

Infektionen des Menschen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland, 1996

Von J. Bockemühl, H. Karch und H. Tschäpe

Zusammenfassung

1996 wurden von uns insgesamt 96 Fälle von hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) durch EHEC Erregernachweis und/oder Nachweis spezifischer Antikörper gesichert. Hinzu kommen 63 durch EHEC verursachte Enteritisfälle und 40 Ausscheider. Neben den bereits in den Vorjahren gehäuft nachgewiesenen EHEC O157 (O157:H7, O157:H-) , O26 (O26:H-, O26:H11) und O111 (O111:H-, O111:H2) ist 1996 erstmals EHEC O103:H2 als Erreger von HUS- und Enteritisfällen aufgetreten und wurde zweithäufigster Erreger von EHEC-Infektionen des Menschen. Insgesamt wurden bei 149 komplett charakterisierten Isolaten 26 verschiedene Serovare und zusätzlich elf Stämme mit nichttypisierbarem O-Antigen nachgewiesen. Dies unterstreicht einerseits die Notwendigkeit der EHEC-Isolierung auf der Grundlage des Shiga Toxin-(Stx)-Nachweises bzw. der stx-Determinanten, andererseits eine weitere Subtypisierung der Isolate (u. a. Serotypisierung). Ein interdisziplinäres Agieren auf gesundheitspolitischer, medizinischer, veterinärmedizinischer und administrativer Ebene ist für Deutschland unbedingt zu fordern, um Gesundheits- und Verbraucherschutz zu optimieren.

Summary

Human infections due to enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) in Germany, 1996

In 1996 we confirmed a total of 96 cases of hemolytic uremic syndrome (HUS) by identification of the enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) pathogen and/or detection of specific antibodies. In addition there were 63 cases of EHEC-induced enteritis and 40 asymptomatic carriers of the organism. Alongside EHEC O157 (O157:H7, O157:H-, O26 (O26:H-, O26:H11) and O111 (O111:H-, O111:H2), which have already been identified frequently in previous years, in 1996 EHEC O103:H2 appeared for the first time as a causative pathogen of HUS and cases of enteritis and was the second most common pathogen causing EHEC-infections in the human. Out of a total of 149 fully characterised isolates, 26 different serovars were identified along with eleven strains with nontypable O-antigens. These findings underline on the one side the importance of EHEC-isolation by identification of the Shiga toxin- (Stx) or stx determinants, and on the other the need for further subtyping of the isolates (e.g. serotyping). An inter-disciplinary effort involving governmental health authorities, medical and veterinary bodies and administration departments in Germany must be called for in order to optimise health protection and the safety of the consumer.

Einleitung

Über die Bedeutung der enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) als Erreger oft schicksalhafter Erkrankungen des Menschen, über die weiter zunehmende Ausbreitung dieser erst vor kurzer Zeit entstandenen Erreger, wie auch über die damit verbundenen therapeutischen und präventiven Probleme und die damit verbundenen Aufgaben des Öffentlichen Gesundheitsdienstes haben die Autoren erst kürzlich in dieser Zeitschrift berichtet [1]. Der vorliegende Bericht faßt die uns bekannt gewordenen Infektionen des Menschen im Jahre 1996 zusammen, beschreibt die klinische Breite der EHEC-Infektionen in Deutschland und zieht Schlußfolgerungen für die Diagnostik und den Handlungsbedarf des Öffentlichen Gesundheitsdienstes.

Ergebnisse

Inzidenz

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, wurden 1996 insgesamt 96 Fälle von hämoly-

Tabelle 1: Serovare und Virulenzmarker bei EHEC-Stämmen vom Menschen, Deutschland 1996

Anzahl Stämme	Serogruppe (%)		eaeA (%)	EHEC- <i>bly</i> (%)	Enterohämolytin (phänotypisch) (%)
HUS-Fälle (bakteriologisch 61 Fälle, serologisch [Anti-O157-LPS-Antikörper] 35 Fälle, gesamt 96 Fälle)					
43	O157:H-, H7	(70,5)	100	100	65,1 (Sorbit-pos. Stämme negativ!)
5	O26:H-, H11	(8,2)	100	100	80
3	O111:H-, H2	(4,9)	100	100	100
2	O103:H2	(3,3)	100	100	100
8	sonstige	(13,1)	50	62,5	62,5
Enteritisfälle (64 Isolate von 63 Patienten)					
20	O157:H-, H7	(31,3)	100	100	95
11	O26:H-, H11	(17,2)	63,3	100	100
10	O103:H-, H2	(15,6)	60	100	100
5	O111:H-, H2	(7,8)	100	100	100
18	sonstige	(28,1)	50	83,3	83,3
Ausscheider (41 Isolate von 40 Personen)					
15	O157:H-, H7	(36,6)	93,3	93,3	60
4	O103:H2	(9,8)	100	100	100
22	sonstige	(53,7)	40,9	50	50

