

Aus der
Berlin School of Public Health, Charité - Universitätsmedizin Berlin
Fachgebiet: Public Health / Epidemiologie
Leitung: Prof. Dr. Jacqueline Müller-Nordhorn
in Kooperation mit dem
Robert Koch-Institut
Präsident: Prof. Dr. rer. nat. Reinhard Burger

HABILITATIONSSCHRIFT

Epidemiologische Untersuchungen zur Prävention und Kontrolle von Infektionserkrankungen durch Shigatoxin-produzierende *Escherichia coli*

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach

Public Health / Epidemiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. vet. Dirk Werber, MSc
geboren am 12.07.1967 in Berlin

Eingereicht: Februar 2011
Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grütters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Rüdiger von Kries
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Reinhard Würzner

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	5
1.1. Shigatoxin-produzierende <i>Escherichia coli</i> (STEC) – Allgemeines	5
1.1.1. Klassifizierung von <i>Escherichia coli</i> , Definitionen und Terminologie	5
1.1.2. Klinische Symptomatik von STEC-Erkrankungen	6
1.1.3. Diagnostik von STEC	8
1.2. Epidemiologie der STEC-Erkrankungen des Menschen	9
1.2.1. Reservoir	9
1.2.2. Transmissionswege von STEC und Risikofaktoren für Erkrankungen	10
1.2.3. Situation in Deutschland	13
1.3. Virulenzfaktoren von STEC und deren Assoziation mit STEC-Erkrankungen des Menschen, Wirtsfaktoren	15
1.3.1. Shigatoxine und andere Virulenzfaktoren	15
1.3.2. Assoziation von Virulenzfaktoren mit STEC-Erkrankungen des Menschen	16
1.3.3. Wirtsfaktoren	17
2. Ergebnisse	18
2.1. Identifizierung von Risikofaktoren	19
2.1.1. Risikofaktoren für sporadische STEC-Erkrankungen in Deutschland	19
2.1.2. Risikofaktor für Infektionen mit STEC O26:H11 in einem Bundesland-übergreifenden Ausbruch in Deutschland	30
2.1.3. Risikofaktoren für sekundäre STEC O157:H7-Erkrankungen im Haushalt	35
2.2. Weitergehende Charakterisierung von Risikofaktoren für STEC-Erkrankungen	44
2.2.1. Einfluss der Rinderdichte auf die Inzidenz von STEC-Erkrankungen auf Ebene der Land- bzw. Stadtkreise in Deutschland	44
2.2.2. Vergleich zwischen humanen STEC-Isolaten und Lebensmittelisolaten in Deutschland	54
2.3. Genomische Determinanten der Virulenz von STEC der Serogruppe O157	59
3. Diskussion	65
3.1. Risikofaktoren für den Erwerb von STEC-Erkrankungen	65
3.1.1. Risikofaktoren für Kinder unter 3 Jahren	65
3.1.2. Risikofaktoren für Kinder im Altern von 3 bis 9 Jahren	69

3.1.3. Risikofaktoren für den Erwerb von STEC-Erkrankungen bei Personen über 10 Jahren	69
3.2. Ausbrüche in Deutschland	70
3.3. Genomische Determinanten der Virulenz von STEC O157 – Konsequenzen für die Surveillance von STEC-Erkrankungen	72
3.4. Ausblick	76
4. Zusammenfassung	77
Danksagung	90
Eidesstattliche Erklärung	91

Abkürzungsverzeichnis

95% KI	95% iges Konfidenzintervall
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
<i>eae</i>	„ <i>E. coli</i> attaching and effacing“-Gen, kodiert für den Adhärenzfaktor „Intimin“
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EHEC	Enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i>
HUS	Hämolytisch-urämisches Syndrom
IfSG	Infektionsschutzgesetz
LEE	Locus of enterocyte effacement
NRZ	Nationales Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PFGE	Pulsfeld-Gelelektrophorese
RKI	Robert Koch-Institut
RR	Risikoverhältnis, syn. „relatives Risiko“
<i>stx</i>	Shigatoxin-Gen
Stx	Shigatoxin
STEC	Shigatoxin-produzierende <i>Escherichia coli</i>
VTEC	Verotoxin-produzierende <i>Escherichia coli</i>

1. Einleitung

1.1. Shigatoxin-produzierende *Escherichia coli* (STEC) – Allgemeines

1.1.1. Klassifizierung von *Escherichia coli*, Definitionen und Terminologie

Escherichia (E.) coli ist die vorherrschende fakultativ anaerobe Bakterienspezies der menschlichen Darmflora [1] und gilt als Prototyp der kommensalen Bakterienspezies des Säugetierdarmes [2]. Erstbeschrieben vom Bakteriologen Theodor Escherich [3] handelt es sich um zumeist bewegliche, gramnegative Stäbchenbakterien der Familie *Enterobacteriaceae*, die sich anhand biochemischer Reaktionen einfach und standardisiert identifizieren lassen [4].

Bereits 1944 schlugen Kauffmann und White ein Schema zur serologischen Einteilung von *E. coli* vor, das auch heute noch in modifizierter Form weltweit Anwendung findet [5]. Gemäß diesem Schema werden *E. coli* serotypisiert auf der Basis ihrer Oberflächenantigene, wobei somatische („O“), Flagellen- („H“) und Kapsel- („K“)-Antigene unterschieden werden. Über 180 verschiedene O-Antigene, charakterisierendes Merkmal einer Serogruppe, sind bislang beschrieben [6]. Die spezielle Kombination von O- und H-Antigenen definiert den Serotyp, syn. Serovar. Beispielsweise bedeutet die Bezeichnung *E. coli* O157:H7, dass dieser Serotyp das 157te O-Antigen und das 7. te Flagellen-Antigen exprimiert.

Bakterien der Art *E. coli* („Kolibakterien“) besiedeln den menschlichen Darm in der Regel schon wenige Stunden nach der Geburt und verbleiben im Kolon zum gegenseitigen Nutzen [7]. Es existieren allerdings auch Kolibakterien, die beim Menschen Erkrankungen hervorrufen können. Neben Harnwegserkrankungen sowie Sepsis und Meningitis verursacht *E. coli* auch gastroenteritische Erkrankungen. Kolibakterien, die beim Menschen Gastroenteritiden verursachen, werden auf der Grundlage ihres pathogenetischen Mechanismus in bestimmte Gruppen, sogenannte Pathovaren, eingeteilt: Unterschieden werden enteropathogene *E. coli*, enterotoxische *E. coli*, enteroinvasive *E. coli*, enteroaggregative *E. coli*, diffus adhärente *E. coli* und enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) [1]. Letztere stellen eine Teilmenge der Shigatoxin-produzierenden *E. coli* (STEC) dar (siehe Erläuterungen auf der nächsten Seite). STEC definieren sich über die grundsätzliche Eigenschaft zur Bildung mindestens eines Shigatoxins (Stx) (Synonyme: Shiga-like-Toxine, Verotoxine). Shigatoxine sind Zytotoxine und gehören zu den potentesten bekannten Toxinen [2]

Im Jahre 1977 entdeckte eine kanadische Arbeitsgruppe, dass ein von bestimmten Kolibakterien gebildetes Toxin eine irreversible zytotoxische Wirkung auf Vero-Zellen, einer etablierten Zelllinie von Nierenzellen der Grünen Meerkatze, ausübte [8]. In der Folge wurde die Bezeichnung „Verocytotoxin-producing *E. coli*“ oder „Verotoxin-producing *E. coli*“ (VTEC) für diese Bakterien geprägt. Nur wenig später wurde entdeckt, dass ein Toxin von *E. coli* O157:H7, welches von US-amerikanischen Patienten mit hämorrhagischer Kolitis isoliert wurde, durch Antiserum für Shigatoxin neutralisiert werden konnte. Hierbei handelte es sich um ein Serum gegen das vom japanischen Mikrobiologen Kiyoshi Shiga entdeckte Toxin von *Shigella dysenteriae* Typ 1 [9], woraufhin diese Bakterien auch als „Shiga-like toxin-producing *E. coli*“ bzw. „Shiga toxin-producing *E. coli*“ (STEC) bezeichnet wurden. Heutzutage werden die Begriffe STEC und VTEC synonym verwandt, eine einheitliche Terminologie existiert nicht. In diesem Dokument wird der Begriff STEC für diese Bakterien verwandt.

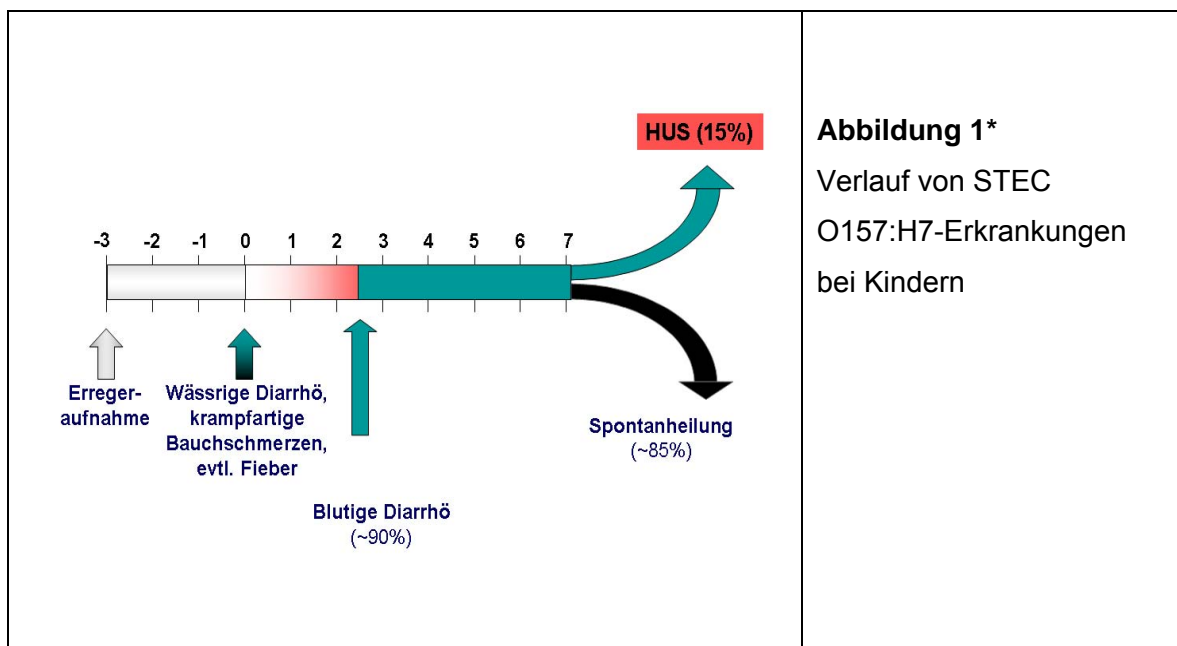
Unter dem Begriff EHEC im engeren Sinne werden solche STEC verstanden, die eine enterohämorrhagische Kolitis oder ein lebensbedrohliches hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) hervorrufen können [10]. Mehrfach wurde der Versuch unternommen, EHEC anhand bestimmter mikrobiologischer Eigenschaften zu definieren [10, 11]. Jedoch ist der Krankheitsverlauf nach einer STEC-Infektion variabel und wird nicht ausschließlich durch Charakteristika des Infektionserregers determiniert, sondern auch von der Anzahl der aufgenommenen Krankheitserreger und der individuellen Empfindlichkeit des Infizierten. Daher rufen typische EHEC nicht selten milde oder gar keine Krankheitsverläufe hervor. Andererseits können, wenngleich selten, auch schwere Krankheitsverläufe bei Infektionen mit STEC beobachtet werden, die über eine für EHEC eher untypische Virulenzausstattung verfügen.

Aufgrund dieser Schwierigkeiten wird der Begriff EHEC im weiteren Sinne häufig, so auch im Infektionsschutzgesetz (IfSG), auf sämtliche STEC angewandt, die fähig sind, beim Menschen Krankheitserscheinungen auszulösen [12].

1.1.2. Klinische Symptomatik von STEC-Erkrankungen

STEC-Infektionen können klinisch inapparent verlaufen und somit unerkant bleiben. Erkrankungen, bei denen STEC im Stuhl nachgewiesen werden („STEC-Erkrankungen“), manifestieren sich nach einer Inkubationszeit von 2 bis 10 Tagen (durchschnittlich 3 bis 4 Tagen) [13]. Diese Angaben zur Inkubationszeit beruhen im Wesentlichen auf Beobachtungen zu STEC-Infektionen der Serogruppe O157 in Krankheitsausbrüchen, da hier der Zeitpunkt der Erregeraufnahme häufig verlässlich geschätzt werden kann (Bell

et al.). Die Inkubationszeit von STEC anderer Serogruppen, sogenannten „non-O157 STEC“, ist nicht hinreichend untersucht. Die Mehrzahl der manifesten Erkrankungen tritt als unblutige, meistens wässrige Diarrhö in Erscheinung. Begleitsymptome sind Übelkeit, Erbrechen und zunehmende Abdominalschmerzen, seltener Fieber [12]. Bei 10–20% der Erkrankten entwickelt sich als schwere Verlaufsform eine hämorrhagische Kolitis mit krampfartigen Abdominalschmerzen und blutigem Stuhl. Insbesondere Säuglinge und Kleinkinder, sowie alte Menschen und abwehrgeschwächte Personen erkranken häufiger schwer. Als lebensbedrohliche Komplikation gilt das vor allem bei Kindern vorkommende HUS, das durch die Trias hämolytische Anämie, Thrombozytopenie und akutes Nierenversagen bis zur Anurie charakterisiert ist. Diese schwere und lebensbedrohliche Komplikation tritt, in Abhängigkeit vom Alter der Patienten, in etwa 5–10% der symptomatisch mit STEC O157:H7 infizierten Personen auf [14] und ist der häufigste Grund für akutes Nierenversagen im Kindesalter [15]. Hierbei kommt es häufig zur kurzzeitigen Dialysepflicht, seltener zum irreversiblen Nierenfunktionsverlust mit chronischer Dialyse. In der Akutphase liegt die Letalität des HUS bei etwa 2% [15]. Der zeitliche Verlauf einer STEC O157:H7-Infektion von der Exposition bis zur Entwicklung eines HUS bzw. zum Sistieren der Symptomatik ist in Abbildung 1 dargestellt.



* Abbildung übersetzt aus „Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. Lancet 2005, 19; 365(9464):1073-86, mit Erlaubnis des Verlages Elsevier (Lizenznummer 25630217844).

Es wird davon ausgegangen, dass Infektionen mit STEC O157 durchschnittlich zu schwereren Krankheitsverläufen führen als Infektionen mit non-O157 STEC.

Beispielsweise führen STEC O157 Infektionen häufiger als non-O157 STEC zu blutiger Diarrhö [16] und STEC O157 ist weltweit die dominierende Serogruppe bei Kindern mit STEC-assoziiertem HUS [17]. Bei dieser verallgemeinernden Betrachtung muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Gruppe der non-O157 STEC genomisch sehr heterogen ist und auch einige STEC Serogruppen umfasst, deren Stämme in der Mehrzahl als sehr virulent eingestuft werden (z.B. O145 [18]).

1.1.3. Diagnostik von STEC

Der klassische STEC-Serotyp, O157:H7, hat die besondere Eigenschaft, dass er, im Gegensatz zu anderen STEC, Sorbitol nicht innerhalb von 24 Stunden fermentieren kann. Daher können diese STEC relativ einfach als farblos wachsende Kolonien auf Sorbitol-haltigen Selektivnährmedien (z.B. Sorbitol-MacConkey Agar, „SMac“) präsumtiv identifiziert werden, im Gegensatz zu den rotgefärbten Kolonien anderer *E. coli* – Serogruppen, einschließlich der physiologischen Flora. Viele Länder (z.B. Großbritannien, USA und Kanada) fokussieren ihre Diagnostik auf STEC des Serotyps O157:H7, da diese virulenten Bakterien relativ einfach, kostengünstig und schnell in der Routinediagnostik diagnostiziert werden können [19, 20].

Da STEC der Serogruppe O157 (O157:H7 bzw. O157:H-) in Deutschland nur in etwa 20% der STEC-Gastroenteritiden identifiziert werden und auch andere, sogenannte „non-O157 STEC“ schwere Krankheitsbilder hervorrufen können, ist die Diagnostik hierzulande auf den Serogruppen-unabhängigen STEC-Nachweis ausgerichtet [21]. Diagnostisches Target sind die Shigatoxine bzw. die sie kodierenden Gene. Prinzipiell erfolgt die derzeitige Diagnostik sequenziell in drei Stufen: Nachweis des Shigatoxins bzw. der Shigatoxin-Gene, Erregerisolierung (mittels Anreicherung in EHEC-Bouillon und SMac-Agar, Kolonie-Immunoblot oder immunmagnetischer Separation), und weitergehende Erregercharakterisierung, wie z.B. Bestimmung der Serogruppe und weiterer Virulenzfaktoren.

