

Gliederung des Vortrags

1. *Escherichia coli*

Taxonomie, Vorkommen, Nachweis

2. Zoonoseerreger STEC

Reservoir, Prevalenz, Übertragung, Pathogenese

3. Pathogenitätsfaktoren

Shigatoxin, Locus of Enterocyte Effacement

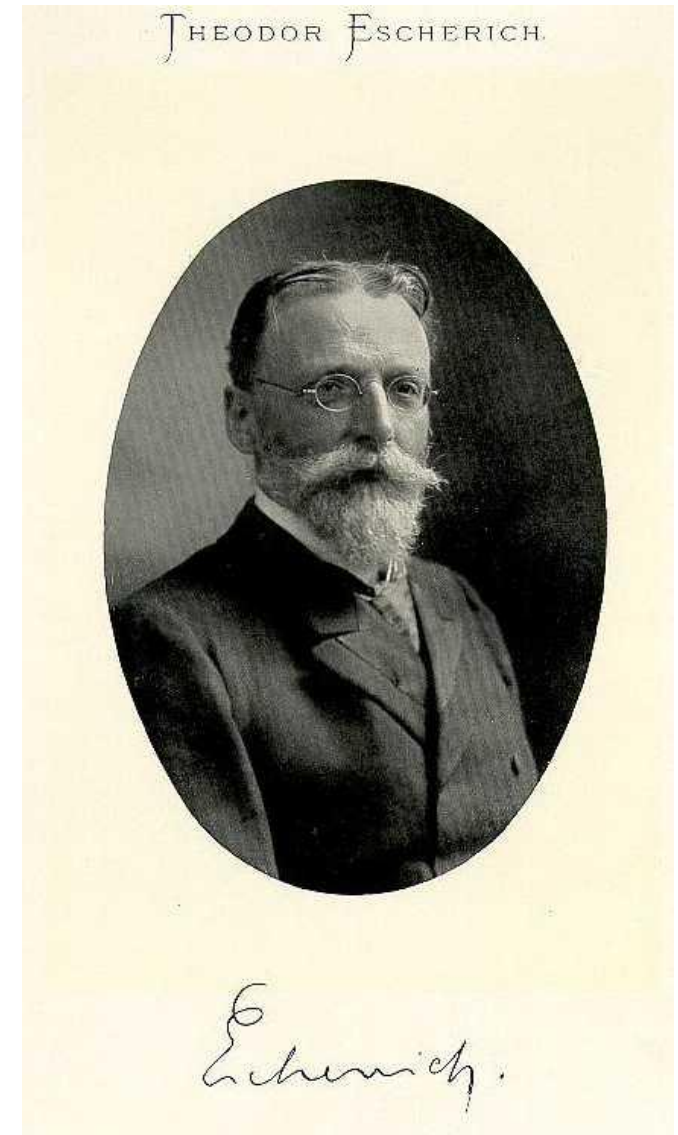
4. Ausblick

Herausforderungen, One Health

Taxonomie

- Familie *Enterobacteriaceae*
- Gram negatives Bakterium
- Stäbchenförmig (ca. 1 μm x 2 μm)
- Peritrich begeißelt
- Fakultativ anaerob
- Mesophil (Optimum 37°C)
- Weitere Differenzierung in Serotypen anhand von Oberflächen- und Geißelantigenen (O:H)
- Teilweise Kapselbildung

Erstbeschreibung als „bacterium coli commune“
durch den Kinderarzt Theodor Escherich 1885
Ihm zu Ehren 1919 in *Escherichia coli* umbenannt



Vorkommen und Eigenschaften

- **Natürliches Habitat: Dickdarm von Warmblütern einschl. Mensch, Vögel**
- **Begleitmikrobiota im Darm (Keimzahlen von 10^4 - 10^9 KbE/g Fäzes)**
- **Fakultativ pathogen**
- **Indikatororganismus für fäkale Verunreinigung**
- **Die meisten Stämme von *E. coli* verstoffwechseln Laktose**

DGHM Richt- und Warnwerte:

E. coli verschiedene Lebensmittel (Bsp.: gemischtes Hackfleisch, verzehrfertige Mischsalate u.a.)

Richtwert: 1×10^1 KbE/g; Warnwert 1×10^2 KbE/g

Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch
(**Trinkwasserverordnung 2001**).

