

Diagnostische Bibliothek

Nr. 52

Dezember 1997

Mit der Nr. 52 wird die Reihe „Diagnostische Bibliothek“ für das Gebiet der Bakteriologie fortgesetzt. In regelmäßiger Folge werden Beiträge zu humanpathogenen Bakterien sowie zu den im bakteriologischen Labor üblichen Methoden erscheinen. Es werden vor allem humanpathogene Bakterien abgehandelt, die epidemiologisch und klinisch gegenwärtig von besonderer Bedeutung sind. Berücksichtigung finden aber auch bakterielle Infektionen, die unter dem Aspekt der Pathogenese als besonders interessante Modelle gelten können.

Mit der „Diagnostischen Bibliothek“ soll dem an der Diagnostik bakterieller Infektionen mittelbar oder unmittelbar Beteiligten eine „Bibliothek“ an die Hand gegeben werden, die das für den Einzelnen kaum noch überschaubare Wissen erheberbezogen zusammenführt und die vorhandenen Lehrbücher ergänzt.

Priv.-Doz. Dr. med. F.-W. Tiller

Campylobacter

Taxonomie

Basierend auf der rRNA-Verwandtschaft gehört das Genus *Campylobacter* innerhalb der rRNA-Superfamilie VI zur rRNA-Homologiegruppe I. Zu dieser rRNA-Homologiegruppe gehören auch *Campylobacter*-ähnliche, bis jetzt unbenannte, freilebende Bakterien-Species. Die Gattungen *Campylobacter* und *Arcobacter* (rRNA-Homologie-Gruppe II mit den Species *A. nitrofigilis*, *A. butzleri*, *A. skirrowii* und *A. cryaerophilus*) bilden die Familie *Campylobacteriaceae*. In die rRNA-Homologiegruppe III werden die Gattung *Helicobacter* mit 18 Species sowie die Gattungen *Flexispira*, *Wollnella* und *Gastrospirillum* eingeordnet. [*Bacteroides*] *gracilis* und [*Bacteroides*] *ureolyticus* werden zukünftig in das Genus *Campylobacter* als *Campylobacter gracilis* und *Campylobacter ureolyticus* eingeordnet (Vandamme et al., 1995; On, 1996).

Alle Keime der rRNA-Superfamilie VI sind gekrümmte oder gewundene, sporenlose, gramnegative Stäbchen. Die meisten haben mikroaerophile Wachstumsbedürfnisse und nehmen kokkoide Formen an, wenn sie Sauerstoff zu lange ausgesetzt sind. Sie verstoffwechseln Kohlenhydrate nicht. Als Energiequelle verwenden sie Aminosäuren sowie Intermediärprodukte des Tricarbonsäurezyklus. Die meisten

Campylobacter brauchen CO₂ für ausreichendes Wachstum.

Das Genus *Campylobacter* umfaßt 15 Species und 6 Subspecies (Tab. 1). Als Typspecies gilt *Campylobacter fetus* Sebald und Veron 1963 (Vandamme und Goossens, 1992; Skirrow, 1990).

Die rRNA-Verwandtschaft läßt drei Gruppen innerhalb des Genus *Campylobacter* erkennen:

1. *Campylobacter fetus* ssp. und *Campylobacter hyointestinalis*
2. *Campylobacter concisus* und *Campylobacter mucosalis*
3. *Campylobacter jejuni* ssp., *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* und *Campylobacter upsaliensis* (Vandamme und Goossens, 1992)

Typische *Campylobacter*-Erkrankungen beim Tier sind sporadisch auftretende Aborte bei Schafen und Rindern und die infektiöse Infertilität bei Rindern. Die wichtigsten humanpathogenen Species sind die sogenannten „thermophilen“ Durchfallerreger *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* und *C. lari* mit einer optimalen Wachstumstemperatur von 42–43 °C. *C. fetus* ist die Ursache vorwiegend extraintestinaler Infektionen beim Menschen (Goossens et al., 1990; On, 1996; Vandamme et al., 1995; Vandamme und Goossens, 1992; Skirrow, 1994).

Morphologie und Aufbau

Morphologie

Bakterien der Gattung *Campylobacter* sind bewegliche, nicht sporenbildende, gekrümmte bis regelmäßig gewundene, sporenlose, gramnegative Stäbchen mit einer Dicke von 0,2–0,9 µm und einer Länge von 0,5–5 µm. Sich aktiv teilende Zellen sind relativ kurz (1,5 µm) und S-förmig bis gewunden. Bakterien in der stationären Phase sind dagegen länger. *C. jejuni* und *C. coli* sind relativ kurze gekrümmte Bakterien mit selten mehr als 4 Windungen (Kist, 1991). *Campylobacter* spp. sind beweglich aufgrund jeweils einer uni- oder bipolar angeordneten Geißel, die eine um die Längsachse rotierende korkenzieherartige Bewegung und damit größtmögliche Geschwindigkeit im viskösen Schleim der intestinalen Schleimhaut ermöglicht. Zellen von 10–20 µm oder länger sind keine Seltenheit in Kulturen von *C. fetus* ssp. *Campylobacter* spp. nehmen mit zunehmender Kulturdauer oder vermehrter Sauerstoffexposition kokkoide oder sphärische Formen an. Kulturen, die vollständig aus kokkoiden Formen bestehen, können nicht mehr subkultiviert werden. Diese kokkoiden Formen sind oft begeißelt und

variieren in der Größe von 0,4–0,9 µm. Sie haben eine intakte Zellwand und sind somit keine Sphäroplasten.

Elektronenoptische Untersuchungen an *C. jejuni* ssp. *jejuni* und *C. fetus* ssp. *fetus* zeigen, daß die äußere Hülle doppellagig ist und locker gefaltet die Zellwand umgibt. *C. fetus* ssp. *fetus* und *C. fetus* ssp. *venerialis* besitzen zusätzlich ein sog. „S-layer“-Protein, welches die Zellen in Form einer Mikrokapsel umgibt. An jedem Pol der *Campylobacter*-Zelle befindet sich eine Verdickung der Zytoplasmamembran in der Form eines Kegelmuffes. An der Spitze des Kegels befindet sich eine becherförmige Vertiefung mit einer 80–120 nm im Durchmesser messenden Scheibe, die in ihrer Mitte von dem Haken der nicht behüllten Geißel durchbohrt ist. Die Scheibe hat eine wagenradähnliche Struktur mit 11 Speichen, welche für *Campylobacter* spp. einzigartig ist (Skirrow, 1990).

Zelluläre Bausteine

Campylobacter spp. besitzen ein Genom mit einem Molekulargewicht von $1,5 \times 10^9$ bis $2,3 \times 10^9$ D. Der Guanin-Cytosin-Gehalt liegt bei 29–38 mol %. Die geringe Größe des Genoms reflektiert möglicherweise die besonderen Nährstoffbedürfnisse sowie die Unfähigkeit, Kohlenhydrate oder komplexe Substanzen abzubauen.

Die Hauptfettsäuren der *Campylobacter* spp. sind Myristinsäure (14:0), Palmitinsäure (16:0), Palmitoleinsäure (16:1), Stearinsäure (18:0), Ölsäure (18:1) und Methyl-Cyclopropan-Säure (19:0cyc). Innerhalb des Genus können bei Analyse der Fettsäuremethylester (FAME) mit der Gaschromatographie 11 Gruppen (A–K) unterschieden werden. Dort können nahezu alle *Campylobacter* spp. eingeordnet werden. Die Gruppe A wird gebildet aus *C. jejuni* und *C. coli* (On, 1996; Vandamme und Goossens, 1992).

Die äußere Zellwand der *Campylobacter* spp. sind Myristinsäure (14:0), Palmitinsäure (16:0), Palmitoleinsäure (16:1), Stearinsäure (18:0), Ölsäure (18:1) und Methyl-Cyclopropan-Säure (19:0cyc). Innerhalb des Genus können bei Analyse der Fettsäuremethylester (FAME) mit der Gaschromatographie 11 Gruppen (A–K) unterschieden werden. Dort können nahezu alle *Campylobacter* spp. eingeordnet werden. Die Gruppe A wird gebildet aus *C. jejuni* und *C. coli* (On, 1996; Vandamme und Goossens, 1992).

Die Oberflächenstruktur von *C. jejuni* und der anderen thermophilen *Campylobacter* unterscheidet sich von *C. fetus* durch das Fehlen der proteinhaltigen Mikrokapsel. Bei *C. jejuni* wurden Proteine mit Molekulargewichten von 33, 45, 62 und 73 kD charakterisiert. Das 33-kD-Protein wird auf der Oberfläche vieler *C. jejuni*-Stämme

gefunden und ist möglicherweise ein Kandidat für eine Vakzine. Das Haupt-„Äußere-Membran“-Protein (engl. Outer membrane protein, kurz: Omp) mit einem Molekulargewicht von 45 kD ist ein Peptidoglykan-assoziiertes Transmembranprotein und hat möglicherweise Porin-Funktion (Walker et al., 1986). Das Flagellin-Protein (62 kD) unterscheidet sich von dem Flagellen-Protein von *C. fetus* und ist wie alle anderen Oberflächenproteine an der Bildung der hitzelablen Serogruppen nach Lior et al. (1982) beteiligt.

Bacteriophagen, Bacteriocine und Plasmide

In der Regel lysieren Phagen der Species *C. fetus*, *C. jejuni* und *C. coli* nur Stämme ihrer homologen Species, es wurden jedoch auch Kreuz-Lysis-Reaktionen zwischen *C. jejuni* und *C. coli* beobachtet. Für *C. jejuni* und *C. coli* wurde ein Phagen-Typisierungssystem entwickelt, welches 19 Phagen beinhaltet, die aus Geflügelkot isoliert wurden (Grajewski et al., 1985; Khakria und Lior, 1992). Phagenvermittelte Transduktion für Glycintoleranz, Streptomycinresistenz und Serotypkonversion wurden für *C. fetus* beschrieben.

Plasmide wurden bei 19–60% der Isolate von *C. jejuni* ssp. *jejuni* und *C. coli* sowie in 90% der *C. upsaliensis*-Isolate gefunden. Sie haben eine Größe von 2,0–162 Kilobasen (kB). Das tetR-Plasmid von *C. jejuni* ist 45 kB groß und auf *C. fetus* transferierbar. Andere Resistenzplasmide vermitteln Kanamycin- und Chloramphenicol-Resistenz. Weiteren Plasmiden konnte bis jetzt keine eindeutige Funktion zugeordnet werden. Möglicherweise besitzen Plasmide regulatorische DNA-Sequenzen für die Toxinproduktion (Walker, 1986).

Bacteriocine wurden bei *Campylobacter* spp. nicht gefunden, jedoch werden einige *C. jejuni*-Stämme durch R-Typ Pyocine gehemmt (Blaser, 1995; Skirrow, 1990; Ketley, 1995).