Diese Vorgehensweise gewährleistet die Diagnostik aller STEC, weswegen in Deutschland diese diagnostische Vorgehensweise empfohlen ist. Als nachteilig erweist sich jedoch vor allem der hohe Arbeits- und Zeitaufwand, verglichen mit dem selektiven Nachweis von STEC O157:H7 [22], wobei insbesondere die mangelnde Zeitnähe für eine frühzeitige Intervention hinderlich ist. Bei einer Diagnostik gemäß der in Deutschland derzeit gültigen Empfehlung [23] verstreicht wertvolle Zeit zwischen dem Toxinnachweis und der Identifizierung eines STEC (inkl. Bestimmung der Serogruppe), die für Maßnahmen zur Verhinderung der Infektionsweiterverbreitung nicht zur

Verfügung steht. Konkret vergehen 21 Tage (Median) bei STEC O157-Erkrankungen und 25 Tage bei non-O157 STEC-Erkrankungen, bis die Serogruppeninformation im Gesundheitsamt vorliegt [24].

1.2. Epidemiologie der STEC-Erkrankungen des Menschen

1.2.1. Reservoir

Als Reservoir für STEC gelten Tiere, weswegen die STEC-Erkrankung des Menschen auch als Zoonose gilt – als eine Erkrankung also, die auf natürlichem Weg direkt oder indirekt zwischen Tieren und Menschen übertragen werden kann [25]. Als Hauptreservoir von STEC gelten Wiederkäuer [26], vor allem Rinder, Schafe und Ziegen, aber auch in Wildwiederkäuern (z.B. Hirsche) bzw. deren Fleisch werden die Erreger nachgewiesen [27-29]. Landwirtschaftlich genutzte Rinder gelten als wichtigstes Reservoir für STEC O157:H7 [30, 31]. Die Bakterien besiedeln den Gastrointestinaltrakt der Tiere, insbesondere die Schleimhaut am Übergang vom Rektum in den Anus [31, 32]. Sie rufen hierbei keine Krankheitssymptome hervor [32, 33]. Die asymptomatische Erregerausscheidung mit dem Kot führt zu einem unbemerkten Eintrag der Bakterien in die Umwelt bzw. zur versteckten Kolonialisierung benachbarter Tiere. Wenngleich die Ausscheidungsdauer der Erreger sehr variabel ist [34-36], wird im Allgemeinen von einer nur transienten Besiedlung des Gastrointestinaltrakts ausgegangen. In jüngerer Vergangenheit mehren sich Nachweise von STEC in Fleisch von nicht-wiederkäuenden Wildtieren, z.B. Wildschweinen [27]. Vereinzelt wurde nachgewiesen, dass auch Heimtiere STEC ausscheiden [37]. Die Bedeutung dieser Tiere für die Verbreitung des Erregers und für Infektionen beim Menschen wird derzeit als gering eingeschätzt [12].

Eine direkte Zuordnung bestimmter STEC-Serogruppen bzw. -typen zu einzelnen Tierspezies ist nicht möglich, wenngleich Affinitäten bestimmter Serogruppen / -typen und Tierspezies zu bestehen scheinen [38]. Viele unterschiedliche STEC-Serogruppen werden in den einzelnen Reservoir-Spezies gefunden [39], wovon nur ein geringerer Anteil als humanpathogen eingeschätzt wird. Der Mensch gilt nicht als Reservoir für diese Erreger, da sehr selten eine Weitergabe des Erregers über mehr als eine Folgegeneration beobachtet wird und die in Ausbrüchen beobachtete mediane Ausscheidungsdauer von STEC O157:H7, schwankend zwischen 1-4 Wochen [40-43], zeitlich relativ eng umschrieben ist.

1.2.2. Transmissionswege von STEC und Risikofaktoren für Erkrankungen

Der Übertragungsweg von STEC auf den Menschen erfolgt fäkal-oral, d. h. STEC-Infektionen resultieren aus der unbeabsichtigten oralen Aufnahme geringer Fäzesmengen, in denen STEC enthalten sind. Die Übertragung kann über Lebensmittel (inkl. Trinkwasser) oder die Umwelt erfolgen, z. B. durch Kontakt zu Wiederkäuern bzw. deren Fäzes oder unbelebten Gegenständen (Schmierinfektionen). Sie kann aber auch von Mensch zu Mensch erfolgen, ein Übertragungsweg der häufig als „sekundär“ bezeichnet wird, weil der Mensch nicht als Reservoir für STEC fungiert und der Überträger seinerseits die Infektion mit großer Wahrscheinlichkeit auf anderem Wege erworben hat. Nachfolgend wird eine kurze Übersicht der bekannten Übertragungswege gegeben, die zu STEC-Erkrankungen beim Menschen führen können.

Lebensmittel

Die indirekte Transmission über kontaminierte Lebensmittel ist der dominierende Übertragungsweg von STEC in Ausbrüchen in den USA [44] und wahrscheinlich auch in anderen Ländern. Eine Vielzahl unterschiedlicher Lebensmittel wurde in Krankheitsausbrüchen als Vehikel identifiziert. Kontaminiertes Rinderhackfleisch, als Fleischbratling zentraler Bestandteil von Hamburgern, war bereits das Vehikel im ersten Ausbruch durch STEC O157:H7 Infektionen im Jahre 1982, in dessen Folge die Erkrankungen in den USA umgangssprachlich auch als „Hamburger-Disease“ bezeichnet wurde [45]. Betrachtet man alle in den USA untersuchten STEC-O157-Ausbrüche von 1982 bis 2002, so ist (Rinder-)Hackfleisch das am häufigsten in Krankheitsausbrüchen identifizierte Lebensmittelvehikel in den USA [44]. Weitere für Krankheitsausbrüche verantwortliche Lebensmittel sind Rindfleisch [46], Hirschfleisch [47], Milchprodukte, insbesondere Rohmilch [48] und Rohmilch-Käse [49], Speiseeis [50], Trinkwasser [51], aber auch pflanzliche Lebensmittel, wie beispielsweise Kopfsalat [52],[53], nicht-pasteurisierte Apfelsaft [54] oder Spinat [55].

Der bislang größte STEC Ausbruch ereignete sich im Sommer 1996 in Osaka, Japan. Innerhalb weniger Tage erkrankten mehr als 6000 Kinder durch Schulmahlzeiten, die kontaminierte Rettichsprossen enthielten [56]. Die Kontamination pflanzlicher Lebensmittel erfolgt entweder bereits während der Primärproduktion, häufig durch Düngung bzw. durch in der Nähe von landwirtschaftlichen Nutzflächen lebende Reserviertiere, oder erst bei der Herstellung von Lebensmitteln in der Gemeinschaftsverpflegung durch Kreuzkontamination. Der Anteil von Ausbrüchen durch pflanzliche Lebensmittel nimmt international zu und spiegelt unter anderem auch den gesteigerten Pro-Kopf-Verbrauch an diesen Lebensmitteln wieder [57].

Umwelt

Infektionen durch Aufnahme des Erregers aus der „Umwelt“ erfolgen hauptsächlich durch direkten Kontakt zu STEC ausscheidenden Tieren (z.B. streicheln), zumeist Wiederkäuer, bzw. durch den unbemerkten Kontakt zu Tierfäzes. STEC-Krankheitsausbrüche durch Übertragungen aus der Umwelt ereigneten sich insbesondere auf für die Öffentlichkeit zugänglichen Bauernhöfen [58-61], aber auch auf landwirtschaftlichen Nutzausstellungen [62], durch Spielen auf landwirtschaftlich genutzten Grünflächen [63] sowie durch Baden in STEC-kontaminierten Gewässern [64, 65]. Fall-Kontroll-Studien weisen darauf hin, dass Übertragungen aus der Umwelt auch bei sporadischen STEC-Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen [66-68]. Dies wird auch durch sogenannte ökologische Studien aus Kanada und Schottland gestützt, die eine erhöhte Inzidenz von STEC der Serogruppe O157 in Regionen mit großer Rinderdichte [69, 70] bzw. weiteren Indikatoren der Landwirtschaft zeigten [71]. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die Bedeutung von „Umwelt-Übertragungen“ in der Epidemiologie von STEC O157-Erkrankungen des Menschen, auch wenn diese räumlichen Assoziationen sehr vorsichtig im Hinblick auf individuelle Krankheitsrisiken interpretiert werden müssen. Der mögliche räumliche Zusammenhang mit anderen non-O157 STEC-Serogruppen war vor der hier vorgestellten Studie nicht untersucht.

Mensch-zu-Mensch-Übertragung

STEC O157:H7-Erkrankungen durch Übertragungen von einem Mensch auf den anderen sind häufig, verglichen mit anderen bakteriellen Infektionserregern des Darmtraktes. Der Anteil von Mensch-zu-Mensch-Übertragungen im Haushalt an allen sporadischen Erkrankungen ist in England und Wales auf ca. 10% geschätzt worden [72]. Auch in primär lebensmittelbedingten Ausbrüchen ist der Anteil von Folgeerkrankungen durch Mensch-zu-Mensch-Übertragungen beträchtlich [73]. Dieser Übertragungsweg wird im Fall von STEC O157:H7 begünstigt durch die sehr geringe Infektionsdosis von weniger als 1.000 Bakterien [74-76]. Somit sollten geringste Spuren für die Übertragung ausreichend sein. Dies wird eindrucksvoll verdeutlicht durch die hohe Zahl an Krankheitserregern (10.000.000–100.000.000), die Kinder in der Anfangsphase einer STEC O157:H7-Erkrankung ausscheiden [77]. Grundsätzlich gelten Menschen als ansteckungsfähig, solange sie STEC mit dem Stuhl ausscheiden. Viele verschiedene Infektionsorte sind für Übertragungen von Mensch zu Mensch beschrieben worden, beispielsweise Einrichtungen zur Kinderbetreuung [78, 79], Seniorenwohnheime [80], insbesondere aber der private Haushalt [72]. Kontakt zu einer Person im Haushalt mit Diarrhö im angenommenen Infektionszeitraum ist nicht nur ein wichtiger Risikofaktor für STEC-Erkrankungen sondern auch in besonderer Weise für das pädiatrische HUS

[81, 82]. In einer kanadischen Studie wurde geschätzt, dass mehr als 50% der Erkrankungen an HUS bei Kindern auf den Kontakt zu Haushaltsmitgliedern mit Diarrhö zurückzuführen waren. Ob die Übertragung direkt durch Kontakt zum infizierten Menschen erfolgt oder indirekt durch von der erkrankten Person kontaminierten Gegenständen (z.B. Toilettensitz, Handtuch) bleibt ungewiss und ist auch in Einzelfällen nicht zweifelsfrei zu klären. Im bislang größten STEC-Krankheitsausbruch in Japan konnte die gemeinsame Verwendung von Handtüchern nach Toilettenbenutzung als Risikofaktor für sekundäre Haushaltsübertragungen identifiziert werden [83]. Empfehlungen zur Verhinderung von Mensch-zu-Mensch-Übertragungen enthalten daher nicht nur Hinweise zur adäquaten Händehygiene sondern auch generell zur Reinigung und ggf. Desinfektion potentiell kontaminierter Gegenstände, wie z. B. der Bettwäsche, Toilettensitze, Handgriffe und Wascharmaturen [12, 84].

Wie aus dem Vorangestellten deutlich wird, werden Erkenntnisse zur Epidemiologie gastrointestinaler Infektionserkrankungen auf unterschiedlichen Wegen gewonnen. Überproportional haben dazu systematische Untersuchungen von Krankheitsausbrüchen beigetragen [85], durch Identifizierung von Infektionsvehikeln, Aufklärung von Übertragungswegen sowie, im Falle lebensmittelbedingter Krankheitsausbrüche, von Kontaminationsvorgängen. Allerdings tritt die überwiegende Mehrzahl der bakteriellen Infektionserkrankungen außerhalb von Krankheitsausbrüchen, mithin als Einzelerkrankung („sporadisch“), in Erscheinung. Die Risikofaktoren für sporadische Erkrankungen können sich von denen in Ausbrüchen unterscheiden bzw. von unterschiedlicher Wertigkeit sein [86]. Beispielsweise ist der Verzehr kontaminierter Lebensmittel die Hauptursache für STEC-verursachte Krankheitsausbrüche. Hingegen ist unklar, wie häufig Lebensmittel die Ursache für sporadische Erkrankungen sind. Zur Evidenz-basierten Identifizierung von Risikofaktoren für sporadische Erkrankungen sind Fall-Kontroll-Studien besonders geeignet. Hierbei werden die individuellen Krankheits- und Expositionshäufigkeiten einer Gruppe von Erkrankten einer vergleichbaren Kontrollgruppe gegenübergestellt. Dieses Studiendesign ermöglicht darüber hinaus, die Bedeutung einzelner Übertragungswege bzw. Lebensmittel, ergo deren populationsattributablen Anteil, zu schätzen. Ein weiterer epidemiologischer Studientyp, der eingesetzt wird und Hinweise insbesondere auf umweltbezogene Übertragungswege liefert, ist die ökologische Studie, bei der die Untersuchungseinheiten nicht individuelle Probanden sondern regionale Einheiten sind.

1.2.3. Situation in Deutschland

STEC werden in Deutschland als Infektionserreger menschlicher Erkrankungen bereits seit den 80er Jahren nachgewiesen [87, 88]. In Abwesenheit einer gesetzlichen Meldepflicht und diagnostischer Empfehlungen der mikrobiologischen Fachgesellschaften war der Nachweis zunächst spezialisierten Laboratorien vorbehalten. Nachdem sich im Jahr 1996 in Bayern ein großer Krankheitsausbruch mit 28 pädiatrischen Erkrankungen an HUS durch Infektionen mit Sorbitol-fermentierenden STEC O157:H- [89] ereignete, führte zunächst Bayern eine Meldepflicht für diese Erreger ein. Im November 1998 wurde die Meldepflicht bundesweit für das enteropathische HUS und die EHEC-Infektion nach dem damals geltenden Bundesseuchengesetz (§3) eingeführt. Mit dem Inkrafttreten des IfSG im Jahr 2001, ist der labordiagnostische Nachweis, direkt oder indirekt, aller STEC (im IfSG als EHEC bezeichnet, siehe Seite 6) namentlich meldepflichtig, soweit die Nachweise auf eine akute Infektion hinweisen (§ 7 IfSG). Eine namentliche Meldepflicht besteht darüber hinaus auch für den Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie den Tod am sogenannten enteropathischen HUS (§ 7 IfSG), welches fast ausschließlich durch STEC hervorgerufen wird. Aufgrund der bis dato unvollständigen Inanspruchnahme und der variablen Qualität labordiagnostischer Möglichkeiten zum Nachweis von STEC sollte das HUS ein stabilerer Marker für Langzeittrends in der Inzidenz humaner STEC-Infektionen sein [90]. Die Meldungen werden dem Robert-Koch-Institut (RKI) innerhalb gesetzlich festgelegter Fristen nicht-namentlich übermittelt (§ 11 IfSG).

Jährlich werden dem RKI von den Gesundheitsämtern in Deutschland ca. 1000 Fälle in der Meldekategorie EHEC übermittelt (Maximum: 1140, Minimum: 834) [91], dies entspricht einer durchschnittlichen Inzidenz von ca. 1 Erkrankung pro 100.000 Einwohner. Mehr als 90% dieser Erkrankungen werden als sporadische Erkrankungen übermittelt, d. h. als Einzelerkrankungen ohne erkennbaren epidemiologischen Zusammenhang zu anderen Erkrankungen [92]. Geografisch lassen sich deutliche Unterschiede in der Inzidenz übermittelter STEC-Erkrankungen erkennen. Regionen mit besonders hoher STEC-Inzidenz finden sich vor allem in Bayern (z.B. im Allgäu), im nordwestlichen Niedersachsen (Weser-Ems-Region), in Nordrhein-Westfalen (vor allem Kreise im Regierungsbezirk Arnsberg) und in östlichen Regionen von Sachsen. Die meisten Erkrankungen werden im dritten Quartal, v. a. im Spätsommer, gemeldet. Die Erkrankung betrifft vorwiegend Kinder (ca. 50% sind jünger als 5 Jahre), wesentliche geschlechtsspezifische Unterschiede sind nicht erkennbar [92]. Unter den Meldungen mit Angabe zur Serogruppe entfielen 2009, wie auch in den Vorjahren etwa 50% auf die

Gruppen O157, O103 und O26. Dass der Anteil der Erkrankungen durch STEC O157-Infektionen weniger als 20% beträgt, verdeutlicht, dass die Mehrzahl der in Deutschland festgestellten STEC-Erkrankungen durch non-O157-Stämme hervorgerufen wird.

