

2. Der norddeutsche Ausbruch mit Shiga-Toxin-produzierenden *E. coli* O104:H4 aus klinisch-mikrobiologischer Sicht

PD Dr. Holger Rohde

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)

Zusammenfassung

Enteritis-verursachende *Escherichia coli* stellen ein lange bekanntes klinisches Problem dar. Hierzu zählen auch die sogenannten enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC). Diese Erreger verursachen nicht nur blutige Durchfälle, sondern können auch durch die Bildung eines spezifischen Toxins, des Shigatoxins, ein lebensbedrohliches hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) auslösen. Jährlich werden in Deutschland etwa 1000 EHEC-assoziierte Krankheitsfälle gemeldet. Typischerweise treten die Infektionen bei Kindern in Form kleinerer Ausbrüche auf. Diese Tatsache ist darauf zurückzuführen, dass die Übertragung des Erregers über Nahrungsmittel erfolgt. Hierbei spielt insbesondere der Serotyp O157:H7 eine Rolle.

Zwischen Mai und Juli 2011 ereignete sich in Norddeutschland ein EHEC-Ausbruch bisher nicht bekannten Ausmaßes. Dieser Ausbruch war durch mehrere ungewöhnliche epidemiologische Merkmale charakterisiert: vornehmlich waren ältere Personen weiblichen Geschlechts betroffen, bei denen es in fast einem Fünftel der Fälle zu einem HUS kam. Verursacht wurde der Ausbruch durch einen ungewöhnlichen *E. coli* Stamm mit dem Serotyp O104:H4. Durch den Einsatz moderner Methoden der DNA-Sequenzierung gelang es, innerhalb von wenigen Tagen das Genom dieses Stammes zu sequenzieren und zu analysieren.

Hierbei zeigte sich, dass der ursächliche Stamm verwandtschaftlich eigentlich nicht klassischen EHEC-Stämmen zugeordnet werden kann sondern vielmehr große Ähnlichkeit zu sogenannten enteroaggregativen *E. coli* (EAEC) aufweist. Im Unterschied zu klassischen EAEC besitzt der Ausbruchsstamm jedoch Gene, die ihn zur Produktion des Shigatoxins befähigen. Diese ungewöhnliche Kombination von genetischen Merkmalen könnte auch für die auffällige klinische Präsentation der betroffenen Patienten verantwortlich sein. Als Ursprung der Infektionen konnte durch detaillierte epidemiologische Untersuchungen der Verzehr von rohen Sprossen eines einzigen Produzenten nachgewiesen werden.

➤ *Die Geschehnisse des Sommers 2011 machen auf dramatische Weise die Vulnerabilität auch oder gerade einer modernen Gesellschaft gegenüber bakteriellen Krankheitserregern deutlich. Durch die Kombination und den eng vernetzten interdisziplinären Einsatz fortschrittlicher Maximalmedizin, mikrobiologischer Analytik und zielgerichteter epidemiologischer Aufarbeitung war es möglich, die großen Patientenzahlen adäquat zu betreuen und die Ursache des Ausbruchs rasch zu klären. Der Erhalt und weitere Ausbau der hierzu notwendigen Infrastruktur ist wesentlich, um auch zukünftige Ausbrüche mit möglicherweise bislang nicht bekannten Krankheitserregern beherrschen zu können.*

Abstract

Escherichia coli is a common organism colonizing the human gut without causing disease. However, certain strains equipped with dedicated virulence factors can cause enteric infections ranging from mild diarrhoea to life threatening extraintestinal manifestations. Especially enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) are known for their potential to cause hemorrhagic diarrhoea and a syndrome termed haemolytic uremic syndrome (HUS), the latter resulting from production of specific toxin (shigatoxin, Stx). Typically, EHEC strains belong to serotype O157:H7 and cause food-borne outbreaks in children and young adults. Over the past years stable numbers of roughly 1000 patients have been observed in Germany.

Between May and July 2011 a large outbreak of infections related to a Stx-producing *E. coli* occurred in the northern parts in Germany, affecting more than 4500 persons. The outbreak was characterized by several unique epidemiological and clinical features: predominantly, females with an average age of 40 were affected, and HUS associated with significant neurological sequels occurred in 18 %. The outbreak was caused by an unusual *E. coli* belonging to serotype O104:H4. High throughput next generation sequencing technologies demonstrated that this strain was only distantly related to common EHEC strains but showed a high degree of similarity to so called enteroaggregative *E. coli* (EAEC). In comparison to typical EAEC, however, the strain carried phage-encoded *stx* genes allowing for the production of shigatoxin. This unusual combination of virulence genes in the outbreak *E. coli* strain could represent a genetic basis for the observed unusual clinical manifestation. Since early evidence suggested raw vegetables as a potential source of the infections, measures to cut novel infections especially included avoidance of raw salad, cucumbers, and tomatoes. Later, by in depth epidemiological studies, contaminated sprouts from a single distributor were identified as the source of the infections.