Pathogenitäts- und Virulenzfaktoren

Verschiedene Membranproteine (OMPs) und Lipopolysaccharide (LPS) wurden beschrieben, die Adhärenz an Eukaryontenzellen vermitteln. *C. jejuni* ssp. *jejuni* besitzt ein hochkonserviertes Oberflächenantigen (PEB1), welches als Adhäsion fungieren könnte und als vielversprechender Kandidat für eine Vakzine in Frage kommt. Dieses Protein hat eine gewisse Homologie zu Aminosäure-Transfer-Transportsystemen anderer Bakterien. Es ist noch

nicht klar, ob die Fähigkeit zur Zellbindung als Artefakt anzusehen ist oder ob PEB1 vielleicht eine Doppelfunktion zukommt (Ketley, 1995).

Die Zellwand von *Campylobacter* spp. enthält LPS mit Endotoxinaktivität. LPS-Komponenten sind anscheinend für die Serumresistenz, die Phagozytosehemmung, die Zelltoxizität und vermutlich auch für die Adhäsion verantwortlich (Ketley, 1995; Walker et al., 1986).

Der am besten untersuchte Virulenzfaktor der *Campylobacter* spp. ist die Geißel. Sie enthält einige der Lior-Serotyp spezifischen Antigene und ist phasen- und antigen-variabel. Das Flagellin-Gen wurde kloniert und auf dem Genom kartiert, wo es in zwei Genabschnitten (flaA und flab) von annähernd gleicher Größe mit je 1,7 kB repräsentiert ist. In *C. jejuni* kodieren diese zwei Genabschnitte Proteine mit einem Molekulargewicht von 59500 und 59900 Da. Ein Vergleich der *C. coli*- und *C. jejuni*-Genprodukte ergibt eine Ähnlichkeit von 87% mit der höchsten Variabilität in den zentralen Regionen. FlaA zeigt eine ähnlich hohe Übereinstimmung der Konservierung mit den flab-Genabschnitten von *Bacillus subtilis* und *Salmonella typhimurium*. Definierte Mutationen der beiden Flagellengene zeigen, daß flab in Abwesenheit von flaa ein kurzes, rudimentäres Flagellum produziert, welches nur schlecht beweglich ist.

Die flaa*flab-Mutante produziert eine Geißel von normaler Länge, die jedoch gegenüber dem Wildtyp ebenfalls weniger beweglich ist. FlaA ist für die Invasion und die Transzytose in intestinale Epithelzellen verantwortlich. Die Fähigkeit, die Zellbarriere via Translokation zu überwinden und auf die basolaterale Seite von Zell-Monolayern zu gelangen, wurde bei *C. jejuni* und *C. coli* beobachtet und führte zur Bildung von 4 Phänotypen: (a) nichtinvasiv, (b) invasiv, (c) invasiv mit Transzytose und (d) Transzytose ohne Invasion (parazellulär). Ein weiterer Invasionsweg könnte die Translokation durch M-Zellen sein, die bei Kaninchen beobachtet wurde. Dies setzt jedoch voraus, daß die Bakterien vor der Phagozytose geschützt sind, wenn sie das lymphoide Gewebe jenseits der M-Zellen erreichen. Erste Untersuchungen scheinen die Annahme zu bestätigen, daß *C. jejuni* in neutrophilen Granulozyten überleben kann (Ketley, 1995).

Nach Kolonisation der intestinalen Schleimhaut und der Adhäsion an die Zelloberfläche beeinträchtigen *Campylobacter* spp. die Zellfunktion durch Invasion und/oder die Produktion von bis zu drei verschiedenen Toxinen. Die meisten Stämme von *C. jejuni* und *C. coli* scheinen ein Enterotoxin mit einem Molekulargewicht von ca. 70 kD zu produzieren. Die Fähigkeit zur Pro-

duktion dieses Enterotoxins kann, z. B. durch Lyophilisation, verlorengehen, jedoch durch intestinale Passagen bei empfänglichen Wirten wiederhergestellt werden. Das *C. jejuni*-Enterotoxin ist hitzelabil (wird in 10 min bei 90 °C inaktiviert) und verursacht eine intestinale Sekretion im isolierten Ratten-Ileum- und Kaninchen-Ileum-Modell. Das Enterotoxin wird durch Antikörper gegen Cholera-toxin (CT) oder hitzelabiles *Escherichia coli*-Enterotoxin (LT) neutralisiert. Das Enterotoxin adhärnt an GM1-Gangliosid-Rezeptoren der Enterozyten und interagiert mit intrazellulären Enzymen (Wallis, 1994; Misawa et al., 1995b).

Zytotoxine werden sowohl von *C. jejuni*, von *C. coli* als auch von *C. lari* gebildet. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Zytotoxinbildung und Enterotoxinbildung besteht nicht.

Das Zytotoxin 1 („Shiga-like“-Toxin, SLT) ist hitze- und Trypsin-stabil, wird durch Rattenserum inaktiviert und agglutiniert Kaninchenerythro-

zyten. Zytotoxin 2 („cythoethal distending toxin“, CLDT) ist hitze- und Trypsin-labil, läßt sich durch Rattenserum nicht inaktivieren, hämolyisiert Kaninchenerythrozyten und wird durch Antikörper gegen *Vibrio cholerae*-non-O1-Zytolysin neutralisiert. Die Zytotoxinaktivität wird durch Antiseren gegen *Shiga*-Toxin, *E. coli*-Verotoxin oder *Clostridium difficile*-Toxin nicht neutralisiert. Die Fähigkeit zur Zytotoxinproduktion kann durch mehrere Subkulturen verlorengehen. Es konnte gezeigt werden, daß Stämme ohne die Zytotoxine dennoch pathogen für Probanden waren. Infizierte Personen entwickeln keine neutralisierenden Antikörper gegen diese Toxine (Johnson und Lior, 1984; Black, 1988; Wallis, 1994; Ketley, 1995).

Die Arbeiten über die Toxine von *C. jejuni* kommen zu widersprüchlichen Befunden. Erste Ergebnisse über das Enterotoxin, welches dem Cholera-toxin ähnlich und für die wäßrige Diarrhoe verantwortlich sein soll, konnten bisher nicht ausreichend

bestätigt werden. Wahrscheinlich sind experimentelle Bedingungen, wie Nährmediensupplementierung und Inkubationsbedingungen dafür verantwortlich. Auch Zytotoxin 1 („Shiga-like Toxin“, SLT) und das Zytotoxin 2 („cythoethal distending toxin“, CLDT) sind nur unzulänglich charakterisiert (Ketley, 1995; Wallis, 1994).

Kürzlich wurde berichtet, *Campylobacter* spp. besitze ein Hämolsin, welches bei pH 6,0–6,5 und verlängerter Inkubation alpha- und beta-Hämolyse hervorruft. Dieses Hämolsin ist noch nicht weiter charakterisiert, könnte aber ein zusätzlicher Virulenzfaktor sein (Misawa et al., 1995a; Nachamkin, 1995).

Epidemiologie

Campylobacteriosen sind weltweit verbreitete Anthroprozoonosen. *Campylobacter* spp. werden als Kommensalen des Gastrointestinaltraktes von Wild- oder Haustieren, wie Rindern, Schafen,

Tabelle 1 *Campylobacter*-Species, Reservoirs und Erkrankungen^a

Campylobacter-Species^b	Reservoirs	Erkrankungen
<i>C. fetus</i> ssp. <i>fetus</i>	Schaf, Rind	Abort bei Rindern und Schafen; Septikämie, Abort, Gastroenteritis, Meningitis beim Menschen
<i>C. fetus</i> ssp. <i>venerealis</i>	Rind	infektiöse Infertilität bei Kühen; Septikämie beim Menschen
<i>C. hyointestinalis</i> ssp. <i>hyointestinalis</i>	Schwein, Rind, Hamster, Hirsch	assoziiert mit proliferativer Enteropathie bei Schweinen; gelegentlich isoliert bei Patienten mit Diarrhoe, Proktitis
<i>C. hyointestinalis</i> ssp. <i>lawsonii</i>	Schwein	unbekannt bei Tier und Mensch
<i>C. concisus</i>	Mensch	Zahnfleischtaschen, Parodontitis, Bakteriämie, Gastroenteritis
<i>C. mucosalis</i>	Schwein	nekrotisierende Enteritis und Ileitis beim Schwein
<i>C. sputorum</i> bv. <i>sputorum</i>	Mensch, Rind, Schwein	Mundschleimhaut-Flora, Genitalflora, Präputium von Stieren; Abszeß(?), Gastroenteritis beim Menschen
<i>C. sputorum</i> bv. <i>fecalis</i>	Rind	unbekannt bei Mensch und Tier
<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>	Vogel, Schwein, Nerz, Geflügel, Rind, Insekten, Wasser	akute Enterokolitis beim Mensch und bei einigen Tieren, Septikämie, Meningitis, Abort, Guillain-Barré-Syndrom
<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	Mensch	Gastroenteritis, Gastritis, Septikämie beim Menschen
<i>C. coli</i>	Schwein, Vogel, Geflügel, Rind, Schaf	Gastroenteritis bei Tieren; akute Enterokolitis beim Menschen, Septikämie
<i>C. lari</i>	Hund, Katze, Vogel, Pferd, Wasser	intestinaler Kommensale(?); gelegtl. assoziiert mit Diarrhoe beim Menschen, Harnwegsinfektionen
<i>C. upsaliensis</i>	Hund, Katze	Gastroenteritis bei Hund und Katze; Gastroenteritis, Septikämie, Abszeß beim Menschen
<i>C. helveticus</i>	Hund, Katze	Gastroenteritis bei Hund und Katze, selten Mensch
<i>C. hyoilei</i>	Schwein	proliferative Enteropathie beim Schwein
<i>C. curvus</i>	Mensch	Zahnfleischtaschen, Parodontitis
<i>C. rectus</i>	Mensch	Zahnfleischtaschen, Parodontitis
<i>C. showae</i>	Mensch	Zahnfleischtaschen, Parodontitis
<i>C. gracilis</i> ^c	Mensch	Parodontitis, Abszeß, Empyem
[<i>Bacteroides</i>] <i>ureolyticus</i>	Mensch	Urethritis, Amnionitis

^a nach Skirrow, 1994; Nachamkin, 1995, und On, 1996

^b bv.: Biovar, ssp.: Subspecies

^c früher *Bacteroides gracilis* (Vandamme et al., 1995)

Schweinen, Ziegen, Hunden, Katzen, Nagern und allen Arten von Vögeln, gefunden (Tab. 1). *C. jejuni* hat ein sehr weitreichendes Reservoir, *C. coli* und *C. hyointestinalis* werden dagegen vorwiegend vom Schwein und *C. upsaliensis* vom Hund isoliert. *C. jejuni* ssp. *jejuni*, *C. coli* und *C. lari* sind am besten von allen *Campylobacter*-Arten an Vögel adaptiert. *C. fetus* wird hauptsächlich bei Schafen und Rindern, aber auch bei Geflügel, Reptilien und Schweinen gefunden. Primäre Infektionen der Tiere mit *Campylobacter* spp. erfolgen häufig sehr früh und führen in den meisten Fällen zu lebenslangem Trägerstatus. Tiere sind das Reservoir für die enterischen Infektionen des Menschen (Humphrey, 1995).