Darüber hinaus registriert das RKI jährlich zwischen 44 und 118 Fällen in der Meldekategorie HUS (Median: 64 Fälle) [91], dies entspricht einer durchschnittlichen Inzidenz von unter 1 Erkrankung pro 1.000.000 Einwohner. Auch hier sind deutliche regionale Unterschiede zu erkennen, die teilweise mit denen der Kategorie EHEC übereinstimmen. Die meisten Erkrankungen betreffen Kinder unter 5 Jahren (71% im Jahr 2009) und werden im dritten Quartal gemeldet, ohne dass wesentliche geschlechtsspezifische Unterschiede feststellbar sind [93]. Ein deutlicher Unterschied zu der Meldekategorie „EHEC“ zeigt sich allerdings bei der Serogruppen-Verteilung. Unter den Meldungen mit Angabe zur Serogruppe entfielen 2009, vergleichbar mit den Vorjahren, fast $\frac{3}{4}$ aller HUS-Meldungen auf die Serogruppe O157 – Ausdruck der großen Virulenz dieser Erreger. Aufgrund der Schwierigkeit und der Unvollständigkeit des Erregernachweises, werden Krankheitsausbrüche teilweise nur durch einen unerwarteten Anstieg in der Zahl pädiatrischer HUS-Patienten erkannt [22] und nicht durch eine unerwartet hohe Anzahl von Diarrhö-Patienten mit STEC-Nachweis. Dies trifft insbesondere in Deutschland zu, auch weil hier Infektionen mit einem sehr virulenten Typ festgestellt werden, der zu Krankheitsausbrüchen führt, die dadurch gekennzeichnet sind, dass die überwiegende Mehrzahl der dem Ausbruch zugeordneten Fälle, ein HUS entwickelten [94, 95]. Auch die Erkennung typischer durch STEC-verursachter Krankheitsausbrüche, bei denen die Mehrzahl der Fälle lediglich gastroenteritische Erkrankungen aufweist, erfolgt manchmal durch ungewöhnliche zeitliche bzw. räumliche Muster der Erkrankungen an HUS [50, 96-98]. Aus diesem Grund hat das RKI im Jahr 2008, unterstützt durch die Gesellschaft für Pädiatrische Nephrologie, eine aktive Surveillance des pädiatrischen HUS etabliert, zusätzlich zur gesetzlichen Meldepflicht [95].

Die Meldedaten liefern standardisierte epidemiologische Basisinformationen zur Situation der (gemeldeten) STEC-Erkrankungen bzw. des enteropathischen HUS in Deutschland. Die Ursachen, also die Übertragungswege und Risikofaktoren für die Mehrzahl der Erkrankungen in Deutschland, bleiben zumeist ungeklärt und waren vor den hier vorgestellten Arbeiten weitgehend unbekannt.

1.3. Virulenzfaktoren von STEC und deren Assoziation mit STEC-Erkrankungen des Menschen, Wirtsfaktoren

1.3.1. Shigatoxine und andere Virulenzfaktoren

Das zentrale Virulenzmerkmal von STEC sind die Shigatoxine (Stx). Als Zytotoxine inhibieren sie die Proteinsynthese und führen zum Zelltod. Die sie kodierenden Gene (*stx*) befinden sich im Genom temperenter, lambdoider Bakteriophagen, die in das *E. coli* Genom integriert sind [99]. Unterschiedliche Shigatoxine existieren, wobei zwei Hauptgruppen unterschieden werden, Stx1 and Stx2 [100]. Varianten der Shigatoxine in *E. coli* werden mit c, d, e, f, etc. bezeichnet (die Buchstaben A und B bleiben den Bezeichnungen der A- und B- Untereinheiten des Toxins vorbehalten). Bislang können die Varianten Stx1c [23], Stx2c [101], Stx2d [102], Stx2e [103], Stx2f [104] und Stx2g [105] unterschieden werden. Stx1 ist nahezu identisch mit Shigatoxin von *Shigella dysenteriae*. Stx2 weist nur ca. 60% Aminosäuren-Sequenzhomologie zu Stx1 auf und wird von Antikörpern gegen Stx1 nicht neutralisiert. Die genetische Verwandtschaft von Stx2 zu seinen Varianten hingegen ist groß, mit Ausnahme der Varianten Stx2f und Stx2g.

STEC mit den Stx 1, 1c, 2, 2c und 2d werden vornehmlich aus Stuhl vom Menschen bzw. dem Kot von Rindern nachgewiesen [106]. In Stämmen von Schafen können Stx1c und 2d nachgewiesen werden. Die von Wildwiederkäuern (v. a. aus der Familie der Hirsche) isolierten STEC exprimieren Stx1, 1c, 2 oder 2d [27]. Stx2e wird charakteristischerweise von STEC aus Schweinen mit Ödemkrankheit nachgewiesen [107], kann jedoch in seltenen Fällen auch in humanen STEC-Isolaten gefunden werden [108]. Stx2f wurde bislang nur in STEC-Isolaten aus Taubenkot detektiert und nicht bei humanen STEC-Isolaten gefunden [109].

Es besteht weitgehend Konsens, dass die Virulenz von STEC nicht von den Shigatoxinen allein ausgeht, sondern dass weitere Virulenzmerkmale für das Hervorrufen schwerer Krankheitsverläufe vorhanden sein müssen [110]. Das wichtigste dieser Virulenzmerkmale ist wahrscheinlich die chromosomale Pathogenitätsinsel „LEE“ („Locus of enterocyte effacement“) [111]. Die Gene der Pathogenitätsinsel ermöglichen den Bakterien zum einen die intestinale Anhaftung durch die Produktion des Adhärenzfaktors „Intimin“, kodiert vom LEE-Markergen „*eae*“ („*E. coli* attaching and effacing“), zum anderen die Produktion sogenannter „attaching and effacing“ Läsionen in den Enterozyten der Wirtsmukosa. Neben zwei weiteren Pathogenitätsinseln („HPI“, „TAI“) befinden sich weitere vermutete Virulenzfaktoren vor allem extrachromosomal auf dem EHEC-spezifischen Plasmid pO157, das durch horizontalen Gentransfer effizient

zwischen *E. coli* Stämmen ausgetauscht werden kann. Auf diesem Plasmid befindet sich das EHEC-spezifische Hämolyisin, das sich bei allen STEC der Serogruppe O157 und bei ca. der Hälfte der non-O157 STEC findet und dessen pathogenetische Bedeutung nicht abschließend geklärt ist [112, 113]. Darüber hinaus befinden sich auf dem Plasmid weitere Gene, für die eine wichtige pathogenetische Bedeutung diskutiert wird, wie z.B. die den humanen Gerinnungsfaktor spaltende Serinprotease (*espP*) [114, 115], eine bifunktionale Katalase-Peroxidase (*kafP*) [116], und das *etp*-Gen-Cluster, das für die Ausbildung eines Typ II Sekretionssystems verantwortlich ist [117].

1.3.2. Assoziation von Virulenzfaktoren mit STEC-Erkrankungen des Menschen

Die genomische Ausstattung, inkl. möglicher Virulenzgene, von STEC ist sehr variabel [24, 118, 119]. Die Vermutung, dass bestimmte Gene bzw. deren exprimierte Produkte entscheidenden Einfluss auf die Virulenz von STEC haben, beruht auf einer Vielzahl von Tierversuchen [120] bzw. in-vitro Untersuchungen [121]. Die Etablierung eines statistischen Zusammenhanges zwischen den vermuteten Virulenzfaktoren und schweren Erkrankungen ist hingegen selten. Bereits 1989 konnte an einer Sammlung von Patientenisolaten von STEC O157:H7 Stämmen, die in einem Jahr in einem definierten geografischen Raum gesammelt wurden, die Diversität von Toxintypen und Plasmid-kodierten Genen einerseits und die Assoziation von Stx2 mit HUS andererseits beobachtet werden [122]. In der Folge gab es einige Studien die eine Assoziation bestimmter Virulenzgene mit menschlichen Erkrankungen beobachteten [102, 123, 124]. Allerdings waren diese Studien von relativ begrenztem Stichprobenumfang und beschränkten sich jeweils auf sehr wenige Virulenzfaktoren, ohne den Einfluss anderer Faktoren zu berücksichtigen. Zwei epidemiologische Studien haben maßgeblich das Verständnis von der Bedeutung der Virulenzmarker von STEC geprägt. In einer großen retrospektiven Querschnittsstudie konnte in multivariablen Regressionsanalysen gezeigt werden, dass lediglich die Virulenzgene *stx*₂ und *eae* unabhängig voneinander mit schweren Krankheitsverläufen, definiert als hämorrhagische Kolitis oder HUS, assoziiert sind [125]. Darüber hinaus wurde eine synergistische Wirkung der Virulenzgene vermutet, basierend auf einer statistischen Interaktion der beiden Gene. Diese Ergebnisse wurden in einer Studie bestätigt und weiter differenziert, welche die Assoziation der verschiedenen Shigatoxin-Gene mit unterschiedlichen klinischen Manifestationen untersuchte. Demnach tragen STEC von HUS-Patienten, neben dem *eae*-Gen, stets *stx*₂ oder *stx*_{2c} bzw. beide dieser Shigatoxin-Gene [126]. Hingegen wurden STEC mit den Genen *stx*_{2d} oder *stx*_{2e}, die sämtlichst kein *eae*-Gen trugen, zwar von Diarrhöpatienten nicht jedoch von HUS-Patienten isoliert.

Obwohl die Virulenzfaktoren von STEC mittlerweile gut charakterisiert sind, das Genom sequenziert ist, war weiterhin unverständlich, was die besondere Virulenz der Serogruppe O157 ausmacht, da diese Studien für den Effekt der Serogruppe kontrollierten.

1.3.3. Wirtsfaktoren

Die Bedeutung von Wirtsfaktoren für den Erwerb von STEC-Erkrankungen ist wenig untersucht. Experimentell steigt die Überlebensrate von STEC O157:H7 in simulierter Magensaft-Flüssigkeit, wenn Antacida hinzugefügt werden [127] und auch ein erhöhter Katecholamin-Spiegel erhöht die mukosale Adhäsion im Kolon von Mäusen [25]. Eine wichtige Frage ist, ob die Entwicklung eines HUS nach erfolgter STEC-Infektion von der Immunkompetenz des Infizierten abhängt. Die Bedeutung des Komplementsystems bzw. seiner Störungen ist als wichtige Ursache für die Entwicklung eines „atypischen“, also STEC-unabhängigen, HUS seit längerem bekannt. Jüngere Arbeiten deuten darauf hin, dass das Komplementsystem auch beim typischen, STEC-assoziierten HUS eine Rolle spielt. Aufgereinigtes Stx2 aktiviert Komplement *in vitro*. Zudem konnten auch bei STEC-assoziierten HUS-Patienten Hinweise auf eine Komplementaktivierung gefunden werden [128, 129]. Inwieweit individuelle Unterschiede in der Stärke der Komplement-Aktivierung eine Rolle für die Empfindlichkeit spielen, ein HUS zu entwickeln, ist derzeit ungewiss. Dessen ungeachtet wird angenommen, dass regionale Unterschiede in der Inzidenz des HUS wahrscheinlich primär auf Unterschieden in der Expositionshäufigkeit zum kausalen Agens - STEC - beruhen und weniger auf demografischen Unterschieden in der genetisch determinierten Empfindlichkeit, ein HUS *post infectionem* zu entwickeln [17].

2. Ergebnisse

Die vorgestellten Arbeiten beschäftigen sich mit unterschiedlichen Aspekten der Epidemiologie von STEC-Erkrankungen bzw. -Infektionen des Menschen. Deren übergeordnetes Ziel ist die Bereitstellung von Evidenz für die Entwicklung bzw. Verbesserung von Handlungsempfehlungen zur Prävention und Kontrolle dieser Infektionserreger.

Die Arbeiten im ersten Abschnitt befassen sich mit der Identifizierung von Risikofaktoren. Im Mittelpunkt steht hierbei eine populationsbasierte bundesweite Fall-Kontroll-Studie zu Risikofaktoren für den Erwerb sporadischer STEC-Infektionserkrankungen in Deutschland. Viele Risikofaktoren für die Übertragung von gastrointestinalen Krankheitserregern werden im Rahmen von systematisch durchgeführten Untersuchungen von Krankheitsausbrüchen ermittelt. Exemplarisch wird hier die Untersuchung eines Bundesland-übergreifenden Krankheitsausbruchs durch STEC O26:H11 vorgestellt. Eine Kohortenstudie beschließt diesen Abschnitt. Ziel dieser Arbeit war einerseits die Ermittlung von Risikofaktoren für Haushaltsübertragungen des virulenten STEC-Serotyps O157:H7 und andererseits die Schätzung der Effektivität einer möglichen Maßnahme zur Verhinderung dieses Übertragungsweges.

Im zweiten Teil der Ergebnisse werden zwei Studien vorgestellt, die das Risiko für den Erwerb von STEC-Erkrankungen durch die im ersten Abschnitt identifizierten Risikofaktoren detaillierter zu charakterisieren. In beiden Arbeiten wurden keine klassischen Beobachtungsstudien durchgeführt. In der ersten Arbeit wurde der räumliche Zusammenhang von Rinderdichte und Inzidenz humaner STEC-Infektionserkrankungen durch eine sogenannte ökologische Studie untersucht. Die Studie der zweiten Arbeit verglich auf mikrobiologischer Ebene STEC, die in Deutschland aus Lebensmitteln isoliert wurden, mit STEC von Patienten in diesem Land. Ziel war es, die Public Health-Relevanz von STEC aus Lebensmitteln näher zu charakterisieren.

Abschließend wird eine epidemiologische Studie zu den genomischen Determinanten der Virulenz von STEC O157 vorgestellt. In dieser Arbeit wurde die eigene Hypothese getestet, dass die Grundlage für die hohe Virulenz dieser Serogruppe, verglichen mit non-O157 STEC, in dem häufigeren Vorkommen von Stämmen zu suchen ist, welche die beiden mit schweren Erkrankungen assoziierten Virulenzgene, *stx*₂ und *eae*, tragen.

2.1. Identifizierung von Risikofaktoren

2.1.1. Risikofaktoren für sporadische STEC-Erkrankungen in Deutschland

D. Werber, S.C. Behnke, A. Fruth, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Germany – different risk factors for different age groups. *Am J Epidemiol*, 2007; 165:425-434.

Diese Arbeit hatte zum Ziel, Risikofaktoren für sporadisch in Erscheinung tretende STEC-Erkrankungen in Deutschland zu identifizieren. Dazu wurde eine prospektive Fall-Kontroll-Studie in 14 Bundesländern von April 2001 bis März 2003 durchgeführt. Fallpersonen, sporadisch erkrankte Patienten mit nachgewiesener STEC-Infektion, wurden über ein bundesweites Sentinel primär diagnostizierender Labore identifiziert. Für jeden Fall wurde individuell eine Kontrolle der gleichen Altersgruppe und Wohnregion mittels eines telefonischen Ziffernaustauschverfahrens identifiziert. Studienteilnehmer wurden mit einem eigens konzipierten Fragebogen zu bestimmten Expositionen, den vermuteten Risikofaktoren, in den zehn Tagen vor Erkrankungsbeginn (Fälle) bzw. vor Interview (Kontrollen) befragt.

Assoziationen zwischen Exposition und Erkrankung wurden über konditionale logistische Regressionsmodelle separat für drei Altersgruppen ermittelt. Die Altersgruppen (<3 Jahre, 3-9 Jahre, ≥ 10 Jahre) wurden nach biologischer Plausibilität und Stichprobengröße gebildet. Insgesamt wurden 202 Fallpersonen und eine gleiche Anzahl Kontrollpersonen in die Analyse eingeschlossen. Der Altersmedian der Fallpersonen lag bei 2,5 Jahren, 101 waren (50%) weiblich, und 5 Fallpersonen entwickelten ein HUS. Non-O157 STEC Infektionen konnten bei ca. 85% der Fallpersonen nachgewiesen werden. Risikofaktoren für STEC-Erkrankungen waren altersabhängig. Bei Kindern unter 3 Jahren hatte der direkte Kontakt zu Wiederkäuern die höchste Assoziation mit STEC-Erkrankungen. Der Verzehr von Rohmilch war in dieser Altersgruppe das einzige Lebensmittel, für das ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit STEC-Erkrankung ermittelt werden konnte (OR: 6,9; 95% KI: 1,0 - 47,9; p-Wert: 0,049). Jedoch konnte lediglich ein kleiner Anteil der Erkrankungen dem Verzehr von Rohmilch zugeschrieben werden. Hingegen wurden bei Personen ab 10 Jahren ausschließlich Lebensmittel, Lammfleisch und streichfähige Rohwürste, als statistisch signifikante Risikofaktoren ermittelt, ihr geschätzter gemeinsamer populationsattributabler Anteil in dieser Altersgruppe betrug 44%. Zusammenfassend zeigte sich, dass die Risikofaktoren für STEC-Erkrankungen in Deutschland altersspezifisch sind, eine auch international neue und bedeutsame Beobachtung. Die Übertragung durch kontaminierte Lebensmittel spielte eine untergeordnete Rolle bei unter 3-jährigen Kindern, der Altersgruppe mit der höchsten Inzidenz sowohl für STEC- als auch für das pädiatrische HUS.

2.1.2. Risikofaktor für Infektionen mit STEC O26:H11 in einem Bundesland-übergreifenden Ausbruch in Deutschland

D. Werber, A. Fruth, A. Liesegang, 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; 186:419-22.

Diese Arbeit entstand im Rahmen einer intensiven epidemiologischen und mikrobiologischen Untersuchung zur Aufklärung eines Ausbruchs an STEC O26:H11 Infektionen. Im März und April des Jahres 2000 infizierten sich 11 Personen mit STEC des Serotyps O26:H11. Die Isolate ließen sich mit verschiedensten molekularbiologischen Methoden nicht unterscheiden, was eine gemeinsame Infektionsursache nahe legte. Bei den betroffenen Personen handelte es sich überwiegend um Kinder (Altersmedian: 2 Jahre), für die entweder milde, unblutige Diarrhöen oder keine gastroenteritische Symptome berichtet wurden und deren Wohnsitze auf drei verschiedene Bundesländer verteilt waren. Intensive standardisierte Befragungen der Personen bzw. - deren Erziehungsberechtigten mit Hilfe eines speziell für diese Untersuchung konzipierten Fragebogens ergaben keinen konkreten Hinweis auf eine gemeinsame Infektionsursache. Allerdings nahmen alle Personen zum Zeitpunkt ihrer Infektion an der Gemeinschaftsverpflegung einer Einrichtung (Kindergarten, Krankenhaus oder Mutter-Kind-Klinik) teil. Ein Vergleich der Warenliefererscheinungen der entsprechenden Küchen für den Zeitraum Februar und März 2000 ergab, dass nur ein Lebensmittel eines gemeinsamen Herstellers von mindestens drei der vier Küchen bezogen wurde: „Rinderseemerrolle“, ein Stück gerolltes Rindfleisch aus der vorderen Extremität. In einer Fall-Kontroll-Studie bestätigte sich, dass Rinderseemerrolle in den die Fälle versorgenden Küchen häufiger verwendet wurde (3/4) als in Vergleichsküchen, (0/20) die nach Bundesland und Gemeinschaftseinrichtung „gematcht“ ausgewählt wurden (p -Wert $<0,002$). Eine anschließende Rückverfolgung des Lebensmittels blieb ergebnislos.

