

Die infektionsepidemiologischen Forschungsnetzwerke – Brücke zwischen Forschung und Gesundheitswesen

Das Beispiel des Netzwerks für Lebensmittel-übertragene Infektionen

Hintergrund

Die Förderung der infektionsepidemiologischen Forschungsnetzwerke stellt eine Ergänzung des Förderschwerpunkts „Forschungsvorhaben im Bereich der Infektionsforschung“ des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) im Gesundheitsforschungsprogramm der Bundesregierung dar. Es unterstützt die Maßnahmen des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung (BMGS) und des Robert Koch-Instituts (RKI) zum Aufbau einer leistungsfähigen deutschen Infektionsepidemiologie.

Wesentliches Kennzeichen der geförderten Netzwerke sollte ihr interdisziplinärer Ansatz sein, in dem modellhaft eine infektionsepidemiologische Forschung erfolgen sollte, die die vorhandenen Strukturen [RKI, Nationale Referenzzentren (NRZ), öffentlicher Gesundheitsdienst (ÖGD) u. a.] des vom RKI zu koordinierenden infektionsepidemiologischen Gesamtnetzwerkes möglichst weitgehend einbezieht und im Hinblick auf methodische und wissenschaftliche Qualität dem internationalen Standard entspricht. Ziel war es, die infektionsepidemiologische Forschung in Deutschland zu stärken sowie eine Brücke zwischen Forschung und Gesundheitswesen aufzubauen, um die Forschungsergebnisse

gezielt in Maßnahmen zur Vorbeugung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten umzusetzen.

Gefördert wird die Einrichtung regionaler oder überregionaler infektionsepidemiologischer Forschungsnetzwerke, in denen unter einem übergreifenden Thema von hoher Gesundheitsrelevanz zahlreiche Partner aus verschiedenen Disziplinen und Berufsgruppen zusammenarbeiten. Die Forschungsnetzwerke sollen z. B. die Durchführung von Studien (Kohorten- oder Fall-Kontroll-Studien) zur Bestimmung der Verteilung und der Risikofaktoren für bestimmte Infektionskrankheiten zum Ziel haben und dabei die aufsuchende Epidemiologie, die Maßnahmen orientierte Analyse der Daten und experimentelle Arbeiten verknüpfen [1].

Nach einem internationalen 2-stufigen Begutachtungsverfahren wurden seit 1999 3 Netzwerke in die Förderung genommen (zunächst für eine 3-jährige erste Phase, nach einer Zwischenbegutachtung im Jahr 2001 für weitere 3 Jahre ab 2002):

- Forschungsnetzwerk „PID-ARI-NET Atemwegsinfektionen bei Kindern“, Koordinator Prof. Dr. H.-J. Schmitt, Pädiatrische Infektiologie Kinderklinik, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz (www.pid-ari.net),

- Forschungsnetzwerk „Ausbreitung von nosokomialen Infektionen und von resistenten Infektionserregern (SIR)“, Koordinator Prof. Dr. H. Rüden, Institut für Hygiene der Freien Universität Berlin/Zentralbereich Krankenhaushygiene der Charité, Berlin (www.nrz-hygiene.de/sari/sari.htm),
- Forschungsnetzwerk „Lebensmittelinfektionen in Deutschland“, Koordinatorin Frau Dr. A. Ammon, Robert Koch-Institut, Berlin (<http://www.foodborne-net.de>).

Am Beispiel des Netzwerks „Lebensmittelinfektionen in Deutschland“ soll die Umsetzung der Förderziele exemplarisch dargestellt werden.

Infektionsepidemiologisches Forschungsnetzwerk: Lebensmittel-bedingte Infektionen in Deutschland

Trotz aller Anstrengungen zur Verbesserung der Lebensmittelsicherheit sind Lebensmittel-übertragene Infektionen immer noch ein großes Public-Health-Problem. Demographische Veränderungen (eine immer älter werdende Bevölkerung, mehr immungeschwächte Personen) führen dazu, dass die Zahl der Menschen, die

Übersicht 1

Teilprojekte des Forschungsnetzwerks „Lebensmittelinfektionen in Deutschland“

Teilprojekt 1: Intensivierte Surveillance und Risikofaktoren für bakterielle Lebensmittel-übertragene Infektionen in Deutschland: Erfassung auf Bundesebene

- Projektkomponente 1a: Intensivierte Surveillance von Infektionen durch EHEC und ausgewählte *Salmonella*-Serovare
- Projektkomponente 1b: Fall-Kontroll-Studie zu Risikofaktoren für sporadische EHEC-Erkrankungen
- Projektkomponente 1c: Ausbruchsuntersuchungen zu EHEC-Erkrankungen
- Projektkomponente 1d: Pulsfeld-Gelelektrophorese, deutsches „PulseNet“ für bakterielle Enteritiserreger

Teilprojekt 2: Campylobacter-Infektionen in Deutschland

- Projektkomponente 2a: Erkennung und Untersuchung von Ausbrüchen von Campylobacter-Infektionen
- Projektkomponente 2b: Inzidenz und Verlauf von Campylobacter-Infektionen bei Patienten mit Diarrhö in ländlichen Gemeinden im Vergleich mit einem städtischen Gebiet
- Projektkomponente 2c: Quantitative Risikoschätzung (Quantitative Risk Assessment, QRA) für humane Campylobacter-Infektionen durch den Verzehr von Geflügelfleisch

Teilprojekt 3: Inzidenz von und Risikofaktoren für EHEC-Infektionen auf lokaler/regionaler Ebene

- Projektkomponente 3a: Verlauf von EHEC-Infektionen
- Projektkomponente 3b: Inzidenz von schweren EHEC-Infektionen, die zu Krankenhausaufnahmen führen (nur in erster Förderphase)
- Projektkomponente 3c: „Intensivierte Surveillance von EHEC-Infektionen in Bayern“

Teilprojekt 4: Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)