Von den 15 *Campylobacter* spp. werden 12 Species mit Erkrankungen beim Mensch in Zusammenhang gebracht (Tab. 1). Die überwiegende Mehrzahl der Krankheitsfälle wird aber durch zwei Species, *C. jejuni* ssp. *jejuni* und *C. coli*, verursacht. Auf feuchten Oberflächen, in Kuhmilch oder in Fäces bleibt *C. jejuni* ssp. *jejuni* bei 4 °C bis zu drei Wochen lebensfähig und kann in kaltem Wasser (4 °C) mehr als vier Wochen überleben. Bei 25 °C sterben die Bakterien deutlich früher ab, in Milch bereits nach drei Tagen. Besonders Schlachtgeflügel ist regelmäßig mit *C. jejuni* ssp. *jejuni* infiziert. Hinweise für einen Keimtransfer in Hühnerierei gibt es nicht (Thurm und Dinger, 1993). Die Küken infizieren sich in der zweiten bis dritten Lebenswoche. Der Schlachtvorgang vergrößert die Kontaminationsrate, so daß tiefgefrorenes Geflügel zu fast 100% verunreinigt ist. Bei -20 °C, z. B. in tiefgefrorenem Geflügel, überleben *Campylobacter* spp. mehrere Monate, jedoch wird nach dem Auftauen keine sekundäre Keimvermehrung bei Raumtemperatur beobachtet. Das Wachstumsoptimum von *Campylobacter* spp. liegt zwischen pH 5,5 und pH 8. In NaCl-Konzentrationen über 1,5% überleben die *Campylobacter* spp. normalerweise nicht.

Hauptquellen für Infektionen mit *C. jejuni* ssp. *jejuni* sind Frischgeflügel und rohe Milch. Exkremente infizierter Tiere können Wasser oder Abwasser kontaminieren und Massenerkrankungen auslösen. Junge Hunde und Katzen mit Diarrhoe wurden als Vektoren für *Campylobacteriosen* festgestellt, aber auch gesunde Hunde, Katzen, Nager und Vögel scheiden die Erreger aus und können als Überträger fungieren. Personen, die beruflich mit Tieren zu tun haben, sind besonders exponiert. Laborinfektionen wurden beschrieben. Ein ungewöhnlicher Übertragungsweg ist der Genuß von Milch aus Milchflaschen, deren Verschlüsse von Vögeln aufgepickt wurden (Skirrow, 1994).

Seit 1981 haben in England, Wales, Irland und Holland die Enteritisfälle durch *C. jejuni* ssp. *jejuni* bei weitem

die Erkrankungen durch *Salmonellen* und *Shigellen* übertroffen. In Deutschland (Daten von 5 Gesundheitsämtern aus Sachsen-Anhalt und Niedersachsen) beträgt der Anteil der *Campylobacter*-Enteritis an allen bakteriellen Enteritiden 10–16%. *C. jejuni* ssp. *jejuni* ist dabei für 95%, *C. coli* für 5% der Enteritisfälle verantwortlich (Thurm und Dinger, 1993). Die meisten Krankheitsfälle treten sporadisch auf; selten wird über größere Ausbrüche von *Campylobacter*-Infektionen berichtet. *Campylobacter*-Enteritiden kommen in industrialisierten Ländern das ganze Jahr über vor, treten jedoch meist in ländlichen Gegenden mit einem hohen Gipfel im Sommer bis frühen Herbst auf. Es zeigen sich zwei Gipfel der Inzidenz: Kinder unter 1 Jahr sowie Personen von 15 bis 29 Jahren. Frauen und Männer ab 45 Jahren sind etwa gleich häufig betroffen, unter 45 Jahren erkranken häufiger Männer. Die Prävalenz beträgt bei gesunden erwachsenen Personen unter 1%.

Die Epidemiologie in Entwicklungsländern ist entscheidend anders: *C. jejuni* wird hier häufiger bei gesunden Personen aus dem Stuhl isoliert. Während der ersten beiden Lebensjahre machen Kinder und Säuglinge mehrfache, oft aber asymptomatische *Campylobacter*-Infektionen durch. Die Infektion findet so häufig statt, daß die Kinder schon während der ersten Lebensjahre immun werden und ältere Kinder und Erwachsene gar nicht mehr erkranken. Unter diesen Bedingungen werden Antikörper gegen *Campylobacter* spp. mit der Muttermilch an die Säuglinge weitergegeben. *Campylobacter* spp. sind wichtige Ursachen der Reisedurchfallerkrankungen bei Touristen (Humphrey, 1995; Skirrow, 1994).

Meldepflicht besteht in der Bundesrepublik Deutschland bei Verdacht, Erkrankung und Tod in Fällen von Enteritis infectiosa durch *Campylobacter* spp. (§3 BSeuchG).

Pathogenese und Krankheitsbilder

Enterocolitis, Enteritis

Die Inkubationszeit der *Campylobacter*-Enteritis variiert von 1 bis 7 Tagen, wobei die Länge der Inkubationszeit möglicherweise umgekehrt proportional zur Infektionsdosis ist. Probanden erkrankten an einer Enteritis, wenn sie 800 Organismen aufgenommen hatten, jedoch ist unter einer Infektionsdosis von 1000 Organismen nur noch unregelmäßig mit Symptomen zu rechnen. Bei manchen Probanden waren Infektionsdosen von mehr als 1×10^9 Keimen/ml nötig, um eine

Infektion auszulösen. *C. jejuni* ssp. *jejuni* vermehrt sich in menschlicher Galle. Das erklärt, warum der bevorzugte Standort während der frühen Infektionsphase der obere gallensäurereiche Dünndarm des Menschen ist. Die Geißel und die spiralförmige Gestalt ermöglichen die besondere Beweglichkeit und die Penetration durch die intestinale Schleimschicht bis tief in die Schleimhautkrypten. Aufgrund von Zellkulturversuchen zur Chemotaxis weiß man, daß *C. jejuni* ssp. *jejuni* besonders durch L-Fucose, Muzin und Galle angezogen wird. Die Adhäsion an den intestinalen Zellen wird über spezifische Flagellen-Rezeptoren und äußere Membranproteine (OMP) vermittelt. Die Fixation der Bakterien an den Zellen erfolgt bevorzugt in den Interzellularspalten und ist reversibel. Ob und wie *C. jejuni* in die Enterozyten eindringt und dort zytotoxisch wirkt, ist nach wie vor unklar (Ketley, 1995). Die toxinvermittelten Gewebeveränderungen bei einer manifesten *Campylobacter*-Enteritis betreffen sowohl das Jejunum und das Ileum als auch das Kolon und zeigen eine ödematöse und exsudative Schleimhaut. Die mikroskopische Untersuchung der Rektalschleimhaut ergibt eine unspezifische Kolitis mit einem Infiltrat von Neutrophilen, Monozyten und Eosinophilen in der Lamina propria. Des weiteren findet man Geschwürbildung, degenerative Zeichen, wie Atrophie, und Abszesse in den Krypten. Rektumbiopsien können als akute ulzerative Kolitis oder Morbus Crohn bzw. Salmonellen- oder Shigellen-Enteritis interpretiert werden (Blaser, 1995; Wallis, 1994; Walker et al., 1986).

Intestinale Infektionen durch *C. jejuni* ssp. *jejuni* und *C. coli* sind klinisch nicht zu unterscheiden. Das Spektrum reicht von symptomlosen bis hin zu letalen Verläufen. Die klinische Symptomatik einer Infektion mit *Campylobacter* spp. beginnt in der Hälfte der Fälle mit akuten Leibschmerzen begleitet von Fieber, allgemeinem Unwohlsein, Kopfschmerzen und Myalgien. Nach 12–24 h tritt Diarrhoe ein, die von einzelnen breiigen Stühlen über wäßrige Ausscheidungen bis hin zu blutig-eitrigen Stühlen sehr verschiedene Formen annehmen kann. Die abdominalen Schmerzen, die sich in der Regel während der Defäkation steigern, stellen in den meisten Fällen das Hauptsymptom dar und können bereits einen klinischen Verdacht erlauben. Die *Campylobacter*-Enteritis kann klinisch wie eine akute Appendizitis imponieren. In den schlimmsten Fällen entwickelt sich ein toxisches Megakolon. Die Erkrankung hält meist 3–10 Tage an und ist selbstlimitierend. Die Erreger werden gewöhnlich für 2–3 Wochen ausgeschieden. Daueraus-scheider werden unter Immungesunden

nicht beobachtet. Rückfälle werden bei 5–10% der antibiotisch unbehandelten Fälle beobachtet. Symptomatische *Campylobacter*-Infektionen bei Kindern unter 2 Jahren führen zu Dehydratation und Unterernährung (Skirrow, 1994; Blaser, 1995; Nachamkin, 1995).

Extraintestinale Infektionen

Extraintestinale Infektionen werden in erster Linie durch *C. fetus* ssp. *fetus*, selten auch durch andere *Campylobacter* spp. hervorgerufen. Bei Immunsupprimierten oder Patienten mit Grunderkrankungen wie Leberzirrhose oder Diabetes mellitus verursacht *C. fetus* ssp. *fetus* Septikämien, Meningitiden, Abszesse, septische Thrombosen mit Nekrosen, Endokarditiden oder Perikarditiden, wobei der Krankheitsverlauf stark vom Beginn einer Antibiotikatherapie abhängt. Ursache für die Häufung extraintestinaler Infektionen scheint die Serumresistenz von *C. fetus* ssp. *fetus* zu sein. Das verantwortliche Glykoprotein hat die Form einer Mikrokapsel und verhindert die Phagozytose. *C. fetus* ssp. *fetus* hat zudem die Fähigkeit, das Hauptprotein dieser Kapsel zu verändern und damit seine Antigenität zu ändern (Nachamkin, 1995).

Extraintestinale Infektionen durch andere *Campylobacter* spp. schließen Bakteriämien, Bursitis, Harnwegsinfektionen, Meningitis, Endokarditis, Peritonitis, Erythema nodosum, Pankreatitis, septische Aborte und neonatale Septikämien ein. *C. jejuni* penetriert in die mesenterialen Lymphknoten und verursacht auch bei asymptomatischen Patienten Bakteriämien (Blaser, 1995; Nachamkin, 1995; Wallis, 1994).

29 Fälle von Aborten oder vorzeitiger Wehentätigkeit ausgelöst durch *Campylobacter*-Infektionen wurden beschrieben. In 12 Fällen wurde *C. fetus*, in 16 Fällen *C. jejuni* und in einem Fall *C. coli* isoliert (Skirrow, 1994). Die Bakterien gelangen aus dem Darm in die Blutbahn und weiter in die Plazenta, ohne daß die Schwangere Krankheitszeichen zeigt. Die Plazentitis ist gekennzeichnet durch Infiltration mit neutrophilen Granulozyten, durch Fibrinablagerungen, Mikroabszesse und Nekrosen (Skirrow, 1994; Wallis, 1994).