Der Verzehr kontaminierten Rindfleischs bzw. deren Verwendung in Küchen der Gemeinschaftsverpflegung war die wahrscheinlichste Infektionsursache in diesem Ausbruch, dem ersten beschriebenen überregionalen Krankheitsausbruch durch non-O157 STEC-Infektionen weltweit. Voraussetzung für die Ausbruchserkennung war ein Sentinel aus primär diagnostizierenden Laboren sowie die routinemäßige Anwendung von mikrobiologischen Feintypisierungs-Methoden (z.B. PFGE) bei allen isolierten STEC.

2.1.3. Risikofaktoren für sekundäre STEC O157:H7-Erkrankungen im Haushalt

D. Werber, B. W. Mason, M. R. Evans, et al. Preventing Household Transmission of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 Infection: Promptly Separating Siblings Might be the Key. *Clin Infect Dis*, 2008; 46: 1189-96.

Sekundärübertragungen von STEC O157:H7 sind vergleichsweise häufig. Berücksichtigt man dies in Verbindung mit dem möglicherweise lebensbedrohlichen Krankheitsverlauf durch Entwicklung eines HUS, wird der Bedarf an einer geeigneten Interventionsmaßnahme deutlich. Ziel dieser Arbeit war es zum einen, Risikofaktoren für sekundäre Haushaltsübertragungen zu identifizieren. Zum anderen sollte die Effektivität einer Interventionsmaßnahme geschätzt werden, die bislang vom Öffentlichen Gesundheitsdienst nicht angewendet wird: die sofortige, vorübergehende, räumliche Isolierung von pädiatrischen STEC O157:H7-Indexfällen. Die hierzu durchgeführte retrospektive Kohortenstudie umfasste Haushalte mit mehr als einer Person, die einem großen überregionalen Ausbruch durch STEC O157:H7-Infektionen zugeordnet wurden. Zielgröße waren Haushalte, in denen es zu Sekundärübertragungen gekommen war. Ein Sekundärfall wurde als vermeidbar eingestuft, wenn von dessen Erkrankungsbeginn bis zur mikrobiologischen Diagnose mindestens eine Inkubationszeit (4 Tage) vergangen war. Risikofaktoren wurden mittels eines multivariablen Poisson-Regressionsmodells mit robuster Fehlervarianz identifiziert. Zur Überprüfung der Effektivität der untersuchten Interventionsmaßnahme wurde eine Maßzahl entwickelt („Number needed to isolate“), die aus der bekannten „number needed to treat“ Maßzahl hergeleitet wurde. Insgesamt wurden 98 Haushalte in die Studie eingeschlossen; in 20 (22%) dieser Haushalte kam es zu 25 Sekundärfällen. Dreizehn (56%) dieser Sekundärfälle waren Geschwisterkinder des Primärfalles, von denen 4 ein HUS entwickelten. Als unabhängige Risikofaktoren für Sekundärübertragungen im Haushalt wurden das Vorkommen von Geschwisterkindern (RR 3,8; 95% KI: 0,99 - 14,6) und ein geringes Alter (<5 Jahre) des Indexfalles (RR: 2,0; 95% KI: 0,99 - 41,6) identifiziert. Von 15 Sekundärfällen mit vollständiger Information hätten theoretisch 7 (46%) durch sofortige Isolierung des Indexfalles verhindert werden können. Basierend auf diesen Daten müssten 47 primär mit STEC O157:H7 infizierte Geschwisterkinder <10 Jahren räumlich isoliert werden (z.B. durch Hospitalisierung), um einen durch Sekundärinfektion hervorgerufenen HUS-Fall zu verhindern. Die sofortige räumliche Isolierung STEC O157:H7 infizierter Kinder von ihren Geschwisterkindern scheint eine erfolversprechende Maßnahme zur Verhinderung von Sekundärerkrankungen im Haushalt zu sein.

2.2. Weitergehende Charakterisierung von Risikofaktoren für STEC-Erkrankungen

2.2.1. Einfluss der Rinderdichte auf die Inzidenz von STEC-Erkrankungen auf Ebene der Land- bzw. Stadtkreise in Deutschland

C. Frank, S. Kapfhammer, **D. Werber**, et al. Cattle density and Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Germany: Increased Risk for Most but not all Serogroups. Vector Borne Zoonotic Dis, 2008; 8(5):635-43.

In vielen Ländern ist die Inzidenz von STEC O157:H7-Erkrankungen in Regionen mit großer Rinderdichte erhöht und der Kontakt zu Wiederkäuern ist ein gut untersuchter Risikofaktor für den Erwerb von Infektionen dieses Serotyps. Die Bedeutung der Rinderdichte bzw. des Kontakts zu Rindern in Bezug auf andere humanpathogene STEC-Serogruppen ist hingegen nicht bzw. weniger gut untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit war zu prüfen, ob auch in Deutschland eine Assoziation zwischen der Rinderdichte und der Inzidenz von Infektionserkrankungen durch STEC-Infektion auf Ebene der Land- bzw. Stadtkreise existiert, und ob sich dieser Zusammenhang auf alle in Deutschland wesentlichen humanpathogenen Serogruppen bezieht.

Als Datenquellen wurden die im Rahmen der gesetzlichen Meldepflicht an das RKI übermittelten STEC-Fälle der Jahre 2001-2003 verwandt. Angaben zu Rinderzahlen pro Kreis entstammten einer Datenbank, die im Rahmen der gesetzlichen Verpflichtung zu Herkunftssicherungs- und Informationssystemen der Tiere die entsprechenden Daten erhebt. Bayesianische Poisson-Regressionsmodelle wurden gerechnet, um den Zusammenhang zwischen STEC-Inzidenz und Rinderdichte, sowohl insgesamt als auch Serogruppen-spezifisch, zu prüfen. Die Rinderdichte war positiv mit der STEC-Inzidenz assoziiert. Das Risiko für eine gemeldete STEC-Infektionserkrankung stieg um 68% pro 100 Rinder/km². Mit Ausnahme der Serogruppe O91 wurde eine positive Assoziation mit den in Deutschland häufigsten Serogruppen (O26, O103, O111, O145, O157) gefunden, wenngleich die Stärke des Zusammenhangs unterschiedlich stark ausgeprägt schien. Sie war am höchsten für die Serogruppe O111 (RR: 3,8) und am niedrigsten für O26 (RR: 1,7), deren Assoziation keine statistische Signifikanz erreichte (95% Kreditintervall: 0,9-3,1). Räumliche Struktureffekte konnten insbesondere für die Serogruppe O103 beobachtet werden und deuten an, dass weitere Faktoren für den Erwerb einer STEC-Infektion in einigen Regionen Deutschlands bedeutsam sind, und dass diese Serogruppen-spezifisch sind.

Diese Ergebnisse deuten auf ein erhöhtes Risiko für den Erwerb einer STEC-Erkrankung für Personen hin, die in ländlichen Gebieten mit Rinderhaltung leben.

2.2.2. Vergleich zwischen humanen STEC-Isolaten und Lebensmittelisolaten in Deutschland

D. Werber, L. Beutin, R. Pichner, et al. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Serogroups in Food and Patients, Germany. *Emerg Infect Dis*, 2008; 14(11): 1803-6.

Infektionen über kontaminierte Lebensmittel stellen einen bedeutenden Übertragungsweg in der Epidemiologie humaner STEC-Infektionen dar. Eine Vielzahl genomisch unterschiedlicher STEC wird im Rahmen von Routinekontrollen oder durch anlassbezogene Probenahmen aus Lebensmitteln isoliert. Jedoch ist das humanpathogene Potenzial dieser Bakterien mit zumeist seltenen STEC-Serogruppen häufig nicht bekannt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Serogruppen von STEC, die in Deutschland aus Lebensmitteln isoliert wurden mit STEC von Patienten aus Deutschland zu vergleichen, um die Public Health Relevanz dieser STEC besser abschätzen zu können.

Informationen zu STEC aus Lebensmitteln stammten aus zwei Quellen: zum einen aus der Datenbank des veterinärmedizinischen Nationalen Referenzlabors für *Escherichia coli* am Bundesinstitut für Risikobewertung. Hierzu wurden Daten von STEC eingeschlossen, die bundesweit im Zeitraum 2005-2007 von Lebensmitteluntersuchungsämtern zur Stammtypisierung und ggf. Isolierung eingesandt wurden. Zum anderen wurden Daten des Max Rubner-Instituts (Bundesinstitut für Ernährung und Lebensmittel) verwandt, das zwischen 1996-2004 eine Reihe von Prävalenzstudien in der fleischverarbeitenden Industrie durchgeführt hatte. Häufigkeiten und Anteile der Serogruppen an allen STEC wurden getrennt für Lebensmittel- und Patientenisolat berechnet und anschließend verglichen. Insgesamt umfasste der Vergleich 61 Serogruppen von 448 STEC-Isolaten aus Lebensmitteln und 71 Serogruppen aus 1447 Patientenisolaten. Etwa zwei Drittel der Serogruppen (41/61) von STEC aus Lebensmitteln, welche insgesamt fast drei Viertel aller Lebensmittelisolate darstellten (72%), wurden auch bei STEC von Patienten gefunden. Insgesamt waren Serogruppen, die häufig aus Lebensmitteln isoliert wurden selten unter den Patientenisolaten und vice versa. Dies betraf in besonderer Weise Serogruppen, die typischerweise von pädiatrischen Patienten mit HUS isoliert werden (z.B. O157, O145, O26). Eine Ausnahme dieses statistisch signifikanten inversen Zusammenhanges stellte die Serogruppe O91 dar, die in beiden Populationen häufig war.

Zusammenfassend belegte diese Studie, dass viele der aus Lebensmitteln isolierten STEC humanpathogenes Potenzial haben, jedoch nur wenige in der Lage sind, die Entwicklung eines HUS bei Kindern auszulösen.

2.3. Genomische Determinanten der Virulenz von STEC der Serogruppe O157

D. Werber, A. Fruth, U. Buchholz, et al. Strong Association Between Shiga Toxin-Producing Escherichia coli O157 and Virulence Genes *stx2* and *eae* as Possible Explanation for Predominance of Serogroup O157 in Patients with Haemolytic Uraemic Syndrome. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2003; 22: 726-730.

Der Anteil der prototypischen STEC Serogruppe O157 ist deutlich höher bei STEC-infizierten HUS-Patienten (etwa 80%) als bei gastroenteritischen Patienten mit STEC-Infektion (ca. 20%). Dies ist Ausdruck der hohen Virulenz dieser Serogruppe. Die genomischen Determinanten hierfür sind jedoch nicht abschließend verstanden. Unter der Vielzahl der identifizierten potentiellen Virulenzgene war in epidemiologischen Studien lediglich *stx₂* (undifferenziert nach Subtypen) und *eae* mit schweren Krankheitsverläufen assoziiert; fast alle STEC von HUS-Patienten verfügen über beide Virulenzgene (96%). In dieser Arbeit wurde die eigene Hypothese untersucht, dass die deutlich höhere Virulenz von STEC O157 Stämmen, verglichen mit Stämmen anderer STEC-Serogruppen, in erster Linie auf dem häufigeren simultanen Vorhandensein beider Virulenzgene, *stx₂* und *eae*, beruht. Falls die STEC-Population pädiatrischer HUS-Patienten im wesentlichen durch das Vorhandensein dieser Gene charakterisiert ist, müsste der Anteil der Serogruppe O157 unter den gastroenteritischen STEC, die sowohl *stx₂* als auch *eae* besitzen, in etwa dem Anteil der Serogruppe O157 bei STEC von pädiatrischen HUS-Patienten entsprechen.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden Daten von STEC analysiert, die zwischen 2000 und 2001 im Rahmen des unter 2.1.1 erwähnten Sentinels von Gastroenteritis-Patienten isoliert und im NRZ charakterisiert wurden.

Insgesamt gehörten 18% der 349 isolierten STEC zur Serogruppe O157. Das simultane Vorkommen der beiden Virulenzgene war sehr stark mit der Serogruppe O157 assoziiert (92% bei O157 STEC vs. 13% bei non-O157 STEC, OR: 76; 95% KI: 27-230). Unter den STEC, die über beide Virulenzgene verfügten, betrug der Anteil der Serogruppe O157 60%. Dies entspricht in etwa dem Anteil der bei pädiatrischen STEC-assoziierten HUS Patienten beobachtet wurde, ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte nicht festgestellt werden (67%, p-Wert: 0,35).

Diese Daten stützen die eigene Hypothese, dass das häufigere Vorkommen beider Virulenzgene in Stämmen von STEC O157, verglichen mit denen von non-O157 STEC, die Basis für die hohe Virulenz der Serogruppe bildet.

3. Diskussion

3.1. Risikofaktoren für den Erwerb von STEC-Erkrankungen

STEC gehören zu den virulentesten gastrointestinalen Infektionserregern, doch die in Deutschland bedeutsamen Risikofaktoren und Übertragungswege waren vor den hier vorgestellten Arbeiten weitestgehend unbekannt. Mit der Durchführung einer bundesweiten, populationsbasierten Fall-Kontroll-Studie konnten erstmalig Risikofaktoren für den Erwerb sporadischer STEC-Erkrankungen in Deutschland ermittelt und deren Bedeutung quantifiziert werden [130]. Bis dahin war fraglich, inwieweit sich die international beschriebenen Risikofaktoren, in der Mehrzahl in Krankheitsausbrüchen identifiziert, auf sporadische Erkrankungen und zudem über Landesgrenzen hinweg auf Deutschland übertragen lassen. Darüber hinaus waren diese Risikofaktoren fast ausschließlich für die virulente Serogruppe O157 bekannt, die in Deutschland nur in etwa 20% aller STEC-Erkrankungen diagnostiziert wird.

Eine wesentliche und neue Erkenntnis aus den hier vorgestellten Arbeiten ist, dass sowohl die Risikofaktoren für den Erwerb einer sporadischen STEC-Erkrankung in Deutschland als auch die Verteilung der STEC-Serogruppen vom Alter des Patienten abhängen. Nachfolgend werden die in den Studien unter 2.1. identifizierten Risikofaktoren altersspezifisch gemeinsam mit den unter 2.2. aufgeführten Studien diskutiert. Dabei ist die gewählte Altersschichtung der Fall-Kontroll-Studie entlehnt, in der die Altersgruppen aufgrund biologischer Plausibilität und Aspekten der Stichprobengröße gewählt wurden.

3.1.1. Risikofaktoren für Kinder unter 3 Jahren

Dieser Altersgruppe kommt im Hinblick auf STEC-Erkrankungen die größte Public Health-Relevanz zu, da in diesem Altersbereich die Inzidenz sowohl von STEC-Erkrankungen als auch die des lebensbedrohlichen enteropathischen HUS am höchsten ist. Die größte Bedeutung haben Übertragungen durch Kontakt, vor allem zu Wiederkäuern.