tisch-urämischem Syndrom (HUS) durch Erregernachweis und/oder Nachweis spezifischer IgM-Antikörper gegen das Lipopolysaccharidantigen von EHEC O157 gesichert. Diese Zahl entspricht fast einer Verdoppelung der 57 (1994) bzw. 51 (1995) Fälle der beiden Vorjahre [1].

Auch die Zahl bestätigter Enteritisfälle, die sicher nur die »Spitze des Eisbergs« darstellt, lag mit 63 Patienten deutlich über der Gesamtzahl von 44 Fällen der Jahre 1994/95. Die in Bayern zum 21. 3. 1996 eingeführte Meldepflicht für EHEC-Ausscheider [2] mit nachfolgenden Umgebungsuntersuchungen führte zur Ermittlung von 40 symptomlosen Trägern. Dies ist ein deutlicher Hinweis auf die Bedeutung, die dem Menschen, neben dem Lebensmittel, für die Epidemiologie und Übertragung der EHEC zukommt.

Dagegen ergab die seit 1991 mit gleichbleibender Methodik durchgeführte Untersuchung an Kindern, die wegen einer Durchfallerkrankung in der Universitäts-Kinderklinik Würzburg hospitalisiert waren, keine Veränderung der Inzidenz im Vergleich zum Jahr 1995 (Abb. 1). 1996 wurden bei 584 Kindern mit Darmsymptomatik in 14 Fällen EHEC nachgewiesen (2,4 %; vgl. 1994: 2,8 %; 1995: 2,5 %). Extraintestinale Komplikationen in Form von komplettem und inkomplettem HUS traten in den drei Jahren in 7–8 % der EHEC-Infektionen auf (Abb. 1).

Die größte Krankheitshäufung ereignete sich zwischen Herbst 1995 und März 1996 in Bayern; sie führte mit nachfolgenden Einzelfällen bis zum August zu 51 HUS-Erkrankungen, davon sieben mit tödlichem Ausgang [3].

Erregerspektrum und Diagnostik

Das EHEC-Geschehen in Deutschland ist durch eine deutliche Ausweitung des Erregerspektrums gekennzeichnet. Die O-Gruppe 157 (Serovare O157:H⁻ und O157:H7) war 1996 nur noch für 70,5 % der bakteriologisch nachgewiesenen HUS-Fälle und für 31,3 % der Enteritisfälle verantwortlich (Tab. 1). Neben den bereits in den Vorjahren gehäuft nachgewiesenen EHEC O26 (O26:H⁻, O26:H11) und O111 (O111:H⁻, O111:H2) ist 1996 erstmals der bereits in Frankreich verbreitete EHEC O103:H2 [4] als Erreger von HUS- und Enteritisfällen aufgetreten und wurde mit 16 Nachweisen, ebenso oft wie Stämme der O-Gruppe 26, zweithäufig-

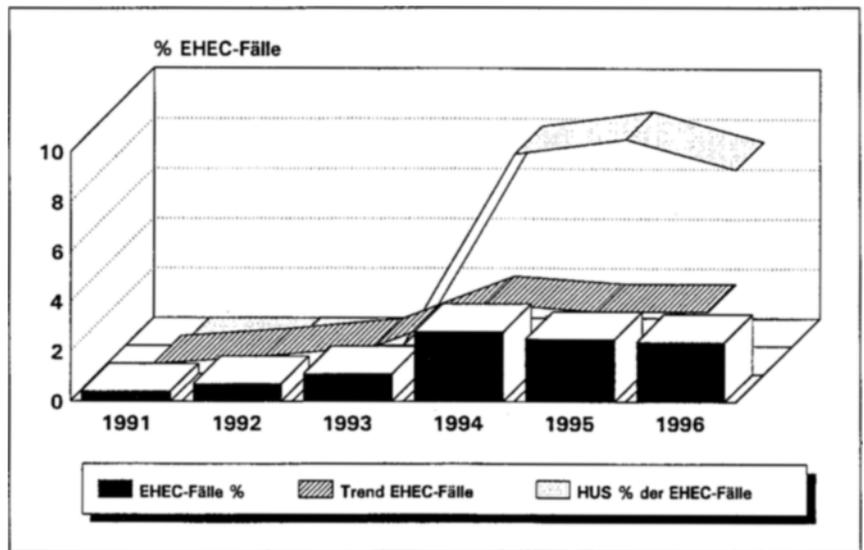


Abbildung 1: EHEC bei hospitalisierten Kindern (< 16 Jahre). Univ.-Kinderklinik Würzburg, 1991–1996.

