

Nationale Referenzzentrale für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin-bildender *E. coli*

Jahresbericht 2010

Österreichische Agentur für
Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES)
Institut für medizinische Mikrobiologie und
Hygiene Graz
Beethovenstr. 6
A-8010 Wien
Tel. 050555 NS 61211, 61201
E-Mail: humanmed.graz@ages.at oder sabine.schlager@ages.at

Ansprechpersonen:
Dr. Sabine Schlager
Dr. Christian Kornschöber

Zusammenfassung

Im Jahr 2010 wurden in der Referenzzentrale insgesamt 730 Proben untersucht, davon 456 humane Proben, 36 Lebensmittelproben, fünf Veterinärproben und 145 Isolate aus dem Nationalen Zoonosemonitoring 2010. Der Rest setzt sich aus Proben von Ringversuchen und Referenzstämmen zusammen. Aus den 36 Lebensmittelproben konnten 30 Isolate gewonnen werden. Alle fünf Veterinärproben waren negativ. In den 456 humanen Proben wurden insgesamt 88 Verotoxin bildende Isolate verifiziert. Es handelte sich um 31 humane VTEC und 57 humane EHEC (= *eae*-positive VTEC). Das Verhältnis von humanen EHEC O157 (11 Isolate) zu VTEC/EHEC non-O157 (77 Isolate) unterschied sich von den Vorjahren (z.B. 2009: 30 EHEC O157 versus 63 VTEC/EHEC non-O157). Es ist eine deutliche Verschiebung in Richtung non-O157 feststellbar. EHEC O26 war 2010 mit 16 Stämmen der am häufigsten vorkommende Serotyp in Österreich und erstmals häufiger als EHEC O157. Es traten elf Fälle von hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) als postinfektiöse Komplikation auf. Für das Kindesalter (0-14 Jahre) errechnet sich für 2010 eine Inzidenz von 0,53 HUS-Fällen per 100.000 Kinder. Es gab im Jahr 2010 acht kleinere Familienausbrüche und einen bundesländerübergreifenden, lebensmittelbedingten Krankheitsausbruch bedingt durch VTEC O174:H2 mit sieben Beteiligten.

Summary

In 2010, 730 samples were investigated at the National Reference Centre for *Escherichia coli* including verotoxin producing *E. coli*. 456 human, 36 food and five veterinary samples and 145 isolates from the "National Zoonosis Monitoring Program 2010" were analyzed. From the 36 food samples 30 isolates were gained. All veterinary samples tested negative. From the human samples 88 verotoxin producing isolates could be confirmed, including

31 verotoxin producing *E. coli* (VTEC) and 57 enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC = VTEC plus *eae*-gene). The ratio of human EHEC O157 (11 isolates) to VTEC/EHEC non O157 (77 isolates) differed from that of previous years (e.g. in 2009: 30 EHEC O157 versus 63 VTEC/EHEC non O157). A clear shift towards VTEC/EHEC non O157 can be seen. In 2010 EHEC O26 was confirmed in 16 cases, and for the first time it was more prevalent than serotype O157. Eleven cases of hemolytic uremic syndrome (HUS) were diagnosed as post infectious complication. The incidence of HUS in children (< 14 years) due to VTEC/EHEC was 0.53 HUS cases per 100.000 children in 2010. There were eight smaller family outbreaks and one province-crossing foodborne outbreak, with seven cases due to VTEC O174:H2.

Einleitung

Escherichia coli (*E. coli*) ist zum größten Teil apathogen und kommt physiologischerweise im Darm vor. Es treten jedoch auch pathogene Isolate auf. Diese unterteilt man in extraintestinale *E. coli* (ExPEC) und darmpathogene *E. coli*. Zur letztgenannten Gruppe zählt man unter anderen **enteropathogene *E. coli* (EPEC)** - früher auch als Dyspepsiecoli bezeichnet -, die zu den häufigsten Verursachern bakterieller Durchfallerkrankungen bei Kleinkindern gehören, **enteroinvasive *E. coli* (EIEC)**, **enterotoxische *E. coli* (ETEC)** und **Verotoxin-bildende *E. coli* (VTEC)**. ETEC stellen die häufigste Ursache für Reisediarrhö („Montezumas Rache“) dar.