Kontakt zu Wiederkäuern

Der direkte Kontakt zu Wiederkäuern hatte die stärkste Assoziation mit STEC-Erkrankung (OR: 9,3; 95% KI: 1,8 – 15,3, p-Wert: 0,001). Dies ist in großer Übereinstimmung mit Fall-Kontroll-Studien aus vielen anderen Ländern [66-68, 131-133], wengleich die Mehrzahl der Studien insbesondere den indirekten Kontakt zu diesen Tieren, also den Kontakt zu deren Tierfäzes oder zu landwirtschaftlichen Betrieben bzw.

deren Umgebung, als individuelles Risiko identifizierten. Konsistent zu den Ergebnissen der Fall-Kontroll-Studie ist darüber hinaus, dass ein positiver statistischer Zusammenhang zwischen der Inzidenz von STEC-Erkrankungen und der Anzahl der landwirtschaftlich genutzten Rinder auf der Ebene der Stadt- bzw. Landkreise gegeben ist - pro 100 Rinder steigt das Risiko einer (an das RKI übermittelten) STEC-Erkrankung um 68% [134]. Ein derartiger Zusammenhang war bereits in anderen Ländern beschrieben, allerdings nur für die Serogruppe O157 [24, 69, 70]. Neu war die Untersuchung des Zusammenhanges für die auch international bedeutsamsten non-O157 Serogruppen (O26, O91, O103, O111, O128 und O145). Mit Ausnahme von STEC O91 wurde ein positiver räumlicher Zusammenhang zwischen STEC-Erkrankung und Rinderdichte bei allen untersuchten Serogruppen errechnet. Worin genau der Risikoanstieg für Menschen in rinderreichen Regionen besteht, einen kausalen Zusammenhang vorausgesetzt, bleibt ungewiss, da die Analyseeinheit in dieser Studie nicht Personen sondern Land- bzw. Stadtkreise waren. Plausibel ist, dass der Kontakt zu Rindern bzw. deren Fäzes in der Umwelt dieses Erkrankungsrisiko vermittelt. Alternativ bzw. ergänzend könnten in den rinderreichen, zumeist ländlichen, Regionen andere Risikofaktoren verstärkt vorhanden sein, wie beispielsweise der Konsum von naturbelassenen, oft rohen, Lebensmitteln, die STEC kontaminiert sind, wie z. B. Rohmilch, Rohmilchkäse und Rohwürste [69]. Hiergegen sprechen allerdings die Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie, die für Kinder einen nur geringen (Rohmilch) bis gar keinen Anteil (Rohmilch-Käse, Rohwurst) der STEC-Erkrankungen dem Verzehr dieser Lebensmittel zuordnete (gemäß populationsattributabilem Risiko). Konsistent zur Fall-Kontroll-Studie ist der fehlende Zusammenhang einer geografischen Assoziation zwischen Rinderdichte und Erkrankungen durch STEC-Infektionen der Serogruppe O91. Diese Serogruppe kommt vor allem bei Erwachsenen vor, für die nicht der Kontakt zu Wiederkäuern sondern der Verzehr bestimmter Lebensmittel Risikofaktoren sind.

Übertragungen von Mensch zu Mensch

Sie spielen bei Kindern unter 3 Jahren eine wichtige Rolle in Deutschland. Diarrhö bei einem Familienmitglied im angenommenen Infektionszeitraum des Falles war mit STEC-Erkrankung assoziiert. Die im Regressionsmodell geschätzte Stärke der Assoziation (OR: 2,2; 95% KI: 1,0 -4,6; p-Wert: 0,05) sollte hierbei den wahren Zusammenhang unterschätzen, da labordiagnostisch gesicherte Sekundärfälle von der Studie ausgeschlossen wurden und die Variable zudem aufgrund des großzügig gewählten Expositionszeitraumes von 4 Wochen auch Diarrhöen anderer Ätiologien erfasst. Die resultierende Vermischung der spezifischen STEC-Effekte mit den unspezifischen

Effekten anderer Gastroenteritiserreger sollte zu einer Verzerrung in Richtung keiner Assoziation führen (non-differenzielle Missklassifikation).

Sekundär mit STEC infizierte Personen haben ein erhöhtes Risiko, an HUS zu erkranken. In einem großen lebensmittelbedingten Ausbruch in den USA mit 501 Erkrankungen (inkl. 45 Erkrankungen an HUS) [135], resultierten 2 der 4 Todesfälle durch Sekundärinfektionen im Haushalt [47]. Aus der potentiellen Schwere der Erkrankung und der vergleichsweise häufigen Vorkommens von sekundären Haushaltsübertragungen ergibt sich die Notwendigkeit einer effektiven Interventionsmaßnahme.

Die unter 2.1.3. vorgestellte Kohortenstudie identifizierte daher nicht nur Risikofaktoren für sekundäre Haushaltsübertragungen im bislang zweitgrößten Ausbruch von STEC O157:H7 des Vereinigten Königreichs, sondern schätzte darüber hinaus die Effektivität der sofortigen, vorübergehenden, räumlichen Isolierung von pädiatrischen STEC O157:H7-Indexfällen – eine Interventionsmaßnahme, die bis dato nur theoretisch erwogen wurde. Die wichtigsten Determinanten für Sekundärinfektionen im Haushalt waren die Anwesenheit eines (jungen) Geschwisterkindes und Primär-Erkrankte, die jünger als 5 Jahre alt sind. In diesem Ausbruch traten Sekundärinfektionen in fast einem Viertel aller betroffenen Haushalte auf; von 107 Geschwisterkindern entwickelten 4 (4%) ein HUS, ein um den Faktor 10 höheres Risiko einer schweren Sekundärerkrankung im Haushalt verglichen mit invasiven Meningokokken-Erkrankungen. Dies verdeutlicht, dass ein Kind mit einer durch STEC O157-Infektion hervorgerufenen Gastroenteritis als infektionsmedizinischer Notfall bewertet werden sollte, der schneller Intervention bedarf, falls Geschwisterkinder im gleichen Haushalt leben wie der Primärfall. Auf der Basis der modellhaft berechneten Effektivität könnten annähernd 50% der Sekundärerkrankungen verhindert werden, wenn pädiatrische STEC O157:H7-Primärfälle unter 10 Jahren räumlich von ihren Geschwisterkindern getrennt würden, unmittelbar nachdem bei ihnen STEC O157 im Stuhl nachgewiesen wurde. Um einen HUS-Fall zu verhindern, müssten 47 (95% KI: 16 – 78) Kinder mit primärer STEC O157-Erkrankung unmittelbar räumlich von ihren Geschwisterkindern getrennt werden. Diese Interventionsmaßnahme ist daher eine simple und anscheinend effektive nicht-pharmazeutische Maßnahme zur Verhinderung des lebensbedrohlichen HUS. Die vorübergehende räumliche Trennung der Geschwisterkinder kann verschiedentlich realisiert werden. Die vielleicht einschneidendste und daher psychologisch nicht unproblematische Maßnahme ist die sofortige Krankenhauseinweisung des Primärfalles. Sie böte jedoch mindestens zwei Vorteile: Erstens, sie sollte mit der größten Risikoreduktion verbunden sein, da die Infektionsquelle (Primärfall) bei stationärer Aufnahme in ein Einzelzimmer von nahezu

allen potentiellen Sekundärfällen räumlich separiert wird und zudem infektionshygienisch geschultes Personal die Maßnahmen zur Infektionsweiterverbreitung durchführt und deren Umsetzung überwacht. Zweitens kann nur eine sehr frühzeitig begonnene intravenöse Infusionstherapie das Risiko der Entwicklung eines schweren, oligoanurischen, HUS reduzieren [136], was eine zeitnahe Hospitalisierung ohnehin erforderlich machte. Die sofortige Krankenhauseinweisung STEC O157-infizierter Kinder ist auf der Basis dieser Arbeit bereits in die Empfehlungen zur Prävention von STEC O157:H7 in Schottland eingegangen [137].

Ein neuartiger und daher überraschender Risikofaktor für den Erwerb sporadischer STEC-Erkrankungen bei Kindern war das Spielen im Sandkasten. Zudem war er in der Fall-Kontroll-Studie mit dem größten populations-attributablen Risiko vergesellschaftet. Die Bedeutung dieses Risikofaktors bleibt ungeklärt und bedarf weiterer Forschung, insbesondere wie dort, einen kausalen Zusammenhang vorausgesetzt, die Infektionen übertragen werden. Prinzipiell ist vorstellbar, dass sich Kinder über Fäzes-Verunreinigungen von Tieren im Sandkasten anstecken. Gegen diese Erklärungsmöglichkeit spricht hingegen, dass sowohl eine holländische Fall-Kontroll-Studie die Exposition „Spielen im Sandkasten“ als Risikofaktor für *Salmonella* Typhimurium-Erkrankungen [138] bei Kindern ermittelt hat, als auch eine zum Zeitpunkt des Schreibens unveröffentlichte bundesweite Studie zu Risikofaktoren für sporadische *Yersinia enterocolitica*-Erkrankungen. Für beide Erreger gilt das Hausschwein als Erregerreservoir und es scheint unplausibel, dass es über diese Tierspezies zu einer Kontamination des Sandkastens kommt. Eine direkte Übertragung von Mensch zu Mensch scheint nicht zuletzt aufgrund des teilweise engen Kontaktes von Kindern in Sandkästen plausibel; vorstellbar ist auch ein indirekter Übertragungsweg, z. B. über gemeinsam verwendetes Spielzeug.

Lebensmittel

Lebensmittel spielten eine untergeordnete Rolle für den Erwerb von STEC Erkrankungen bei Kindern unter 3 Jahren. Dies war insofern unerwartet, da STEC-Erkrankungen gemeinhin als lebensmittelbedingt gelten, ein Attribut, dass dem Erreger vor allem durch die vielen lebensmittelbedingten Ausbrüche zugesprochen wurde. Die Rohmilch war das einzige Lebensmittel, für dessen Konsum ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit STEC-Erkrankungen in dieser Altersgruppe identifiziert wurde. Da jedoch nur für 7% der Fälle der Konsum berichtet wurde, kann nur ein kleiner Teil der Fälle auf dieses Lebensmittel zurückgeführt werden.

3.1.2. Risikofaktoren für Kinder im Altern von 3 bis 9 Jahren

In dieser Altersschicht war die geringste Anzahl an Studienteilnehmern in der Fall-Kontroll-Studie, weswegen die statistische Güte für die Bildung eines robusten multivariablen Regressionsmodelles nicht ausreichend war. Univariat wurden, ebenso wie in der jüngsten Altersgruppe, das Spielen im Sandkasten und zusätzlich das Schwimmen an Orten außerhalb öffentlicher Schwimmbäder (OR: 3,8; 95% KI: 1,0, 13,9; p-Wert: 0,05) als Risikofaktoren identifiziert. Interessanterweise war in dieser Altersgruppe eine der Erkrankung des Falles zeitlich vorausgegangene Diarrhö im gleichen Haushalt nicht mit STEC-Erkrankung assoziiert.

3.1.3. Risikofaktoren für den Erwerb von STEC-Erkrankungen bei Personen über 10 Jahren

Personen, die älter als 10 Jahre alt sind, erkranken in erster Linie durch den Verzehr STEC-kontaminierter Lebensmittel. Im Gegensatz zu Studien aus anderen Ländern war jedoch der Verzehr des klassischen Risikolebensmittels für STEC-Erkrankungen, Hackfleisch, mit keinem erhöhten Risiko behaftet. Die beiden in dieser Altersgruppe ermittelten Risiko-Lebensmittelgruppen (Lammfleisch, streichfähige Rohwürste) sind international bislang nicht beschrieben worden. Für sie kann jedoch eine hohe biologische Plausibilität angenommen werden. Ein starker Zusammenhang konnte mit dem Verzehr von Lammfleisch beobachtet werden (OR: 14,1; 95% KI: 1,5 – 137,1). Dies ist konsistent mit Querschnittsuntersuchungen, die die höchste Prävalenz von STEC auf Schlachtkörpern von Lämmern ermittelten [139]. Der Verzehr von streichfähigen Rohwürsten (Mettwurst, Zwiebelmettwurst, Teewurst) als Risikofaktor für den Erwerb gastrointestinaler Infektionen ist nicht zuletzt aufgrund der hohen Verzehrshäufigkeit dieser Produkte in Deutschland plausibel. Die geringe Inzidenz von STEC-Erkrankungen in diesem Altersbereich gekoppelt mit dem in dieser Gruppe geringen attributablen Risiko deuten jedoch daraufhin, dass die überwiegende Mehrzahl dieser Produkte mikrobiologisch unbedenklich ist.

Als aufschlussreich und ergänzend zu den Ergebnissen der Fall-Kontroll-Studie zeigte sich ein Vergleich der STEC von gastroenteritischen Patienten in Deutschland mit STEC, die aus Lebensmitteln in Deutschland isoliert wurden. Insgesamt konnten etwa zwei Drittel der Serogruppen von STEC, die aus Lebensmitteln isoliert wurden („Lebensmittel-STECS“), welche 72% aller STEC aus Lebensmitteln darstellten, auch bei STEC von Patienten gefunden werden. Serogruppen, die häufig bei pädiatrischen HUS-Patienten nachgewiesen werden (z. B. O26, O145, O157) fanden sich nur selten unter Lebensmittel-STECS. Daraus kann gefolgert werden, dass die Mehrzahl der aus

Lebensmittel isolierten STEC über humanpathogenes Potenzial verfügt, aber nur wenige als sehr virulent einzustufen sind. Interessant ist auch, dass die STEC-Verteilung bei adulten Patienten denen der Lebensmittel-STECC ähnlicher ist als bei pädiatrischen Patienten. Insbesondere die bei Erwachsenen häufiger vorkommenden Serogruppen (speziell O91 und O113) ließen sich häufig aus Lebensmitteln isolieren [140]. Diese STEC werden im Allgemeinen als wenig virulent eingestuft, eine Einschätzung, die im Wesentlichen auf dem Fehlen der für das Auslösen des pädiatrischen HUS prinzipiell erforderlichen Pathogenitätsinsel LEE beruht (repräsentiert durch das *eae*-Gen). Allerdings tragen einige dieser *eae*-negativen STEC, z. B. Stämme der Serovare O91:H21, O113:H21, eine Stx 2d Variante, deren biologische Aktivität durch intestinalen Mukus aktiviert wird und die von erwachsenen – jedoch nicht von pädiatrischen - HUS-Patienten isoliert werden [109]. Demzufolge sind für die adulte Population EHEC im engeren Sinne mit einer anderen genomischen Ausstattung versehen als EHEC für Kinder und diese für Erwachsene virulenten STEC kommen in Lebensmitteln vor.

3.2. Ausbrüche in Deutschland

Krankheitsausbrüche durch STEC-Infektionen werden in Deutschland verhältnismäßig selten festgestellt. Lediglich ein geringer Anteil (6% in 2009 [92]) der an das RKI übermittelten STEC-Erkrankungen wird Ausbrüchen zugeordnet. Darüber hinaus sind die dem RKI seit Einführung des IfSG im Jahr 2001 übermittelten STEC-Krankheitsausbrüche solche, die einen singulären („punktförmigen“) Expositionsort bekannt, wie z. B. Ausbrüche in Kindergärten oder nach Schulexkursionen. Die gesetzliche Meldepflicht akuter STEC-Infektionen führte bislang noch zu keiner Erkennung disperser STEC-Krankheitsausbrüche, also Infektionsgeschehen mit multiplen, räumlich verstreuten Expositionsorten. Eine Ausnahme stellen die Krankheitsausbrüche dar, die durch die seltene aber sehr virulente, Sorbitol-fermentierende Variante von STEC O157 hervorgerufenen wurden [95]. Diese Ausbrüche wurden in Deutschland in der Vergangenheit allerdings durch einen unerwarteten Anstieg der Zahl des pädiatrischen HUS, lokal, regional oder bundesweit, erkannt. Der hier vorgestellte Ausbruch durch STEC O26:H11 [141] Infektionen verdeutlicht eindrücklich drei Dinge:

Erstens, in Deutschland ereignen sich geografisch disperse Ausbrüche gastroenteritischer Erkrankungen, die durch STEC-Infektionen hervorgerufen werden. Warum bislang keine derartigen Ausbrüche in den Meldedaten erkennbar waren, ist ungewiss. Es könnte einerseits Ausdruck der Seltenheit dieser Infektionsgeschehen in Deutschland sein, oder es könnte andererseits darauf hindeuten, dass die bisherige

STEC-Surveillance nicht hinreichend sensitiv ist zur Erkennung von Krankheitsausbrüchen [142] durch die routinemäßig zur Ausbruchsdetektion eingesetzten statistischen Algorithmen. Ein plausibler Grund für eine mangelnde Sensitivität des Systems ist die immer noch ungenügende Inanspruchnahme adäquater labordiagnostischer Methoden. Die Erkennung von Krankheitsausbrüchen ist jedoch ein wichtiges, vielleicht sogar das wichtigste, Ziel der Surveillance gastrointestinaler Zoonosen [143]. Frühzeitig erkannte Krankheitsausbrüche bieten die Chance, durch systematische vom Öffentlichen Gesundheitsdienst in Zusammenarbeit mit anderen Behörden und Institutionen durchgeführte Untersuchungen, die Infektionsquelle zu identifizieren, abzustellen und weitere Erkrankungen zu verhindern [144] – vom Nutzen für die künftige primäre Prävention durch den möglichen Erkenntnisgewinn einmal abgesehen. Zweitens unterstreicht der hier beschriebene Ausbruch die Bedeutung des routinemäßigen Einsatzes von Feintypisierungsmethoden für die Erkennung von Krankheitsausbrüchen, mithin für die Surveillance dieser Erkrankungen. Die genomische Feintypisierung ermöglicht die Erkennung klonal eng verwandter Isolate, was einen Infektionszusammenhang zwischen den Personen nahe legt, von denen diese Isolate stammen. Die Integrierung von Feintypisierungsmethoden erhöht somit deutlich die Sensitivität der Surveillance, da Ausbrüche erkannt werden können, selbst wenn es insgesamt zu keiner überzufälligen Erhöhung in der Zahl gemeldeter Erkrankungsfälle kommt. Darüber hinaus verbessert der integrale Einsatz von Feintypisierungsmethoden auch ganz entscheidend die Zeitnähe mit der Krankheitsausbrüche erkannt werden [145]. Ein möglicher Ausbruch kann bereits beim Vorliegen weniger in der Feintypisierung identischer Isolate vermutet werden, somit deutlich bevor eine genügend große Anzahl von Erkrankungen aufgetreten und gemeldet wurden, die für die Generierung eines auf statistischen Verfahren beruhenden Ausbruchssignals erforderlich sind – so auch in dem beschriebenen Ausbruch.