➤ *The German outbreak that was related to an unusual shigatoxin-producing E. coli strain, ranging under the largest EHEC outbreaks ever observed, highlights the enduring vulnerability of modern societies by bacterial pathogens. By combination of advanced patient treatment approaches, sophisticated microbiological analytics and targeted epidemiological surveys, appropriate patient care was feasible and the source of the infection was identified. Maintenance and even further development of existing infrastructures are keys for future abilities to detect outbreaks related to novel or unusual bacterial pathogens and to initiate appropriate measures to interfere with their spread.*

Einleitung

- Bakterielle Durchfallerkrankungen
- *Salmonella enterica*
- *Campylobacter jejuni*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Yersinia pseudotuberculosis*

Bakterielle Durchfallerkrankungen spielen weiterhin eine große Rolle als signifikante Ursache für Morbidität und Mortalität in den entwickelten Industrieländern, vor allem aber auch in der dritten Welt. In Deutschland können als typische Pathogene insbesondere *Salmonella enterica* und *Campylobacter jejuni* isoliert werden ^[1]. Diese Erreger verursachen etwa 80 % aller bakteriellen Durchfallerkrankungen. Infektionen durch *Shigella* sp. und *Yersinia enterocolitica* oder *Yersinia pseudotuberculosis* sind selten und haben ihre wesentliche Bedeutung in den differentialdiagnostischen Überlegungen bei importierten Durchfallerkrankungen nach Reiserückkehr. Neben den genannten Erregern besitzt die heterogene Gruppe der Enteritisverursachenden *E. coli* klinische Relevanz ^[2].

E. coli sind typische kommensale Bakterien, die sich in großer Menge im Darm des Menschen nachweisen lassen. Die Anwesenheit dieser Spezies ist nicht nur von keiner krankhaften Bedeutung, sondern besitzt vielmehr große Relevanz für die natürliche Darmfunktion. Diese faszinierende Symbiose des Menschen mit *E. coli* kann als Ausdruck hochspezifischer Adaptationsvorgänge betrachtet werden, die bei Weitem noch nicht in allen Einzelheiten verstanden ist. Neben diesen apathogenen beziehungsweise fakultativ pathogenen *E. coli* Stämmen gibt es jedoch eine wachsende Zahl von spezifischen Stämmen, die als Erreger von Durchfallerkrankungen eine signifikante Rolle spielen können ^[3].

Von besonderer Bedeutung ist, dass sich diese als enteritische *E. coli* bezeichneten Stämme durch ihre genetische Ausstattung von den kommensalen *E. coli*-Stämmen unterscheiden ^[2]. Viele dieser genetischen Determinanten sind hierbei auf beweglichen genetischen Elementen wie zum Beispiel Bakteriophagen oder Plasmiden lokalisiert, wodurch diese Teile des Genoms zwischen unterschiedlichen Stämmen ausgetauscht werden können. Der

hieraus resultierende ständige Austausch größerer Mengen genetischen Materials lässt gleichsam fortwährend *E. coli* Stämme mit neuartigen Kombinationen von Genen mit krankmachender Bedeutung entstehen. In Abhängigkeit vom gesamtgenetischen Kontext, vor allem der Präsenz von Determinanten, die eine effiziente Besiedlung des menschlichen Gastrointestinaltrakts ermöglichen, können daher als Resultat des durch diesen horizontalen Gentransfer im Fluss befindlichen *E. coli* Genoms neuartige Stämme mit humanpathogenem Potential entstehen [4,5].

Die unterschiedlichen krankmachenden Determinanten wie zum Beispiel Adhärenzfaktoren oder Toxine haben im Rahmen einer gastrointestinalen *E. coli* Infektion charakteristische klinische Symptome zur Folge. Anhand dieser ist eine orientierende Kategorisierung der enteritischen *E. coli* möglich und lässt Rückschlüsse auf die genetische Ausstattung eines krankheitsverursachenden Stamms zu [2].

▪ Adhärenz-
faktoren
Toxine

Enteritis-verursachende *E. coli*

Orientierend können die Enteritis-verursachenden *E. coli* in sechs sogenannte Pathotypen eingeteilt werden: enteropathogene *E. coli* (EPEC), enterotoxische *E. coli* (ETEC), enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), diffus adhärierende *E. coli* (DAEC) und enteroinvasive *E. coli* (EIEC). Als typisches Motiv in der Pathogenese aller Pathotypen findet sich eine stabile Bindung des Erregers an das Darmepithel, die durch die Expression spezifischer Rezeptoren ermöglicht wird. Ein zweites, jedoch nicht bei allen Pathotypen nachweisbares Motiv ist die Produktion von Toxinen, die über verschiedenen Mechanismen zur spezifischen Symptomatik des jeweiligen Erregers beitragen [3].