- EHEC enterohämorrhagische *Escherichia coli*

eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber Lebensmittel-übertragene Infektionen haben, ansteigt. Hinzu kommt, dass veränderte Konsumgewohnheiten, wie z. B. der Wunsch nach möglichst naturbelassenen Lebensmitteln sowie die Tatsache, dass mehr Mahlzeiten außer Haus eingenommen werden, ebenfalls das Potenzial für Lebensmittel-übertragenen Infektionen erhöhen. In den letzten 20 Jahren wurde fast jedes Jahr ein neuer Infektionserreger, der mit Lebensmittel assoziiert ist, entdeckt. Zu den in Deutschland häufigsten Erregern gehören Salmonellen und Campylobacter. Shigatoxin produzierende *E. coli* (STEC) sind besonders wegen der Komplikation durch ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) bedeutsam. Daher beschäftigten sich die modellhaften Teilprojekte des Netzwerks vornehmlich mit diesen 3 Erregern. Ziel war die Entwicklung eines Netzwerks zwischen Epidemiologen, Mikrobiologen, Ärzten und Veterinären im öffentlichen Gesundheitsdienst

(ÖGD), Universitäten sowie Ärzten in privater Praxis zur Überwachung von Erregern Lebensmittel-übertragener Infektionen und zur Durchführung epidemiologischer Untersuchungen dieser Erreger, um gezielte und frühzeitig einsetzende Präventionsmaßnahmen modellhaft entwickeln zu können [2, 3].

➤ **Lebensmittel-übertragene Infektionen sind immer noch ein großes Public-Health-Problem**

■ **Übersicht 1** zeigt die verschiedenen Teilprojekte (TP) und Projektkomponenten (PK) innerhalb der TP. Die Projektpartner (■ **Tabelle 1**) kommen aus Universitäten und Akademischen Lehrkrankenhäusern (3), aus Landesinstituten (3) und Bundesinstituten (3). Es sind Mikrobiologen (4) vertreten, Epidemiologen (2), Kliniker (2) und Veterinäre (1). Aus ■ **Tabelle 1** wird auch erkennbar, dass die

Projekte standortübergreifend bearbeitet wurden. Zusätzlich werden durch ein Datenzentrum die Daten zusammengeführt und über eine Webseite (<http://www.foodborne-net.de>) der Öffentlichkeit zugänglich gemacht.

Teilprojekt 1: Intensivierte Surveillance und Risikofaktoren für bakterielle Lebensmittel-übertragene Infektionen in Deutschland: Erfassung auf Bundesebene

Die durchgeführten Vorhaben sollen, gestützt auf ein bundesweites Laborsentinel, zu einer Verbesserung der flächendeckenden Diagnostik von Shigatoxin produzierenden (enterohämorrhagischen) *Escherichia coli*-Infektionen (STEC/EHEC) führen. Weiterhin sollen die in Deutschland wichtigsten Übertragungswege für sporadische STEC-Infektionen in Deutschland identifiziert und Risikofaktoren für Salmonellen- und STEC-Ausbrüche entdeckt werden. Die Ziele sollen durch mehrere, nachfolgend dargestellte Projektkomponenten realisiert werden.

Projektkomponente 1a: Intensivierte Surveillance von Infektionen durch STEC und ausgewählte *Salmonella*-Serovare

Ein Netzwerk von ca. 50 niedergelassenen Laboratorien arbeitet Stuhlproben von Gastroenteritispatienten, ggf. auch bei anderen Krankheitsbildern wie hämorrhagischer Colitis oder HUS, nach einem einheitlichen Verfahren für die STEC-Diagnostik (Screening auf Shigatoxin-Produktion) auf. Durch zahlreiche Workshops, Laborpraktika, Publikationen (z. B. [4]) wird versucht, eine Standardisierung des Verfahrens zu erreichen. Seit Oktober 2002, als die Post die Versandbedingungen änderte, wird ein starker Rückgang der Probenzahl (nicht nur für STEC) verzeichnet. Dies verdeutlicht die Abhängigkeit der wissenschaftlichen Untersuchungsmöglichkeiten von den äußeren Rahmenbedingungen. Das STEC-Erregerspektrum ist sowohl hinsichtlich der Serovarverteilung als auch im Hinblick auf das Virulenzmuster von großer

biologischer Vielfalt. Den Großteil machen jedoch Serovare wie O₁₅₇:H₇, O₂₆:H₁₁ oder O₁₀₃:H₂ aus. Versuche, aus dieser biologischen Vielfalt die wichtigsten pathogenen Typen herauszustellen, ist Ziel weiterer Untersuchungen [5]. Im Gegensatz dazu ist bei Salmonellen eine klonale Dominanz festzustellen [6].

Am Institut für Hygiene und Umwelt in Hamburg werden Inzidenz und Verteilung von Enteritisinfektionen, die durch STEC und *Salmonella-typhimurium*-Stämme verursacht sind, erfasst. In diesem Projekt werden das Typenspektrum und die Virulenzausrüstung von STEC-Erregern sowohl aus dem Bundesgebiet als auch aus Hamburg sowie *S.-Typhimurium*-Isolate Hamburger Patienten untersucht.

Projektkomponente 1b: Bundesweite Fall-Kontroll-Studie zu Risikofaktoren für sporadische STEC-Erkrankungen

Die Fallpersonen der Studie wurden aus dem Laborsentinel (Projektkomponente 1a) und dem Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg ausgewählt. Die Befragung von Fall- und Kontrollpersonen erfolgte durch die jeweiligen Gesundheitsämter (zu methodischen Details der Studie s. [7]). Die Studienergebnisse lassen folgende Schlüsse zu [8]:

1. Das Risikoprofil für sporadische STEC-Erkrankungen ist vom Alter abhängig: Für Patienten <3 Jahre stehen der direkte Kontakt zu Wiederkäuern und wahrscheinlich Übertragungen von Mensch zu Mensch im Vordergrund. Bei Patienten ab 10 Jahren handelt es sich vor allem um eine Lebensmittel-übertragene Erkrankung.