Allgemeine Anforderungen an **Trinkwasser: kein *E. coli* in 100 ml**

Wichtige *E. coli* Pathotypen

1. Intestinale-/ Durchfallerkrankungen

- Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)
- Enteropathogene *E. coli* (EPEC)
- Enterotoxische *E. coli* (ETEC)
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- Enteroaggregative *E. coli* (EAEC)

2. Harnwegsinfektionen

Uropathogene *E. coli* (UPEC)

3. Sepsis/ Meningitis

Neonatale Meningitisverursachende *E. coli* (NMEC)

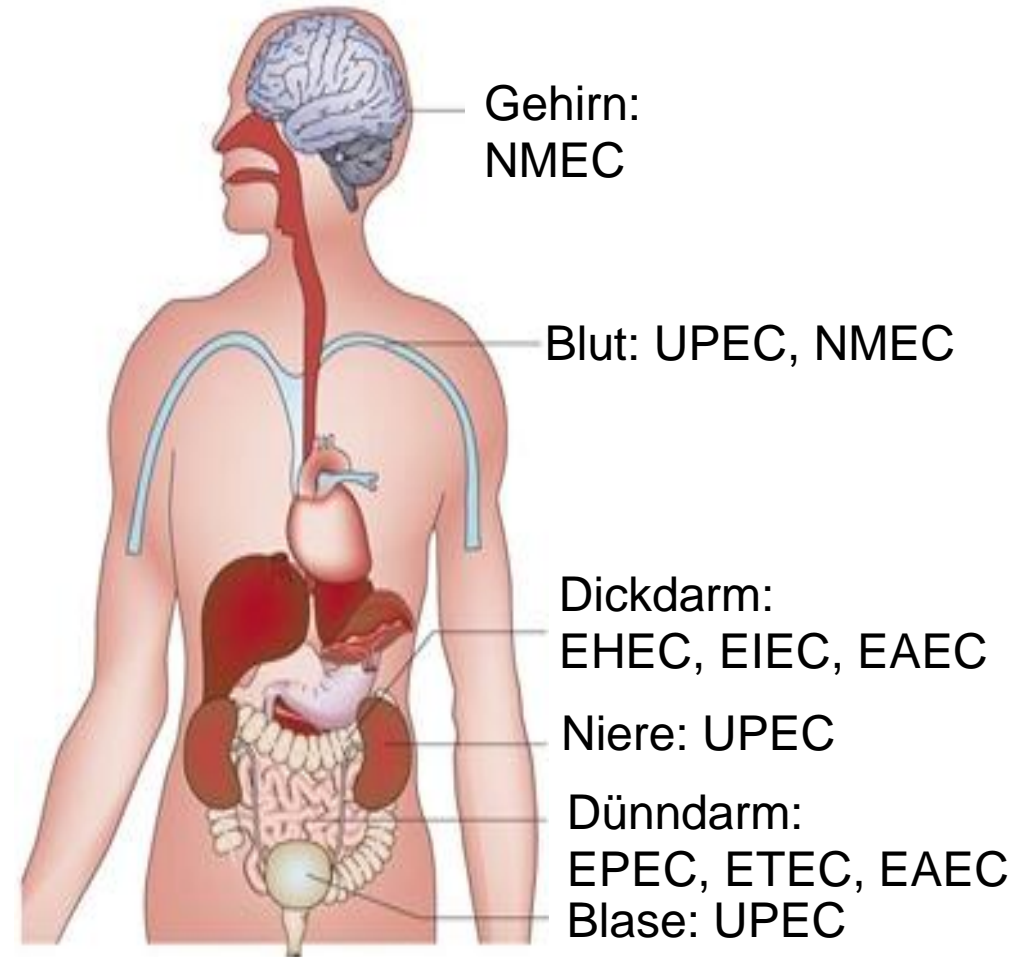


Abb. Kolonisierungsstellen pathogener *E. coli*

Croxen & Finlay 2010, Nature reviews (modifiziert)

Mikrobiologischer Nachweis von *E. coli*

IMViC-Test (++--)

- Indolbildung aus Tryptophan
- Positiver Methylrottest durch gemischte Säuregärung
- Negativer Voges-Proskauer-Test zum Nachweis von Acetoin
- Keine Citratverwertung