▪ EPEC
▪ ETEC
▪ EHEC
▪ EAEC
▪ DAEC
▪ EIEC

▪ Enteropathogene *E. coli* (EPEC)

- Intimin
- kodiertes Adhäsın
- Säuglingsdiarrhoe in Afrika

Die EPEC zeichnen sich insbesondere durch ihre Fähigkeit zur hochaffinen Bindung an menschliche Darmzellen aus. Hierbei nutzt der Erreger den EPEC adherence factor EAF, einen bundle forming pilus, um mit Glykanstrukturen auf der Wirtszelle zu interagieren und an diese zu binden ^[6, 7]. Der enge und stabile Kontakt wird durch ein auf einem beweglichen genetischen Element, dem locus of enterocyte effacement (LEE), kodiertes Adhäsın, das Intimin, erreicht ^[8]. Durch die Intimin-vermittelte Bindung an das Darmepithel rufen EPEC eine charakteristische morphologische Veränderung der Wirtszelle hervor, die als attaching and effacing (A/E) Läsion bezeichnet wird ^[3]. EPEC spielen vor allem als Verursacher von Säuglingsdiarrhoe in Afrika eine herausragende Rolle ^[2].

▪ Enterotoxische *E. coli* (ETEC)

- Hitzelabile und hitzestabile Toxine

Im Gegensatz zu EPEC sind ETEC in der Lage, nach der durch spezifische Kolonisationsfaktoren (die colonization factors; CF) realisierten Bindung an Darmepithelzellen den menschlichen Wirt durch die Produktion von Toxinen zu schädigen. Bei diesen Toxinen handelt es sich um das hitzelabile und das hitzestabile Toxin (LT beziehungsweise ST). LT, das nach der Bindung der Erreger an das Darmepithel produziert wird, weist strukturelle und funktionelle Ähnlichkeit zum Cholera-Toxin von *Vibrio cholerae* auf ^[9]. LT wie auch ST führen zur Entstehung starker wässriger Durchfälle. ETEC sind wesentliche Ursache für Durchfallerkrankungen in Ländern mit niedrigem sozio-ökonomischen Niveau und daraus resultierenden mangelhaften hygienischen Standards. Die meisten bakteriellen Durchfallerkrankungen bei Reisenden („Montezumas Rache“) werden durch ETEC verursacht.

▪ Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

EIEC sind nah verwandt mit dem Erreger der bakteriellen Ruhr, *Shigella dysenteriae*. Diese verwandtschaftliche Nähe bezieht sich nicht nur auf das im Wesentlichen unveränderliche core-Genom, sondern vor allem auf den identischen Pathomechanismus. Tatsächlich bestehen berechtigte Zweifel, ob die Unterscheidung von EIEC und *Shigella dysenteriae* phylogenetisch und pathogenetisch überhaupt sinnvoll ist ^[3]. EIEC verursachen als wesentliches Leitsymptom blutige Diarrhoen. Neben dieser besonders eindrucksvollen klinischen Symptomatik unterscheiden sich EIEC von den übrigen *E. coli* Pathovaren vor allem auch durch ihre Fähigkeit, nach Bindung an und Aufnahme in die Wirtszellen intrazellulär zu persistieren. Hierzu verfügen EIEC über spezialisierte Systeme, die überwiegend auf einem 220 kb großen Plasmid kodiert werden und neben der Zellinvasion auch das interzelluläre Überleben sicherstellen und mit apoptischen Prozessen der Wirtszelle interferieren.

- *Shigella dysenteriae*
- Bakterielle Ruhr

▪ Enteroaggregative *E. coli* (EAEC)

EAEC stellen eine Gruppe von *E. coli* dar, die zunehmend als Verursacher von persistierenden, zum Teil blutigen Durchfällen bei Kindern und Erwachsenen sowohl in den Entwicklungsländern als auch in der westlichen Welt beobachtet werden ^[3]. Wesentliches Kennzeichen der EAEC ist ihre Fähigkeit, Darmepithelzellen in Form mehrlagiger, zum Teil geordneter Konsortien zu besiedeln. Dieser auch als stacked brick bezeichnete, formal jedoch als bakterieller Biofilm zu betrachtende Wachstumsmodus wird durch die Synthese von den so genannten aggregating adherence Fimbrien (AAF) vermittelt ^[3]. Bislang konnten vier Varianten dieser Fimbrien (AAF/I, AAF/II, AAF/III und Hda) identifiziert werden, welche alle auf übertragbaren Plasmiden kodiert werden. Neben den autoaggregativen Eigenschaften besitzen die AAFs Fibronectin-bindende Aktivität und könnten

- Bakterieller Biofilm
- Besiedlung der intestinalen Mukosa

daher auch an der Besiedlung der intestinalen Mukosa beteiligt sein. Generell führt die AAF-vermittelte EAEC-Adhärenz, unter anderem durch Fibronektin-bindende Eigenschaften der Fimbrien, zu einer Il-8 vermittelten inflammatorischen Reaktion des Epithels, durch welche die stark entzündliche Veränderung, die bei Erkrankten im Dickdarm gefunden werden kann, erklärt wird. Diese wird zudem auf die Produktion der serine protease autotransporters (SPATE) Pic, Pet und SepA sowie durch das im Gen astA-kodierten Toxins EAST hervorgerufen^[3].