► Die Risikofaktoren für sporadische STEC-Infektionen variieren mit dem Alter

2. Wiederkäuer (neben Rindern auch kleine Wiederkäuer wie Schafe, Ziegen) sind in Deutschland die primäre Quelle für STEC. Alle identifizierten Lebensmittel, die mit einem erhöhten STEC-Erkrankungsrisiko assoziiert waren, stammen von Wiederkäuern.

Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 2005 · 48:1005–1012
DOI 10.1007/s00103-005-1121-7
© Springer Medizin Verlag 2005

A. Ammon

Die infektionsepidemiologischen Forschungsnetzwerke – Brücke zwischen Forschung und Gesundheitswesen. Das Beispiel des Netzwerks für Lebensmittel-übertragene Infektionen

Zusammenfassung

Als Antwort auf die nach wie vor häufigen Lebensmittel-übertragenen Infektionen wurde in Deutschland ein neuer Ansatz entwickelt, der durch die Kombination von epidemiologischen, mikrobiologischen und klinischen Daten gekennzeichnet ist. Ein interdisziplinäres Netzwerk von Wissenschaftlern auf nationaler, regionaler und lokaler Ebene führte Surveillance- und epidemiologische Forschungsprojekte zu Lebensmittel-übertragenen Erregern (Shigatoxin produzierende *Escherichia coli* (STEC), Salmonellen und *Campylobacter*) durch. Die Zielstellungen des Netzwerks beinhalten: 1) Bestimmung der Inzidenz und Verteilung von STEC und Salmonellen in Deutschland, 2) Bewertung der Bedeutung einer Ty-

pisierung für *Campylobacter*-Stämme, 3) Ermittlung von Risikofaktoren für sporadische STEC-Infektionen, 4) Entwicklung eines Systems zur Entdeckung diffuser Ausbrüche, einschließlich einer Referenzdatenbank für PFGE-Muster, 5) Untersuchung von Risikofaktoren für Ausbrüche, 6) Durchführung einer quantitativen Risikoabschätzung für den Verzehr von frischem Hühnerfleisch, 7) Bestimmung der Langzeitfolgen nach einer HUS-Erkrankung.

Schlüsselwörter

Lebensmittel-übertragene Infektionen · Netzwerk · STEC · Salmonellen · *Campylobacter* · Fall-Kontroll-Studie · HUS · Risikoabschätzung

The interdisciplinary epidemiological network on foodborne pathogens. A bridge between science and public health service. The example of the network for foodborne infections

Abstract

In order to respond to emerging foodborne diseases, a new data-driven approach guided by epidemiologic and microbiologic data has been developed in Germany. An interdisciplinary network of scientists at the national, regional and local levels conducted surveillance and epidemiologic research of foodborne pathogens (Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), *Salmonella* and *Campylobacter*). The objectives of the network include (1) determining incidence and distribution of STEC and *Salmonella*, (2) assessing the importance of typing systems for *Campylobacter*, (3) determining risk fac-

tors for sporadic STEC infections, (4) developing a system for detection of disperse outbreaks, including a national reference library of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns, (5) examining risk factors for outbreaks, (6) carrying out a quantitative microbiological risk assessment for consumption of fresh chicken and (7) determining long-term sequelae of HUS patients.

Keywords

Foodborne infections · Network · STEC · *Salmonella* · *Campylobacter* · Case-control study · HUS · Risk assessment

Tabelle 1

Teilnehmende Institutionen, Projektstandorte, Projektleiter und Beteiligung an den verschiedenen Projektkomponenten des Forschungsnetzwerks „Lebensmittelinfektionen in Deutschland“

Standort	Projektleiter	Teilprojekte
Berlin	Dr. Andrea Ammon	Gesamt-Koordination
	Abteilung für Infektionsepidemiologie Robert Koch-Institut Berlin	1 B 2 A (2. Phase) 2 C (2. Phase)
	Dr. Edda Bartelt	2 A (2. Phase) 2 C (2. Phase)
Berlin	Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)	2 C (2. Phase)
Bremen	Prof. Dr. Hans-Iko Huppertz	3 A
	Prof.-Hess-Kinderklinik, Zentralkrankenhaus St.-Jürgen-Straße	3 B (1. Phase)
Freiburg	Prof. Dr. Lothar Bernd Zimmerhackl Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Innsbruck	4
Hamburg	Prof. Dr. Jochen Bockemühl	1 A
	Abt. Mikrobiologischer Verbraucherschutz Institut für Hygiene und Umwelt Hamburg	2 A (2. Phase) 2 B (2. Phase) 2 C (2. Phase)
	Dr. Matthias Pulz	1 D (2. Phase)
	Niedersächsisches Landesgesundheitsamt	3 A (2. Phase)
Münster	Prof. Dr. Helge Karch	1 D
	Institut für Hygiene des Universitätsklinikums Münster	2 B (2. Phase) 3 A 3 B (1. Phase) 4
	PD Dr. Manfred Wildner	2 A (2. Phase)
	Bayerisches Landesamt für Gesundheits- und Lebensmittelsicherheit	2 C (2. Phase) 3 C
Wernigerode	Prof. Dr. Helmut Tschäpe	1 A
	NRZ für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger, Robert Koch-Institut, Wernigerode	1 D 3 C

NRZ Nationales Referenzzentrum, 1. Phase Projekte, die nur in der ersten Förderphase bearbeitet wurden. 2. Phase Projekte, die nur in der zweiten Förderphase bearbeitet wurden.

3. Die Mehrzahl der von Patienten in Deutschland isolierten STEC zählt zu den non-O157-Serogruppen, STEC O157 ist mit blutigem Durchfall assoziiert [9], und ein Drittel der isolierten STEC ist *eae*-negativ.

