CDC) propagieren ein solches Verfahren zur Überwachung ungeklärter Todesfälle in Endemiegebieten.⁷

Antikörpernachweis: Verfahren der Wahl zum Antikörpernachweis ist der ELISA^{5,8}. Die ELISA verwenden inaktivierte Antigene, welche von virusinfizierten und nicht-infizierten Kulturen stammen, und sind zum spezifischen Nachweis von IgM (*IgM-capture*-Technik) und IgG etabliert. Ein Anstieg spezifischer IgM-Antikörper sowie eine vierfache Erhöhung des IgG-Titers gelten als notwendige und hinreichende Bedingung für ein positives Testergebnis. Als weitere Verfahren stehen die indirekte Immunfluoreszenz (IFA) sowie der Immunoblot zur Verfügung. Im Immunoblotverfahren sollten mindestens drei der viralen Strukturproteine positiv reagieren. Einige Humanseren reagieren unspezifisch mit viralen Strukturproteinen, so

Verfahren	Ziel des Nachweises	Klinisches Material	Transport und Lagerung	Vorteile	Nachteile
A. Antigennachweis					
Antigen-ELISA*	virales Antigen	Blut, Serum, Gewebe	nativ: Trockeneis	schnell und sensitiv	nicht generell verfügbar
Immunfluoreszenz, direkt (FA)	virales Antigen	Gewebe (z. B. Leber)	nativ: Trockeneis fixiert: Raumtemp.	schnell und einfach	subjektive Beurteilung, Sensitivität
PCR	genomische RNA	Blut, Serum, Gewebe	nativ: Trockeneis	schnell und sensitiv	Kontaminationen
Elektronenmikroskopie	virale Partikel	Blut, Serum, Gewebe	nativ: Trockeneis fixiert: Raumtemp.	einzigartige Morphologie	wenig sensitiv
Immunhistochemie*	virales Antigen	Gewebe (z. B. Haut, Leber)	fixiert: Raumtemp.	inaktiviertes Material wird verwendet	kein Routineverfahren, zeitaufwendig
Virusisolierung	virale Partikel	Blut, Serum, Gewebe	nativ: Trockeneis	Virus für Charakterisierung	zeitaufwendig
B. Antikörpernachweis					
Immunfluoreszenz, indirekt (IFA)	virusspezifische Antikörper	Serum	Serummonovette, gekühlt	einfache Durchführung	subjektive Beurteilung
IgM-capture-ELISA IgG-ELISA	virusspezifische Antikörper	Serum	Serummonovette, gekühlt	spezifisch, sensitiv und schnell	kann in der akuten Phase negativ sein
Immunoblot	virusspezifische Antikörper	Serum	Serummonovette, gekühlt	proteinspezifisch	Interpretation z. T. schwierig

Abb. 1 Diagnostische Verfahren zum Nachweis von Infektionen durch das Marburg- oder das Ebolavirus (* Verfahren in Deutschland nicht etabliert)

daß eine Bestätigung über ein anderes Testverfahren anzustreben ist. Für die Akutdiagnostik sollte berücksichtigt werden, daß viele Patienten in der frühen klinischen Phase noch keine spezifischen Antikörper gebildet haben.

Zur Beratung in Fragen der Diagnostik, der Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und der Versandbedingungen stehen in Deutschland zwei Konsiliarlaboratorien zur Verfügung:

- **Konsiliarlaboratorium für Bunyaviren und Filoviren**
 Institut für Virologie, Philipps-Universität
 Robert-Koch-Str. 17, 35037 Marburg
 Tel.: 06421 / 28-3691 (-3692, -3693)
 Funk-Tel.: 0172 / 6763502, Fax: 06421 / 28- 8962
 E-Mail: slenczka@mail.uni-marburg.de
- **Konsiliarlaboratorium für importierte Virusinfektionen**
 Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin
 Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg
 Tel.: 040 / 31182-401, Fax: 040 / 31182- 400
 E-Mail: schmitz@rrz.uni-hamburg.de

Hinweise zum Umgang mit Patienten: Virusbedingte hämorrhagische Fieber, verursacht durch Marburg- und Ebolavirus, gehören zu den Infektionskrankheiten, bei denen ein Verdacht, eine Erkrankung und ein Sterbefall meldepflichtig gemäß BSeuchG sind. Es ist selbstverständlich, daß eine Bestätigung oder ein Ausschluß einer Infektion über die Labordiagnose wegen der damit zusammenhängenden weitgreifenden Maßnahmen möglichst schnell erfolgen muß. Aufgrund der Tragweite eines falschpositiven oder falschnegativen Befundes sollte mit Verdachtsdiagnosen sehr vorsichtig umgegangen werden. Die Bestätigung eines Befundes durch ein unabhängiges Labor ist in jedem Fall anzustreben. Bei begründetem klinischen Verdacht sollten immer, auch schon vor der endgültigen Labordiagnose, entsprechende Maßnahmen wie Isolierung des Patienten, Schutz des medizinischen Personals und Einschränkung der Kontaktpersonen eingeleitet werden. Laborchemische Untersuchungen, welche zur intensivmedizinischen Betreuung

der Patienten notwendig sind, stellen aufgrund der starken Virämie ein erhöhtes Risiko für nosokomiale Übertragungen dar. Da für viele der Patienten aufgrund ihres Gesundheitszustandes ein Transport in eine Spezial-einheit nicht mehr in Frage kommt, wäre der Einsatz eines mobilen Laboratoriums mit entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen und geschultem Personal ratsam. Nach mikrobiologischer Bestätigung sollten unverzüglich mögliche Kontaktpersonen ausfindig gemacht und überwacht werden.