Aus den vorgenannten Gründen ist in anderen Ländern, im Gegensatz zu Deutschland, die Feintypisierung bereits integraler Bestandteil der Surveillance dieser Erkrankungen. Ein Paradebeispiel hierfür ist das Labornetzwerk „PulseNet“ in den USA, welches routinemäßig STEC O157 (und andere ausgewählte bakterielle Gastroenteritiserreger) mit der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) typisiert [146]. Schon früh wurde die Frage nach dem Kosten-Nutzen-Verhältnis eines solchen Systems gestellt. Nach Schätzungen der US-amerikanischen Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ist eine Feintypisierungssurveillance für STEC O157 kosteneffizient, wenn dadurch fünf Erkrankungsfälle im Jahr verhindert werden [147]. Wenngleich die Kosten, die eine STEC O157-Erkrankung durchschnittlich verursacht, vom jeweiligen Gesundheitssystem

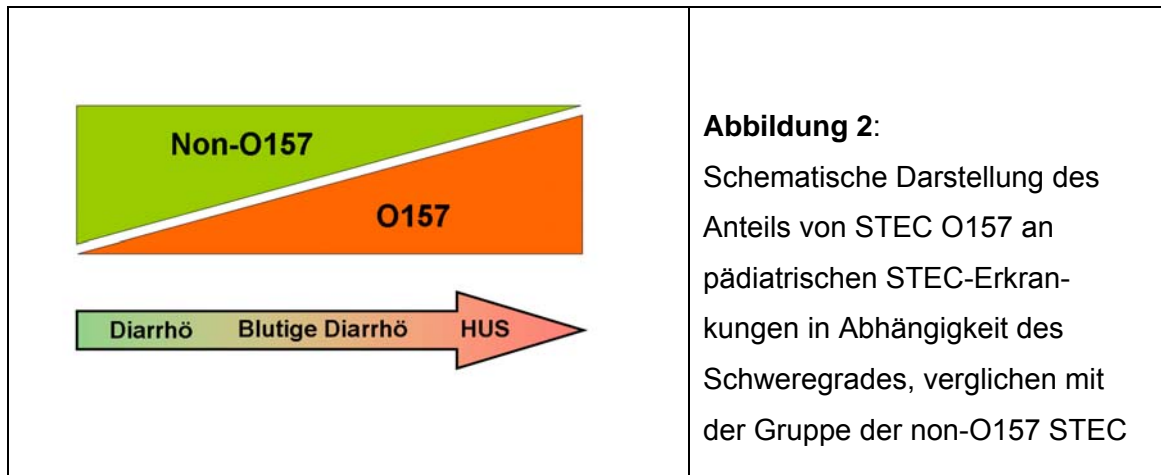
abhängen, deutet diese niedrige Zahl gleichwohl an, dass dieses System zumindest ohne Mehrkosten für das Gesundheitssystem etabliert werden können sollte. Dem 1996 etablierten Netzwerk haben sich mittlerweile mehrere Länder und Regionen angeschlossen, so dass „PulseNet international“ heutzutage Feintypisierungsergebnisse der Laboratorien in vielen Teilen der Welt miteinander verbindet [148].

Dieser Krankheitsausbruch war weltweit der erste non-O157 STEC-Ausbruch, der durch den Einsatz von Feintypisierungsmethoden erkannt wurde. Daher verdeutlicht diese Studie drittens, dass der Einsatz dieser Methoden in der Ausbruchserkennung auch für anderen STEC als die der Serogruppe O157 nützlich sein kann.

3.3. Genomische Determinanten der Virulenz von STEC O157 – Konsequenzen für die Surveillance von STEC-Erkrankungen

Nicht nur die Risikofaktoren für STEC-Erkrankungen sind altersabhängig, auch die Verteilung der STEC-Serogruppen unterscheidet sich in den untersuchten Altersgruppen. Die für das pädiatrische HUS bedeutsamen „klassischen“ Serogruppen (O157, O145, O111, O103, O26), auch als „Gang-of-Five“ bezeichnet [149], umfassen zwei Drittel aller STEC, die von Kindern unter 10 Jahren isoliert wurden. In der Fall-Kontroll-Studie trugen alle von Kindern <10 Jahren isolierten STEC der Gang-of-Five-Gruppe das *eae*-Gen. Bei Erwachsenen hingegen ist der Anteil der Gang-of-Five-STEC weitaus geringer (15%) und es findet sich bei diesen Patienten eine Vielzahl unterschiedlicher Serogruppen, deren Stämme nur zu einem sehr geringen Prozentsatz (4%) das *eae*-Gen tragen.

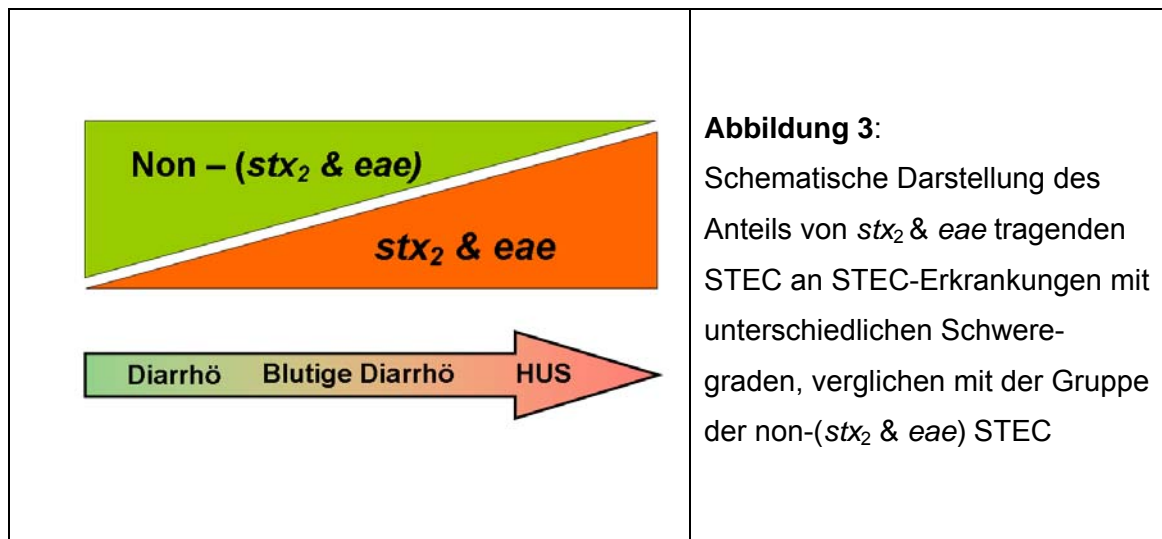
Der Einfluss der Serogruppe, ein Surrogat für die genomische Ausstattung der Stämme, wird auch deutlich, wenn man sich die Schwere des Krankheitsverlaufs betrachtet. Der Anteil von STEC O157 an allen STEC steigt mit dem Schweregrad der Erkrankung an. So betrug in der Fall-Kontroll-Studie der Anteil der Serogruppe 10% bei Patienten mit unblutiger Diarrhö, 37% bei Patienten mit blutiger Diarrhö und 60% bei Patienten mit HUS - ein Indiz für die hohe Virulenz von STEC O157. Dieser Zusammenhang kann auch beobachtet werden, wenn man lediglich STEC von Patienten heranzieht, die jünger als 15 Jahre sind – der Zusammenhang besteht also auch unabhängig vom Alter der Patienten und ist schematisch in Abbildung 2 dargestellt.



Viele, vor allem mikrobiologische, Arbeiten beschäftigten sich mit den Ursachen für die Fähigkeit einiger STEC, schwere, gar lebensbedrohliche Krankheitsbilder hervorzurufen, ergo mit der Identifizierung von Virulenzfaktoren und der Aufklärung des pathogenetischen Mechanismus. Da es deren primäres Ziel ist, generisch, mithin über alle Serogruppen hinweg, Virulenzfaktoren zu identifizieren, waren und sind die virulenten STEC O157 häufig Objekt der Forschung (z.B.[150-152]. Die Frage jedoch, welche Unterschiede zwischen STEC O157 und non-O157 STEC den Virulenzunterschied letztlich begründen, war eher seltener Gegenstand wissenschaftlicher Fragestellungen. Dies liegt wahrscheinlich unter anderem daran, dass nur sehr wenige Länder ihre Surveillance und Diagnostik von STEC-Erkrankungen Serogruppen-unabhängig [20] durchführen und somit repräsentative non-O157 STEC (als Vergleichsgruppe) nicht zur Verfügung standen.

Die unter 2.3 präsentierte Studie stützt die Hypothese, dass die Virulenz von STEC O157 in erster Linie darin begründet liegt, dass Stämme dieser Serogruppe häufiger die beiden für das pädiatrische HUS entscheidenden Virulenzgene tragen: *stx₂* und *eae*. Diese Kombination wurde in dem unter 2.1.1. erwähnten bundesweiten Sentinel primär diagnostizierender Labore in 92% der STEC O157, jedoch nur in 13% der Stämme von non-O157 STEC gefunden (OR: 76; 95% KI: 27- 230; p-Wert < 0,0001) [153]. Die Hypothese wird zudem durch die Beobachtung gestützt, dass die Serogruppenverteilung der STEC-Populationen von pädiatrischen Gastroenteritis-Patienten einerseits und die der pädiatrischen HUS-Patienten andererseits sehr unterschiedlich sind. Dieser Unterschied zeigt sich auch bei STEC O157 (18% vs. 67%). Der Anteil von STEC O157 ist hingegen sehr ähnlich in den beiden Populationen, wenn die Betrachtung auf diejenigen STEC eingeschränkt wird, die sowohl *stx₂* als auch das *eae*-Gen tragen

(~60%). Daher kann der in Abbildung 2 dargestellte Zusammenhang auf Ebene der Virulenzfaktoren schematisch wie folgt dargestellt werden (Abb. 3).



Daraus folgt auch, dass die Public Health-relevanten Stämme solche STEC sind die sowohl *stx*₂ als auch das *eae*-Gen tragen (von denen STEC O157 ca. 60% stellen), da diese, und fast ausschließlich diese, mit HUS im Kindesalter assoziiert sind. Da die Serogruppe einen guten Hinweis auf das Vorkommen des *eae*-Genes liefert und gleichzeitig die epidemiologische Basisinformation für das Erkennen von Infektionszusammenhängen darstellt, sollten künftig diagnostische Verfahren zum Nachweis von STEC eingesetzt werden, die zuverlässig in einem diagnostischen Schritt sowohl den Toxintyp (geno- oder phänotypisch) als auch die relevanten HUS-Serogruppen erfassen [24]. Neuere kommerzielle Verfahren ermöglichen eine solche Diagnostik [154], werden aber bislang nicht in der Routinediagnostik von Diarrhö-Patienten eingesetzt. Idealerweise sollten sich zudem nach diesem Nachweis die kulturelle Isolierung der STEC anschließen, damit die STEC einer Feintypisierungsurveillance zugeführt werden können. In Abwesenheit einer solchen in der Routinediagnostik niedergelassener Labore etablierten Methode, empfehlen die CDC derzeit auch weiterhin den kulturellen Nachweis von STEC O157:H7 bei allen Diarrhö-Patienten. Parallel dazu sollen geno- oder phänotypische Verfahren den Nachweis der Shigatoxine („non-culture evidence“) eingesetzt werden, damit auch non-O157 STEC-Infektionen erkannt werden [63].

Aus der unter 2.3. Studie kann nicht geschlussfolgert werden, dass keine weiteren Virulenzfaktoren für STEC existieren, auch wenn der Vergleich der beiden STEC-

Populationen (Gastroenteritis/HUS) von Patienten unter 15 Jahren weitgehend ohne Verzerrungen und ohne Stichprobenfehler erfolgte. Im Gegenteil: in einer Studie, welche Risikofaktoren für blutigen Durchfall (nach Selbstauskunft) im Zusammenhang mit STEC Erkrankungen untersuchte, wurde in einem multivariablen Modell neben dem *stx*₂-Gen auch die Serogruppe O157 als Risikofaktor identifiziert. Dies deutet darauf hin, dass neben den bekannten auch weitere Virulenzfaktoren bei STEC O157 vorhanden sind [16]. Hingegen kann aus der unter 3.2 vorgestellten Studie geschlussfolgert werden, dass weitere Virulenzfaktoren überwiegend oder ausschließlich auf solchen Stämmen zu finden sein sollten, die sowohl das *stx*₂-Gen tragen als auch die Pathogenitätsinsel LEE besitzen. Zusammenfassend folgt daraus, dass mit einer Labordiagnostik, die in einem diagnostischen Schritt sowohl den Toxintyp als auch die relevanten HUS-Serogruppen erfasst, die für Kinder virulenten STEC zeitnah erkannt werden können – die entscheidende Voraussetzung zur Verhinderung der Weiterverbreitung gefährlicher STEC-Infektionen.

3.4. Ausblick

Durch Anwendung verschiedener epidemiologischer Studiendesigns konnten die wesentlichen Risikofaktoren für STEC-Erkrankungen in Deutschland identifiziert, eingehend charakterisiert, und hinsichtlich ihrer Bedeutung quantifiziert werden. Die so gewonnenen Erkenntnisse sind bereits in die Handlungsempfehlungen des RKI zur Prävention und Kontrolle dieser Infektionserreger eingegangen.

Bemühungen zur Prävention und Kontrolle dieses Erregers sollten künftig drei Aspekten verstärkt Rechnung tragen:

Erstens, der erfolgreichen Umsetzung der vorhandenen Präventionsempfehlungen. Dazu wird es auch nötig sein, die diesbezügliche Wissensbasis der Bevölkerung und die der klinisch tätigen Ärzte, insbesondere der Pädiater, zu verbreitern – eine Herausforderung, da die STEC-Erkrankung im klinischen Alltag ein eher seltenes Ereignis darstellt. Zweitens, sollten künftig Nachweisverfahren flächendeckend zum Einsatz kommen, die zeitnah, möglichst in einem diagnostischen Schritt, sowohl den Toxintyp als auch die relevanten HUS-Serogruppen erfassen. Dies wäre gleich zweifach sinnvoll. Zum einen ist für eine Empfehlung der vorübergehenden räumlichen Trennung von Geschwisterkindern, der schnelle Nachweis von STEC O157 eine notwendige Voraussetzung (der Vermeidung von Sekundärerkrankungen junger Geschwisterkinder im Haushalt kommt bei der Prävention des lebensbedrohlichen HUS eine besondere Bedeutung zu). Zum anderen ermöglichte die zeitnahe Information der STEC-Serogruppe das frühzeitige Erkennen möglicher Infektionszusammenhänge zwischen scheinbar sporadisch auftretenden STEC-Erkrankungen, insbesondere auf Ebene der Land- und Stadtkreise.

Ein dritter Aspekt der künftigen Prävention und Kontrolle dieser Erkrankungen betrifft ebenfalls die Surveillance. Diese sollte es ermöglichen, zeitnah auch überregionale Krankheitsausbrüche zu Erkennen. Voraussetzung dafür ist nicht nur die Bestimmung der Serogruppe, sondern darüber hinaus die standardisierte Feintypisierung möglichst vieler STEC-Patientenisolat. Dies ist insbesondere in Deutschland wichtig, weil hierzulande eine seltene, sehr virulente, Sorbitol-fermentierende Variante von STEC O157 zwischen 1988 und 2009 zu sieben zumeist Bundesland-übergreifenden Krankheitsausbrüchen mit einer Letalität von durchschnittlich über 10% in der Akutphase geführt hat; der größte dieser Ausbrüche umfasste 38 HUS-Erkrankungen. Das Erregerreservoir und die Übertragungswege dieser STEC-Variante sind bislang unbekannt. Da es für das HUS keine kausale Therapie gibt, ist die Prävention entscheidend. Hierfür sind der konzertierte Einsatz weiterer epidemiologischer Studien und moderner mikrobiologischer Untersuchungsverfahren unabdingbare Voraussetzung.

4. Zusammenfassung

Shigatoxin-produzierende *Escherichia coli* (STEC) sind eine relativ junge Gruppe von humanpathogenen Kolibakterien. Sie können beim Menschen schwere Erkrankungen, wie z. B. eine hämorrhagische Kolitis oder ein lebensbedrohliches hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) verursachen. Die STEC-Erkrankung ist eine Zoonose, das Erregerreservoir für diese Bakterien sind Wiederkäuer, vor allem Rinder. Die in Deutschland wesentlichen Übertragungswege und Risikofaktoren, sowie deren populationsattributablen Anteile, waren vor den hier vorgestellten Arbeiten weitgehend unbekannt.