In Bayern wurde die Fall-Kontroll-Studie nach der gleichen Methodik so durchgeführt (Projektkomponente 3c), dass für das Bundesland eine getrennte Analyse möglich wurde [10]. Die Ergebnisse zeigen auch hier ein altersabhängiges

Risikoprofil, d. h., die Präventionsempfehlungen konnten für beide Studien gemeinsam formuliert werden [11]. Diese beiden Studien verdeutlichen, dass vom oder mit dem öffentlichen Gesundheitsdienst durchgeführte Fall-Kontroll-Studien wertvolle Informationen über die Infektionswege bei sporadischen Erkrankungen liefern können, die auf anderem Weg nur schwer zu erhalten sind. Diese Erkenntnisse sind für gezielte Präventionsstrategien unerlässlich und gewinnen an

Bedeutung, wenn man den hohen Anteil sporadisch erkrankter Personen an der Gesamtheit der gemeldeten Erkrankungen betrachtet.

Im Rahmen dieses Projektes traten viele grundlegende datenschutzrechtliche Probleme der infektionsepidemiologischen Forschung in Deutschland hervor, die zu einem verzögerten Beginn der Studie führten. Die bislang gesammelten Erfahrungen und die über die Arbeitsgruppe Datenschutz und Datensicherheit der Telematikplattform für Medizinische Forschungsnetze (TMF) angestrebten allgemein gültigen Lösungsansätze können künftigen infektionsepidemiologischen Studien in Deutschland einen datenschutzrechtlich gangbaren Weg weisen.

Projektkomponente 1c: Erkennung und Untersuchung von überregionalen Ausbrüchen (STEC und Salmonellen)

Durch eine verbesserte Surveillance [Infektionsschutzgesetz (IfSG) und molekulare Subtypisierung] werden zunehmend überregionale Ausbrüche erkannt. Meist liegt als Ursache ein überregional vertriebenes Lebensmittel zugrunde. In der Projektkomponente 1c wurde versucht, Algorithmen für die Datenbank des NRZ zur Erkennung von Häufungen zu entwickeln. Auch in Bezug auf die IfSG-Daten werden solche Algorithmen eingesetzt und weiterentwickelt. Essenziell für die Erkennung überregionaler Ausbrüche ist aber auch die Kommunikation der Netzwerkpartner. Von den entdeckten (und untersuchten) Ausbrüchen sollen im Folgenden nur einige exemplarisch erwähnt werden.

Im April 2000 wurde im NRZ durch die Anwendung der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) bei dort eingegangenen O26-Isolaten ein Ausbruch von *E. coli* O26:H11 entdeckt [12]. Die nicht unterscheidbaren PFGE-Muster stellten bei der Diversität der O26-Stämme in Deutschland [13] eine Besonderheit dar, die zur Untersuchung des Ausbruchs führte. Bei 2 Ausbrüchen mit Sorbitol fermentierenden *E. coli* O157:H- im März/April 2002 (10 HUS-Fälle) [14] und im Oktober–Dezember 2002 (38 HUS-Fälle) [15] war der Informationsaustausch mit den zuständi-

gen Gesundheitsbehörden ebenso wichtig, wie mit den mikrobiologischen Partnern (Institut für Hygiene, Münster; NRZ in Wernigerode) und den klinischen Partnern (Universitätskinderklinik Freiburg) für die Entdeckung und Definition des Ausbruchs. Die Ausbrüche zeigten zum wiederholten Male, dass dieser STEC-Stamm sehr virulent ist [16]. In beiden Ausbrüchen war leider keine Infektionsquelle zu ermitteln. Von den 9 untersuchten Salmonellenhäufungen soll der Ausbruch durch *S. Oranienburg* erwähnt werden, der durch die Kontamination deutscher Schokolade verursacht worden ist. Er betraf von Oktober – Dezember 2001 mindestens 415 Personen in Deutschland und involvierte 7 europäische Länder sowie Kanada [17].

Projektkomponente 1d: Molekulare Erregercharakterisierung durch Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)

Um die Vergleichbarkeit von Fingerprints aus verschiedenen Laboratorien zu unterschiedlichen Zeiten zu erreichen, wurde von den Centers for Disease Control and Prevention (CDC) auf der Grundlage eines standardisierten Protokolls das sog. PulseNet ins Leben gerufen. Ursprünglich wurde angenommen, dass durch die analoge Errichtung des PulseNet-Systems und die Schaffung eines deutschen Satelliten relativ schnell mit dem Aufbau einer Fingerprinting-Datenbank hätte begonnen werden können. Es mussten aber folgende Probleme gelöst werden:

- Das Protokoll war, insbesondere was die Laufbedingungen betraf, nicht so universell anwendbar wie erhofft (z. B. gab es zahlreiche Stämme mit sehr hoher DNase-Aktivität, die keine PFGE-Muster nach der CDC-Methode ergaben),
- die anfallenden Datenmengen ließen sich mit dem von den CDC verwendeten Softwareprogramm nicht bewältigen,
- eine Verknüpfung der PFGE-Daten mit anderen Daten der Datenbank war nicht gegeben, auch konnten keine neu eingegebenen PFGE-Muster mit schon vorhandenen Mustern ab-

geglichen werden, d. h., die Übernahme in bzw. die Verknüpfung der Fingerprints mit der Datenbank war nicht möglich.

Nach der Etablierung eines Standardverfahrens zur Generierung von PFGE-Fingerprints (standardisiertes Protokoll zur Herstellung der genomischen Muster, der elektronischen Verarbeitung und Speicherung der Fingerprints sowie ubiquitäre Anwendbarkeit), die zahlreiche Vorarbeiten erfordert, können jetzt PFGE-Fingerprintmuster im Sinn eines Netzwerkes in verschiedenen Laboratorien generiert und in einer zentralen Datenbank hinterlegt werden [18, 19, 20]. In dieser liegen mehr als 1000 PFGE-Fingerprintmuster vor, die für die wichtigsten STEC-Serogruppen O157, O26, O103 generiert wurden.