1. Ksiazek TG: Laboratory diagnosis of filovirus infections in nonhuman primates. *Lab Animal* 1991; 20: 34-46
2. Feldmann H, Klenk HD: Filoviruses: Marburg and Ebola. In: *Advances in Virus Research* (Maramorosch K, Murphy FA, Shatkin AJ, eds.); Academic Press, San Diego, New York, London, Sydney, Tokyo, Toronto, 1996, Vol. 47: 1-52
3. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, et al.: Enzyme immunosorbent assay for Ebola virus antigens in tissue of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 947-950
4. Muyembe-Tamfun JJ, Kipasa M, International Scientific and Technical Committee, and WHO Collaborating Centre for Haemorrhagic Fevers: Ebola haemorrhagic fever in Kikwit, Zaire. *Lancet* 1995; 345: 1448
5. Ksiazek TG, Rollin PE, Williams AJ, et al.: Clinical virology of Ebola hemorrhagic fever (EHF): virus, virus antigen, IgG and IgM antibody among EHF patients in Kikwit, 1995. *J Infect Dis* 1999; 179 (suppl.), in press
6. Sanchez A, Feldmann H: Detection of Marburg and Ebola virus infections by polymerase chain reaction assay. In Becker Y, Darai G, eds. *Frontiers in Virology-Diagnosis of human virus by polymerase chain reaction technology*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1996, 2nd edn.: 411-418
7. Zaki SR, Shieh WJ, Greer PW, et al.: A novel immunohistochemical assay for detection of Ebola virus in skin: implications for diagnosis, spread, and surveillance of Ebola hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1999; 179 (suppl.), in press
8. Ksiazek TG, West CP, Rollin PE, et al.: Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to Ebola viruses. *J Infect Dis* 1999; 179 (suppl.), in press

Herrn O. Lenz, Herrn Prof. Dr. H.-D. Klenk, Herrn Prof. Dr. W. Slenczka und Herrn PD Dr. H. Feldmann, Institut für Virologie der Philipps-Universität Marburg, danken wir für die Erarbeitung dieses Beitrages.

Kontaktadresse: Institut für Virologie, Philipps-Universität, Robert-Koch-Str. 17, 35037 Marburg, Tel: 06421 / 28- 5360; Fax: 06421 / 28- 8962; E-Mail: feldmann@mail.uni-marburg.de.

Europäisches Echinokokkose-Register im Aufbau

Die Echinokokkose ist eine Zoonose, die durch Entwicklungsstadien (Larven, Finnen, Metazestoden) zweier Bandwurmartens (*Echinococcus granulosus* und *E. multilocularis*) von Hund, Fuchs und Katze hervorgerufen wird. Nach einer oralen Aufnahme von Eiern entwickeln sich im Menschen Larvenstadien, die lebensbedrohende raumfordernde Prozesse verursachen können.^{1,2} In Deutschland ist das Vorkommen des Parasiten bei Füchsen in allen größeren Regionen, besonders aber im süddeutschen Raum nachgewiesen. Das Ausmaß der Durchseuchung der Füchse und die Inzidenz und Prävalenz beim Menschen sind aber weitgehend unbekannt. Ähnliche Unklarheit besteht in anderen Ländern Europas.

Mit Unterstützung der Europäischen Kommission (Generaldirektion V) und der Arbeitsgemeinschaft Echinokokkose der Paul-Ehrlich-Gesellschaft wird jetzt an der Universität Ulm ein Europäisches Echinokokkose-Register aufgebaut, in dem Angaben behandelnder Ärzte (und ihrer Patienten) zu gesicherten Erkrankungsfällen auf speziellen

Erhebungsbögen gesammelt und analysiert werden sollen. Ziele der Erhebung sind, valide klinische und epidemiologische Daten zu gewinnen und neue Wege zu einer Frühdiagnose zu finden. Ärzte, die entsprechende Erkrankungsfälle beobachten, werden gebeten, Kontakt zu dem Register aufzunehmen. Unterstützung und Entlastung bei der Bearbeitung wird angeboten, Datenschutz garantiert.

Korrespondenzadresse:

Europäisches Echinokokkose Register
 Universität Ulm – Abteilung Biometrie und Medizinische Dokumentation
 Schwabstr. 13, 89075 Ulm
 Tel.: 0731 / 5026897, Fax: 0731 / 5026902,
 E-Mail: echinoreg@medizin.uni-ulm.de

Information zu Krankheit und Maßnahmen:

1. Tackmann K, Janitschke K (Hrsg.): *Zur epidemiologischen Situation des Echinococcus multilocularis – breitet sich eine gefährliche Parasitose in der Bundesrepublik Deutschland aus?* RKI-Heft 14/1996
2. *Echinokokkose. Erkennung, Verhütung und Bekämpfung* (Merkblatt für Ärzte, herausgegeben von RKI und BgVV). Bundesgesundheitsblatt 1997; 40: 104-106 (Das Merkblatt ist ausschließlich beim Deutschen Ärzte-Verlag GmbH, Dieselstr. 2, 50859 Köln – nicht bei RKI oder BgVV – unter der Best.-Nr. 60052 zu beziehen.)