Komplikationen, Folgeerkrankungen

Die große Mehrheit der Patienten erholt sich entweder spontan oder nach antimikrobieller Therapie vollständig von einer *Campylobacter*-Enteritis. Komplikationen bei *Campylobacter*-Infektionen betreffen vorwiegend den Darm. Es kann zu einer Kolitis kom-

men, die manchmal einer Colitis ulcerosa ähnelt. Parainfektöse Komplikationen sind Dermatitis, Erythema nodosum, Endo- und Perikarditis und reaktive Arthritis. Bei Patienten mit Gelenksbeschwerden findet sich, wie auch bei der seltenen Komplikation des Reiter-Syndroms, eine Häufung des Histokompatibilitätsantigens HLA-B27. Bei manchen Patienten persistieren rheumatische Symptome für Monate, wenn nicht gar Jahre (Blaser, 1995; Skirrow, 1994).

Das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) ist eine seltene Folge der *Campylobacter*-Enteritis. Die Mechanismen, durch die enterale *C. jejuni*-Infektionen das Guillain-Barré-Syndrom hervorrufen, könnte die Produktion von Antikörpern sein, welche mit den Oberflächenantigenen der Nervenzellen kreuzreagieren. Erste Ergebnisse zeigen, daß das Lipopolysaccharid des *C. jejuni* Serotyps O19 eine Oligosaccharidstruktur besitzt, die auch als Baustein des Haupt-Monosialogangliosids (GM1) der humanen peripheren Nerven vorkommt (Mishu und Blaser, 1994; Rees et al., 1993). Das Guillain-Barré-Syndrom tritt als Folge einer *C. jejuni* ssp. *jejuni*-Infektion meist 2–3 Wochen nach Einsetzen des Durchfalls auf. Es handelt sich dabei um eine akut einsetzende, entzündliche und demyelinisierende Erkrankung, welche klinisch durch eine rasch aufsteigende Paralyse charakterisiert ist, die eine Lähmung der Atemmuskulatur und den Erstickungstod der Patienten zur Folge haben kann. 5–15% der GBS-Patienten sterben in der akuten Phase der Erkrankung. Serologische und kulturelle Studien haben gezeigt, daß 20–40% der GBS-Patienten 2–4 Wochen vor Auftreten der ersten neurologischen Symptome mit *C. jejuni* infiziert waren, obwohl sie nicht unbedingt gastrointestinale Symptome hatten. Vorläufige Fall-Kontrollstudien bei Patienten mit GBS-ähnlichen Symptomen haben auffällig hohe Antikörpertiter gegen *C. jejuni* ergeben (Mishu und Blaser, 1994; Rees et al., 1993).

Mikrobiologische Diagnostik

Probengewinnung, Proben transport

Die bevorzugten Proben zur Isolierung von *Campylobacter* spp. bei Patienten mit intestinalen Infektionen sind Stuhlproben. Auch Rektalabstriche in Transportmedien sind geeignet. Transportzeiten über 24 h sollten vermieden werden. Mehrere, an verschiedenen Tagen entnommene Proben erhöhen die Isolierungsrate. Bei extraintestinalen Infektionen richtet sich die Wahl des

Untersuchungsmaterials nach der vermuteten Infektionslokalisation. Liquor, Blut, Biopsiematerial oder Punkttate kommen in Frage. Zur Aufdeckung von Infektionsquellen und -wegen sind Proben verdächtiger Lebensmittel oder Wasser geeignet. Dauert der Transport der Proben länger als 24 Stunden, sollte ein Transportmedium benutzt werden, um Austrocknung zu verhindern und ein mikroaerophiles Milieu zu gewährleisten. Hierfür hat sich vorreduziertes Cary-Blair-Medium bewährt (Kist, 1991; Wang et al., 1983).

Mikroskopische Untersuchung

Die direkte mikroskopische Untersuchung von Stuhl- oder Blutproben zum *Campylobacter*-Nachweis ist nicht empfehlenswert. Das Kulturpräparat ist dagegen wegen der typischen Morphologie der Bakterien hervorragend zur Abgrenzung von anderen Enteritisserregern geeignet. Neben einem nach Gram gefärbten Präparat ist ein Nativpräparat im Phasenkontrastverfahren mit Ölimmersion zu mikroskopieren, da hier die Beweglichkeit der *Campylobacter* spp. gut beurteilt werden kann. Dies gelingt am besten mit frischen Kulturen, die nicht älter als 24 Stunden sind, da die *Campylobacter* spp. bei längerer Bebrütung wegen der Neigung zur kokkoiden Degeneration eingeschränkt zu beurteilen sind. *Campylobacter* spp. werden durch Safranin schlecht angefärbt, weshalb bei der Gram-Färbung entweder Karbolfuchsin oder basisches Fuchsin in der Gegenfärbung zu benutzen ist (Kist, 1991). Die Acridinorange-Färbung hat sich in Einzelfällen in der Mikroskopie bewährt, wenn in der Gram-Färbung keine Bakterien sichtbar waren (Nachamkin, 1995; Misawa et al., 1995a).

Isolierung

Allgemeine Hinweise

Alle Kulturmedien sollten zur Isolierung von thermophilen *Campylobacter* spp. mindestens auf Raumtemperatur erwärmt sein. Als günstig erwies sich auch die Vorreduzierung der Nährböden und die Lagerung unter Lichtabschluß, um die Entstehung von toxischen Sauerstoffderivaten zu verhindern (Corry et al., 1995). Bei der ersten Begutachtung nach 18 Stunden sollten die Platten zügig abgelesen und in die sauerstoffreduzierte Atmosphäre zurückgebracht werden, damit sauerstoffempfindliche Keime nicht geschädigt werden (Kist, 1991). Alle *Campylobacter*-Basis-Nährböden, auch Fertignährböden für kleine Probenmengen, einschließlich der selektiv oder antioxidativ wirksamen Supplemente, sind einzeln oder in Kombination kommer-

Tabelle 2 Auswahl flüssiger und fester Selektivmedien zur Kultivierung von *Campylobacter* spp.*

Mediumname ^c	Supplemente ^{b,d}								Basisnährmedium/ Antioxidatives System/ Besonderheiten ^{b,e}
	Anti- mykotika	Bacitracin	Cephalos- porine	Colistin oder Polymyxin B	Novo- biocin	Rifam- picin	Trime- thoprim	Vanco- mycin	
Blaser (B)	2 (AM)		15 (CL)	0.25			5	10	Thioglycolatbouillon Blutagarbasis No. 2 (Oxid), 25g/l; 5% Pferdeblut lys.; 250 (P), 250 (B), 250 (F)
Preston (B)	50 (CY)			5000 I.E		5	5		
Pickert (B)	2 (AM)		15 (CL)	2500 I.E.			5	10	Tryptose B 26g/l; Vitamin K 10 mg, Rinderserum inakt.5%; 250 (P), 250 (B), 250 (F)
Goossens (SSM)			30 (CP)				50		Müller-Hinton broth (BBL), 0,32% Agargehalt
Skirrow (A)				2500 I.E.			5	10	Blutagarbasis No. 2 (Oxid); 5-7% Pferdeblut lys.
Butzler (A)	50 (CY)	25000 I.E.	15 (CZ)	10000 I.E.(C)	5				Blutagarbasis No. 2 (Oxid); 15% Hammelblut
Blaser&Wang (A)	2 (AM)		15 (CL)	2500 I.E.			5	10	Blutagarbasis No. 2 (Oxid); 5-7% Pferdeblut lys.
Preston (A)	100 (CY)			5000 I.E.		10	10		Nutrient broth No. 2 (Oxid) in 1,2% NewZealand Agar; 5% Pferdeblut lys.
mCCDA (A)	10 (AM)		32 (CP)						Columbia Agar Basis, Aktivkohle (Oxid) 4g/l; 250 (P), 250 (F), 1000 (N)
CSM (A)	100 (Cy)		32 (CP)					20	Columbia Agar Basis 44g/l, Aktivkohle (Oxid) 4 g/l; Hämatin 32; 100 (P)
Campy-BAP (A)	2 (AM)		15 (CL)	2500 I.E.			5	10	Brucella Agar Basis (Oxid), 10% Hammelblut lys.

* nach Corry et al. 1995; Endtz et al. 1991; Gun-Munro et al. 1987; Kist, 1983 und 1991

^b Konzentrationen der Zusätze in mg/l, wenn nicht anders vermerkt

^c A: Agar; B: Bouillon; SSM: halbfestes Beweglichkeitsmedium; CSM: Charcoal based selective medium, mCCDA: modified charcoal cefoperazone desoxycholate agar

^d **Antimykotika:** AM: Amphotericin B, CY: Cycloheximid (Actidion); **Antibiotika** CZ: Cefazolin, CP: Cefoperazon, CL: Cefalotin

^e Antioxidativa: F: Ferrosulfat ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), B: Metabisulfat (NaHSO_3), P: Na-Pyruvat, N: Na-Desoxycholat

ziell erhältlich, z. B. bei Oxoid, Merck, Becton-Dickinson/BBL (Baltimore Biological Laboratories), Gibco oder Virion (Roche).

Basismedien

Die meisten menschenpathogenen *Campylobacter* spp. wachsen bei mikroaerophiler Inkubation und bei 37 °C auf allen nährstoffreichen blut-haltigen Nährböden sowie auf speziel-

len, blutfreien, aber aktivkohlehaltigen Medien. Als Basismedien geeignet sind z. B. Columbia-Agarbasis, Brucella-Agarbasis, Hefeextrakt-Cystein-Blutagar nach Beerens mod. (Rezept siehe Kist, 1983) oder *Campylobacter*-Agar blutfrei nach Bolton u. Mitarb. mod. (Rezept siehe Kist, 1991). Den Basismedien sind antioxidative Supplemente wie Blut, Haemin, Hämatin, Eisensalze oder Aktivkohle (Tab. 2) zugesetzt, welche die Sauerstofftoleranz der *Campylobacter* spp. erhöhen (Skirrow, 1990).

Selektivmedien

Die Selektivnährböden bestehen aus einem der oben genannten Basisnährböden mit Antibiotikazusatz zur Unterdrückung der fäkalen Begleitflora. Von den Selektivmedien werden am häufigsten die Nährböden nach Karmali (CSM), Skirrow (SKM), Campy-BAP, Preston, mCCDA und Butzler für die Untersuchung von Stuhlproben benutzt (Tab. 2). Die blutfreien Selektivnährböden (CSM, mCCDA) werden auch bevorzugt in der Lebensmitteluntersu-

chung eingesetzt (Corry et al., 1995). Durch Cephalotin, Colistin und Polymyxin B könnten einige *C. jejuni*-, *C. coli*- und *C. fetus*-Stämme im Wachstum gehemmt werden. *C. jejuni* ssp. *doylei* und *C. upsaliensis* wachsen grundsätzlich nicht auf cephalotinhaltigen Nährböden. SKM, Campy-BAP, und SSM sollten vorwiegend bei 42 °C eingesetzt werden, da sie bei 37 °C wenig selektiv sind. mCCDA-, CSM-Agar und die Filtermethode (s. u.) sind dagegen auch bei 37 °C hinreichend selektiv. *C. coli* wird am häufigsten auf CSM oder mCCDA nachgewiesen (Kist, 1991; Endtz et al., 1991; Nachamkin, 1995; Bolton et al., 1988; Goossens et al., 1986).

