

VIDENSKAB OG PRAKSIS | SEKUNDÆRPUBLIKATION

belastningen, der generelt synes at være lavt, ligesom teknikken let og relativt billigt kan indføres. På nuværende tidspunkt sætter en ultramobil, trådløs enhed med en højopløsningskærm til visning af 12-aflednings-ekg den kardiologiske bagvagt i stand til at foretage hurtig diagnostik, hvilket medfører hurtig responstid og dermed overflytning og optimal patientbehandling. Ændringer af sygehusstrukturen og eventuelt større optageområder for det enkelte hjertecenter kan dog med tiden medføre behov for andre løsninger.

Korrespondance: Søren Hjortshøj, Kardiologisk Afdeling S, Aalborg Sygehus, DK-9100 Aalborg. E-mail: sph@dadlnet.dk

Antaget: 2. april 2004

Interessekonflikter: Ingen angivet

Taksigelser: Forfatterne takker 1. reservelægerne ved Kardiologisk Afdeling S, Aalborg Sygehus for medvirken til dataregistrering

Litteratur

1. Andersen HR, Nielsen TT, Rasmussen K et al. A comparison of coronary angioplasty with fibrinolytic therapy in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;349:733-42.
2. Terkelsen CJ, Nørgaard BL, Lassen JF et al. Præhospital diagnostik og reduktion af behandlingsforsinkelser for patienter med akut ST-elevationsmyokardieinfarkt. *Ugeskr Læger* 2003;165:4001-5.
3. Terkelsen CJ, Nørgaard BL, Lassen JF et al. Telemedicinsk præhospital fjern-diagnostik af patienter mistænkt for akut myokardieinfarkt. *Ugeskr Læger* 2003;165:4015-20.
4. Kardiologiske aspekter af den præhospital behandling i Danmark. Rapport fra Dansk Kardiologisk Selskabs arbejdsgruppe omkring den præhospital indsats. www.cardio.dk/sw97.asp/marts2004.
5. Leibrandt PN, Bell SJ, Savona MR et al. Validation of cardiologists' decisions to initiate reperfusion therapy for acute myocardial infarction with electrocardiograms viewed on liquid crystal displays of cellular telephones. *Am Heart J* 2000;140:747-52.

Beskyttelse mod infektioner med enterotoksigenene *Escherichia coli*

Forsker Hans Steinsland, læge Palle Valentiner-Branth, seniorforsker Håkon K. Gjessing, professor Peter Aaby, professor Halvor Sommerfelt & overlæge Kåre Mølbak

Bandim Health Project, Guinea-Bissau, Universitetet i Bergen, Senter for Internasjonal Helse, Afdeling for Mikrobiologi og Immunologi og Sektion for Medisinsk Statistik, og Statens Serum Institut, Afdeling for Epidemiologisk Forskning og Epidemiologisk Afdeling

Resumé

Introduktion: Enterotoksigenene *Escherichia coli* (ETEC) er en vigtig årsag til sygelighed og dødelighed hos børn i udviklingslande. I 25 år har man i udviklingen af en vaccine mod ETEC fokuseret på vacciner, der er rettet mod koloniseringsfaktor antigener (CF) og det varmelabile enterotoksin (LT). Det er vist, at vacciner med komponenter, som giver immunitet mod LT, til dels beskytter mod diaré som følge af LT-positive ETEC. Derimod er effekten af at medtage CF i vaccinen usikker. For at give en indikation på, hvor stor beskyttelse toksin- og CF-baserede vaccinekandidater kan give, estimerede vi den beskyttende effekt af naturlige ETEC-infektioner.

Materiale og metoder: I en prospektiv kohorteundersøgelse i Guinea-Bissau blev 200 nyfødte børn fulgt ugentligt til de var op til to år gamle. Ændringer i raten af ETEC-infektioner efter en primær ETEC-infektion blev bestemt i en overlevelseseanalyse. Vi bestemte den beskyttelse, som kan tilskrives toksin, CF, og andre faktorer fælles for ETEC med samme toksin-CF-profil.

Resultater: Der var en 47% (95% konfidensinterval, 12-69%) beskyttelse mod nye infektioner af ETEC med samme toksin-CF-

profil. Det tilsvarende estimat for CF var -1% (-40-27%). Videre inducerede infektion med LT-positive ETEC beskyttelse mod symptomatisk infektion med ETEC, der var positive for det samme toksin.