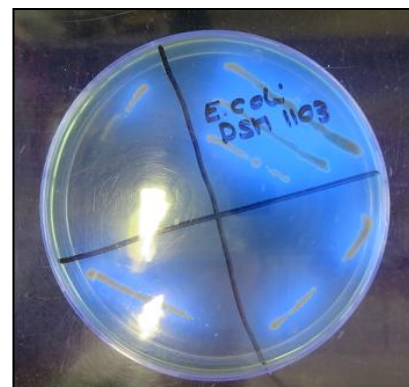
Indolnachweis

Laktose- und Sorbitverstoffwechslung

MUG-Spaltung (β -D-Glucuronidase Aktivität)



(Sorbit) MacConkey Agar



Fluorocult Agar



Simmons Citrat Agar

Zoonoseerreger: Shigatoxin-bildende *E. coli* (STEC)

Definition Zoonosen:

Krankheiten und Infektionen, die direkt oder indirekt zwischen Tieren und Menschen übertragen werden können

(Richtlinie 2003/99/EG: Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern)

- **Diverse Gruppe von *E. coli* (> 500 Serotypen); gemeinsames Merkmal Shigatoxinproduktion**
- **Reservoir: Wiederkäuer und Wildwiederkäuer**
 - **z.B. Mastkälber ca. 25 % positive Kotproben**
 - **Schaf ca. 30 %**
 - **Wildwiederkäuer z.B. Rehwild ca. 20%**
- **In Deutschland: ca. 2% der Rindfleischproben, ca. 16% Fleisch von Wildwiederkäuern positiv für STEC (Zoonosen-Monitoring)**

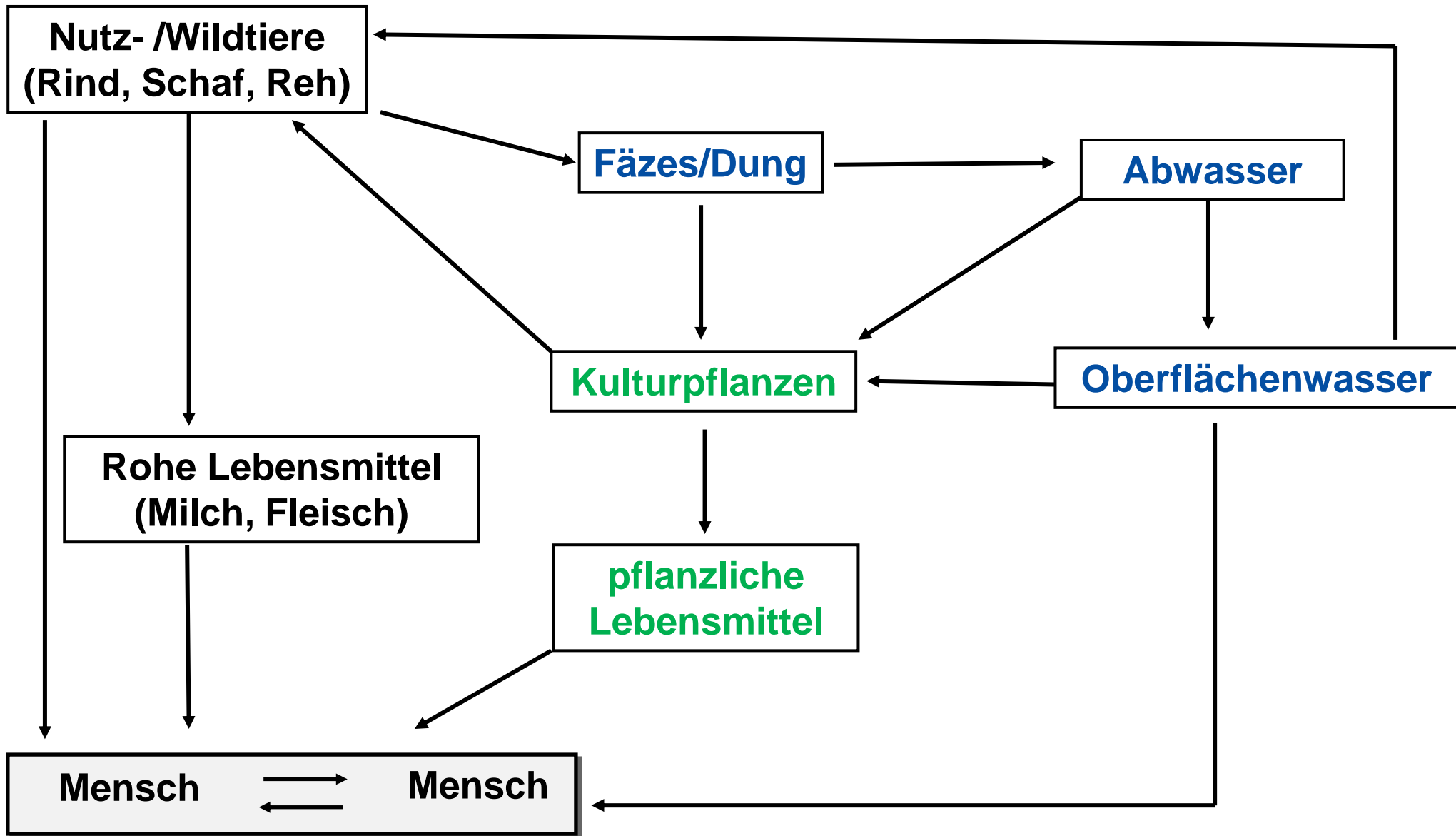
Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)