Das PFGE-Netzwerk sieht in Anlehnung an das PulseNet der CDC vor, dass PFGE-Daten an mehreren Stellen erhoben und an einer zentralen Stelle, dem NRZ in Wernigerode, zusammengeführt werden. Neben dem NRZ in Wernigerode beteiligen sich das Institut für Hygiene des Universitätsklinikums Münster (UKM) sowie das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) an dem PFGE-Netzwerk.

Teilprojekt 2: Campylobacter-Infektionen in Deutschland

Das Teilprojekt 2 wurde vor dem Hintergrund entwickelt, dass *Campylobacter* als Erreger der Enteritis infectiosa ubiquitär vorkommen und durch Lebensmittel, insbesondere Hühnerfleisch, übertragen werden können. Die *Campylobacter*-Inzidenz in Deutschland wird anhand der Meldezahlen unterschätzt, es fehlen populationsbezogene Daten. Wichtige Folgeerkrankungen sind die reaktive Arthritis und das Guillain-Barré-Syndrom.

Projektkomponente 2a: Erkennung und Untersuchung von Ausbrüchen von *Campylobacter*-Infektionen

Durch die genetische Variabilität des Erregers wird die Subtypisierung erschwert. Die bisherigen Verfahren zur Serotypisie-

rung waren sehr zeitaufwändig und teuer. Wie die Studie bei Nationalen Referenzzentren in Europa zeigte [21], werden in den Ländern der EU verschiedene Verfahren zur Genotypisierung angewandt, diese sind jedoch nicht standardisiert. Folglich sind die Ergebnisse über die Ländergrenzen (bei länderübergreifenden Ausbrüchen) nicht vergleichbar. Auch die Erkennung diffuser Ausbrüche ist damit praktisch nicht möglich. Daher sollte in diesem Projektteil eine in der Routine einsetzbare Methode erarbeitet werden. Die vorgesehene Etablierung der Serotypie zur Typisierung von *Campylobacter*-Stämmen ließ sich nicht realisieren. Stattdessen wurden in einem Vergleich *flaA*- und *flaB*-Sequenzierung, MLST (multilocus sequence typing) und PFGE einander gegenübergestellt [22]. Die *flaB*-Sequenzierung erwies sich dabei als die Methode, die am besten zwischen Zusammengehörigkeit oder Nicht-Zusammengehörigkeit der einzelnen Isolate diskriminierte. Die Methode muss jetzt noch hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der Routine validiert werden.

► In Deutschland fehlen gegenwärtig populationsbezogene Daten zur *Campylobacter*-Inzidenz

Campylobacter-Isolate von erkrankten Personen aus dem Stadtstaat Hamburg sowie aus 3 geographisch zusammenhängenden Landkreisen in Südbayern wurden im Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg, typisiert. Im Sinn einer Studie zur laborgestützten Identifikation von Lebensmittel-übertragenen Erregern im niedergelassenen Bereich sollen alle *Campylobacter jejuni/coli*-Stämme des Einzugsbereiches des Hygiene Instituts Hamburg (dies entspricht praktisch dem gesamten Hamburger Stadtgebiet) einbezogen und mikrobiologisch charakterisiert werden. Die Stämme werden mithilfe der *flaB*-Sequenzierung untersucht, um Ausbrüche erkennen und eine Untersuchung zur Ermittlung der Infektionsquelle einleiten zu können. Die in dieser Studie geschaffenen Strukturen der Zusammenarbeit zwischen Gesundheitsamt, Untersuchungsamt und teilweise Arztpraxen (Projektkomponente 2b) sollten Vorgehenswei-

sen ermöglichen, die die Aufklärungsrate und damit eine gezielte Bekämpfung der Infektionen beim Menschen verbessern.

Projektkomponente 2b: Inzidenz und Verlauf von Campylobacter-Infektionen bei Patienten mit Diarrhö in ländlichen Gemeinden im Vergleich mit einem städtischen Gebiet

In dieser Projektkomponente werden in einem Netzwerk mit niedergelassenen Ärzten die Stadt-Land-Unterschiede der Campylobacter-Inzidenz bei Patienten mit Durchfall untersucht. Im Rahmen der ersten Förderphase wurde ein lokales Netzwerk mit 42 niedergelassenen Ärzten (Allgemeinmediziner, Internisten und Kinderärzte) in 4 ländlichen niedersächsischen Gemeinden und der Bremer Innenstadt zur Untersuchung der STEC-Inzidenz in Gemeinden mit hohem Rinderbestand bzw. mit wenig oder ohne Rinderhaltung aufgebaut. Die teilnehmenden Ärzte schicken von allen Patienten mit Durchfall eine Stuhlprobe an das Studienlabor am Institut für Hygiene des UKM. Damit kann die Inzidenz von bestimmten Durchfallerkrankungen bei Patienten bestimmt werden, die mit Diarrhö einen Arzt aufsuchen. Innerhalb dieses Netzwerks wurde die Untersuchung auf Campylobacter (und auf andere, auch virale Erreger) zusätzlich durchgeführt. Die Typisierung dieser Campylobacter-Stämme erfolgte im Institut für Hygiene des UKM, die virologischen und parasitologischen Untersuchungen im Institut für Hygiene und Umwelt, Hamburg. Durch den engen persönlichen Kontakt innerhalb des Netzwerks wird der Informationsfluss zwischen Patient, niedergelassenem Arzt, Labor und Klinik optimiert. Durch Fortbildungsveranstaltungen für die niedergelassenen Ärzte werden diese für das Erkennen von Komplikationen der jeweiligen Infektionskrankheiten geschult, außerdem wird die Motivation durch das Zugehörigkeitsgefühl zum Netzwerk gefördert. Der Kontakt zum öffentlichen Gesundheitsdienst erfolgt innerhalb des Netzwerkes zwischen Labor und Gesundheitsamt, zwischen Gesundheitsamt und niedergelassenem Arzt, zwischen Projektkoordinator und Gesundheitsamt.