Anreicherungsmedien

Flüssige Anreicherungsmedien (Tab. 2) wurden entwickelt, um bei geringen Keimzahlen (Dauerausscheider, langer Materialtransport, Lebensmittel) eine erhöhte Ausbeute von *Campylobacter* spp. zu erzielen. Sie sind bei Stuhlproben i. d. R. nicht erforderlich, da akut Erkrankte üblicherweise 10^6 – 10^9 Keime/g Stuhl ausscheiden (Blaser, 1995; Kist, 1991).

Isolierung mit der Filtermethode

Die Isolierung mit der Filtermethode basiert auf dem Prinzip, daß *Campylobacter* spp. aufgrund ihrer Beweglichkeit innerhalb kurzer Zeit Cellulose-Triacetat-Membranfilter passieren können. Es wird ein Cellulose-Acetat-Filter mit einer Porengröße von 650 nm (Sartorius, Millipore) auf nicht selektiven Blutagar (z. B. Oxoid Blutagarbasis No. 2 mit 5% Schafblut) gelegt, und die Filteroberfläche mit einer verdünnten Stuhlsuspension (1:10 in physiol. NaCl) bestrichen. Nach einer Inkubation von ein bis zwei Stunden wird der Filter verworfen und die Platten werden im *Campylobacter*-Gasgemisch 72 Stunden bei 37 °C bebrütet. Diese Methode ist besonders geeignet zur Isolation katalasenegativer bzw. Katalase schwach positiver *Campylobacter*-Arten, z. B. *C. jejuni* ssp. *doylei* und *C. upsaliensis*. Die Nachweisgrenze der Methode beträgt 10^4 – 10^5 Keime/pro ml Stuhlsuspension und sollte eine Ergänzung zu Basis- und Selektivmedien darstellen (Goossens et al., 1986; Endtz et al., 1991; Nachamkin et al., 1995).

Inkubationsbedingungen

Für Stuhlproben wird in der Regel eine Inkubationstemperatur von 37 °C oder 42 °C, für extraintestinale Proben von 37 °C empfohlen. Die Bebrütungsdauer beträgt mindestens 42–48 Stunden

(Kist, 1991), manche Autoren erzielen eine signifikant größere Ausbeute, wenn die Medien 72 Stunden bebrütet werden (Endtz et al., 1991).

Die humanpathogenen *Campylobacter*-Stämme benötigen zum Wachstum eine mikroaerophile Atmosphäre mit 5–7% O₂, 7–10% CO₂ und 85% N₂. Die Sauerstoffkonzentration in Kerzenflammtöpfen ist für die Anzucht von *Campylobacter* spp. zu hoch (17–19%). *C. sputorum* bv., *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. curvus*, *C. rectus* und *C. hyointestinalis* ssp. wachsen nur in mikroaerophiler Atmosphäre mit mindestens 6% H₂ (Nachamkin, 1995).

Eine mikroaerophile Atmosphäre kann mit folgenden Methoden erzeugt werden (Kist, 1991):

- Durch Inkubation in Brutschränken mit geregelter O₂- und CO₂-Partialdruck.
- Ein Anaerobentopf mit Manometer und Rückschlagventil wird mit einer Wasserstrahlpumpe bis auf ca. 20–25% Restluft abgesaugt und mit einem fertigen Gasgemisch aus 80% Stickstoff, 10% Wasserstoff und 10% Kohlendioxid bis kurz vor Druckausgleich wieder aufgefüllt.
- Ein Polyäthylenbeutel (Wandstärke mind. 0,2 mm, gasdicht, ca. 20 x 35 cm) wird mit maximal 6 Agarplatten besetzt. Durch mehrmaliges Auffüllen und wieder Auspressen des o. g. Gasgemisches kann eine ähnliche Atmosphäre wie im Anaerobentopf erreicht werden.
- Kommerziell erhältliche Gas-Generierungs-Kits, z. B. Campy Pak® (Becton-Dickinson), *Campylobacter* Gas-generating-Kit® (Unipath/Oxoid) oder Anaerocult C® (Merck), sind gut geeignet und einfach anzuwenden. Sie benötigen mindestens eine 4- bis 6stündige Reaktionszeit bis zur Einstellung des endgültigen Gasgemisches.

Bislang liegt keine systematische Untersuchung zu den Inkubationsbedingungen der flüssigen Anreicherungskulturen vor. Es wurden mehrere Verfahren beschrieben, von statischer Kultur in Flaschen oder Röhrchen bis hin zu Rollkulturen mit Gasdurchströmung (Corry et al., 1995).

Einordnung der *Campylobacter*-Diagnostik in die Enteritis-Diagnostik

In der Regel wird in der Enteritis-Diagnostik eine Kombination verschiedener fester und flüssiger Isolierungssubstrate für die Untersuchung von Stuhlproben oder Rektalabstrichen verwendet. Man benötigt dazu grundsätzlich Brutschränke mit Bebrütungstemperaturen von 25 °C über 37 °C bis hin zu

42 °C. Erforderlich ist der Einsatz von Direkt- und Anreicherungskulturen unterschiedlicher Selektivitätsstufen für den Nachweis von Salmonellen, Shigellen, Yersinien, enteropathogenen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* und *Clostridium difficile*. Für die *C. jejuni*/*C. coli*-Diagnostik hat sich die Einordnung eines *Campylobacter*-Selektivnährbodens, z. B. Preston- oder Skirrow-Agars in dieser Kombination bewährt (Kist, 1983). Die Isolierungsrate für *C. jejuni* bei Einsatz eines Selektiv-Agars beträgt 70–80%. Werden zwei *Campylobacter*-Medien benutzt, können 95% für *C. jejuni* erreicht werden. Wird die Filtermethode in die Diagnostik miteingeschlossen, um die Katalase-negativen, häufig sehr antibiotikasensiblen *Campylobacter* spp. isolieren zu können, so erhöht sich der Arbeitsaufwand beträchtlich (Endtz et al., 1991).

Diagnostik extraintestinaler Infektionen

Besteht klinisch der Verdacht einer extraintestinalen *Campylobacter*-Infektion, so wird ein *Campylobacter*-Basisnährboden bei mikroaerophiler Bebrütung und Bebrütungstemperaturen von 37 °C in die allgemeine bakteriologische Diagnostik miteingebezogen. Werden sehr niedrige Keimzahlen erwartet, kann ein flüssiges Anreicherungsmedium eingesetzt werden. *Campylobacter* spp., besonders *C. fetus*, *C. jejuni* und *C. upsaliensis* können im Bactec®-System (Becton Dickinson/BBL), mit dem BBL® Septi-Chek®-System (Becton Dickinson) oder der BacT/Alert®-Flasche (Organon Teknika) isoliert werden. Andere Systeme, wie z. B. Anaerobier-Flüssigmedien oder das Wampole-Isolator®-System, haben sich als nicht effektiv erwiesen. Für die mikroskopische Beurteilung von positiven Blutkulturen sollte, wenn die Gram-Färbung negativ ausfällt, nachfolgend die Acridinorange-Färbung eingesetzt werden (Wang und Blaser, 1986; Carnahan et al., 1994; Kasten et al., 1990; Misawa et al., 1995a).

Identifizierung

Morphologische und biochemische Differenzierung

Die vorläufige Diagnose von *Campylobacter* spp. ist über das Wachstum auf Selektivmedien und anhand der Koloniemorphologie zu stellen. Auf den Selektivmedien sind die Kolonien von *C. jejuni* und *C. coli* geruchlos, flach, glänzend, zerfließend, in älteren Kulturen manchmal grünlich-metallisch schimmernd, mit der Tendenz zum Schwärmen, wenn der Agar feucht

Tabelle 3 Auswahl biologischer Eigenschaften von 10 *Campylobacter* spp. mit humanpathogener Bedeutung^a

Campylobacter spp. ^b	Biologische Eigenschaften ^b									
	Mikroaerophilie Wachstum bei 25 °C	37 °C	42 °C	Anaerobes Wachstum bei 37 °C	Katalase	Oxidase	Nitrat-Reduktion	Cephalotin 30 µg	Nalidixinsäure 30 µg	H ₂ S
<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>	+	+	+	-	+	+	+	R ^d	S	-
<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	+	+	(+/-) ^a	-	(+/-) ^a	+	-	S	S	-
<i>C. coli</i>	+	+	+	-	+	+	+	R	S	(+/-) ^a
<i>C. fetus</i> ssp. <i>fetus</i>	+	+	(+/-) ^a	(+)	+	+	+	S	R	-/+ ^a
<i>C. fetus</i> ssp. <i>venerealis</i>	+	+	-	D ^c	+D ^a	+D ^a	+	S	R/S	-/+ ^a
<i>C. lari</i>	+	+	+	-	+	+	+	R	R	-
<i>C. upsaliensis</i>	+	+	D	-	-	+	+	S	S	-
<i>C. concisus</i>	+	+	+	+	-	V/+ ^a	+ ^f	R	R	-/+ ^a
<i>C. rectus</i>	-	-	-	+	(+/-) ^a	+	+ ^f	S	R/S	-/+ ^a
<i>C. gracilis</i>	-	-	-	+	(+)	+	+	S	R/S	-
<i>C. sputorum</i> bv. <i>sputorum</i>	-	+	+	+	-	+	+ ^f	S	S	-
<i>C. hyointestinalis</i> ssp. <i>hyointestinalis</i>	+D ^a	+	+	-	+	+	+	R/S	R	+

^a zusammengestellt nach: Cory, 1995; Kist, 1991; Nachamkin, 1995; On, 1996; Vandamme und Goossens, 1992^b Testmedien und Testdurchführung siehe Text^c - selten (1-5% der Stämme) positive Reaktion; (+): 6-29% der Stämme zeigen positive Reaktion; V: 30-69% der Stämme zeigen positive Reaktion
D: 70-90% der Stämme zeigen positive Reaktion; +: 91-99% der Stämme zeigen positive Reaktion^d R: resistent; S sensibel; R/S: Stämme reagieren unterschiedlich^e spez.: Spezies; spp.: Subspezies; bv.: Biovar^f mit Nitritreduktion^g differente Ergebnisse, die teilweise durch die Methodik erklärbar sind

genug ist. Auf Cystein-Blut-Agar nach Beerens mod. bilden *C. jejuni* und *C. coli* grau-braune bis rosafarbene, flache, unregelmäßige, glänzende Kolonien von 1–3 mm Durchmesser mit modrigem Geruch (Kist, 1991; Skirrow, 1990). Hämolyse wird auf bluthaltigen Nährböden im allgemeinen nicht beobachtet. Jedoch können unter bestimmten Bedingungen (pH 6,0–6,5 und verlängerte Bebrütung) alpha- und beta-Hämolyse beobachtet werden (Misawa et al., 1995a).