- **STEC, die fähig sind beim Menschen Krankheitserscheinungen auszulösen**
- **Infektionsdosis < 100 Keime**
- **Symptome:**
 - **Hämorrhagische Colitis (Diarrhö, blutige Diarrhö)**
 - **Hämolytisch uremisches Syndrome (HUS)**
- **Kinder und ältere Personen mit erhöhtem Risiko**
- **Meist sporadische Infektionen**

Historischer Überblick

- 1977** Konowalchuk *et al.* beschreiben Verotoxin in *E. coli*
- 1982** Ausbruch mit hämorrhagischer Kolitis durch O157:H7
(Hamburger disease)
- 1983** O157:H7 Stamm EDL933 produziert Verotoxin (O'Brien *et al.*)
- 1983** Verotoxin 1 vergleichbar mit Shigatoxin von *Shigella dysenteriae*
- 1983** Shigatoxin Ursache für HUS (Karmali *et al.*)
- 1987** EHEC= Stx + pO157 + A/E Läsionen
- 1995** Pathogenitätsinsel „Locus of Enterocyte Effacement“ (McDaniel *et al.*)
- 1996** Sakai City Ausbruch mit 12.680 Erkrankten (Serotyp O157:H7)
- 2011** Ausbruch EHEC/EAEC Serotyp O104:H4
- 2012** Einheitliche Shigatoxin-Nomenklatur (Scheutz *et al.*)

Übertragungswege



Überlebensfähigkeit von O157:H7

- **Hauptübertragungswege durch kontaminiertes und nicht ausreichend gegartes Rindfleisch und Rohmilch**
- **In Rindern 10^2 bis 10^8 KbE/g Fäzes beschrieben**
- **Ausscheidung in Einzelfällen bis zu 67 Tage**
- **In Trinkwasser Überleben von mehr als 300 Tagen beschrieben**
- **In Dung bis zu 21 Monate nachweisbar**
- **In Versuchen mit Rohwürsten waren Keime bis zum Ende der Mindesthaltbarkeitsdauer nachweisbar**



Nachweis und Identifizierung

- **O157:H7 und > 500 andere STEC Serotypen**
- **Selektive Anreicherung: modifizierte Trypton-Soja-Bouillon + Novobiocin**
- **Selektivität durch Gallensalz, Antibiotika, Temperatur, pH**
- **Biochemisch Besonderheiten: Sorbit fermentierend, Telluritresistenz, β -D-Glucuronidase (MUG-Spaltung), Enterohämolysin**
- **Problem: Kein Nährmedium für alle STEC**
- **Ziel der Diagnostik Shigatoxine oder kodierende Gene**
- **Verozell-Assay**
- **ELISA (enzyme-linked immunsorbent assay)**
- **Weiter Möglichkeiten der Identifizierung: PCR, real-time PCR**