Projektkomponente 2c: Quantitative Risikoabschätzung (Quantitative Risk Assessment, QRA) für humane Campylobacter- Infektionen durch den Verzehr von Geflügelfleisch

Ziel des Vorhabens ist es, das Campylobacterioserisiko des Menschen durch den Verzehr von bzw. den Umgang mit Geflügelfleisch abzuschätzen. Zudem sollen die Prozessschritte (bzw. Modellparameter) analysiert werden, die Einfluss auf das menschliche, geflügelfleischassoziierte Campylobacterioserisiko haben. Hierzu wird erstmalig in Deutschland das international empfohlene Verfahren der quantitativen Risikoabschätzung (QRA) angewendet. Dieses untergliedert sich wie folgt: (1) Zusammentragen aller für das QRA erforderlichen Daten aus Deutschland und deren Bewertung auf Validität und Zuverlässigkeit sowie Festlegung der für das Gesundheitsrisiko entscheidenden Einflussgrößen (Modellparameter), (2) Erstellen von Verteilungsfunktionen für jeden zu modellierenden Parameter und der Simulationsmodelle, (3) Simulation des Erkrankungsrisikos und Ermittlung der Risikodeterminanten. Es werden Risikoreduktionsstrategien simuliert um aufzuzeigen, an welcher Stelle der Infektionskette Interventionen den größten Effekt auf das menschliche Erkrankungsrisiko besitzen. Somit können Risikomanagement-Maßnahmen zur Verminderung des Campylobacter-Eintrags in die Lebensmittelkette abgeleitet werden. Ein wichtiger Baustein der Risikoabschätzung ist die Modellierung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung, da dadurch die Krankheitswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Erregerkonzentration im Lebensmittel bestimmt wird [23]. Mit diesem Projekt werden die Voraussetzungen geschaffen, um zukünftig auch Risikoabschätzungen für andere Erreger-Lebensmittel-Kombinationen durchführen zu können.

Teilprojekt 3: Inzidenz von und Risikofaktoren für STEC-Infektionen auf lokaler/regionaler Ebene

Projektkomponente 3a: Verlauf von STEC-Infektionen

Die in dieser Projektkomponente geplanten Untersuchungen zielen auf die Fra-

ge, wie häufig STEC-Infektionen durch mehrere gleichzeitig vorliegende Erregerstämme hervorgerufen werden und in welchem Umfang sich während einer Infektion neue Stämme durch die Übertragung von Toxingenen auf *E.-coli*-Stämme der Darmflora mittels Bakteriophagen herausbilden. Von ca. 300 STEC-positiven Stuhlkulturen sollen jeweils 50–100 STEC-Einzelkolonien im NLGA charakterisiert werden. Bei Vorliegen unterschiedlicher STEC-Serotypen wird die Gesamt-DNA dieser Stämme durch molekularbiologische Techniken feintypisiert. Bei genetischer Identität sowohl der Toxingene als auch der im STEC-Genom angrenzenden Bakteriophagen-DNA wäre eine Übertragung der Toxingene durch Bakteriophagen als gesichert anzusehen. Diese Untersuchungen tragen zum Verständnis der Mechanismen bei, die zur Übertragung der Toxingene führen. Die Ergebnisse zielen primär auf grundlegende Fragestellungen zur Pathogenese von STEC-Infektionen. Sie können jedoch auch Auswirkungen auf künftige Strategien der STEC-Diagnostik haben und praktische Erkenntnisse im Hinblick auf die Wiederzulassung von infizierten Kindergartenkindern liefern.

Projektkomponente 3b: Inzidenz schwerer STEC-Infektionen, die zu Krankenhausaufnahmen führen (nur erste Förderphase)

Da Kindesalter und schwerer Durchfall durch STEC wichtige Risikofaktoren für ein HUS sind, sollte die STEC-Inzidenz bei hospitalisierten Kindern mit Durchfall untersucht werden. Die Inzidenz in dieser Population gibt einen Hinweis auf die Krankheitslast mit schweren Verläufen. Außerdem wurden STEC in einer früheren Studie in Süddeutschland als die zweithäufigsten bakteriellen Enteritiserreger bei hospitalisierten Kindern mit Diarrhö beschrieben [24]. An diesem Projekt nahmen alle 3 Bremer Kinderkrankenhäuser teil. Es wurden Stuhlproben aller in den Jahren 2000 und 2001 hospitalisierten Kinder mit Diarrhö und mit erstem Wohnsitz in Bremen mithilfe des PCR-Verfahrens auf STEC untersucht [25]. Im Untersuchungszeitraum ist in

jedem Jahr eine STEC-Erkrankung aufgetreten. Damit war die STEC-Inzidenz bei hospitalisierten Kindern in Bremen bei Kindern <16 Jahren wesentlich niedriger als in der methodisch vergleichbaren Würzburger Studie von 1994. Ob es sich um regionale Unterschiede, um einen echten Rückgang der STEC-Infektionen oder um eine Verschiebung einzelner STEC-Serovare hin zu virulenten Stämmen handelt, lässt sich nicht sicher sagen. Dies müsste in weiteren epidemiologischen Studien geklärt werden.

Projektkomponente 3c: Intensivierte Surveillance von STEC-Infektionen in Bayern

Zum Projektteil „Fall-Kontroll-Studie für sporadische STEC-Erkrankungen in Bayern“ siehe Ausführungen zur Projektkomponente 1 b. Zusätzlich wurden in diesem Projektteil 2 Studien zum Vorkommen von STEC im Trinkwasser und in Badege- wässern sowie zum Vorkommen in Kläran- lagen durchgeführt. Ziel des begleitenden systematischen Trinkwasser- und Badege- wässer-Monitorings war die Darstellung der STEC-Prävalenz in Wasser. Sowohl die mikrobiologische Basisuntersuchung der Trinkwasserproben als auch der Badege- wässerproben erfolgte nach den jeweiligen rechtlichen Vorgaben (Trinkwasserverord- nung [26], EG-Richtlinie [27]). Die STEC- Isolate wurden genotypisch und phänoty- pisch im Bayerischen Landesamt für Ge- sundheit und Lebensmittelsicherheit cha- rakterisiert (die Serotypisierung erfolgte im NRZ). Die bisherigen Ergebnisse weisen da- rauf hin, dass auch hierzulande Trink- und Oberflächenwasser als mögliche Übertra- gungsvehikel für EHEC von epidemiologi- scher Bedeutung sein können.