▪ Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)

- Shigella-Toxin (Stx)
- Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)

Seit Anfang 1980 ist der Zusammenhang zwischen einer gastro-intestinalen Infektion mit einem spezifischen *E. coli* Pathotyp und dem Auftreten eines durch Hämolyse, Nierenfunktionsstörungen und Thrombozytopenie gekennzeichneten Syndroms (dem hämolytisch-urämisches Syndroms; HUS) bekannt^[10]. Der spezifische *E. coli* Pathotyp war durch eine bis dahin wenig beobachtete Oberflächenantigenstruktur, die als Serotyp O157:H7 charakterisiert wurde, gekennzeichnet. Zudem konnte für diesen Pathotyp die Synthese eines cytotoxischen Toxins nachgewiesen werden, welches enge Verwandtschaft zu einem aus Shigellen bekannten Toxin aufweist und daher als Shigella-Toxin (Stx) bezeichnet wird^[10, 11].

- Übertragung durch Salat, Gurken, Spinat, Sprossen
- Kontamination von Schlachtgut

Schon frühzeitig wurde erkannt, dass Infektionen mit diesen als enterohämorrhagisch bezeichneten *E. coli* in Form von Ausbrüchen oder kleineren Infektionsclustern auftreten^[10]. Heute weiß man, dass diese Tatsache auf den Übertragungsweg des Erregers zurückgeführt werden kann. Da EHEC asymptomatisch den Darm von Wiederkäuern, vor allem Rindern, besiedeln, können große Erregermengen mit dem Kot dieser Tiere in die Umwelt gelangen^[12]. Wird dieser zur Düngung von Pflanzen verwendet, so ist eine Übertragung auf den Menschen möglich. Gemüsesorten, die ohne vorheriges Kochen verzehrt werden (also zum Beispiel

Salat, Gurken, Spinat, Sprossen) sind daher als typische Transportvehikel des Erregers beschrieben. Da EHEC eine extrem niedrige Infektionsdosis aufweisen (< 100 Zellen), ist aber auch durch Eintrag von EHEC in die Wasserversorgung eine Ausbreitung möglich. Selbst Mensch – zu – Mensch Übertragungen sind beschrieben und nicht ungewöhnlich ^[10]. Daneben kann es zu einer Kontamination des Schlachtguts kommen, so dass auch ungekautes Fleisch als Infektionsquelle in Frage kommt. Auffällig ist, dass die Mehrzahl der Infektionen im Kindesalter beobachtet wird, während Infektion beim Erwachsenen seltener beobachtet werden.

Infektionen durch EHEC können im Wesentlichen dem Serotyp O157:H7 zugeordnet werden. Es ist jedoch gut bekannt, dass auch andere Serotypen Ursache einer Infektion und des HUS sein können. Weltweit konnten bislang über 100 Serotypen mit der Entstehung dieses Krankheitsbildes in Verbindung gebracht werden ^[10]. In Deutschland sind dies vor allem die Serotypen O26, O145 und O111. Gemeinsam sind diese Serotypen etwa für 95 % aller Infektionen verantwortlich. Hierbei werden in Deutschland stabil etwa 1000 Infektionen durch EHEC pro Jahr beobachtet ^[13].

- Serotyp O157:H7
- Serotypen O26, O145 und O111

Die Pathogenese des durch EHEC hervorgerufenen Krankheitsbildes wird durch zwei wesentliche Ereignisse bestimmt. Zum einen ist der Erreger in der Lage, an das Darmepithel des Wirtes zu binden. Hierbei spielt das auch bei EPEC nachweisbare Intimin eine entscheidende Rolle ^[2,3]. Daneben ist für die Entstehung des Krankheitsbildes HUS die Produktion des bereits oben erwähnten Shigatoxins Stx entscheidend. Stx ist ein Holotoxin, welches aus einer A-Untereinheit und fünf identischen B-Untereinheiten aufgebaut ist ^[14]. Über die B-Untereinheiten bindet Stx an mindestens einen zellulären Rezeptor. Besonders bedeutsam ist hierbei der Globotriaosylceramid (Gb3) Rezeptor, welcher präferentiell auf den Endothelzellen in den Nierenkapillaren exprimiert wird. Nach der Bindung wird das Toxin aufgenommen und

- Globotriaosylceramid (Gb3) Rezeptor
- Nierenfunktionsstörung

schädigt, nach einem komplexen retrograden Transport innerhalb der Zelle, vornehmlich die Proteinbiosynthese der Wirtszelle ^[15]. Durch den hieraus resultierenden Zellschaden kommt es zum Zelluntergang. Möglicherweise ist hierdurch die konsekutive Thrombosierung der Nieren-Kapillaren und damit einhergehend die schwere Nierenfunktionsstörung zu erklären (eine exzellente Übersicht zu diesem Thema findet sich bei ^[10]).

Genetisch lassen sich mindestens zwei unterschiedliche Stx Typen 1 und 2 unterscheiden ^[14]. Diese weisen offensichtlich auch funktionelle Unterschiede auf: EHEC-Infektion ohne HUS werden in der Mehrzahl durch Stx1-produzierenden EHEC Stämme hervorgerufen, während EHEC-Infektionen mit HUS in über 60 % durch Stx2-produzierenden Stämmen hervorgerufen werden ^[14]. stx 1 und 2 werden auf einem lysogenen Bakteriophagen kodiert, der in das bakterielle Chromosom integriert vorliegt. Hier stehen sie unter der Expressionskontrolle von Transkriptionsfaktoren, die insbesondere dann aktiviert werden, wenn es zur Induktion der Phagenreplikation kommt ^[16]. Da dies auch bei der Exposition des bakteriellen Wirtes gegenüber Antibiotika der Fall ist, erklärt die Annahme, dass durch die Gabe von Antibiotika die Expression des Stx verstärkt und damit der klinische Verlauf einer EHEC Infektion verschlimmert werden kann ^[17, 18]. Die Behandlung einer EHEC Infektion und des HUS beschränkt sich aus diesem Grund im Wesentlichen auf eine symptomatische Therapie und verzichtet auf die Gabe von antimikrobiellen Substanzen ^[10].