ster Erreger von EHEC-Infektionen des Menschen. Insgesamt wurden bei 149 komplett charakterisierten Isolaten 26 verschiedene Serovare und zusätzlich elf Stämme mit nichttypisierbarem O-Antigen nachgewiesen.

Das in Tabelle 2 dargestellte Vorkommen verschiedener Toxintypen zeigt, daß HUS-Fälle in signifikanter Häufigkeit mit dem Shigatoxin (Stx) 2 assoziiert waren. Insgesamt war dieser Toxintyp allein oder in Kombination mit Stx 1 bei 55 der 61 bakteriologisch nachgewiesenen HUS-Fälle beteiligt (90,2 %). Andererseits waren Stämme, die nur Stx 1 produzieren, mit 57,8 % die häufigste Ursache einer EHEC-Enteritis. Hieraus kann gefolgert werden, daß dem Stx 2 eine offensichtlich größere pathogene Bedeutung zukommt als dem auch von *Shigella dysenteriae* Serovar 1 gebildeten Stx 1. Tabelle 2 zeigt weiterhin, daß Stämme von EHEC O157 überwiegend mit Stx 2 assoziiert sind. Die Bedeutung des Subtyps Stx 2c, der in erster Linie bei *E. coli* O157 in Kom-

bination mit Stx 2 nachgewiesen wurde, muß weiter analysiert werden.

Die bei HUS-Fällen isolierten Stämme besaßen in ca. 87 % (1994/95: 94 %) neben der Fähigkeit zur Shiga-Toxinbildung auch die Gene für Intimin (*eaeA*) und EHEC-Hämolyisin (EHEC-*hly*). Bei diesen Isolaten wurde auch in 84 % die plasmidkodierte und kürzlich beschriebene [5] Katalase (*KatP*) nachgewiesen. Bei Enteritisfällen wurde das vollständige Virulenzmuster nur bei Stämmen der O-Gruppen 157 und 111 beobachtet, während bei allen anderen Serovaren Stämme vorkamen, denen *eaeA*, EHEC-*hly* bzw. *KatP* fehlten (Tab. 1). Von 149 vollständig charakterisierten Isolaten des Jahres 1996 besaßen elf Stämme zwar die Fähigkeit zur Shigatoxinbildung, aber keine Gene für *eaeA* und EHEC-*hly*. Solche Stämme wurden zweimal von HUS- und einmal von einem Enteritis-Patienten sowie in acht Fällen von symptomlosen Ausscheidern isoliert. Möglicherweise gibt es weitere, bisher nicht identifi-

Tabelle 2: Shigatoxintypen bei Stämmen von HUS- und Enteritisfällen, Deutschland 1996

Shigatoxin	O157 – Zahl Stämme (%)		nicht-O157 – Zahl Stämme (%)	
	HUS	Enteritis	HUS	Enteritis
Stx 1	1 (2,3)	0	5 (27,8)	37 (84,1)
Stx 1, 2*	3 (7,0)	10 (50)	1 (5,5)	2 (4,5)
Stx 2*	39 (90,7)	10 (50)	12 (66,7)	5 (11,4)
gesamt	43	20	18	44