Enterohämolysin



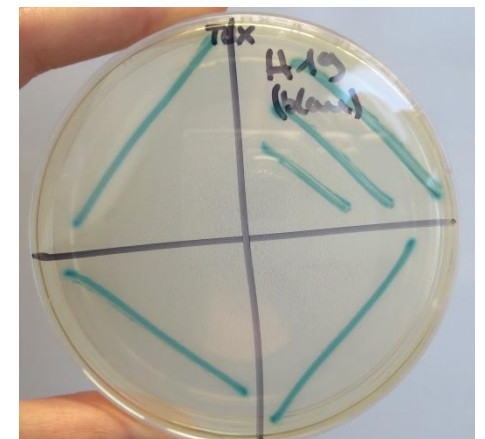
Das Nationale Referenzlabor für *Escherichia coli* (NRL-E.coli)

Verordnung (EG) Nr. 882/2004 über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmung über Tiergesundheit und Tierschutz

-> Lebensmittel und Futtermittel sollen sicher und bekömmlich sein

Arbeitsschwerpunkte:

- Wahrnehmung der Aufgaben im Rahmen der Zoonosen Richtlinie 2003/99/EG
- serologische Differenzierung
- Aufklärung von Infektketten
- molekularbiologische Feintypisierung
- Durchführung laborübergreifender Studien
- Weiterentwicklung und Standardisierung von immunologischen und molekularbiologischen Verfahren
- Beratung

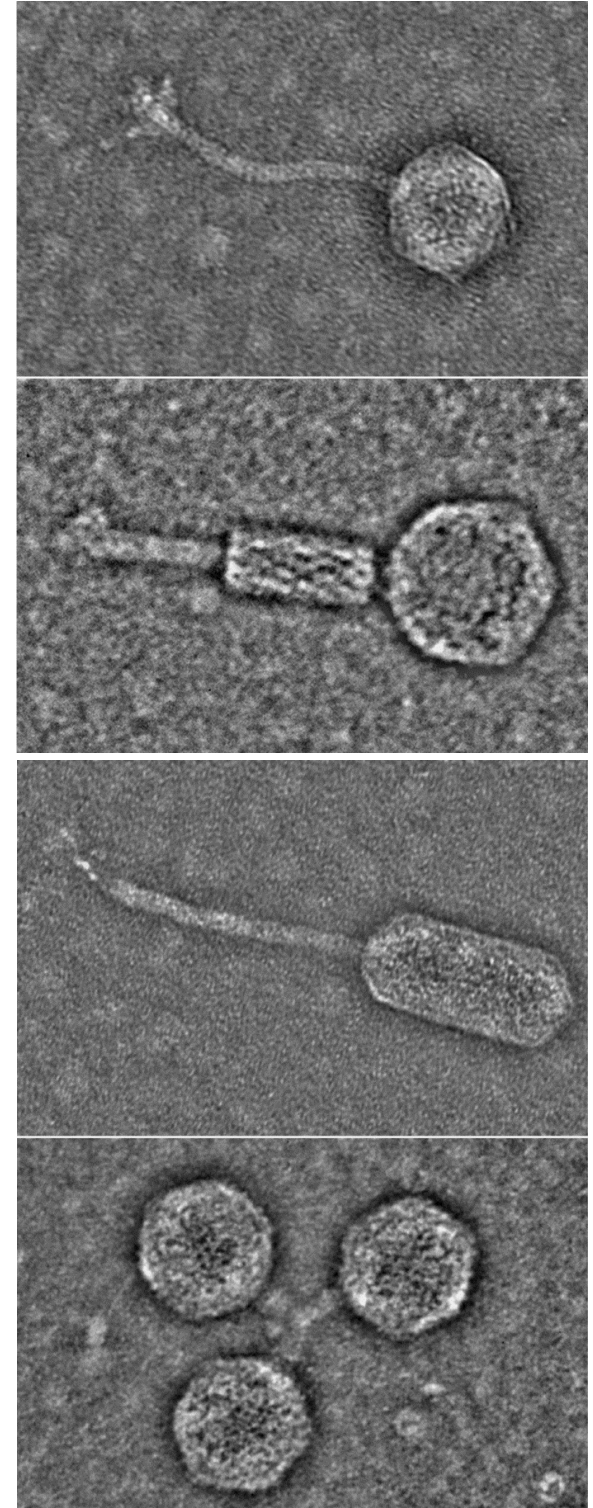
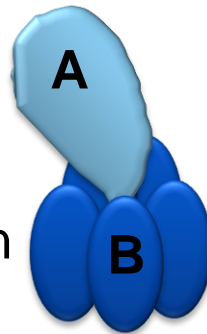