- Der norddeutsche Ausbruch mit Shigatoxin-produzierenden *E. coli* des Serotyps O104:H4

Zwischen Mai und Juli 2011 kam es Deutschland, mit Schwerpunkt in den nördlichen Bundesländern, zu einem großen Ausbruch mit Infektionen durch einen Stx-produzierenden *E. coli* Stamm ^[19]. Insgesamt waren 4842 Personen betroffen, bei 852 Personen (18 %) kam es zu einem HUS, 50 Personen verstarben ^[20]. Schnell wurden im Verlaufe des Ausbruchs erhebliche epidemiologische Unterschiede im Vergleich zu den sporadischen EHEC Infektionen deutlich. Besonderes Kennzeichen war zum einen, dass von den Erkrankungen im Wesentlichen Erwachsene betroffen waren (Medianes Alter: 43 Jahre). Zudem überwog der Anteil der Frauen sowohl bei den Gastroenteritis-Fällen (58 %) als auch bei den HUS-Fällen (68 %) ^[21]. Die mittlere Inkubationszeit betrug 8 Tage und war damit länger als bei den sonstigen EHEC-Infektionen (3 – 5 Tage). Der Anteil der Patienten, bei welchem sich ein HUS entwickelte, war mit 18 % ungewöhnlich groß ^[20].

- Alter
- Geschlecht
- Inkubationszeit

Dieses ungewöhnliche epidemiologische Profil spiegelte sich auch in den Erkenntnissen aus der frühen und noch oberflächlichen mikrobiologischen Analyse des Ausbruchsstamms wider. Dieser wies ein ungewöhnliches biochemisches Profil auf, welches ihn vor allem von *E. coli* O157:H7 unterschied. Zudem fand sich ein ungewöhnliches Oberflächenantigenprofil, O104:H4 sowie die Expression einer *Extended Spektrum* β -Laktamase (ESBL) vom Typ CTX-M15. Durch eine erste orientierende molekulargenetische Analyse des Genoms und hieraus abgeleitete vorläufige phylogenetische Einordnung wurde klar, dass es sich bei dem norddeutschen Ausbruchsstamm nicht um einen klassischen EHEC Stamm handelte. Durch multi-locus sequence typing fand sich vielmehr Evidenz, dass der Stamm verwandtschaftliche Nähe zu einem 2001 zum einzigen Mal nachgewiesenen *E. coli* Stamm aufwies, der bei einem Kind zu einer Gastroenteritis mit HUS geführt hatte ^[22,23]. Interessanter Weise konnte zudem zwar

- Extended Spektrum β -Laktamase (ESBL)
- vgl. Kap. 9

mittels PCR das stx Gen identifiziert werden, anders als bei den klassischen EHEC Stämmen konnte jedoch das für das Intiminkodierende Gen eae nicht nachgewiesen werden ^[22, 24].

- 3th Generation Sequenzier-technologie
- Rohe Sequenzierdaten in uneditierter Form publizieren

Eine wesentliche Limitierung der in der frühen Phase des Ausbruchs durchgeführten genetischen Charakterisierungen blieb jedoch, dass letztlich methodeninhärent keine belastbaren Hypothesen zur Frage der genetischen Determinanten für das beobachtete ungewöhnliche klinische Krankheitsbild abgeleitet werden konnten. Es war klar, dass hierfür nur ein breiterer genetischer Ansatz, der auch die Identifikation unbekannter genetischer Variablen ermöglichte, in Frage kam. Dieses Ziel konnte schließlich durch die vollständige Sequenzanalyse des Genoms des Ausbruchsstamms erreicht werden. Die Tatsache, dass es schon früh im Verlauf des Ausbruchs gelang, dieses Ziel zu erreichen, ist für sich betrachtet bemerkenswert, insbesondere wenn man sich vor Augen führt, dass das Genom unabhängig und parallel an verschiedenen Orten weltweit analysiert wurde ^[25, 27]. Diese bedeutende Leistung war nur durch den Einsatz modernster Sequenzier-technologie möglich. Hierdurch wird die enorme Leistungsfähigkeit dieser Technologien, insbesondere der so genannten Drittgenerationssequenzier-technologie, augenscheinlich. Ein zusätzlicher Aspekt, der die Genomsequenzierung und Analyse des Ausbruchsstamms einzigartig macht, ist die Tatsache, dass erstmals in der Geschichte die Roh-Daten der Sequenzierung in uneditierter Form online der weltweiten Forschergemeinschaft zugänglich gemacht wurden ^[25]. Hierdurch konnte es möglich gemacht werden, dass die großen Datenmengen durch den Zusammenschluss eines internationalen Forscherteams mit extremer Geschwindigkeit analysiert werden konnten. Bereits innerhalb weniger Stunden nach Freigabe der Daten gelang es, durch Abgleich der Sequenz des Ausbruchsstamms mit Datenbanken festzustellen, dass der Erreger in der Tat nicht mit den klassischen EHEC Stämmen verwandt ist, sondern vielmehr eine

große verwandtschaftliche Nähe zu einem ebenfalls dem Serotyp O104:H4 zugehörigen *E. coli* Stamm 55989 besitzt ^[25-27].