Nach Prüfung der Oxidase- und Katalase-Positivität, sollte ein Grampräparat oder ein ungefärbtes Nativpräparat hergestellt werden. Im ersten sind *C. jejuni* und *C. coli* gramnegativ und zeigen eine charakteristische gekrümmte bis gewundene Form. Zur Beurteilung der Beweglichkeit wird das Nativpräparat im Phasenkontrastmikroskop begutachtet. Dabei sieht man bei jungen Kulturen kurze Stäbchen mit zwei bis drei Windungen, die sich lebhaft hin und her bewegen. Daneben finden sich längere, korkenzieherartige Zellen. In älteren Kulturen sieht man überwiegend kokkoide Zellen und kaum noch bewegliche, gewundene Stäbchen. *C. fetus* bildet zarte, graue, selten schwärmende Kolonien und zeigt im mikroskopischen Bild eher längere filamentöse Strukturen mit längeren Windungen und wenig kokkoide Formen (Endtz et al., 1991; Kist, 1991).

Folgende einfache Verfahren haben sich in der Differenzierung der *Campylobacter* spp. bewährt: das Wachstumsverhalten bei verschiedenen Temperaturen und in anaerob bzw. aerob Atmosphäre, die Katalase- und Oxidase-reaktion, die Nitratreduktion, die Antibiotikaempfindlichkeit, die Produktion von H_2S , die Hippurathydrolyse, die Indoxyl-Acetat-Hydrolyse sowie das Wachstum auf MacConkey-Nährboden. Die Reaktionsausfälle sind in Tabelle 3 angegeben. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, sollten standardisierte Suspensionen und Inokula für die Tests benutzt werden.

Temperaturreihe: In Reinkultur gezüchtete *Campylobacter* werden in Herz-Hirn-Bouillon bis zu einer Dichte von McFarland Standard No.1 eingerieben. Anschließend wird ein Tupfer in die Suspension eingetaucht, und damit antibiotikafreies *Campylobacter*-Basismedium oder Mueller-Hinton-Medium mit 5% Schafblut beimpft. Die Platten werden in mikroaerophiler Atmosphäre bei 25 °C, 37 °C und 42 °C für 24–48 h bebrütet und anschließend das Wachstum beurteilt (Nachamkin, 1995).

Anaerobe Bebrütung: Geeignet hierfür ist die Beurteilung des Wachstums auf Cystein-Blut-Platten nach Beerens mod. oder auch eines anderen nicht-

selektiven *Campylobacter*-Mediums nach Bebrütung für mindestens 48 h bei 37 °C im GasPak®-Topf mit der Zugabe eines Anaerobier-Gas-Generator Kits (z. B. Anaerocult A, Merck). Die Beimpfung erfolgt wie bei der Temperaturreihe.

Katalase: Bakterien nach 24stündiger Bebrütung (nicht von erythrozytenhaltigen Nährböden, Kochblut ist möglich) mit Plastiköse auf einen Objektträger geben und 1 Tropfen 3%ige H_2O_2 -Lösung zusetzen. Die Entwicklung von Gasblasen zeigt die Bildung von Katalase an.

Oxidase: Für die Oxidase-reaktion sind verschiedene, kommerziell erhältliche Lösungen, Teststreifen oder -blättchen in Gebrauch (z. B. Pathotec®-Streifen), die entsprechend den Herstellerangaben zu benutzen sind. Eine stabile Lösung ist DMPM (N,N-Dimethyl-p-phenyldiamin-monohydrochlorid), die auf die verdächtigen Kolonien aufgetropft wird und bei Oxidasepositivität der Bakterien eine blaue Verfärbung der Kolonie bewirkt. Ebenso gebräuchlich sind mit der Testlösung getränkte und anschließend getrocknete Filterstreifen, die sich nach Aufstreichen von oxidasepositiven Keimen blau verfärben.

Nitratreduktion/Nitritreduktion: 1 ml Indol-Nitrit-Medium (Difco) mit *Campylobacter*-Reinkultur (10 µl-Öse) beimpfen und 48 Stunden bei 37 °C in mikroaerophiler Atmosphäre bebrüten. Nitritbildung mit 2 Tropfen Sulphanilsäure und 2 Tropfen essigsäurem 1-Naphtylamin (API-BioMérieux) nachweisen. Rotfärbung zeigt Nitritbildung (positiv) an. Tritt keine Rotfärbung auf, so ist nach Zugabe von Zinkpulver der weitere Abbau von Nitrat über Nitrit hinaus zu prüfen. Bleibt die Rotfärbung weiterhin aus, so ist der Reduktionstest als positiv zu bewerten.

Antibiotikaempfindlichkeit: Der eingesetzte Basismedium mit Preston- oder Skirrow-Supplement (Cephalotinfrei) wird mittelstark unter zweimaliger Fraktionierung mit der Stuhlprobe beimpft, und auf den ersten Sektor werden ein Cephalotin-Blättchen (30 µg) und ein Nalidixin-Blättchen (30 µg) gelegt. Die Inkubation erfolgt idealerweise bei 37 °C in mikroaerophiler Gasatmosphäre für 24–48 Stunden. Treten Hemmzonen um die Antibiotikablättchen auf, so sind die Bakterien als empfindlich einzustufen (Nachamkin, I., 1995). Wegen der zunehmenden Resistenzentwicklung von *C. jejuni* gegen Fluorochinolone berichtet wird, stellt eine Nalixidinsäure-Resistenz keine Ausschlussdiagnose für *C. jejuni* dar.

H_2S -Bildung: Die Oberfläche eines

Kligler-Agars oder eines Drei-Zucker-Eisen-Agars wird mit einer *Campylobacter*-Kultur beimpft. Alternativ kann Brucella-Bouillon mit Zusatz von 0,02% Cystin verwendet werden. In das Röhrchen wird ein Papierstreifen mit Bleiazetat eingehängt und zwei Tage bei 37 °C inkubiert. Schwarzfärbung zeigt H_2S -Bildung an. Der H_2S -Nachweis mit dem Bleiazetatstreifen ist die empfindlichere Methode. Herstellung des Bleiazetatstreifens: Filterpapierstreifen mit 5%iger Bleiazetatlösung tränken, lufttrocknen, dann 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Streifen zwischen Stopfen und Röhrchenwand in den Luftraum über das beimpfte Substrat einklemmen.

Indoxyl-Acetat-Hydrolyse: Auf die mit 0,025 ml Indoxylacetat (10%ig, gelöst in Aceton, Sigma) beschickten und getrockneten Filterplättchen (0,6 cm, BBL) eine Öse frisch gewachsener Kolonien aufbringen, mit 0,02 ml Wasser befeuchten und bei Raumtemperatur aufbewahren. Nach 10–15 min zeigt intensive Blaufärbung die Hydrolyse (positiv) an. Schwache Blaufärbung nach 10–30 min ist als schwach positive Reaktion einzustufen (Popovic-Uroic et al., 1990).

Hippuratspaltung: Die Hippursäurehydrolyse ist das entscheidende Merkmal zur Unterscheidung von *C. jejuni* spp. von anderen *Campylobacter*-Arten. Dazu wird 0,4 ml einer 1%igen Hippuratlösung mit einer vollen 10 µl-Öse *Campylobacter*-Kulturmaterial (nach 48stündiger Inkubation) beimpft und 2 Stunden bei 37 °C bebrütet. 0,2 ml Ninhydrinlösung (3,5%ig in einer 1:1 Mischung von Butanol/Aceton) zugeben. Nochmals für 10 min bei 37 °C bebrüten. Tiefe dunkelviolette Verfärbung des Mediums zeigt Hippuratspaltung (positiv) an. Als Positivkontrolle werden B-Streptokokken, als Negativkontrolle A-Streptokokken mitgeführt. Das Produkt der Hippurat-Hydrolyse, Benzoesäure, kann alternativ mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie gemessen werden. Diese spezifischere Methode ist für die Routinediagnostik jedoch kaum geeignet (Nicholson und Patton, 1995).

Wachstum auf MacConkey-Agar: Der MacConkey-Agar ist ein Nährboden der Selektivitätsstufe 1 (DIN, 1991a; Kist, 1983), der routinemäßig zur Anzüchtung von *Enterobacteriaceae* und Non-Fermentern in der Stuhl-diagnostik eingesetzt wird. Die Gallensalze und das Kristallviolett hemmen weitgehend die grampositiven Keime im Wachstum. Keime aus der *Proteus*-Gruppe schwärmen nicht. Enterokokken und Vibrionen wachsen ebenfalls auf diesem Nährboden. Die Prüfung des Wachstums sollte mit einer

Subkultur der verdächtigen *Campylobacter* spp. bei 37 °C und in mikraero-philer Atmosphäre erfolgen.

Vorgefertigte Testsysteme: Eine kommerziell erhältliche biochemische Testreihe zur Identifizierung von *Campylobacter* spp. und verwandten Arten ist das API-Campy®-System (API-BioMérieux). Dieses Testbesteck umfaßt 21 Tests, unterscheidet 18 Taxa und ist einfach zu handhaben. Probleme tauchen bei der Identifizierung von *C. concisus*, *C. mucosalis*, einigen *C. coli*- und *C. lari*-Stämmen sowie *A. butzleri* auf (On, 1996).

Serologische Differenzierung

An Latexpartikel gebundene Immunglobuline können im Anschluß an die Primärkultur zur Identifizierung von *Campylobacter* spp. eingesetzt werden. Es gibt zur Zeit drei käufliche Latexagglutinationsteste: CampySlide® (BBL), Meritec Campy® (Meridian Diagnostics) und Microscreen® (Mercia Diagnostics). Die Tests sind als schnelle Identifizierungshilfe der thermophilen enteropathogenen *Campylobacter* spp. (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* und *C. upsaliensis*) gedacht. Die Sensitivität beträgt 70–80%. Zum direkten Nachweis aus Lebensmitteln, Stuhl oder Anreicherungskulturen sind die Latexteste nicht geeignet, die Sensitivität beträgt je nach Kontaminationsrate mit anderen Keimen 15–69%. Es wurden zahlreiche andere, jedoch bis jetzt nicht käufliche, empfindlichere immundiagnostische Methoden entwickelt. Diese arbeiten auf der Basis enzym-, fluoreszen- oder farbmarkierter polyklonaler oder monoklonaler Antikörper in Immunoassays oder Immunoblots verschiedenster Anordnung. Ebenso wurden Immunodiffusionsassays entwickelt, die die sichere Unterscheidung von *Campylobacter* spp. erlauben (On, 1996).