In einer bundesweit durchgeführten populationsbasierten Fall-Kontroll-Studie konnte international erstmalig gezeigt werden, dass die Risikofaktoren für den Erwerb von STEC-Erkrankungen altersabhängig sind. Kinder unter 3 Jahren, der Altersgruppe mit der höchsten Inzidenz sowohl von STEC-Erkrankungen als auch vom HUS, infizieren sich in erster Linie durch den Kontakt zu STEC-ausscheidenden Lebewesen (bzw. deren Fäzes), vor allem zu Wiederkäuern. Konsistent zu diesem Risikofaktor konnten wir in einer ökologischen Studie belegen, dass die Inzidenz (gemeldeter) STEC-Erkrankungen in Regionen mit großer Rinderdichte erhöht ist. Dieser Zusammenhang besteht für alle in Deutschland relevanten STEC-Serogruppen, mit Ausnahme von O91. Ein weiterer wichtiger Übertragungsweg bei Kindern ist zudem die Übertragung von Mensch zu Mensch im privaten Haushalt. In einer Kohortenstudie von Haushalten mit STEC O157-Erkrankungen waren das geringe Alter des Primärfalles sowie die Anwesenheit eines Geschwisterkindes Determinanten für Sekundärübertragungen im Haushalt; 4% aller Geschwisterkinder entwickelten ein lebensbedrohliches HUS. Daher sollte ein STEC O157-infiziertes Kind mit Gastroenteritis als infektionsmedizinischer Notfall gewertet werden, falls es ein Geschwisterkind hat. In modellhaften Berechnungen konnte gezeigt werden, dass knapp die Hälfte aller Sekundärerkrankungen verhindert werden könnten, wenn Indexfälle unmittelbar nach dem labordiagnostischen Nachweis von ihren unter 10-jährigen Geschwisterkindern räumlich getrennt würden (z.B. durch Hospitalisierung). Demnach müsste diese Intervention bei etwa 47 pädiatrischen STEC O157:H7-Primärfällen angewendet werden, um ein pädiatrisches HUS zu vermeiden.

Für Kinder von 3-9 Jahren gelten ähnliche Risikofaktoren, ohne dass diese in der Fall-Kontroll-Studie anhand eines robusten multiplen Regressionsmodelles identifiziert werden konnten, da die statistische Güte aufgrund der geringen Zahl von Studienteilnehmer in diesem Altersbereich nicht ausreichend war.

Kinder über 10 Jahre, in erster Linie Erwachsene, erkranken durch den Verzehr kontaminierter Lebensmittel. Eine Assoziation mit STEC-Erkrankung wurde für den Verzehr von Lammfleisch und von streichfähigen Rohwürsten (Mettwurst, Zwiebelmettwurst und Teewurst) identifiziert, nicht jedoch mit Hackfleisch, dem klassischen Risikolebensmittel für diese Erkrankung. Aus Lebensmitteln wird eine Vielzahl unterschiedlicher STEC isoliert. Deren humanpathogenes Potenzial ist häufig nicht bekannt. Eine vergleichende Studie liefert Hinweise darauf, dass viele der aus Lebensmitteln isolierten STEC humanpathogenes Potenzial haben, jedoch nur wenige in der Lage sind, ein lebensbedrohliches HUS bei Kindern hervorzurufen.

Erstmalig, auch international, konnte gezeigt werden, dass nicht nur die Risikofaktoren sondern auch die Verteilung der Serogruppen vom Alter des Patienten abhängen. Die weltweit wichtigsten STEC-Serogruppen (z. B. O26, O103, O157) finden sich in Deutschland vor allem bei Kindern. Die klassische Serogruppe O157 ist die mit Abstand häufigste Serogruppe, die von pädiatrischen HUS-Patienten isoliert wird. Wenngleich die genomischen Determinanten nicht abschließend verstanden sind, konnten wir in einer Studie zeigen, dass die Basis für die hohe Virulenz von STEC O157 darin zu suchen ist, dass die Mehrzahl der Stämme dieser Serogruppe die beiden wichtigsten Virulenzgene - *stx*₂ und *eae* - tragen.

Die hier vorgestellten Arbeiten bilden die Grundlage für Handlungsempfehlungen und die Prävention dieser Erkrankungen in Deutschland; sie sind bereits integraler Bestandteil der Empfehlungen des RKI.

5. Literaturangaben

- (1) Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* **1998**; 11(1):142-201.
- (2) Kaper JB, Karmali MA. The continuing evolution of a bacterial pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2008**; 105(12):4535-6.
- (3) Escherich T. Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglingen. *Fortschr Med* **1885**; 3:515-28.
- (4) Edwards PR, Ewing WH. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn., **1972**: 362.
- (5) Lior H. Classification of *Escherichia coli*. In: C.L.Gyles, ed. *Escherichia coli in domestic animals and humans*. CAB International Wallingford, UK, **1996**:31-72.
- (6) Scheutz F, Cheasty T, Woodward D, Smith HR. Designation of O174 and O175 to temporary O groups OX3 and OX7, and six new *E. coli* O groups that include Verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC): O176, O177, O178, O179, O180 and O181. *APMIS* **2004**; 112(9):569-84.
- (7) Drasar BS and Hill MJ. Human intestinal flora. London UK: Academic Press, LTD, **1974**:36-43.
- (8) Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun* **1977**; 18(3):775-9.
- (9) O'Brien AO, Lively TA, Chen ME, Rothman SW, Formal SB. *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (SHIGA) like cytotoxin. *Lancet* **1983**; 1:702.
- (10) Levine MM, Xu JG, Kaper JB, et al. A DNA probe to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157:H7 and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis* **1987**; 156(1):175-82.
- (11) Orth D, Wurzner R. What makes an enterohemorrhagic *Escherichia coli*? *Clin Infect Dis* **2006**; 43(9):1168-9.
- (12) Robert Koch-Institut. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten - Merkblätter für Ärzte. *Epidemiologisches Bulletin* **2008**; (2):11-5.
- (13) Diarrhea caused by *Escherichia coli*. I Enterohemorrhagic Strains. In: Heyman DL, ed. *Control of Communicable Disease Manual*. 19 ed. Washington DC: American Public Health Association, **2008**:181-5.
- (14) Gould LH, Demma L, Jones TF, et al. Hemolytic uremic syndrome and death in persons with *Escherichia coli* O157:H7 infection, foodborne diseases active surveillance network sites, 2000-2006. *Clin Infect Dis* **2009**; 49(10):1480-5.
- (15) Gerber A, Karch H, Allerberger F, Verweyen HM, Zimmerhackl LB. Clinical course and the role of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997-2000, in Germany and Austria: a prospective study. *J Infect Dis* **2002**; 186(4):493-500.

- (16) Werber D, Fruth A, Heissenhuber A, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 more frequently cause bloody diarrhea than do non-O157 strains. *J Infect Dis* **2004**; 189(7):1335-6.
- (17) Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* **2005**; 365(9464):1073-86.
- (18) Sonntag AK, 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.
- (19) Gould LH, Bopp C, Strockbine N, et al. Recommendations for diagnosis of shiga toxin--producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *MMWR Recomm Rep* **2009**; 58(RR-12):1-14.
- (20) Ammon A. Surveillance of enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) infections and haemolytic uraemic syndrome (HUS) in Europe. *Euro Surveill* **1997**; 2(12):91-6.
- (21) Fruth A, Richter H TM. Zur Verbesserung der gegenwärtigen Diagnostik von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC). *Bundesgesundheitsblatt* **2000**; 43: 310-7.
- (22) Werber D, Frank C, Wadl M, Karch H, Fruth A, Stark K. Looking for tips to find icebergs--surveillance of haemolytic uraemic syndrome to detect outbreaks of Shiga toxin-producing *E. coli* infection. *Euro Surveill* **2008**; 13(9).
- (23) Friedrich AW, Borell J, Bielaszewska M, Fruth A, Tschape H, Karch H. Shiga toxin 1c-producing *Escherichia coli* strains: phenotypic and genetic characterization and association with human disease. *J Clin Microbiol* **2003**; 41(6):2448-53.
- (24) Werber D, Fruth A, Frank C, Altmann D, Stark K. Surveillance von STEC-Erkrankungen in Deutschland 2001-2009: Time for a change. III EHEC-Workshop **2010**; Wildbad-Kreuth: 16.
- (25) Anonym. Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern . *Amtsblatt L325* **2003**;31.
- (26) Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG, Jr. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol Rev* **1996**; 18(1):29-51.
- (27) Miko A, Pries K, Haby S, et al. Assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from wildlife meat as potential pathogens for humans. *Appl Environ Microbiol* **2009**; 75(20):6462-70.
- (28) Asakura H, Makino S, Shirahata T, et al. Detection and genetical characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from wild deer. *Microbiol Immunol* **1998**; 42(12):815-22.
- (29) Sanchez S, Garcia-Sanchez A, Martinez R, et al. Detection and characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* other than *Escherichia coli* O157:H7 in wild ruminants. *Vet J* **2009**; 180(3):384-8.

- (30) Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* **1991**; 13:60-98.
- (31) Naylor SW, Low JC, Besser TE, et al. Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. *Infect Immun* **2003**; 71(3):1505-12.
- (32) Smith DG, Naylor SW, Gally DL. Consequences of EHEC colonisation in humans and cattle. *Int J Med Microbiol* **2002**; 292(3-4):169-83.
- (33) Cernicchiaro N, Pearl DL, McEwen SA, Lejeune JT. Assessment of Diagnostic Tools for Identifying Cattle Shedding and Super-Shedding *Escherichia coli* O157:H7 in a Longitudinal Study of Naturally Infected Feedlot Steers in Ohio. *Foodborne Pathog Dis* **2011**; 8(2):239-48.
- (34) Faith NG, Shere JA, Brosch R, et al. Prevalence and clonal nature of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farms in Wisconsin. *Appl Environ Microbiol* **1996**; 62(5):1519-25.
- (35) Sanderson MW, Besser TE, Gay JM, Gay CC, Hancock DD. Fecal *Escherichia coli* O157:H7 shedding patterns of orally inoculated calves. *Vet Microbiol* **1999**; 69(3):199-205.
- (36) Paiba GA, Wilesmith JW, Evans SJ, et al. Prevalence of faecal excretion of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in cattle in England and Wales. *Vet Rec* **2003**; 153(12):347-53.
- (37) Busch U, Hormansdorfer S, Schraner S, Huber I, Bogner KH, Sing A. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* excretion by child and her cat. *Emerg Infect Dis* **2007**; 13(2):348-9.
- (38) Urdahl AM, Beutin L, Skjerve E, Wasteson Y. Serotypes and virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy Norwegian sheep. *J Appl Microbiol* **2002**; 93(6):1026-33.
- (39) Rey J, Blanco JE, Blanco M, et al. Serotypes, phage types and virulence genes of shiga-producing *Escherichia coli* isolated from sheep in Spain. *Vet Microbiol* **2003**; 94(1):47-56.
- (40) Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* **1983**; 308(12):681-5.
- (41) Karch H, Russmann H, Schmidt H, Schwarzkopf A, Heesemann J. Long-term shedding and clonal turnover of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in diarrheal diseases. *J Clin Microbiol* **1995**; 33(6):1602-5.
- (42) Shah S, Hoffman R, Shillam P, Wilson B. Prolonged fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 during an outbreak at a day care center. *Clin Infect Dis* **1996**; 23(4):835-6.
- (43) Swerdlow DL, Griffin PM. Duration of faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 among children in day-care centres. *Lancet* **1997**; 349(9054):745-6.
- (44) Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis* **2005**; 11(4):603-9.

- (45) Rottman M, Gaillard JL. [New foodborne infections]. *Rev Prat* **2003**; 53(10):1055-62.
- (46) Two multistate outbreaks of Shiga toxin--producing *Escherichia coli* infections linked to beef from a single slaughter facility - United States, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **2010**; 59(18):557-60.
- (47) Ahn CK, Klein E, Tarr PI. Isolation of patients acutely infected with *Escherichia coli* O157:H7: low-tech, highly effective prevention of hemolytic uremic syndrome. *Clin Infect Dis* **2008**; 46(8):1197-9.
- (48) Keene WE, Hedberg K, Herriott DE, et al. A prolonged outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections caused by commercially distributed raw milk. *J Infect Dis* **1997**; 176(3):815-8.
- (49) Honish L, Predy G, Hislop N, et al. An outbreak of *E. coli* O157:H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized gouda cheese. *Can J Public Health* **2005**; 96(3):182-4.
- (50) De Schrijver K, Buvens G, Possse B, et al. Outbreak of veroytotoxin-producing *E. coli* O145 and O26 infections associated with the consumption of ice cream produced at a farm, Belgium, 2007. *Euro Surveill* 2008;13(7):1-7.
- (51) Matsell DG, White CT. An outbreak of diarrhea-associated childhood hemolytic uremic syndrome: the Walkerton epidemic. *Kidney Int Suppl* **2009**;(112):S35-S37.
- (52) Soderstrom A, Osterberg P, Lindqvist A, et al. A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. *Foodborne Pathog Dis* **2008**; 5(3):339-49.
- (53) Ackers ML, Mahon BE, Leahy E, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J Infect Dis* **1998**; 177(6):1588-93.
- (54) Cody SH, Glynn MK, Farrar JA, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Ann Intern Med* **1999**; 130(3):202-9.
- (55) Wendel AM, Johnson DH, Sharapov U, et al. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with consumption of packaged spinach, August-September 2006: the Wisconsin investigation. *Clin Infect Dis* **2009**; 48(8):1079-86.
- (56) Michino H, Araki K, Minami S, et al. Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol* **1999**; 150(8):787-96.
- (57) Lynch MF, Tauxe RV, Hedberg CW. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. *Epidemiol Infect* **2009**; 137(3):307-15.
- (58) Crump JA, Sulka AC, Langer AJ, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections among visitors to a dairy farm. *N Engl J Med* **2002**; 347(8):555-60.
- (59) Payne CJ, Petrovic M, Roberts RJ, et al. Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 gastroenteritis in farm visitors, North Wales. *Emerg Infect Dis* **2003**; 9(5):526-30.

- (60) Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infections among children associated with farm visits--Pennsylvania and Washington, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **2001**; 50(15):293-7.
- (61) Pritchard GC, Willshaw GA, Bailey JR, Carson T, Cheasty T. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on a farm open to the public: outbreak investigation and longitudinal bacteriological study. *Vet Rec* **2000**; 147(10):259-64.
- (62) Crump JA, Braden CR, Dey ME, et al. Outbreaks of *Escherichia coli* O157 infections at multiple county agricultural fairs: a hazard of mixing cattle, concession stands and children. *Epidemiol Infect* **2003**; 131(3):1055-62.
- (63) Grif K, Orth D, Lederer I, et al. Importance of environmental transmission in cases of EHEC O157 causing hemolytic uremic syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2005**; 24(4):268-71.
- (64) Bruce MG, Curtis MB, Payne MM, et al. Lake-associated outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in Clark County, Washington, August 1999. *Arch Pediatr Adolesc Med* **2003**; 157(10):1016-21.
- (65) Verma A, Bolton FJ, Fiefield D, et al. An outbreak of *E. coli* O157 associated with a swimming pool: an unusual vehicle of transmission. *Epidemiol Infect* **2007**; 135(6):989-92.
- (66) Rivas M, Sosa-Estani S, Rangel J, et al. Risk factors for sporadic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in children, Argentina. *Emerg Infect Dis* **2008**; 14(5):763-71.
- (67) O'Brien SJ, Adak GK, Gilham C. Contact with farming environment as a major risk factor for Shiga toxin (Vero cytotoxin)-producing *Escherichia coli* O157 infection in humans. *Emerg Infect Dis* **2001**; 7(6):1049-51.
- (68) Locking ME, O'Brien SJ, Reilly WJ, et al. Risk factors for sporadic cases of *Escherichia coli* O157 infection: the importance of contact with animal excreta. *Epidemiol Infect* **2001**; 127(2):215-20.
- (69) Michel P, Wilson JB, Martin SW, Clarke RC, McEwen SA, Gyles CL. Temporal and geographical distributions of reported cases of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Ontario. *Epidemiol Infect* **1999**; 122(2):193-200.
- (70) Innocent GT, Mellor DJ, McEwen SA, et al. Spatial and temporal epidemiology of sporadic human cases of *Escherichia coli* O157 in Scotland, 1996-1999. *Epidemiol Infect* **2005**; 133(6):1033-41.
- (71) Valcour JE, Michel P, McEwen SA, Wilson JB. Associations between indicators of livestock farming intensity and incidence of human Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Emerg Infect Dis* **2002**; 8(3):252-7.
- (72) Parry SM, Salmon RL. Sporadic STEC O157 infection: secondary household transmission in Wales. *Emerg Infect Dis* **1998**; 4(4):657-61.
- (73) Seto EY, Soller JA, Colford JM, Jr. Strategies to reduce person-to-person transmission during widespread *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. *Emerg Infect Dis* **2007**; 13(6):860-6.