Der Stamm 55989 war erstmals im Rahmen einer chronischen Durchfallerkrankung bei einem HIV-infizierten Afrikaner nachgewiesen worden ^[28]. Aufgrund seiner genetischen Ausstattung und seinem Phänotyp kann dieser Stamm dem EAEC-Pathotyp zugeordnet werden. Er weist aber im Gegensatz zum norddeutschen Ausbruchsstamm kein *stx* Gen auf, ist also nicht in der Lage, eine *Stx*-vermitteltes HUS auszulösen ^[25-27, 29]. Somit war eine wesentliche Erkenntnis der genomischen Analyse, dass sich der norddeutsche Ausbruchsstamm durch eine ungewöhnliche Kombination von Virulenzfaktoren auszeichnet. Diese umfassen Determinanten, die den Stamm als EAEC kennzeichnen, insbesondere die aggregating adherence Fimbrien, darüber hinaus aber auch Teil des genetischen EHEC Profils (Phagen-kodiertes *stx*). Zudem konnten im Vergleich zu dem angenommenen Vorläufer des Ausbruchsstamms HUSECO41 weitere Unterschiede festgestellt werden. Unter anderem fand sich bei dem Ausbruchsstamm eine seltene Variante des AAF (*aggA*), ein zusätzliches SPATE (*sepA*), ein Telluritresistenzgencluster (*terD*), zwei Eisenaufnahmesysteme (*irp2*, *fyuA*) sowie die ESBL CTX-M15, welche auf einem Plasmid kodiert vorliegt ^[22, 27].

- *E. coli* Stamm 55989

- HUSECO41
- Variante des AAF (*aggA*)
- SPATE (*sepA*)
- Telluritresistenz-Gencluster (*terD*)
- Eisenaufnahmesysteme (*irp2*, *fyuA*)
- ESBL CTX-M15 plasmid-kodiert

Die Frage, ob diese besondere genetische Ausstattung tatsächlich für die beobachtete klinische Manifestation mit dem Auftreten gehäufte schwerer Verläufe sowie dem HUS verantwortlich ist, kann nicht abschließend beantwortet werden. Sicher ist, dass *E. coli* des EAEC Pathotyps auch früher schon als Auslöser eines *Stx*-vermittelten HUS beschrieben worden sind ^[30-32]. Unter diesen finden sich sogar EAEC des Serotyps O104:H4 ^[33, 34-37]. Dies könnte durchaus zur Spekulation Anlass geben, dass für das besondere epidemiologische Profil und die auffällige klinische Manifestation nicht oder nur in untergeordnetem Maße Determinanten des Erregers, sondern vielmehr die Konstellation des Eintrags des Erregers in die Nahrungskette verantwortlich ist.

Allerdings ist auch deutlich hervorzuheben, dass sich basierend auf den Ergebnissen der genomischen Sequenzierung der aktuelle Ausbruchsstamm signifikant von dem genetisch engsten Vorläuferisolat des Serotyps O104:H4 unterscheidet ^[22, 25, 27]. Eine abschließende Bewertung, ob diese Unterschiede tatsächlich auch pathogenetische Relevanz besitzen, ist nun durch weitergehende Analysen des Stamms, zum Beispiel durch Untersuchung der Pathogenität spezifischer Mutanten in geeigneten Modellen zur EHEC Pathogenese, zu untersuchen.

Eine der zentralen Fragen in der akuten Phase des Ausbruchsgeschehens war, aus welcher Quelle die Infektionen gespeist wurden. Schon frühzeitig konnte durch Befragung Erkrankter der Verzehr rohen Gemüses als Risikofaktor beschrieben werden ^[21]. Unklar war jedoch, um welche Art von Gemüse es sich exakt handelt. Diese Unklarheit machte es in der frühen Phase des Ausbruchs unmöglich, konkret einzelne Nahrungsmittel als potentielle Quelle zu benennen.