► Auch in Deutschland könnten Trink- und Oberflächengewässer als mögliche Eintragsquelle für EHEC von Bedeutung sein

Um die Rolle der Kläranlagen als mög- liche Eintragsquelle differenziert dar- stellen zu können, werden Daten zur STEC-Kontamination von Kläranlagen- zu- und -ausläufen benötigt. Damit lässt sich zum einen abschätzen, wie häufig STEC in Kläranlagen eingebracht wer-

den, zum anderen, wie effizient die Eli- minierung dieser Keime in den Kläranla- gen gelingt. Die zu untersuchenden Klär- anlagen wurden nach folgenden Kriteri- en ausgewählt:

- Kläranlagen in ländlichen versus städtischen Regionen,
- Kläranlagen mit 2- versus 3-stufigem Reinigungsverfahren.

Die Klärung der Frage, inwieweit Abwas- sereinträge als Ursache für eine Verunrei- nigung von Gewässern mit STEC verant- wortlich zu machen sind, hat unter Um- ständen erhebliche wirtschaftliche bzw. praktische Konsequenzen für den Erhalt bzw. die Wiederherstellung der Badege- wässerqualität.

Projektkomponente 4: Surveillance des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS)

Seit Mai 1999 werden im Rahmen des BMBF-Vorhabens an der Universitäts- Kinderklinik Freiburg HUS-Erkrankun- gen evaluiert. Ziel der Untersuchungen ist die Aufdeckung besonderer Risikoko- stellationen im Akutverlauf sowie die Er- kennung von Prädiktoren für Langzeit- komplikationen beim STEC-assoziierten HUS. Die Surveillance der Akuter- krankungen wurde bis Ende 2002 weiter- geführt. Da insbesondere die Spätfolgen eines HUS für die Morbidität von Bedeu- tung sind, erfolgen seit 2003 nur noch Langzeitbeobachtungen. Aus den 19 ko- operierenden nephrologischen Zentren in Deutschland und Österreich wurden Patienten fortlaufend mittels Fragebogen bzw. telefonisch gemeldet. Bei Aufnahme in die Klinik werden klinische Daten und epidemiologische Informationen erfasst. Bei Entlassung werden klinische Daten, Laborparameter im Verlauf, durchgeführ- te Therapiemaßnahmen sowie die mikro- biologischen Ergebnisse registriert. Da auch noch viele Jahre nach der akuten Krankheitsphase HUS-Spätfolgen auftre- ten können, sollen möglichst alle Patien- ten im Rahmen der Nachsorgeprogram- me untersucht werden. Das enteropathi- sche HUS betrifft vor allem Kinder unter 5 Jahren, dabei ist der am häufigsten ge- fundene Erreger *E. coli* O157. Allerdings

weisen Kinder unter 3 Jahren häufiger non-O157-STECS auf [28, 29].

Von allen Patienten wurden Stuhl- und Serumproben am Institut für Hygiene des UKM untersucht. Die phänotypische Cha- rakterisierung der von Patienten mit HUS und Durchfallerkrankungen isolierten STEC-Stämme umfasste die Bestimmung des Serovars und des Hämolysetyps sowie den Nachweis der Expression der Shigato- xine (Stx) in Kulturüberständen (Verzell- test). Bei der Genotypisierung wurde eine Feintypisierung der phagenkodierten *stx*- Gene und plasmidkodierten Gene durch- geführt. Des Weiteren wurde das Vorhan- densein von Genen der Pathogenitätsinsel LEE überprüft und das P-Profil bestimmt sowie eine PFGE durchgeführt. Insbeson- dere wurde von allen STEC-Isolaten eine Subdifferenzierung der *stx*-Determinan- ten in *stx1*, *stx2*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e* und *stx2f* durchgeführt. STEC mit *stx2* sind als Risi- kofaktor für die Progression einer STEC- Infektion zu HUS bekannt [30, 31]. Die *stx2*-Varianten unterscheiden sich jedoch im Hinblick auf den Zusammenhang mit HUS [32]: Nur *stx2c* war mit HUS asso- ziiert, allerdings in einem wesentlich ge- ringeren Ausmaß als *stx2*. Die Varianten *stx2d* und *stx2e* wurden gar nicht bei HUS- Patienten gefunden.

Fazit

Einige der vorgestellten Projekte haben für die bearbeiteten Erreger modellhaft Vorgehensweisen entwickelt, die auf andere Lebensmittel-übertragene Erreger transferiert werden können (z. B. Labor- sentinel, Fall-Kontroll-Studie, QRA, Netz- werk mit niedergelassenen Ärzten). Es wurden auch im Rahmen von Modellpro- jekten Verfahren entwickelt, die jetzt auf Praxistauglichkeit und die Anwendung in größerem Umfang getestet werden können (z. B. *flaB*-Sequenzierung). Über- einstimmend haben die Partner des Netz- werks vereinbart, dieses auch nach Ablauf der Förderung zu erhalten.

Korrespondierender Autor

Dr. A. Ammon

Abteilung für Infektionsepidemiologie,
Robert Koch-Institut,
Postfach 650261, 13302 Berlin
E-Mail: AmmonA@rki.de

Hinweis und Danksagung

Das dargestellte Vorhaben wurde von 1999–2002 unter den Förderkennzeichen 01KI9901–01KI9905, 01KI9915 und von 2002–2005 unter den Förderkennzeichen 01KI0202–01KI0209 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert. Ein herzlicher Dank der Koordinatorin geht an alle Partner im Netzwerk, die in den letzten 6 Jahren auch über die Förderung hinaus zum Gelingen des Netzwerks beigetragen haben.