Diskussion: Andre antigener end koloniseringsfaktorer har sandsynligvis stor betydning for beskyttende immunitet mod ETEC-infektioner.

Enterotoksigenene *Escherichia coli* (ETEC) er defineret som *E. coli*, der producerer varmelabile og/eller varmestabile enterotoksiner [1]. Det varmelabile toksin har på det molekylære og patofysiologiske plan et vist slægtskab med koleratoksin. Det kliniske spektrum ved infektion går fra asymptomatisk kolonisering over mild diaré til akut vandig diaré med koleralignende symptomer. ETEC er endemisk i områder med mangelfuld vandforsyning og sanitære anlæg. Infektionerne bidrager til udvikling af underernæring og forårsager millioner af diaréepisoder og flere hundredetusinde dødsfald hvert år [2, 3]. Hårdest ramt er småbørn i udviklingslandene. ETEC er tillige den vigtigste enkeltårsag til rejsediarré [4]. Bekæmpelsen af ETEC består af at forbedre behandlingen af akut diaré, fremme amning og højne hygiejne, sanitet og vandforsyning [5] samt i bestræbelser på at udvikle vaccinekandidater, mod en gruppe overfladeproteiner kaldet koloniseringsfaktorer (CF) og mod de diaréfremkaldende enterotoksiner [6]. De fleste CF er hårlignende strukturer på bakteriens

VIDENSKAB OG PRAKSIS | SEKUNDÆRPUBLIKATION

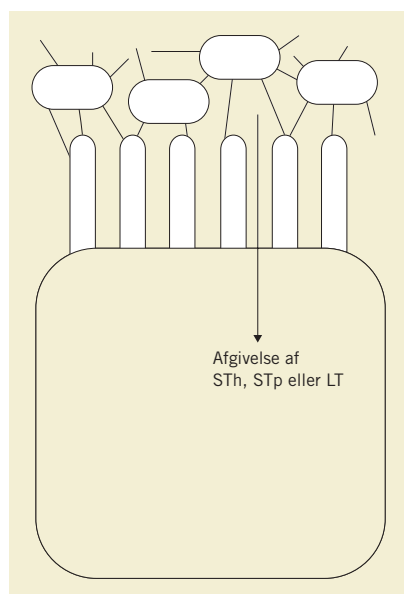
overflade, som bidrager til at fæste bakterien til tarmvæggen (Figur 1) [7]. ETEC producerer et eller to forskellige enterotoksiner og kan danne op til tre forskellige CF. På nuværende tidspunkt er 21 forskellige CF blevet beskrevet. De mest virulente ETEC-stammer ser ud til at producere mindst én type CF [6].

Der er allerede udviklet toksoidbaserede vacciner, som giver en vis beskyttelse mod diaré ved infektioner med ETEC, der producerer varmelabil toksin (LT) [8]. De to andre toksiner, humane (STh) og porcine (STp) varmemestabile toksiner, er små proteiner, som ikke er immunogene, hvilket gør udvikling af en vaccine mod ST-ETEC vanskelig [6]. De fleste vaccinekandidater er baseret på CF-antigener, men det er fremdeles usikkert, i hvor høj grad CF-antigener brugt i en vaccine bidrager til en klinisk relevant immunitet. I en afprøvning af en vaccine, som indeholdt flere af de almindelige CF, blev der tilsyneladende påvist en vis beskyttelse mod alvorlige diaré-episoder, uden at vaccinen beskyttede mod ETEC-diaré generelt [9].

For at bestemme immunitet efter naturlige ETEC-infektioner og dermed etablere et grundlag for udvikling og afprøvninger af vaccinekandidater gennemførte vi en kohorteundersøgelse. Gennem dette epidemiologiske design kunne vi beregne den beskyttelse, som ETEC-infektioner inducerer mod nye infektioner med ETEC, der har samme toksin(er), samme CF og samme toksin-CF-profil.

Materialer og metoder

Undersøgelsen, der blev udført i 1996-1998, var en del af en større kortlægning af tarminfektioner og diaré blandt 200 børn i Guinea-Bissau, Vestafrika. Uafhængig af børnenes sygdomsstatus blev der indsamlet afføringsprøver hver uge [10].



Figur 1. Enterotoksingene *Escherichia coli* hæftet til enterocytten ved hjælp af hårlignende koloniseringsfaktorer, CF, LT, varmelabil enterotoksin, STh og STp hhv. humant og porcint varmemestabil enterotoksin.