Das Shigatoxin (Stx)

- **stx Gene sind phagenkodiert**
- **Zwei Varianten beschrieben: Stx1 und Stx2**
(ca. 55% Aminosäurehomologie)
- **Mehrere Subtypen mit unterschiedlicher Toxizität**
- **Rezeptor: Globotriaosylceramid (Gb₃)**
- **AB₅ Toxin**

Enzymatisch Aktive A-Untereinheit

Rezeptor-bindende B-Untereinheiten



J. Reetz, BfR

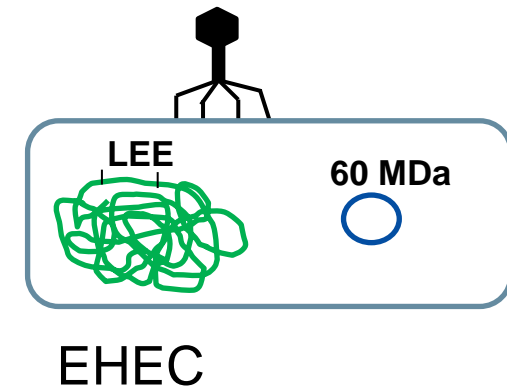
Shigatoxin als Pathogenitätsfaktor

- **Stx wird im Kolon produziert und durch Phagenlyse freigesetzt**
- **Durch lokale Zerstörung im Kolon kommt es u.a. zu blutiger Diarrhoe**
- **Stx gelangt über den Blutkreislauf zu den Nieren**
- **Rezeptor GB₃ u.a. auf Nierenendothelzellen**
- **Aktivierung des Stx in der Zelle => Spaltung ribosomaler RNA => Stopp der Proteinbiosynthese => Tod der Epithel- oder Endothelzelle**
- **Kombination aus direkter Toxizität und Induktion der lokalen Cytokin- und Chemokin-Produktion führt zu Entzündungen der Niere**
- **Komplikationen: Hämolytisch uremisches Syndrom (HUS)**
=> Nierenversagen

Weitere wichtige Pathogenitätsfaktoren

Pathogenitätsinsel „Locus of Enterocyte Effacement“

- Typ III Sekretionssystem („molekulare Spritze“)
- Effektorproteine (Modulation des Wirtsmetabolismus)



Bsp.: Translozierter Intimin Rezeptor (Tir)

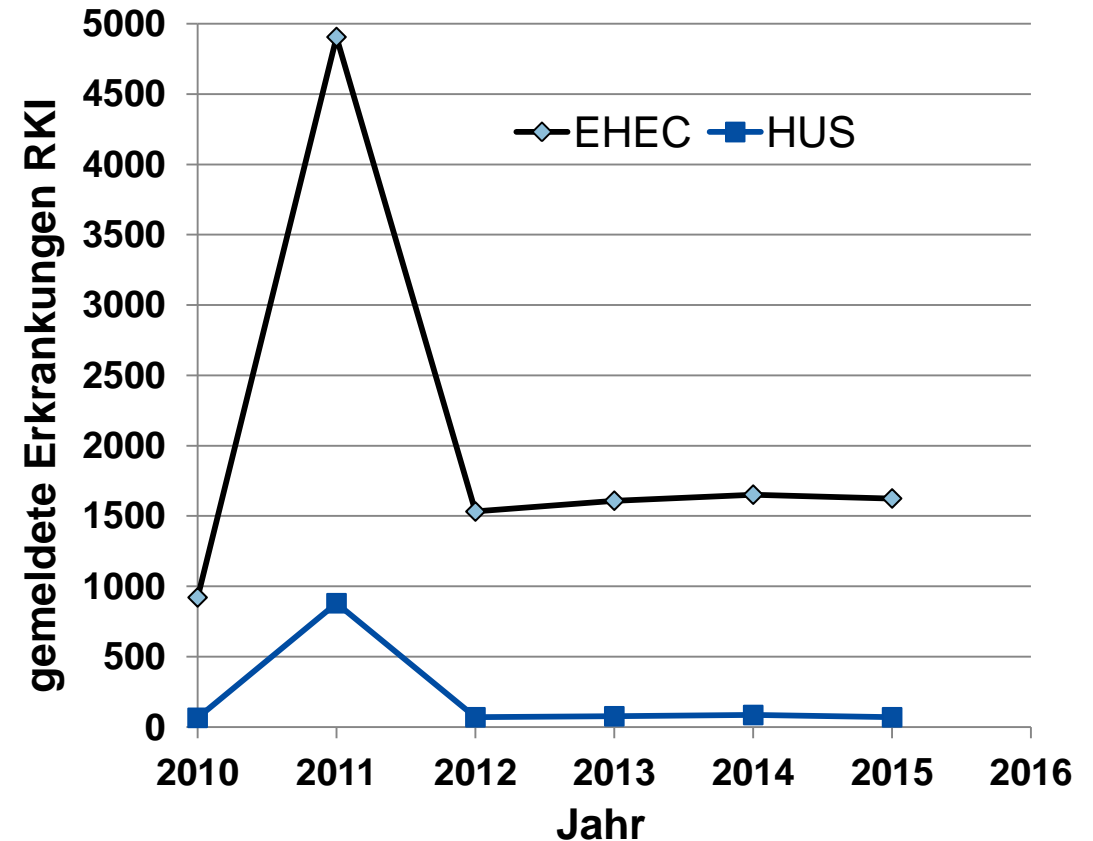
Inseriert in Wirtszellmembran und fungiert als Rezeptor für das Intimin (*eae*)