Fettsäureprofil

Die Unterscheidung der *Campylobacter*-Arten anhand der länger-kettigen Fettsäuren ist möglich. Die am häufigsten benutzte Methode ist die Bestimmung der Fettsäuremethylester (FAME) mit der Gaschromatographie. Dafür werden die isolierten *Campylobacter* spp. auf speziellen blutfreien Nährböden gezüchtet, geerntet, und das Kulturmaterial in NaOH/ Methanol verseift. Anschließend werden die freien Fettsäuren gewaschen, extrahiert und methyliert. Die Identifizierung erfolgt anhand der Retentionszeiten der Fettsäuren in der Chromatographiesäule und ihres prozentualen Anteiles am Gesamtfettsäuregehalt. Der Vergleich mit Standard-Chromatogrammen er-

folgt visuell oder durch Computerprogramme. Inzwischen ist ein käufliches Identifizierungsprogramm (MIDI Sherlock von Microbial ID, Newark, Delaware) auf dem Markt, welches 17 *Campylobacter* Species und Subspecies unterscheiden kann. Die Methode ist, einmal etabliert, sehr sicher und schnell, aber teuer (On, 1996).

Proteinprofil

Stabile und reproduzierbare Proteinprofile zur Identifizierung und Typisierung von *Campylobacter* spp. erhält man mit den Methoden der Alleloenzymmuster-Analyse (Multilokusenzym-Elektrophorese) und der Ganzzell-Proteinanalyse in der Sodium-Dodecyl - Sulfat - Polyacrylamid - Gelelektrophorese (SDS-Page). Mit inzwischen kommerziell erhältlicher Computersoftware, z. B. GelCompar® (Applied Maths, Kortrijk, Belgien) oder Gelmanager® (Bio Systematica, Prag, Tschechische Republik), lassen sich die Profile auf der Basis numerischer Analysen gut auswerten (On, 1996). Besonders die Ganzzell-Proteinelektrophorese nach Sodium-Dodecyl-Sulfat-Extraktion wurde erfolgreich in umfangreichen taxonomischen Studien eingesetzt und erlaubt eine klare Differenzierung zwischen einzelnen *Campylobacter* spp. (Vandamme und Goossens, 1992).

Molekularbiologische Verfahren

Genusspezifische DNA-Sonden für Mitglieder der rRNA-Superfamilie VI wurden für das Genus *Campylobacter* beschrieben. Kommerziell erhältliche DNA-Sequenzen, die gegen *Campylobacter* spp. 16S rRNA gerichtet sind, sind z. B. AccuProbe® von Gene-Probe (Biermann Diagnostika), SNAP® von Syngene (Kalifornien) und ein Test von Enzo Biochemicals (New York). In den beiden letzteren Testsystemen wird die Ziel-DNA vor der Hybridisierung auf einer mitgelieferten Membran immobilisiert. Die Sonden sind mit alkalischer Phosphatase bzw. Biotin markiert. Mit AccuProbe® können *C. jejuni*, *C. jejuni* ssp. *doylei*, *C. coli* und *C. lari* identifiziert werden. Für diese Methode wird ein Luminometer für die Messung der Chemolumineszenzreaktion benötigt.

Häufig sind *Campylobacter* spp. aus Lebensmittel- oder Wasserproben auf künstlichen Nährmedien durch subletale Schädigung nicht mehr anzüchtbar, weshalb die Nukleinsäurediagnostik die einzige Möglichkeit darstellt, um *Campylobacter* direkt im Untersuchungsmaterial nachzuweisen. Species-spezifische Sonden für die Ganzzell-DNA-Hybridisierung oder für einzelne Genomfragmente von *Campylobacter* spp. wurden zur Identifizierung

und Typisierung entwickelt, sind aber ebensowenig kommerziell erhältlich wie Species-spezifische Oligonukleotidsonden von klonierten DNA-Sequenzen, z. B. Sequenzen des Flagellin-Gens oder des *mapA*-Gens. Synthetische *Campylobacter* spp. 16S rDNA-Sequenzen zur Herstellung von Sonden sind z. B. über Gen Bank (Los Alamos, New Mexico) erhältlich. Diese Methoden sind als Bestätigungsreaktionen bei unsicheren biochemischen Ergebnissen sowie bei entsprechender Weiterentwicklung für den Direktnachweis aus Proben von Patienten und aus der Umgebung geeignet. Zur Steigerung der Nachweisempfindlichkeit kann *Campylobacter*-DNA oder -RNA mittels PCR oder NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) vor der Hybridisierung vervielfältigt und angereichert werden (On, 1996).

Typisierung

Zur Feststellung von Infektionsquellen und Übertragungswegen wurden verschiedene Typisierungssysteme für *C. jejuni* und *C. coli* entwickelt. Im Sinne der komplexen Typisierung werden häufig zwei oder mehr Methoden kombiniert eingesetzt. Die Serotypisierung, die Biotypisierung, die Proteinanalyse, die Phagotypisierung, der Restriktions - Fragment - Längen - Polymorphismus (RFLP), die Multilocus-Enzymanalyse (MEA) und die Ribonukleinsäure-Typisierung sind etablierte Methoden der Typisierung (Patton und Wachsmuth, 1992, Thurm und Dinger, 1993).

Serovar-Bestimmung

Die Serotypisierung auf der Basis von hitzelabilen und hitzestabilen Antigenen wird nach den Schemata von Lior et al. (1982) sowie Penner und Hennessey (1980) durchgeführt. Diese erlauben, die wichtigsten Enteritisserreger, *C. jejuni* ssp. *jejuni*, *C. coli* und *C. lari* in 112 bzw. in 65 verschiedene Serogruppen einzuteilen. Die jeweiligen Serogruppen werden üblicherweise mit der Bezeichnung des agglutinierenden Antiserums und dem entsprechenden Namenspräfix, also LIO oder PEN bezeichnet. Innerhalb der Species *C. fetus* werden aufgrund hitzestabiler Antigene 3 Serogruppen (A, B, C) unterschieden (Nachamkin, 1995; Skirrow, 1990). Fast alle Isolate waren in einer Vergleichsstudie mit diesen beiden Schemata typisierbar und erfaßten *C. jejuni*-Stämme sowohl humanen als auch nicht humanen Ursprungs. Die thermostabilen somatischen (O) Antigene werden nach Penner und Hennessey (1980) mittels Indirekter Hämagglutination (IHA) in Mikrotiterplatten getestet. Die Antiseren sind in diesem

System nicht absorbiert. Das Agglutinationsverfahren nach Lior ist als Objektträgeragglutination einfacher durchzuführen und einfacher zu interpretieren (Patton et al., 1985). Absorbierte Seren nach Lior können bei der Firma Sopar Biochem., 124, Besmestraat in Brüssel bezogen werden. Es lassen sich jedoch mit den käuflichen Antiseren nur 40–50% der isolierten Stämme typisieren. 20% zeigen gar keine Agglutination und weitere 15% nur mit nicht absorbierten Antiseren. 20% der Isolate sind autoagglutinable Stämme oder Rauhstämme. Dies läßt sich umgehen, indem man vorwiegend frische Stämme serotypisiert (Bär et al., 1989).

Biovar-Bestimmung

Die Biotypisierung beruht auf der Kombination und Zusammenfassung verschiedener biologischer Eigenschaften der *Campylobacter* spp. zu Biotypen. Die Schemata nach Bolton und Lior sind am besten untersucht. Bolton et al. (1984) entwickelten ein Biotypisierungsschema basierend auf der Hippurat-Hydrolyse, der DNA-Hydrolyse, der Resistenzeigenschaften und der Temperaturtoleranz. *C. jejuni*, *C. coli* und *C. lari* können anschließend anhand eines Zahlenschemas in Biotypen eingeteilt werden. Ein weiteres Biotypisierungssystem ist die Methode nach Lior (Lior, 1984; Bär et al., 1989), in der *Campylobacter jejuni*, *C. coli* und *C. lari*-Stämme nach ihrer Resistenz gegenüber Cephalotin und Nalidixinsäure, nach der Fähigkeit zur Hippurat-Hydrolyse sowie nach der DNase- und H₂S-Produktion in Biotypen unterteilt werden können.

Lysovar-Bestimmung

Die 19 Phagen für das Bakteriophagen-Typisierungsschema von Grajewski et al. (1985), modifiziert nach Khakhria und Lior (1992), wurden aus Geflügelkot isoliert. *C. jejuni* und *C. coli* können anhand der Lysisbilder und eines daraus resultierenden Zahlencodes in 46 Phagentypen (Lysovars) eingeteilt werden. 61–93% der *Campylobacter*-Isolate aus 17 verschiedenen Ländern waren typisierbar (Khakhria und Lior, 1992). Die Phagen können z. T. über die American Type Culture Collection (ATCC) und die National Collection of Type Cultures (NCTC) bezogen werden.

Sonstige Typisierungsverfahren

Die Multilocus-Enzymanalyse (MEA) und die Ganzzell-Proteinanalyse in der SDS-Page sowie der Restriktions-Fragment - Längen - Polymorphismus

(RFLP) in der Pulsfeldelektrophorese und die Ribotypisierung sind technisch komplexe Methoden, die mittels numerischer Analysen und computerisierter Bandenvergleiche zur Typisierung von *Campylobacter*-Stämmen herangezogen werden. Zwischen der Analyse von Protein- oder Enzymprofilen und den molekularbiologischen Methoden wird dabei eine gute Korrelation beobachtet (On, 1996).

Nachweis von Antikörpern im Serum

Serumantikörper der Klassen IgG, IgM und IgA können innerhalb von 1–3 Wochen nach Infektionsbeginn nachgewiesen werden. Akute Infektionen werden innerhalb der ersten Wochen durch den Anstieg des Serum-IgA und den Nachweis von fäkalem IgA angezeigt. Die spezifische IgA-Antikörperantwort im Intestinum und im Serum scheint verantwortlich zu sein für einen Schutz gegen rekurrende Infektionen. Anti-*C. jejuni*-IgA wird mit der Muttermilch übertragen, ein Schutzeffekt ist jedoch bisher nicht nachgewiesen. Spezifisches Anti-*C. jejuni*-IgA im Intestinum immobilisiert die Bakterien durch Aggregation und aktiviert das Komplementsystem über den alternativen Weg (Wallis, 1994).

Zur Antikörperdiagnostik der *Campylobacter*-Infektionen werden Komplementbindungsreaktion (KBR), Immunfluoreszenz (IF) und Enzyme-linked-Immunsorbent-Assay (ELISA) eingesetzt. In der KBR werden Antigenpräparationen von *C. jejuni* und *C. coli* (Fa. Virion) eingesetzt. Ein meßbarer Antikörpertiter stellt sich in der KBR 1–3 Wochen nach der Infektion ein. Der maximal erreichbare Titer liegt bei 1:40. Der Antikörpertiter persistiert in der KBR über einen langen Zeitraum. Patienten mit *Campylobacter*-Infektionen geben möglicherweise falsch positive Reaktionen in *Legionella*-Antikörper-Testen (IF) (Kist, 1991; Holländer, 1983). Für die Infektionsdiagnostik ist der Nachweis von Antikörpern nicht geeignet. Durch die Antigenheterogenität und die Vielzahl der Serotypen ist der Wert der Antikörperteste eingeschränkt und ersetzt nicht den direkten Keimnachweis im Stuhl.