Literatur

1. Bekanntmachung des Bundesministeriums für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie, Richtlinien über die Förderung der Infektionsepidemiologischen Forschung durch Forschungsnetzwerke vom 8.12.1997. Bundesanzeiger
2. Werber D, Ammon A (2000) Development of a research network for emerging foodborne pathogens in Germany. *Euro Surveill* 5:120–123
3. Ammon A, Schmidt K, Bräunig J (2000) Lebensmittelinfektionen in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 43:751–757
4. Fruth A, Richter H, Timm M et al. (2000) Empfehlungen zur Diagnostik der enterohämorrhagischen *Escherichia coli*-Bakterien (EHEC) – Stufenplan für klinische und epidemiologische Zwecke. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 43:310–317
5. Fruth A, Prager R, Friedrich A et al. (2002) EHEC infections in humans in the Federal Republic of Germany, 1998–2001. Prevalence and types of pathogens. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 45:715–721
6. Tschäpe H, Liesegang A, Gericke B (1999) The up and down of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in Germany. In: Saeed AM (ed) *S. enterica* serovar enteritidis in humans and animals. Iowa State Univ. Press. /Ames, Purdue Univ. Press, pp 51–61
7. RKI (2001) Risikofaktoren für sporadische EHEC-bedingte Erkrankungen: Deutschlandweite Fall-Kontroll-Studie läuft an. *Epidemiol Bull* 13:91–92
8. RKI (2004) Risikofaktoren für sporadische STEC (EHEC) Erkrankungen – Ergebnisse einer bundesweiten Fall-Kontroll-Studie. *Epidemiol Bull* 50:433–436
9. Werber D, Fruth A, Heissenhuber A et al. (2004) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 more frequently cause bloody diarrhea than do non-O157 strains. *J Infect Dis* 189:1335–1336
10. RKI (2004) Risikofaktoren für sporadische STEC-Infektionen in Bayern. *Epidemiol Bull* 50:436–439
11. RKI (2005) Risikofaktoren für sporadische STEC-Erkrankungen: Empfehlungen für die Prävention. *Epidemiol Bull* 1:1–3
12. Werber W, Fruth A, Liesegang A et al. (2002) A multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 infections in Germany, detected by molecular subtyping surveillance. *J Infect Dis* 186:419–422
13. Zhang WL, Bielaszewska M, Liesegang A et al. (2000) Molecular characteristics and epidemiological significance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26 strains. *J Clin Microbiol* 38:2134–2140
14. Ammon A, Zucs P, Haas C, Feil F (2002) Increase in cases of sorbitol-fermenting *E. coli* O157:H- in several German states. *Eurosurveill Weekly* 6 (17)
15. RKI (2003) Ein HUS-Ausbruch durch Sorbitol-fermentierende EHEC des Serovars O157:H-: Untersuchungsergebnisse und Lehren für die Surveillance. *Epidemiol Bull* 20:171–175
16. Karch H, Bielaszewska M (2001) Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H- strains: epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis. *J Clin Microbiol* 39:2043–2049
17. Werber D, Dreesman J, Feil F et al. (2005) International outbreak of *Salmonella* Oranienburg due to German chocolate. *BMC Infect Dis* 5:7
18. Liesegang A, Sachse U, Prager R et al. (2000) Clonal diversity of shigatoxinogenic *E. coli* O157:H7/H- in Germany – a ten years study. *Int J Med Microbiol* 290:269–278
19. Prager R, Liesegang A, Voigt W et al. (2002) Clonal diversity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O103:H2/H- in Germany. *Infection Genetics Evolution* 1:265–275
20. Liesegang A, Davos D, Balzer JC et al. (2002) Phage typing and PFGE pattern analysis as tools for epidemiological surveillance of *Salmonella enterica* serovar Bovismorbificans infections. *Epidemiol Infect* 128:119–130
21. Takkinen J, Ammon A, Robstad O, Breuer T (2003) European survey on *Campylobacter* surveillance and diagnosis, 2001. *Euro Surveill* 8:207–213
22. Mellmann A, Mosters J, Bartelt E et al. (2004) Sequence-based typing of *flaB* is a more stable screening tool than typing of *flaA* for monitoring of *Campylobacter* populations. *J Clin Microbiol* 42:4840–4842
23. Stellbrink E, Dahms S (2004) Dosis-Wirkungsmodelle und ihre Implikationen im Rahmen einer quantitativen Risikoabschätzung für *Campylobacter*-Infektionen. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 117:207–213
24. Huppertz HI, Busch D, Schmidt H et al. (1996) Diarrhea in young children associated with *Escherichia coli* non-O157 organisms that produce Shiga-like toxin. *J Pediatr* 128:341–346
25. Staschen B, Friedrich A, Schroder M et al. (2004) Incidence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) in hospitalized children with diarrhea in northern Germany. *Monatsschr Kinderh* 152:1077–1083
26. Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung-TrinkwV) (1990) *BGBl* I:2613–2629
27. EG-Richtlinie: Richtlinie des Rates über die Qualität der Badegewässer vom 8.12.1975: (76/160/EWG) *Amtsbl. EG Nr. L 31/1–7* vom 5.2.1976
28. Zimmerhackl LB, Verweyen H, Gerber A et al. (2002) Das hämolytisch-urämische Syndrom. *Dtsch Arztebl* 99:196–203
29. Gerber A, Karch H, Allerberger F et al. (2002) Clinical course and the role of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in hemolytic-uremic syndrome 1997–2000 in pediatric patients in Germany and Austria: A prospective study. *J Infect Dis* 186:493–500
30. Werber D, Fruth A, Buchholz U et al. (2003) 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* 22:726–730
31. Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F et al. (1999) Association between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol* 37:497–503
32. Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL et al. (2002) *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: Frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis* 185:74–84