VTEC sind durch ihre Fähigkeit zur Bildung von Vero-/Shigatoxinen gekennzeichnet. Anhand ihrer unterschiedlichen Oberflächenantigene werden VTEC in verschiedene Serovare eingeteilt. Als bedeutendstes Serovar gilt *E. coli* O157:H7. Die Ausdrücke VTEC und **Shigatoxin bildende *E. coli* (STEC)** werden als Synonyme verwendet. Historisch werden diejenigen VTEC als **enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)** bezeichnet, die aufgrund zusätzlicher Pathogenitätsfaktoren (z.B. Intimin) in der Lage sind, schwere Erkrankungen hervorzurufen. Die Infektion beginnt mit wässrigen Durchfällen, die zum Teil von starker Übelkeit, Erbrechen und Bauchschmerzen begleitet sein können. Die Krankheit ist meist selbstlimitierend und dauert im Durchschnitt acht bis zehn Tage. Bei 10-20 % der PatientInnen entwickelt sich eine hämorrhagische Kolitis mit blutigem Stuhl und teilweise Fieber. Bei 5-15 % der Erkrankten, besonders bei Kleinkindern, kann es Tage nach Beginn der Durchfallerkrankung zu einer charakteristischen Folgeerkrankung kommen, dem **hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)**. Dabei binden die Vero-/Shigatoxine an spezielle Rezeptoren der Zellwände (hauptsächlich des Nierenendothels) und schädigen diese. Die kleinen Blutkapillaren werden zerstört, und in weiterer Folge kann es zu Nierenversagen, Blutarmut, verminderter Anzahl an Blutplättchen, Hautblutungen und neurologischen Veränderungen kommen.

Ergebnisse

Im Jahr 2010 wurden in der Referenzzentrale insgesamt 730 Proben untersucht, davon 456 humane Proben (Stühle, Stuhlanreicherungen, Serum, Blut, Harn, Isolate), 36 Lebensmittelproben, fünf Veterinärproben und 145 Isolate aus dem Nationalen Zoonosemonitoring 2010. Der Rest setzte sich aus Proben von Ringversuchen und

Referenzstämmen zusammen. Aus den 36 Lebensmittelproben konnten 30 Isolate gewonnen werden. Alle fünf Veterinärproben waren negativ.

Von den **Lebensmittelisolaten** kamen sechs Serotypen auch bei Humanproben vor: Ein nicht Verotoxin-bildender *E.coli* O157:HNM wurde aus faschiertem Rindfleisch (W) und ein EPEC O157:HNM aus einer Rehkeule (St) isoliert. Zwei EHEC O26:HNM wurden aus Hirschwurst (St) bzw. Wildwurst (St) und ein O174:HNT aus Rindfleischknochen (W) isoliert. Weiters konnten je ein VTEC O116:HNM (Rohwürste, T), VTEC O23:H rough (Hirschfleisch, T) und ein VTEC O27:HNT (OÖ) isoliert werden. Alle Proben kamen aus Routineuntersuchungen und zeigten entweder nicht exakt den gleichen Pathotyp, oder keinen zeitlichen oder örtlichen Zusammenhang mit Isolaten aus Humanfällen.

Auch im **Zoonosemonitoring 2010** konnten einige humanrelevante Serotypen detektiert werden:

- 1 x EHEC O157:HNM (Rind)
- 1 x EHEC O157:H7 (Rind)
- 1 x EHEC O103:H2 (Rind),
- 1 x EHEC O103:HNT (Rind)
- 3 x VTEC O116:HNM (Rind)
- 1 x VTEC 128abc:HNT (Kalb)
- 1 x VTEC O177:HNM (Rind)
- 6 x VTEC O76:H19/HNM/HNT (Schaf)
- 20 x VTEC O5:HNM (Schaf)

Alle zoonotischen VTEC O76 waren Enterohämolysin-positiv, während das PatientInnenisolat Enterohämolysin-negativ war. Die zwanzig VTEC O5:HNM aus Schafen besaßen nicht das Gen für Intimin, wohingegen alle drei PatientInnenisolate Intimin-positive EHEC waren. Diese 35 Isolate aus dem Zoonosemonitoring zeigten entweder nicht exakt den gleichen Pathotyp, oder keinen zeitlichen oder örtlichen Zusammenhang mit Isolaten aus Humanfällen.

In den 456 **humanen Proben** wurden insgesamt 88 Verotoxin-bildende Isolate identifiziert.

Bei einem/r PatientIn wurden drei verschiedene VTEC isoliert:

- Von E476-10 und E533-10: E476-1-10: VTEC ONT:H1
- E533-1-10: VTEC ONT:H30
- E533-2-10: VTEC O43:H2

Bei vier PatientInnen wurden je zwei verschiedene VTEC/EHEC isoliert:

- Von E096-10: E096-1-10: EHEC O80:H20
- E096-2-10: EHEC O2:H20
- Von E251-10: E251-1-10: VTEC O174:H2
- E251-2-10: VTEC O6:HNT
- Von E325-10: E325-1-10: EHEC O111:HNM E-hly positiv
- E325-2-10: EHEC O111:HNM E-hly negativ
- Von E504-10: E504-1-10: VTEC O27:H30
- E504-2-10: VTEC O43:H2

Von einem/r PatientIn wurde ein EHEC O103:H2 und ein entsprechender EPEC O103:H2 isoliert. Bei diesem EPEC handelt es sich um einen sogenannten „lost shigatoxin EHEC“ (LST-EHEC), der das Shiga(Vero)toxin-tragende Phagengenom verloren hat.