* einschl. Stx 2c

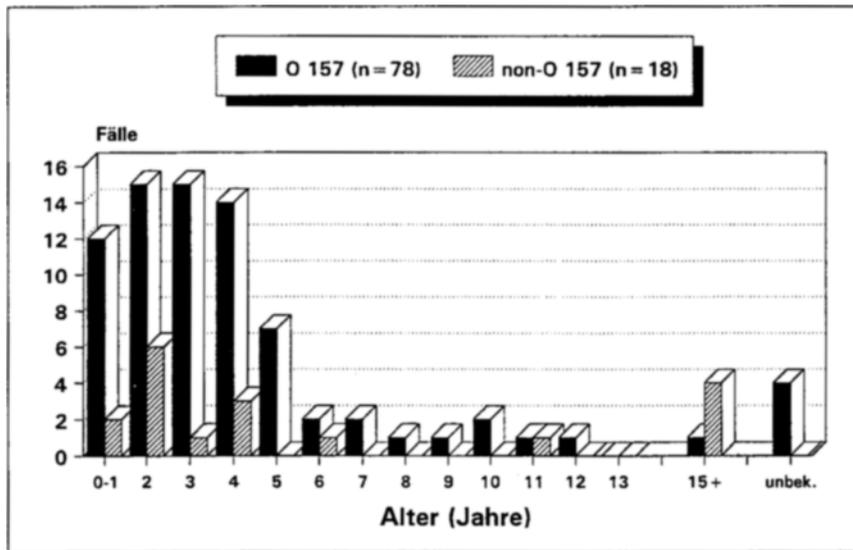


Abbildung 2: EHEC-HUS-Fälle Deutschland 1996 (n = 96). Bakteriologischer oder serologischer (anti-O157 LPS) Nachweis.

zierte Virulenzfaktoren, z. B. für die Adhärenz.

In diagnostischer Hinsicht belegen die Ergebnisse erneut, daß dem genotypischen (PCR, Kolonienblot-Hybridisierung) oder phänotypischen Nachweis der Shigatoxine unabweisbar das Primat zukommt. Letzterer kann mittels Verzell-Toxintest oder immunologischer Testverfahren (ELISA, Immunoblot) durchgeführt werden.

Die überwiegende Fähigkeit der EHEC-Stämme vom Menschen, Sorbit zu fermentieren, macht die ausschließliche Verwendung von Sorbit-McConkey-Agar oder seinen Modifikationen obsolet. Selbst bei der Isolierung von EHEC-O157-Stämmen, für die dieser Nährboden ursprünglich konzipiert wurde, ist Vorsicht geboten, da in Deutschland ein prompt Sorbit-fermentierender Klon von EHEC O157:H⁻ endemisch ist. Bei gezielter, d. h. ausschließlicher Suche nach *E. coli* O157 ist die immunmagnetische Separierung derzeit die empfindlichste Methode für die Keimisolierung [6].

Auch der zum Nachweis des EHEC-Hämolsins im Handel angebotene Enterohämolsinagar ist als alleinige Screeningmethode ungeeignet. Von 149 vollständig untersuchten Stämmen hatten 16 kein EHEC-*hly*-Gen (10,7 %), und insgesamt 37 Stämme zeigten auf Enterohämolsinagar keine Hämolyse (24,8 %). Immerhin 19 dieser Isolate stammten von HUS-Patienten (31,1 %),

darunter praktisch alle Sorbit-positiven Isolate von *E. coli* O157:H⁻, aus Bayern. Abgesehen von der oftmals schwierigen Beurteilung einer Stuhlkultur auf Blutagar wäre bei Verwendung des Enterohämolsinagars als Screeningmethode mindestens jeder vierte EHEC-Fall bzw. fast jeder dritte HUS-Fall übersehen worden.

Die bei HUS-Fällen in der Regel geringe oder bereits sistierte Erregerausscheidung mit dem Stuhl macht die zusätzliche Untersuchung auf EHEC-spezifische IgM-Antikörper im Serum des Patienten erforderlich. Dieser Test wird bisher nicht im Handel angeboten. Immerhin gelang 1996 durch Nachweis von anti-O157-LPS-IgM im Immunoblot der Nachweis von 35 HUS-Fällen durch EHEC.

Tabelle 3: Zwingende Indikation zur bakteriologischen Untersuchung auf EHEC [7]

Anlaß	Untersuchungsmaterial
<i>- Behandelnder Arzt:</i>	
Erkrankung an HUS und TTP	Serum u. Stuhl
Mit Enteritis hospitalisierte Kinder bis zu 6 Jahren	Stuhl
Enteritis mit blutig wässrigen Stühlen	Stuhl
Nekrotisierende Enteritis oder endoskopisch nachgewiesene hämorrhagische Colitis	Stuhl u. Biopsiematerial
Durchfall in Anamnese (Woche vorher) und Auftreten einer hämolytischen Anämie oder eines akuten Nierenversagens	Serum u. Stuhl
<i>- Amtsarzt:</i>	
Ausbruch in Gemeinschaftseinrichtung und Wohngemeinschaft oder bei Gemeinschaftsverpflegung	Stuhl u. Lebensmittel
Kontaktpersonen bei HUS und nachgewiesener EHEC-Infektion	Stuhl