- RKI
- BfR
- Case-control Studien
- Erregerausbreitung
- Rückverfolgungsuntersuchungen
- Sprossen-samen

Um diese exakt zu lokalisieren und hierdurch geeignete Maßnahmen zu Eindämmung der Erregerausbreitung zu ergreifen, wurde durch Institutionen des Bundes (Robert Koch-Institut, Bundesinstitut für Risikobewertung) verschiedene epidemiologische Untersuchungen angestoßen. Im Rahmen dieser Untersuchungen gelang es, durch Case – control Studien den Verzehr von Sprossen als signifikant mit dem Auftreten einer EHEC-Infektion in Verbindung zu bringen ^[20, 38]. Durch Rückverfolgungsuntersuchungen konnte gezeigt werden, dass ein einzelner Sprossenproduzent für die Verbreitung kontaminierter Sprossen verantwortlich zu machen war ^[38]. Nicht zweifelsfrei geklärt ist, über welchen Weg der Shigatoxin-produzierende Stamm in die Produktionskette des Betriebes gelangt ist. Interessanterweise kam es zeitgleich zu den norddeutschen Ereignissen in Frankreich zu einem kleineren Cluster von Infektionen durch einen weitestgehend identischen O104:H4 *E. coli* ^[38]. Auch hier ließen sich die Infektionen auf den Verzehr von Sprossen zurückführen,

die aus der gleichen Charge von Samen gezogen worden waren, die auch im deutschen Betrieb Verwendung gefunden hatten. Hieraus kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass möglicherweise der Import einer mit *E. coli* O104:H4 kontaminierten Charge von Sprossensamen die Ursache für den Eintrag des Erregers in die Lebensmittelproduktion darstellt ^[38]. Diese Vermutung kann jedoch nicht mit endgültiger Sicherheit belegt werden.

Fazit

Bakterielle Infektionen des Gastrointestinaltrakts gelten in der Regel als weitgehend harmlos. Infektionen durch EHEC, die einen potentiell komplizierten klinischen Verlauf nehmen können, liegen in Deutschland seit langem auf einem stabilen Niveau bei etwa 1000 Infektionen / Jahr. Der Ausbruch mit Shigatoxinproduzierenden *E. coli* im Frühsommer 2011 hat auf eindrucksvolle Weise deutlich gemacht, dass sich unter bestimmten Umständen diese konstante epidemiologische Situation schlagartig und in dramatischer Weise ändern kann: der norddeutsche EHEC Ausbruch ist nicht nur in Deutschland sondern auch weltweit einer der größten jemals beobachteten Ausbrüche mit diesem Erreger. Bezogen auf die Zahl der HUS Fälle ist es sogar der größte jemals beobachtete Ausbruch.

Der Charakterisierung der biologischen Eigenschaften des kausalen *E. coli* Stamms kommt eine entscheidende Bedeutung für unser pathogenetisches Verständnis der spezifischen Epidemiologie und des außergewöhnlichen klinischen Krankheitsbildes zu. Die durch den Einsatz modernster Sequenzieretechnologie erreichte rasche Analyse des Erregergenoms ist hierbei als ein bedeutender Durchbruch zu betrachten. In der akuten Phase des Ausbruchs war es möglich, hierdurch maßgeschneiderte diagnostische Tests zu entwickeln. Sicher ist jedoch die Analyse der Erregerbiologie mit der Entschlüsselung des Erbguts nicht abgeschlossen. Vielmehr ist dieser Erfolg nur der erste Schritt

auf dem Weg zu einem tieferen Verständnis des Ausbruchstamms *E. coli* O104:H4 im Speziellen, und darüber hinaus der Biologie von Enteritis-verursachenden *E. coli* im Allgemeinen.

Generell heben die Geschehnisse im Sommer 2011 die Bedeutung einer kontinuierlichen Überwachung von Nahrungsmitteln hervor. Es ist offensichtlich, dass nur durch fortlaufende Nahrungsmittelkontrollen, ein leistungsfähiges Meldewesen und modernste diagnostische Verfahren zukünftig Ausbruchsgeschehen dieser Größenordnung, auch wenn sie durch bislang unbekannte Erreger hervorgerufen werden, verhindert oder frühzeitig erkannt und bekämpft werden können.

Literatur

1. Jansen A.; Stark K.; Kunkel J., et al. Aetiology of community-acquired, acute gastroenteritis in hospitalised adults: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis* 2008; 8:143.:143.
2. Kaper J. B.; Nataro J. P.; Mobley H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2(2):123-40.
3. Croxen M. A.; Finlay B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8(1):26-38.
4. Rasko D. A.; Rosovitz M. J.; Myers G. S., et al. The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. *J Bacteriol* 2008; 190(20):6881-93.
5. Touchon M.; Hoede C.; Tenaillon O., et al. Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet* 2009; 5(1):e1000344.
6. Saldana Z.; Erdem A. L.; Schuller S., et al. The *Escherichia coli* common pilus and the bundle-forming pilus act in concert during the formation of localized adherence by enteropathogenic *E. coli*. *J Bacteriol* 2009; 191(11):3451-61.
7. Hyland R. M.; Sun J.; Griener T. P., et al. The bundlin pilin protein of enteropathogenic *Escherichia coli* is an N-acetylglucosamine-specific lectin. *Cell Microbiol* 2008; 10(1):177-87.
8. Schmidt M. A. LEEways: tales of EPEC, ATEC and EHEC. *Cell Microbiol* 2010; 12(11):1544-52.