Ved brug af DNA-hybridiserings-teknik blev prøverne analyseret for ETEC, og positive kolonier blev karakteriseret for toksiner og for 18 af 21 kendte CF [11].

For at bestemme naturlig immunitet, estimerede vi ændringen i infektionsraten før og efter, barnet blev inficeret for første gang. Dersom ETEC-infektioner gav immunitet, var det vores forventning, at børn, som havde haft en tidligere infektion, havde mindre risiko for en reinfektion end børn på samme alder, der ikke havde haft tidligere infektion. Vi målte ændringer i ventetider til infektion ved Cox's regressionsanalyse. Modellen estimerede beskyttelsen mod nye infektioner med ETEC, som havde det samme toksin, en eller flere af de samme CF eller den samme toksin-CF-profil. Idet ETEC, som har samme toksin-CF-profil, per definition også besidder samme CF, anvendte vi en statistisk model, som gjorde os i stand til at separere den CF-specifikke fra den toksin-CF-specifikke beskyttelse. Estimatet for den CF-specifikke beskyttelse repræsenterer derfor beskyttelsen mod ETEC, som havde en eller flere af de samme CF, men en forskellig CF-toksin-profil. Tilsvarende repræsenterede estimatet for CF-toksin-profilen beskyttelsen mod ETEC af samme CF-toksin-profil ud over den beskyttende effekt, som CF måtte inducere. For at øge præcisionen af estimerne beregnede vi den samlede beskyttelse og ikke beskyttelsen for hver enkelt CF og toksin-CF-profil. Beskyttelsesestimerne er opgivet som hazard ratio (HR) og den procentvise beskyttelse er beregnet som $100 \times (1 - HR)$.

Resultater

Der blev undersøgt 11.222 afføringsprøver, hvoraf 1.154 (10,3%) var fra børn med diaré. Der var 1.015 ETEC-infektioner, hvoraf 452 var positive for en eller flere CF. Der var ingen målbar beskyttelse, som kunne tilskrives CF (HR 1,01; 95% konfidensinterval (CI) 0,73-1,40), mens der var en 47% beskyttelse (HR 0,53; 95% CI 0,31-0,88) mod nye infektioner med ETEC, som var positive for det samme toksin-CF-profil. Kun to af de 66 (14,6%) infektioner, som var ledsaget af diaré, var reinfektioner. Dermed kunne den tilsvarende beskyttelse mod ETEC-diaré ikke bestemmes med tilstrækkelig præcision.

Der var ingen tegn på, at infektionerne inducerede en beskyttelse mod nye infektioner med ETEC, der var positive for det samme toksin. Infektioner med ETEC, som var positive for STp eller STh, beskyttede heller ikke mod symptomatiske infektioner med ETEC, som var positive for hhv. STp eller STh. Derimod gav infektioner med LT-positive ETEC en 45% beskyttelse mod diaré ved nye infektioner med LT-positive ETEC (Tabel 1).

Diskussion

I denne kohorte gav ETEC-infektioner en betydelig naturlig immunitet mod infektion med ETEC, som havde den samme toksin-CF-profil som den primære infektion, men det så ikke

VIDENSKAB OG PRAKSIS | SEKUNDÆRPUBLIKATION

Tabel 1. Beskyttelse induceret af primære infektioner med enterotoksogene *Escherichia coli* positive for forskellige enterotoksiner.

Toksin	Hazard ratio (95% CI) ^a	
	Mod infektion	Mod symptomatisk infektion
STp	1,18 (0,86-1,62)	1,19 (0,39-3,56)
STh	1,14 (0,86-1,52)	0,87 (0,47-1,62)
LT	1,24 (1,00-1,54)	0,55 (0,30-1,01)

STp = porcint varmestabil toksin; STh = humant varmestabil toksin; LT = varmelabil toksin.

a) Hazard ratio og 95% konfidensinterval (CI) beregnet med Cox regressionsanalyse, justeret for alder og for gentagne observationer af de samme børn.

ud til, at CF bidrog nævneværdigt til denne immunitet. Desuden fandt vi, at det varmelabile toksin LT inducerede beskyttelse mod symptomatisk ETEC-infektion. Dette var forventet, idet det tidligere er blevet påvist, at immunisering med LT-homologe antigener giver en vis beskyttelse ved infektion med LT-positive ETEC [8].