Klinik

Die von uns in den letzten Jahren bei der Untersuchung von EHEC-Patienten in Deutschland gesammelten Informationen ermöglichen jetzt eine Aussage zur Breite des klinischen Bildes. Wie aus der Übersicht ersichtlich, verlaufen ca. 80 % der Fälle als wässriger Durchfall, oftmals assoziiert mit kolikartigen Bauchschmerzen und bei Kindern nicht selten begleitet von Erbrechen und/oder leichtem Fieber. Nur etwa 20 % der Fälle zeigen die namensgebende Symptomatik des wässrig-hämorrhagischen Durchfalls, der als Risikofaktor für extraintestinale Komplikationen angesehen werden muß. Etwa 80 % der von uns untersuchten HUS-Patienten wiesen anamnestisch einen blutigen Durchfall auf.

HUS-Fälle treten, wie in Abbildung 2 dargestellt, überwiegend bei Kindern bis zur Vollendung des 5. Lebensjahres auf. Die über die letzten drei Jahre beobachtete Inzidenz dieser Komplikation bei hospitalisierten Patienten lag bei 7-8 % der EHEC-Infektionen (Abb. 1). Auch Erwachsene können am enteropathischen HUS erkranken; diese Fälle werden aber bislang unzureichend berücksichtigt und machten deshalb nur einen geringen Teil unserer Untersuchungen aus. Beachtenswert ist die Beobachtung, daß vier der in dieser Altersgruppe diagnostizierten fünf Fälle durch nicht zu O157 gehörende Serovaren verursacht wurden (O26:H⁻, O55:H⁻, O77:H⁻, O111:H⁻). Die HUS-Erkrankung des Erwachsenen bedarf unbedingt in ätiologischer Hinsicht einer intensiveren Bearbeitung.

Die übrigen in der Übersicht aufgeführten intestinalen und extraintestinalen

Komplikationen sind seltene, aber stets schwere Erkrankungsformen, die sich derzeit anhand der uns vorliegenden Daten noch nicht quantifizieren lassen.

Indikation zur bakteriologischen Untersuchung

Unter Berücksichtigung der Beobachtung, daß 80 % der klinischen EHEC-Infektionen, besonders im Kindesalter, uncharakteristisch als wäßriger Durchfall verlaufen, müßten EHEC konsequenterweise bei jeder Enteritis routinemäßig untersucht werden. Da sich dies wegen der aufwendigen Diagnostik derzeit schwer durchsetzen läßt, ist in Tabelle 3 als Minimalforderung eine Liste von Fällen aufgeführt, in denen die bakteriologische und ggf. serologische Untersuchung zwingend erforderlich ist.

Schlußfolgerung

Die 1996 von uns diagnostizierten EHEC-Infektionen zeigen im Vergleich zu den Vorjahren praktisch eine Verdoppelung der gesicherten Fälle. Hinzu kommt eine zunehmende Ausweitung des Typenspektrums, die den Einsatz umfassender diagnostischer Methoden zum primären Nachweis der Shigatoxine oder ihrer Gene erforderlich macht. Einfache phänotypische Verfahren, wie der Einsatz einfacher Indikatornährböden, sind diagnostisch unzureichend. Insgesamt muß die Indikation zur bakteriologischen Untersuchung erweitert werden. Besondere Beachtung sollte zukünftig der HUS-Erkrankung im Erwachsenenalter geschenkt werden.

Die in Bayern 1996 verordnete Meldepflicht für HUS-Fälle und EHEC-Nachweise mit nachfolgenden Umgebungsuntersuchungen hat gezeigt, daß symptomlose Ausscheider unter den Kontaktpersonen keine Seltenheit sind. Die relative Bedeutung der Ausscheider für die EHEC-Übertragung im Vergleich zum kontaminierten Lebensmittel ist nach wie vor unklar, ebenso wie die Frage, welche EHEC-Typen ausschließlich über den Menschen bzw. sowohl vom Menschen als auch über Lebensmittel verbreitet werden. Hierzu hatten die Autoren wiederholt eine Fallkontrollstudie gefordert, deren Realisierung aussteht, obwohl sie im Sinne eines wirksamen Gesundheits- und Verbraucherschutzes dringend erforderlich ist.