Die 88 Verotoxin-bildenden Isolate verteilten sich auf 31 humane VTEC und 57 humane EHEC (=VTEC plus dem, für das Intimin kodierenden, *eae*-Gen). Das Verhältnis von humanen EHEC O157 (elf Isolate) zu VTEC/EHEC non-O157 (77 Isolate) unterschied sich von den Vorjahren (z.B. 2009: 30 EHEC O157 - davon 23 isoliert und sieben serologisch verifiziert - zu 63 VTEC/EHEC non-O157). Es ist eine deutliche Verschiebung in Richtung non-O157 feststellbar. EHEC O26 war 2010 mit 16 Stämmen der am häufigsten vorkommende Serotyp in Österreich und erstmals häufiger als EHEC O157 (siehe Abb. 1. und Abb. 2.).

Die monatliche Verteilung an VTEC/EHEC-Erkrankungen zeigte erwartungsgemäß, wie in den Vorjahren, eine Häufung an Fällen in den Sommermonaten bis hinein in den späten Herbst. Die Altersverteilung zeigte, ebenfalls wie in den Jahren zuvor, einen Häufigkeitsgipfel in der Altersgruppe von 0-4 Jahren (48 Kleinkinder): 66 der 88 humanen Stämme wurden von Kindern (<14 Jahre) isoliert.

Die Zahl der VTEC/EHEC-Fälle in den verschiedenen Bundesländern variierte beträchtlich. Tirol meldete, wie schon im Vorjahr, signifikant mehr VTEC/EHEC-Fälle als die anderen Bundesländer (siehe Abb. 3.). Der Grund dafür dürfte in einem seit 2004 in Tirol eingeführten VTEC/EHEC-Screeningprogramm liegen. Diese Beobachtungen weisen auf eine „Unterdiagnostik“ von VTEC/EHEC in den anderen Bundesländern hin.

Abbildung 1: Verteilung der am Nationalen Referenzzentrum für enterohämorrhagische *Escherichia coli*, Innsbruck (2002-2009) und in der Nationalen Referenzzentrale für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin bildender *E. coli*, Graz (2010) verifizierten Verotoxin-bildenden *E. coli* (EHEC O157, EHEC non-O157 und VTEC (*eae* negativ)) aus humanen Proben, Österreich 2002-2010.

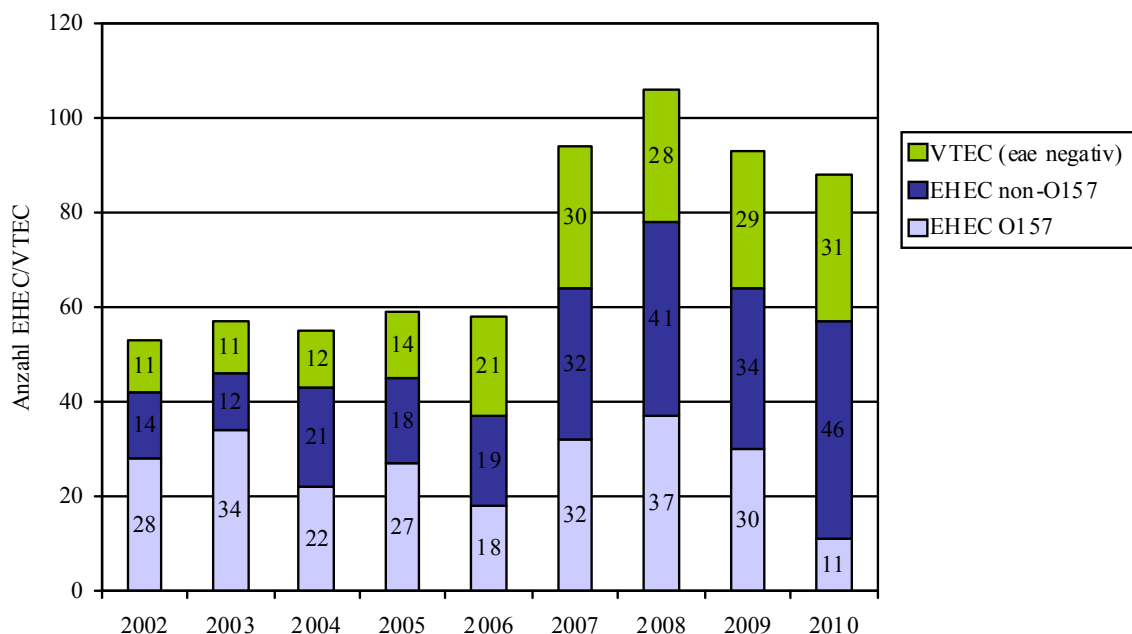


Abbildung 2: O-Serotypenverteilung der 88 an der Nationalen Referenzzentrale für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin bildender *E. coli* verifizierten humanen VTEC/EHEC-Isolate, Österreich 2010.