Disse fund har betydning for bestræbelserne på at udvikle en ETEC-vaccine. Bakteriestammer, som besidder samme toksin-CF-profil, er ofte så tæt beslægtet, at de kan opfattes som kloner med mange identiske gener [12, 13]. Derfor er den mest sandsynlige forklaring på vores fund, at der er andre antigener end CF, som har betydning for at udvikle en beskyttende immunitet mod ETEC; antigener, der er tæt korreleret til toksin-CF-profilen. Selv om det kun er gennem afprøvninger af vaccinekandidater, at det endeligt kan afklares, hvorvidt CF kan udvikle en beskyttende immunitet, tyder vores fund på, at ETEC kan besidde andre antigener, som ville give en betydelig bedre beskyttelse end koloniseringsfaktorerne.

Korrespondance: *Kåre Mølbak*, Epidemiologisk Afdeling, Statens Serum Institut, Artillerivej 5, DK-2300 København S. E-mail: krm@ssi.dk

Antaget: 7. juni 2004

Conflict of interest statement: None declared

This article is based on a study first reported in *The Lancet* 2003;362:286-91. Reprinted with permission from Elsevier.

Acknowledgments: We thank laboratory personnel at the National Public Health Laboratory (LNSP) in Bissau, and fieldworkers at the Bandim Health Project in Bissau, for their effort; the families who took part in the study for their cooperation and patience; Francisco Dias at LNSP and Herleen M S Grewal at the Department of Microbiology and Immunology, Gade Institute, University of Bergen, Bergen, for provision of laboratory facilities; Michael Perch for contributing to fieldwork; and Jose Rufino Nanque, Thea K Fisher, Rui Cà, and Kai Günther Brandt for support in the laboratory. This study was supported in part by the European Commission-DG Research, FP3-International Cooperation STD Programme (grant TC*-CT94-0311); World Health Organisation (grant V27/181/115); Research Council of Norway (grant 120779/730); Danish Council for Development Research (grants 91010 and 104.Dan.8/717); and L Meltzers Høyskolefond.

Litteratur

- Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:142-201.
- World Health Organisation. *The World Health Report 1998: Life in the 21st century – a vision for all*. Geneva, Switzerland: World Health Organisation, 1998.

- World Health Organisation. Report of the technical review meeting, 7-8 June 1998. Global Programme for Vaccines and Immunization. Geneva, Switzerland: World Health Organisation, 1998.
- Von Sonnenburg F, Tornieporth N, Waiyaki P et al. Risk and aetiology of diarrhoea at various tourist destinations. *Lancet* 2000;356:133-4.
- Jones G, Steketee RW, Black RE et al, Child Survival Study Group. How many child deaths can we prevent this year? *Lancet* 2003;362:65-71.
- Svennerholm A-M, Åhrén C, Jertborn M. Vaccines against enterotoxigenic *Escherichia coli* infections. I: Levine MM, ed. *New Generation Vaccines*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Inc., 1997.
- Gastra W, Svennerholm A-M. Colonization factors of human enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). *Trends Microbiol* 1996;4:444-52.
- Clemens JD, Sack DA, Harris JR et al. Cross-protection by B subunit-whole cell cholera vaccine against diarrhea associated with heat-labile toxin-producing enterotoxigenic *Escherichia coli*: Results of a large-scale field trial. *J Infect Dis* 1988;158:372-7.
- Active Biotech AB. Annual Report 2000, page 3. <http://reports.huginonline.com/879222/109547.pdf> /nov 2003.
- Valentiner-Branth P, Steinsland H, Fischer TK et al. Cohort study of Guinean children: incidence, pathogenicity, conferred protection, and attributable risk for enteropathogens during the first 2 years of life. *J Clin Microbiol* 2002;41:4238-45.
- Steinsland H, Valentiner-Branth P, Perch M et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infections and diarrhea in a cohort of young children in Guinea-Bissau. *J Infect Dis* 2002;186:1740-7.
- Sommerfelt H, Steinsland H, Grewal HM et al. Colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from children in north India. *J Infect Dis* 1996;174:768-76.
- Pacheco ABF, Soares KC, de Almeida DF et al. Clonal nature of enterotoxigenic *Escherichia coli* serotype O6:H16 revealed by randomly amplified polymorphic DNA analysis. *J Clin Microbiol* 1998;36:2099-102.