9. Turner S. M.; Scott-Tucker A.; Cooper L. M.; Henderson I. R. Weapons of mass destruction: virulence factors of the global killer enterotoxigenic *Escherichia coli*. FEMS Microbiol Lett 2006; 263(1):10-20.
10. Tarr P. I.; Gordon C. A.; Chandler W. L. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. Lancet 2005; 365(9464):1073-86.
11. Karch H.; Tarr P. I.; Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. Int J Med Microbiol 2005; 295(6-7):405-18.
12. Pennington H. *Escherichia coli* O157. Lancet 2010; 376(9750):1428-35.
13. Bielaszewska M.; Kock R.; Friedrich A. W., et al. Shiga toxin-mediated hemolytic uremic syndrome: time to change the diagnostic paradigm? PLoS One 2007; 2(10):e1024.
14. Karch H.; Friedrich A. W.; Gerber A.; Zimmerhackl L. B.; Schmidt M. A.; Bielaszewska M. New aspects in the pathogenesis of enteropathic hemolytic uremic syndrome. Semin Thromb Hemost 2006; 32(2):105-12.
15. Johannes L.; Römer W. Shiga toxins-from cell biology to biomedical applications. Nat Rev Microbiol 2010; 8(2):105-16.
16. Herold S.; Karch H.; Schmidt H. Shiga toxin-encoding bacteriophages-genomes in motion. Int J Med Microbiol 2004; 294(2-3):115-21.
17. Safdar N.; Said A.; Gangnon R. E.; Maki D. G. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis: a meta-analysis. JAMA 2002; 288(8):996-1001.
18. Wong C. S.; Jelacic S.; Habeeb R. L.; Watkins S. L.; Tarr P. I. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. N Engl J Med 2000; 342(26):1930-6.
19. Frank C.; Faber M. S.; Askar M., et al. Large and ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome, Germany, May 2011. Euro Surveill 2011; 16(21):19878.
20. Frank C.; Werber D.; Cramer J. P., et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. N Engl J Med 2011; 365(19):1771-80.

21. Askar M.; Faber M. S.; Frank C., et al. Update on the ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serotype O104, Germany, May 2011. *Euro Surveill* 2011; 16(22):19883.
22. Bielaszewska M.; Mellmann A.; Zhang W., et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(9):671-6.
23. Mellmann A.; Lu S.; Karch H., et al. Recycling of Shiga toxin 2 genes in sorbitol-fermenting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:NM. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74(1):67-72.
24. Scheutz F.; Nielsen E. M.; Frimodt-Moller J., et al. Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill* 2011; 16(24):19889.
25. Rohde H.; Qin J.; Cui Y., et al. Open-source genomic analysis of Shiga-toxin-producing *E. coli* O104:H4. *N Engl J Med* 2011; 365(8):718-24.
26. Rasko D. A.; Webster D. R.; Sahl J. W., et al. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. *N Engl J Med* 2011; 365(8):709-17.
27. Mellmann A.; Harmsen D.; Cummings C. A., et al. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One* 2011; 6(7):e22751.
28. Mossoro C.; Glaziou P.; Yassibanda S., et al. Chronic diarrhea, hemorrhagic colitis, and hemolytic-uremic syndrome associated with HEp-2 adherent *Escherichia coli* in adults infected with human immunodeficiency virus in Bangui, Central African Republic. *J Clin Microbiol* 2002; 40(8):3086-8.
29. Brzuszkiewicz E.; Thurmer A.; Schuldes J., et al. Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Enter-Aggregative-Haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Arch Microbiol* 2011; 193(12):883-91.
30. Iyoda S.; Tamura K.; Itoh K., et al. Inducible stx2 phages are lysogenized in the enteroaggregative and other phenotypic

-
- Escherichia coli* O86:HNM isolated from patients. FEMS Microbiol Lett 2000; 191(1):7-10.
31. Morabito S.; Karch H.; Mariani-Kurkdjian P., et al. Enteroaggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. J Clin Microbiol 1998; 36(3):840-2.
 32. Newton H. J.; Sloan J.; Bulach D. M., et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains negative for locus of enterocyte effacement. Emerg Infect Dis 2009; 15(3):372-80.
 33. Misselwitz J.; Karch H.; Bielazewska M., et al. Cluster of hemolytic-uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11. Pediatr Infect Dis J 2003; 22(4):349-54.
 34. Sonntag A. K.; Prager R.; Bielaszewska M., et al. Phenotypic and genotypic analyses of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O145 strains from patients in Germany. J Clin Microbiol 2004; 42(3):954-62.
 35. Werber D.; Fruth A.; Liesegang A., et al. A multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 infections in Germany, detected by molecular subtyping surveillance. J Infect Dis 2002; 186(3):419-22.
 36. Mellmann A.; Bielaszewska M.; Kock R., et al. Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Emerg Infect Dis 2008; 14(8):1287-90.
 37. Bae W. K.; Lee Y. K.; Cho M. S., et al. A case of hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O104:H4. Yonsei Med J 2006; 47(3):437-9.
 38. Buchholz U.; Bernard H.; Werber D., et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. N Engl J Med 2011; 365(19):1763-70.



<http://www.springer.com/978-3-658-04123-6>

Neue und alte Infektionskrankheiten

Fischer, M. (Hrsg.)

2014, VII, 259 S. 43 Abb. in Farbe., Softcover

ISBN: 978-3-658-04123-6