Resistenzbestimmung

Empfindlichkeitsbestimmungen mit dem Agardiffusionstest oder die Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration mit dem Agardilutions-test sind für *Campylobacter*-Stämme nicht standardisiert. Dennoch sollten sich Durchführung und Auswertung an den Vorschriften des Deutschen Instituts für Normung (DIN) orientieren (DIN, 1991b). Für die Agardiffusions-

methode wird Mueller-Hinton-Agar, supplementiert mit 5% Schafblut, 16–18 Stunden in mikroaerophiler Atmosphäre bebrütet. Folgende Substanzen sollten bei der Resistenztestung im Agardiffusionstest eingesetzt werden: Ampicillin (Blättchenbeschickung 10 µg), Amoxicillin-Clavulansäure (20/10 µg), Cefotaxim (10 µg), Tetracyclin (30 µg), Gentamicin (10 µg), Imipenem (10 µg), Erythromycin (15 µg) und Ciprofloxacin (5 µg) (Reina et al., 1994; Tenover et al., 1992).

Mit dem E-Test® (PDM Epsilon-meter, AB Biodisk) kann die Minimale Hemmkonzentration ebenfalls gemessen werden (Huang et al., 1992).

Resistenzsituation und Therapie

C. jejuni ist meist empfindlich gegen Erythromycin, Aminoglykoside, Ciprofloxacin, Tetracyclin und Clindamycin. Die Resistenzquote gegen Erythromycin beträgt in verschiedenen Ländern zwischen 1–20%, in Deutschland etwa 1–9%. Konjugative plasmid-assoziierte Antibiotikaresistenzen existieren für Tetracyclin (5–30% der Stämme) und Kanamycin. Ebenso sind Resistenzen gegen Trimethoprim, Colistin und Carbenicillin beschrieben. Auffällig ist die zunehmende Resistenz der *C. jejuni*-Stämme gegen Ciprofloxacin und Nalidixinsäure. Diese Substanzen sollten nur nach Empfindlichkeitsbestimmung eingesetzt werden (Thurm und Dinger, 1993; Reina et al., 1994). *C. fetus* ist generell sensibel gegenüber Penizillinen und den meisten Cephalosporinen sowie Ciprofloxacin, aber resistent gegenüber Nalidixinsäure sowie Metronidazol.

In der Regel besteht die Behandlung der *Campylobacter*-Enteritis aus oraler Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution sowie der Gabe von Antipyretika und Analgetika. Eine antibiotische Behandlung der *Campylobacter*-Enteritis ist meist nicht angezeigt, sollte aber generell bei protrahierten fieberhaften Verläufen und bei Rezidiven angesetzt werden. Erythromycin (oral bis zu 3 x 500 mg/d für 5–7 Tage) kann *Campylobacter* aus dem Stuhl eliminieren und die Dauer der Symptomatik verkürzen, sofern die Therapie innerhalb von 48 Stunden nach Beginn der klinischen Symptome einsetzt. Alternativ können anhand des Resistogramms Ciprofloxacin (2 x 250 mg/d), Amoxicillin (3 x 0,5–1 g/d) oder Tetracyclin (3 x 250 mg/d) oral eingesetzt werden. Kinder erhalten 50 mg Erythromycin/kg/d (Blaser, 1995; Tenover et al., 1992).

Sehr schwer systemisch erkrankte Patienten erhalten nach Empfindlichkeitsprüfung intravenös Aminoglykoside (z. B. Gentamicin 2–3 mg/kg/d),

Imipenem (3 x 250 mg/d) oder Cefotaxim (2–3 x 1g/d). Da 83–92 % der *C. jejuni* und *C. coli*-Stämme β -Laktamasen bilden, sind Penicillin und viele Schmal- und Breitspektrum-Cephalosporine unwirksam (Taylor D E. und P. Courvalin, 1988). Amoxicillin oder Ticarcillin kombiniert mit Clavulansäure wurden jedoch mit Erfolg eingesetzt. Ebenso kann Cefotaxim (Minimale Hemmkonzentration (MHK) 2–32 mg/l) eingesetzt werden. Septikämien durch *C. fetus* sollten mit einer Kombinationstherapie aus Gentamicin plus Erythromycin oder Clindamycin (Simon, C. und W. Stille, 1993) behandelt werden. Bei Verdacht auf Endokarditis ist die Antibiotikatherapie auf 4 Wochen auszudehnen. Meningitiden sollten, immer nach Resistenztestung, mit Dritte-Generation-Cephalosporinen oder Ampicillin behandelt werden (Blaser, 1995; Skirrow, 1990).

Prophylaxe

Expositionsprophylaxe

Die wichtigsten prophylaktischen Maßnahmen zur Eindämmung von Infektionen durch *Campylobacter* spp. sind die einwandfreie Abwasserentsorgung und der hygienische Umgang mit Lebensmitteln. Die Pasteurisierung von Milch und eine Schlachttechnologie, welche die äußere Kontamination von Geflügelfleisch aus dem Darm der Tiere während der Schlachtung verhindert, sind weitere Maßnahmen der Prophylaxe. Tier-, besonders Geflügelbestände könnten vermehrt *Campylobacter*-frei aufgezogen werden, wenn die Populationen regelmäßig untersucht würden (Thurm und Dinger, 1993; Humphrey, 1995). Die Infektionsprophylaxe bei Hühnern mit Fluorochinolonen, wie z.B. Enrofloxacin, ist wegen der Resistenzentwicklung von *Campylobacter* spp. beim Menschen inzwischen wieder verlassen worden (Blaser, 1995).

Die persönliche Vorsorge mit der Beachtung hygienischer Vorsichtsmaßnahmen bei Auslandsreisen sowie beim Umgang mit Haustieren, bei der Zubereitung von Lebensmitteln, besonders Geflügel, und Verzicht auf rohe Milch, sind geeignet, um eine Infektion mit *Campylobacter* spp. zu verhindern (Humphrey, 1995).

Die Schutzmaßnahmen im stationären Bereich bestehen im Tragen von Schutzkitteln und Handschuhen mit anschließender hygienischer Hän-

dedesinfektion bei direktem Kontakt mit dem Patienten, der erregereichen Fäces oder kontaminierten Objekten. Eine routinemäßige Desinfektion ist ebenfalls erforderlich für patientennahe Flächen, Instrumente, Geschirr, Wäsche und andere Textilien. Einzelunterbringung ist empfehlenswert. Fäces können undesinfiziert einer Kanalisation zugeführt werden (Bundesgesundheitsblatt 37, Sonderheft, 1994).

Dispositionsprophylaxe

Eine aktive Impfung steht bislang nicht zur Verfügung. Die Entwicklung der Impfstoffe konzentrierte sich auf die Suche nach geeigneten Epitopen zur Herstellung einer Totvakzine. Bisher sind die Erfolge noch unbefriedigend, da die immunogen wirksamen Antigene der *Campylobacter*-Zellen gleichzeitig mit einer hohen Variabilität belastet sind. Erste Ergebnisse mit einer attenuierten Lebendvakzine, ähnlich wie die Typhus- oder Choleraimpfung, liegen nur im Ansatz vor (Guerry et al. 1994). Immunisierungsversuche an Mäusen wurden mit einer oralen *Campylobacter*-Ganzzellvakzine unternommen (Baqar et al. 1995).

Zusammenfassung

Campylobacter spp. sind mikroaerophile, langsam wachsende, anspruchsvolle Bakterien. Seit 1988 wurden laufend neue *Campylobacter*-Species beschrieben. Damit wurde die Entwicklung geeigneter Tests für die Identifizierung schwieriger und die epidemiologische Situation unübersichtlicher. Gleichzeitig mußte die Taxonomie des Genus *Campylobacter* erheblich revidiert und erweitert werden. Zur Zeit sind 15 Species und 6 Subspecies beschrieben. Die wichtigsten Identifizierungsmethoden sind phänotypische Tests. Zunehmend werden auch molekularbiologische Methoden zur Identifizierung und Typisierung eingesetzt. Bis vor 20 Jahren wurden mit der *Campylobacter*-Infektion lediglich sporadisch auftretende Aborte bei Schafen und Rindern und die weltweit bekannte infektiöse Infertilität bei Rindern in Zusammenhang gebracht. Während des letzten Jahrzehnts aber hat sich gezeigt, daß *Campylobacter* spp., besonders *C. jejuni* und *C. coli*, neben den Enteritis-Salmonellen zur wichtigsten Ursache von Durchfallerkrankungen in Industrieländern geworden ist. Die Infektion erfolgt durch Aufnahme von kontaminierten Speisen oder Was-

ser und roher Milch. Die spiralförmigen und begeißelten Bakterien erreichen die intestinalen Zellen durch eine starke, auch im Mikroskop zu beobachtende Beweglichkeit. Ein Enterotoxin und Zytotoxine werden u. a. als Ursache für die wäßrige, oder auch blutige und eitrige Diarrhoe diskutiert. Viele Infektionen verlaufen allerdings asymptomatisch. In fast allen Fällen der *Campylobacter*-Enteritis kommt es unter rein symptomatischer Therapie zu Spontanheilungen. Patienten mit Immunsuppression neigen zu chronisch-protrahierten Verläufen. Im Falle schwerer Verläufe wie auch zur Abkürzung der Symptomatik kann Erythromycin oder nach Resistenzbestimmung Ciprofloxacin gegeben werden. Extraintestinale Erkrankungen durch *C. jejuni* und *C. coli* wurden beschrieben. Persistierende Arthritiden oder das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) sind seltene Folgeerkrankungen nach *Campylobacter*-Enteritiden. *C. fetus* ssp. *fetus* ruft fast ausschließlich extraintestinale Infektionen bei immungeschwächten Patienten hervor, die immer mit Antibiotika in Kombinationstherapie behandelt werden müssen. Die *Campylobacter*-Infektion induziert eine Immunität, welche jedoch nicht immer vor rekurrenden Infektionen schützt. Die wichtigste Methode zur allgemeinen Infektionsprophylaxe besteht in der Sanierung von Nutztierbeständen, besonders Geflügel.

Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. med. M. Kist, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Klinikum der Albert-Ludwigs Universität Freiburg, sehr für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

(Literatur beim Verlag)

Anschrift der Verfasserin:

Dr. med. Evelyn Heintschel
von Heinegg
Institut für Medizinische
Mikrobiologie
(Dir.: Prof. Dr. med. R. Ansorg)
der Universität-GH Essen
Hufelandstraße 55
D-45122 Essen