Bindung des Bakteriums an Darmepithelzelle, Ausbildung von Aktinpodesten, Zerstörung des Bürstensaums („attaching and effacing“ AE-Läsionen)

Genauere Kombination der Virulenzgene, die für eine STEC Infektion beim Menschen notwendig ist, konnte bisher nicht geklärt werden

Epidemiologie

- **> 90% der bekannten Humaninfektionen werden durch weniger als 10 Serogruppen verursacht**
- **Top 5 Serogruppen: O157, O26, O103, O111, O145 (und O104:H4)**



Unterschiede zwischen Lebensmittel- und Humanisolaten (Werber *et al.* 2008)

Human: O157, O103, O26, O91, O145, O111

Lebensmittel: ONT, O8, O91, O113, (O115, O174, O146)

Gemeldete Erkrankungen 2015: EHEC 1625, HUS 69

Quelle: RKI, Epidemiologisches Bulletin 03/2011, 03/2012, 03/2013, 03/2014, 03/2015, 03/2016

EHEC/EAEC O104:H4 Ausbruch Mai – Juli 2011

Wichtigste Eigenschaften des Ausbruchsstamms: Hybrid EHEC/EAEC ► „EAHEC“

- *stx2a* (Shigatoxin 2) positiv
- enteroaggregativ (AAF/II Fimbriencluster)
- *eae* (Intimin)-negativ
- und *ehly* (Enterohämolysin)-negativ

► aggregative Adhärenz (AA) beinhaltet effektive und langanhaltende Kolonisierung des Menschen

► Stx2a-Produktion in Kombination mit effektiver und langanhaltender Kolonisierung des Darms mitverantwortlich für hohe Virulenz

An das RKI berichtete EHEC/ HUS Fälle	2.987 EHEC 855 HUS
An das RKI berichtete Todesfälle durch EHEC/ HUS	18 EHEC 35 HUS

Quelle: RKI, „Abschließende Darstellung und Bewertung der epidemiologischen Erkenntnisse im EHEC O104:H4 Ausbruch Deutschland 2011“

Herausforderung veränderte Essgewohnheiten bzw. Angebote

Beispiele



Rohmilchautomat

How do you want your burger?