Übersicht: Symptomatik bei EHEC-Infektionen*

- Wäßriger Durchfall (ca. 80 % der Fälle)
- Wäßrig-blutiger Durchfall (ca. 20 % der Fälle)
Risikofaktor für extraintestinale Komplikationen, z. B. HUS
- Kolikartige Bauchschmerzen,
bei Kindern häufig Erbrechen, leichtes Fieber
- Intestinale Komplikationen:
 - chronische Colitis bei Erwachsenen (DD Colitis ulcerosa)
 - nekrotisierende Colitis bei Säuglingen
 - Dickdarminvagination mit Ileus (beim Säugling)
- Extraintestinale Komplikationen:
 - hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)
besonders bei Kindern < 6 Jahren (5-10 % der EHEC-Fälle), aber auch bei Erwachsenen
 - isolierte hämolytische Anämien
 - zerebrale Krampfanfälle
 - toxischer Myokardschaden (Kinder)
 - Pankreatitis mit nachfolgendem Diabetes mellitus (Kinder)
 - Multiorganversagen (Kinder)

* Nach klinischen Angaben auf den Probenbegleitscheinen sowie aufgrund der Verläufe bei hospitalisierten Kindern der Kinderklinik Würzburg (49 Fälle).

Auch die frühzeitige Erfassung von Infektionen und Ausbrüchen ist nach wie vor unbefriedigend, wenn auch zu hoffen ist, daß das neue Infektionsschutzgesetz hier eine entscheidende Verbesserung bringen wird. Eine Berichtspflicht für HUS-Fälle könnte zwischenzeitlich dazu beitragen, frühzeitig regionale Häufungen als Indiz für einen EHEC-Ausbruch zu erkennen.

Nicht nur im nationalen Rahmen, sondern auch international hat die Entwicklung des letzten Jahres mit Ausbrüchen bisher nicht gekannter Größe gezeigt, daß EHEC eine ungewöhnliche Fähigkeit zur Anpassung und Ausbreitung besitzen, der mit konservativem Reagieren nicht beizukommen ist. Vielmehr ist ein vorausschauendes, interdisziplinäres Agieren auf medizinischer, veterinärmedizinischer und administrativer Ebene gefordert.

Literatur:

- [1] Bockemühl, J., und Karch, H.: Epidemiologie der EHEC-Infektionen: Wirkliche Bedrohung oder Presse-Popanz? In: Ökosystem Darm VII (Hrsg. M. Kist et al.), Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag 1997, S. 3-13.
- [2] Bayerisches Staatsministerium für Arbeit, Sozialordnung, Familie, Frauen und Gesundheit: Verordnung über die Meldepflicht für EHEC-Ausscheider vom 21. 3. 1996. Bayer. Ges. Verordnungsbl. Nr. 6 (1996) 122.

- [3] Robert Koch-Institut: Pressemitteilung Nr. 20/96 vom 8. 8. 1996.
- [4] Mariani-Kurkdjian, P., Denamur, E., Milon, A., Picard, B., Cave, H., Lambert-Zechovsky, N., Loirat, C., Goulet, P., Sansonetti, P.J., and Elion, J.: Identification of a Clone of *Escherichia coli* O103:H2 as a Potential Agent of Hemolytic-uremic Syndrome in France. *J. Clin. Microbiol.* 31 (1992) 296-301.
- [5] Brunder, W., Schmidt, H., and Karch, H.: KatP, a novel, catalase-peroxidase encoded by the large plasmid of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Microbiol.* 142 (1996) 3305-3315.
- [6] Karch, H., Janetzki-Mittmann, C., Aleksic, S., and Datz, M.: Isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in patients with hemolytic-uremic syndrome using immunomagnetic separation, DNA-based methods and direct culture. *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996) 516-519.
- [7] Bockemühl, J., und Karch, H.: Zur aktuellen Bedeutung der enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland (1994-1995). *Bundesgesundhbl.* 39 (1996) 290-296.

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. Jochen Bockemühl, Hygiene Institut Hamburg, Abt. Bakteriologie, Nationales Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger des RKI, Marckmannstr. 129a, 20539 Hamburg; Prof. Dr. Helge Karch, Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität, Josef-Schneider-Str. 2, 97080 Würzburg; PD Dr. Helmut Tschäpe, Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode, Nationales Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger des RKI, Burgstr. 37, 38855 Wernigerode