- (74) Tuttle J, Gomez T, Doyle MP, et al. Lessons from a large outbreak of Escherichia coli O157:H7 infections: insights into the infectious dose and method of widespread contamination of hamburger patties. *Epidemiol Infect* **1999**; 122(2):185-92.
- (75) Tilden J, Jr., Young W, McNamara AM, et al. A new route of transmission for Escherichia coli: infection from dry fermented salami. *Am J Public Health* **1996**; 86(8):1142-5.
- (76) Willshaw GA, Thirlwell J, Jones AP, Parry S, Salmon RL, Hickey M. Vero cytotoxin-producing Escherichia coli O157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhoea, haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome in Britain. *Lett Appl Microbiol* **1994**; 19(5):304-7.
- (77) Cornick NA, Jelacic S, Ciol MA, Tarr PI. Escherichia coli O157:H7 infections: discordance between filterable fecal shiga toxin and disease outcome. *J Infect Dis* **2002**; 186(1):57-63.
- (78) Belongia EA, Osterholm MT, Soler JT, Ammend DA, Braun JE, MacDonald KL. Transmission of Escherichia coli O157:H7 infection in Minnesota child day-care facilities. *JAMA* **1993**; 269(7):883-8.
- (79) Al-Jader L, Salmon RL, Walker AM, Williams HM, Willshaw GA, Cheasty T. Outbreak of Escherichia coli O157 in a nursery: lessons for prevention. *Arch Dis Child* **1999**; 81(1):60-3.
- (80) Carter AO, Borczyk AA, Carlson JA, et al. A severe outbreak of Escherichia coli O157:H7--associated hemorrhagic colitis in a nursing home. *N Engl J Med* **1987**; 317(24):1496-500.
- (81) Rowe PC, Orrbine E, Lior H, Wells GA, McLaine PN. Diarrhoea in close contacts as a risk factor for childhood haemolytic uraemic syndrome. The CPKDRC co-investigators. *Epidemiol Infect* **1993**; 110(1):9-16.
- (82) Rowe PC, Orrbine E, Ogborn M, et al. Epidemic Escherichia coli O157:H7 gastroenteritis and hemolytic-uremic syndrome in a Canadian inuit community: intestinal illness in family members as a risk factor. *J Pediatr* **1994**; 124(1):21-6.
- (83) Task force on the Mass Outbreak of Diarrhea in School children of Sakai City. Report on the Outbreak of E.coli O157 infection in Sakai City. Sakai, Japan: Sakai City, **1997**.
- (84) Working Group of the former PHLS Advisory Committee on Gastrointestinal Infections. Preventing person-to-person spread following gastrointestinal infections: guidelines for public health physicians and environmental health officers. *Commun Dis Public Health* **2004 Dec**; 7(4):362-84.
- (85) Keene WE. Lessons from investigations of foodborne disease outbreaks. *JAMA* **1999**; 281(19):1845-7.
- (86) Neimann J, Engberg J, Molbak K, Wegener HC. A case-control study of risk factors for sporadic campylobacter infections in Denmark. *Epidemiol Infect* **2003**; 130(3):353-66.
- (87) Bockemühl J, Karch H, Rüssmann, et al. Shiga-like Toxin (Verotoxin) -produzierende E. coli O22: H8-Übertragung durch unpasteurisierte Milch mit nachfolgender Erkrankung an hämolytisch-urämischem Syndrom. *Bundesgesundheitsblatt* **1990**:3-6.

- (88) Karch H, Wiss R, Gloning H. et al. Hämolytisch-urämisches Syndrom bei Kleinkindern durch Verotoxin-produzierende *Escherichia coli*. Dtsch Med Wochenschr **1990**; 115: 489-95.
- (89) Ammon A, Petersen LR, Karch H. A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain of *Escherichia coli* O157:H-. J Infect Dis **1999**; 179(5):1274-7.
- (90) Mahon BE, Griffin PM, Mead PS, Tauxe RV. Hemolytic uremic syndrome surveillance to monitor trends in infection with *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga toxin-producing *E. coli*. Emerg Infect Dis **1997**; 3(3):409-12.
- (91) Robert Koch-Institut. **SurvStat. 2010** (accessed: 1011.2010).
- (92) Robert Koch-Institut. EHEC-Erkrankung. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2009. Mercedes-Druck, Berlin, **2010**:67-70.
- (93) Robert Koch-Institut. HUS (Hämolytisch-urämisches Syndrom), enteropathisch. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2009. Mercedes-Druck, Berlin **2010**:108-10.
- (94) Werber D, Bielaszewska M, Frank C, Stark K, Karch H. Watch out for the even eviler cousin-sorbitol-fermenting *E coli* O157. Lancet **2011**; 377(9762):298-9.
- (95) Wadl M, Müller-Wiefel DE, Stark K, Fruth A, Werber D. Enteropathisches hämolytisch-urämisches Syndrom: Sporadischer Einzelfall oder Teil eines Krankheitsausbruchs? Monatsschrift Kinderheilkunde **2010**; 159:152-60.
- (96) Community outbreak of hemolytic uremic syndrome attributable to *Escherichia coli* O111:NM--South Australia 1995. MMWR Morb Mortal Wkly Rep **1995**; 44(29):550-8.
- (97) King LA, Mailles A, Mariani-Kurkdjian P, et al. Community-wide outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with consumption of frozen beef burgers. Epidemiol Infect **2009**; 137(6):889-96.
- (98) Schimmer B, Eriksen HM, Nygard K, et al. An outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with minced beef, Norway, January-February 2006: preliminary report. Euro Surveill **2006**; 11(3):E060302.
- (99) Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, et al. *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. J Infect Dis **2002**; 185(1):74-84.
- (100) O'Brien AD, Tesh VL, Donohue-Rolfe A, et al. Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis. Curr Top Microbiol Immunol **1992**; 180:65-94.
- (101) Schmitt CK, McKee ML, O'Brien AD. Two copies of Shiga-like toxin II-related genes common in enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains are responsible for the antigenic heterogeneity of the O157:H- strain E32511. Infect Immun **1991**; 59(3):1065-73.
- (102) Pierard D, Muyldermans G, Moriau L, Stevens D, Lauwers S. Identification of new verocytotoxin type 2 variant B-subunit genes in human and animal *Escherichia coli* isolates. J Clin Microbiol **1998**; 36(11):3317-22.

- (103) Weinstein DL, Jackson MP, Samuel JE, Holmes RK, O'Brien AD. Cloning and sequencing of a Shiga-like toxin type II variant from *Escherichia coli* strain responsible for edema disease of swine. *J Bacteriol* **1988**; 170(9):4223-30.
- (104) Schmidt H, Scheef J, Morabito S, Caprioli A, Wieler LH, Karch H. A new Shiga toxin 2 variant (Stx2f) from *Escherichia coli* isolated from pigeons. *Appl Environ Microbiol* **2000**; 66(3):1205-8.
- (105) Leung PH, Peiris JS, Ng WW, Robins-Browne RM, Bettelheim KA, Yam WC. A newly discovered verotoxin variant, VT2g, produced by bovine verocytotoxigenic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* **2003**; 69(12):7549-53.
- (106) Friedrich AW. Variabilität der Shigatoxine. *Hyg Mikrobiol* **2002**; 6:99-103.
- (107) Marques LRM, Peiris JSM, Cysz JSZ, et al. *Escherichia coli* strains isolated from pigs with edema disease produce a variant of Shiga-like toxin II. *FEMS Microbiol Lett* **1987**; 44:33-8.
- (108) Muniesa M, Recktenwald J, Bielaszewska M, Karch H, Schmidt H. Characterization of a shiga toxin 2e-converting bacteriophage from an *Escherichia coli* strain of human origin. *Infect Immun* **2000**; 68(9):4850-5.
- (109) Bielaszewska M, Friedrich AW, Aldick T, Schurk-Bulgrin R, Karch H. Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome. *Clin Infect Dis* **2006**; 43(9):1160-7.
- (110) Karch H, Mellmann A, Bielaszewska M. Epidemiology and pathogenesis of enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* **2009**; 122(11-12):417-24.
- (111) McDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS, Kaper JB. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1995**; 92(5):1664-8.
- (112) Beutin L, Montenegro MA, Orskov I, et al. Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* **1989**; 27(11):2559-64.
- (113) Schmidt H, Karch H, Beutin L. The large-sized plasmids of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains encode hemolysins which are presumably members of the *E. coli* alpha-hemolysin family. *FEMS Microbiol Lett* **1994**; 117(2):189-96.
- (114) Brunder W, Schmidt H, Karch H. EspP, a novel extracellular serine protease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 cleaves human coagulation factor V. *Mol Microbiol* **1997**; 24(4):767-78.
- (115) Orth D, Ehrlenbach S, Brockmeyer J, et al. EspP, a serine protease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, impairs complement activation by cleaving complement factors C3/C3b and C5. *Infect Immun* **2010**; 78(10):4294-301.
- (116) Brunder W, Schmidt H, Karch H. KatP, a novel catalase-peroxidase encoded by the large plasmid of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Microbiology* **1996**; 142:3305-15.
- (117) Karch H. The role of virulence factors in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)--associated hemolytic-uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost* **2001**; 27(3):207-13.

- (118) Beutin L, Geier D, Zimmermann S, Karch H. Virulence markers of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* strains originating from healthy domestic animals of different species. *J Clin Microbiol* **1995**; 33(3):631-5.
- (119) Willshaw GA, Scotland SM, Smith HR, Rowe B. Properties of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* of human origin of O serogroups other than O157. *J Infect Dis* **1992**; 166(4):797-802.
- (120) Gyles CL. VT toxemia in animal models. In: Karmali MA, Goglio A G, eds. Recent advances in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infections. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands. **1994**:223-40.
- (121) Louise CB, Obrig TG. Specific interaction of *Escherichia coli* O157:H7-derived Shiga-like toxin II with human renal endothelial cells. *J Infect Dis* **1995**; 172(5):1397-401.
- (122) Ostroff SM, Kobayashi JM, Lewis JH. Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. The first year of statewide disease surveillance. *JAMA* **1989**; 262(3):355-9.
- (123) Schmidt H, Karch H. Enterohemolytic phenotypes and genotypes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111 strains from patients with diarrhea and hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* **1996**; 34(10):2364-7.
- (124) Sandhu KS, Clarke RC, Gyles CL. Hemolysin phenotypes and genotypes of eaeA-positive and eaeA-negative bovine verotoxigenic *Escherichia coli*. *Adv Exp Med Biol* **1997**; 412:295-302.
- (125) Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP, Gyles CL. Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol* **1999**; 37(3):497-503.
- (126) Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, et al. *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis* **2002**; 185(1):74-84.
- (127) Tamplin ML. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in simulated human gastric fluid. *Appl Environ Microbiol* **2005**; 71(1):320-5.
- (128) Orth D, Khan AB, Naim A, et al. Shiga toxin activates complement and binds factor H: evidence for an active role of complement in hemolytic uremic syndrome. *J Immunol* **2009**; 182(10):6394-400.
- (129) Thurman JM, Marians R, Emlen W, et al. Alternative pathway of complement in children with diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* **2009**; 4(12):1920-4.
- (130) Werber D, Behnke SC, Fruth A, et al. Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* Infection in Germany--Different Risk Factors for Different Age Groups. *Am J Epidemiol* **2007**; 165(4):425-34.
- (131) Kassenborg HD, Hedberg CW, Hoekstra M, et al. Farm visits and undercooked hamburgers as major risk factors for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection: data from a case-control study in 5 FoodNet sites. *Clin Infect Dis* **2004**; 38 Suppl 3:S271-S278.

- (132) Voetsch AC, Kennedy MH, Keene WE, et al. Risk factors for sporadic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infections in FoodNet sites, 1999-2000. *Epidemiol Infect* **2007**; 135(6):993-1000.
- (133) Parry SM, Salmon RL, Willshaw GA, Cheasty T. Risk factors for and prevention of sporadic infections with vero cytotoxin (shiga toxin) producing *Escherichia coli* O157. *Lancet* **1998**; 351(9108):1019-22.
- (134) Frank C, Kapfhammer S, Werber D, Stark K, Held L. Cattle density and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Germany: increased risk for most but not all serogroups. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2008**; 8(5):635-43.
- (135) Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, et al. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience. *JAMA* **1994**; 272(17):1349-53.
- (136) Ake JA, Jelacic S, Ciol MA, et al. Relative nephroprotection during *Escherichia coli* O157:H7 infections: association with intravenous volume expansion. *Pediatrics* **2005**; 115(6):e673-e680.
- (137) Health Protection Scotland. Guidance for the Public Health Management of Infection with Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC). **2008**; available at: <http://www.documents.hps.scot.nhs.uk/about-hps/hpn/vtec.pdf> (accessed: 12.11.10).
- (138) Doorduyn Y, Van Den Brandhof WE, Van Duynhoven YT, Wannet WJ, Van PW. Risk factors for *Salmonella* Enteritidis and Typhimurium (DT104 and non-DT104) infections in The Netherlands: predominant roles for raw eggs in Enteritidis and sandboxes in Typhimurium infections. *Epidemiol Infect* **2006**; 134(3):617-26.
- (139) Bülte MHSSP. Enterohämorrhagische *E.coli* (EHEC) - aktuelle Lebensmittelinfektionserreger auch in der Bundesrepublik Deutschland. *Fleischwirtschaft* **1996**; 76:88-91.
- (140) Werber D, Beutin L, Pichner R, Stark K, Fruth A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in food and patients, Germany. *Emerg Infect Dis* **2008**; 14(11):1803-6.
- (141) 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.
- (142) Tokars JI, Burkom H, Xing J, et al. Enhancing time-series detection algorithms for automated biosurveillance. *Emerg Infect Dis* **2009**; 15(4):533-9.
- (143) Werber D, Kramer MH, Buchholz U, et al. [Surveillance of infectious foodborne diseases after enactment of the German Protection against Infection Act in 2001. Potentials and requirements]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* **2006**; 49(10):1020-6.
- (144) Reingold AL. Outbreak investigations--a perspective. *Emerg Infect Dis* **1998**; 4(1):21-7.
- (145) Boxrud D, Monson T, Stiles T, Besser J. The role, challenges, and support of pulsenet laboratories in detecting foodborne disease outbreaks. *Public Health Rep* **2010**; 125 Suppl 2:57-62.

- (146) Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerg Infect Dis* **2001**; 7(3):382-9.
- (147) Elbasha EH, Fitzsimmons TD, Meltzer MI. Costs and benefits of a subtype-specific surveillance system for identifying *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks. *Emerg Infect Dis* **2000**; 6(3):293-7.
- (148) Swaminathan B, Gerner-Smidt P, Ng LK, et al. Building PulseNet International: an interconnected system of laboratory networks to facilitate timely public health recognition and response to foodborne disease outbreaks and emerging foodborne diseases. *Foodborne Pathog Dis* **2006**; 3(1):36-50.
- (149) Beutin L. Emerging enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, causes and effects of the rise of a human pathogen. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* **2006**; 53(7):299-305.
- (150) Manning SD, Motiwala AS, Springman AC, et al. Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2008**; 105(12):4868-73.
- (151) Nielsen EM, Scheutz F. Characterisation of *Escherichia coli* O157 isolates from Danish cattle and human patients by genotyping and presence and variants of virulence genes. *Vet Microbiol* **2002**; 88(3):259-73.
- (152) Pradel N, Ye C, Livrelli V, Xu J, Joly B, Wu LF. Contribution of the twin arginine translocation system to the virulence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun* **2003**; 71(9):4908-16.
- (153) Werber D, Fruth A, Buchholz U, et al. Strong association between shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and virulence genes *stx2* and *eae* as possible explanation for predominance of serogroup O157 in patients with haemolytic uraemic syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2003**; 22(12):726-30.
- (154) Beutin L, Jahn S, Fach P. Evaluation of the 'GeneDisc' real-time PCR system for detection of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O26, O103, O111, O145 and O157 strains according to their virulence markers and their O- and H-antigen-associated genes. *J Appl Microbiol* **2009**; 106(4):1122-32.

Danksagung

Der überwiegende Teil der hier aufgeführten Studien ist das Ergebnis meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Robert Koch-Institut. Gedankt sei daher allen Institutskollegen, mit denen ich über die Jahre gut zusammengearbeitet habe und deren Zahl zu groß ist, um sie alle namentlich zu erwähnen. Dank gebührt Frau PD. Dr. Andrea Ammon für die erfolgreiche Gesamtkoordination eines BMBF-geförderten Projektes, welches mir einen idealen Einstieg in die epidemiologische Laufbahn und in die spezielle Erregerproblematik ermöglichte. Des Weiteren danke ich dem Leiter des Fachgebiets Gastroenterologische Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen, Prof. Klaus Stark, für seine tatkräftige Unterstützung und Befürwortung dieser Arbeit, für die vielen wertvollen Denkanstöße in der täglichen Arbeit und dem kollegialen Führungsstil. Ein besonderer Dank gebührt Frau Susanne Behnke für zahlreiche technische Hilfestellungen.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Frau Prof. Jacqueline Müller-Nordhorn von der Berlin School of Public Health der Charité für die konstruktive Betreuung dieser Arbeit.

Mein Verständnis über die mikrobiologischen Eigenschaften von STEC gründet sich auf vielfache Gespräche und Kooperationen mit hervorragenden Mikrobiologen auf diesem Gebiet in Deutschland. Dafür danke ich ganz herzlich PD. Dr. Lothar Beutin, Prof. Jochen Bockemühl, PD. Dr. Alexander Friedrich, Prof. Dr. h.c. Helge Karch, PD. Dr. Alexander Mellmann, Prof. Helmut Tschäpe und ganz besonders Frau Dr. Angelika Fruth vom Nationalen Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger in Wernigerode für die langjährige gute Zusammenarbeit.

Ein Dank geht auch an die Kollegen des National Public Health Service in Wales, deren Einsatz und Unterstützung mir die einmalige Gelegenheit gaben, parallel zu den Untersuchungen und Interventionsmaßnahmen des dortigen Öffentlichen Gesundheitsdienstes detaillierte Untersuchungen zu Haushaltsübertragungen im zweitgrößten STEC O157:H7-Krankheitsausbruchs des Vereinigten Königreichs durchzuführen – ein Ausbruch, der durch seine hohe mediale Aufmerksamkeit eine ganz besondere Herausforderung für die Kollegen bedeutete.

Und schließlich meinen Eltern sowie meiner Frau Christiane und meinem Sohn Vincent – für Alles.

Eidesstattliche Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass:

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Unterschrift