Rare
Cool red center

Medium Rare
Warm red center

Medium
Warm pink center

Medium well
Warm with little pink

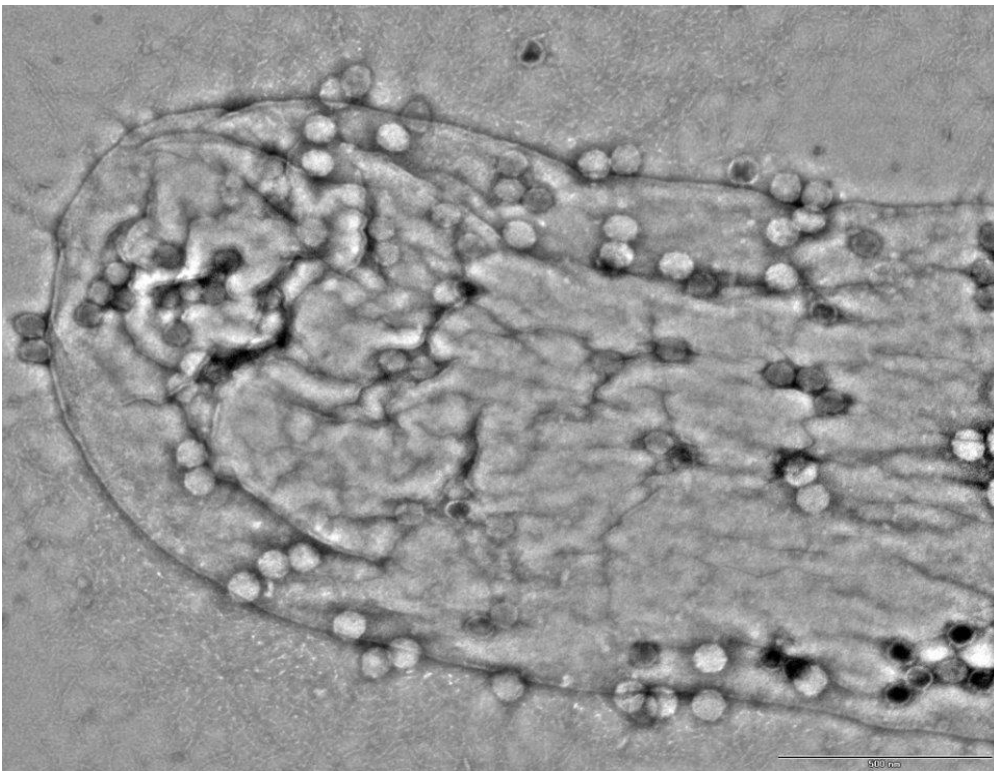
Well done
Warm with no pink

Weitere Herausforderungen

Genomplastizität von *E. coli* => hochvirulente Klone

STEC vs. EHEC

Antibiotikaresistenzen Bsp.: Colistinresistenz



J. Reetz, BfR

Infektion von *E. coli* mit Bakteriophagen

Ausblick „One Health“

Antrag Zoonose-Verbund “*Genom-i-Surv*”

“National Genomic Real-time Integrated Surveillance, Risk Potential Assessment, and Source Attribution of Food-borne and Emerging Zoonotic Bacteria”

Hypothese: Nur durch **integrierte Echtzeit-Surveillance zoonotischer Infektionserreger** kann eine solide Vorbereitung zur Vermeidung, Nachweis und Management eines noch nie da gewesenen Lebensmittel-assoziierten Ausbruchs, wie den des EHEC O104:H4 im Jahre 2011, erreicht werden.

Projektpartner:

Public Health: Robert Koch-Institut, Landeszentrum Gesundheit NRW

Lebensmittelsicherheit: Bundesinstitut für Risikobewertung

Veterinärmedizin: Friedrich-Loeffler-Institut

Humanmedizin: Medizinische Hochschule Hannover, Forschungszentrum Borstel, Universitätsklinikum Münster

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Elisabeth Hauser

Bundesinstitut für Risikobewertung

Max-Dohrn-Str. 8-10 • 10589 Berlin

Tel. 030 - 184 12 - 0 • Fax 030 - 184 12 - 47 41

bfr@bfr.bund.de • www.bfr.bund.de

Literatur/ Quellen

- **Pathogene Mikroorganismen: *Escherichia coli* – Eigenschaften, Vorkommen und Präventionsmaßnahmen.** Bülte M., Goll M. Behr's Verlag. 2. Auflage 2014. ISBN 978-3-95468-154-9.
- ***Escherichia coli* – Virulence mechanisms of a versatile pathogen.** Edited by Donnenberg M.S. Academic Press 2002. ISBN 0-12-220751-3.
- **http://www.bvl.bund.de/DE/01_Lebensmittel/01_Aufgaben/02_AmtlicheLebensmittelueberwachung/06_ZoonosenMonitoring/Im_zoonosen_monitoring_no_de.html**
- **Kaper, J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2, 123-140.**
- **Kaper, J.B. and O'Brien, A.D. (2014) Overview and Historical Perspectives. *Microbiol Spectr* 2.**