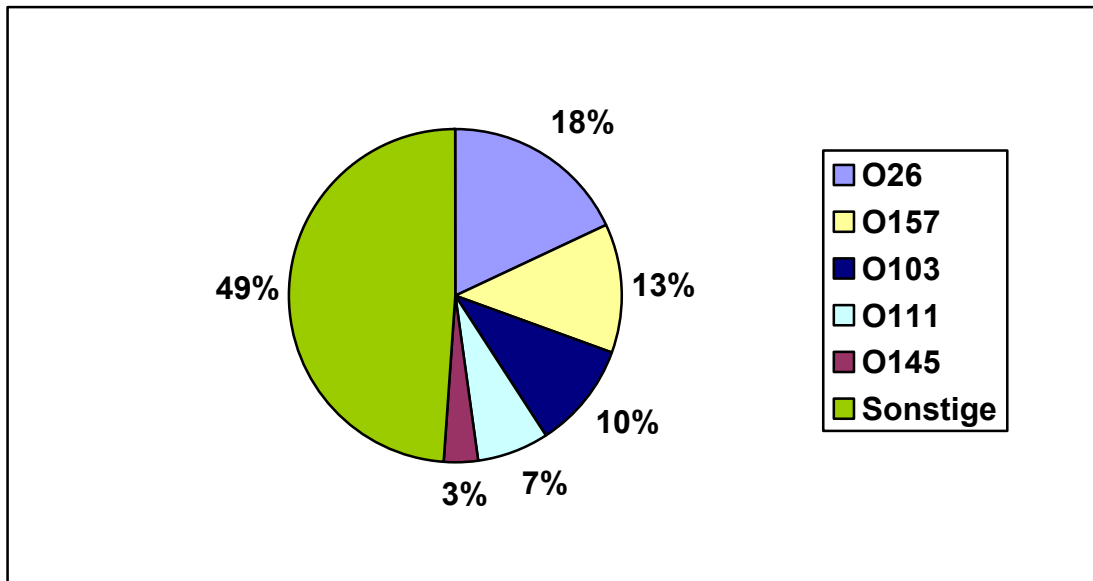
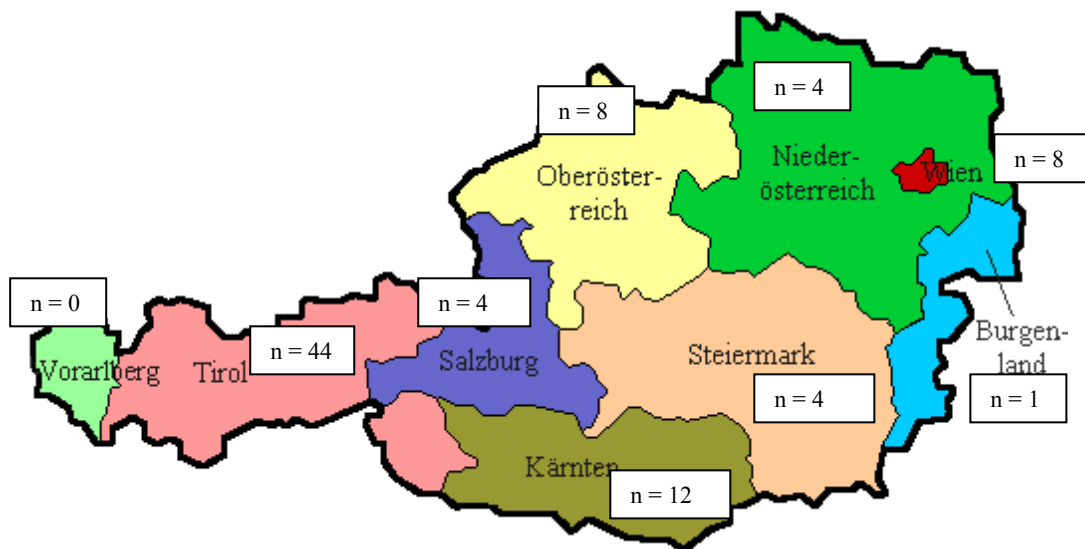


Abbildung 3: Österreichweite Verteilung der an der Nationalen Referenzzentrale für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin bildender *E. coli* verifizierten EHEC- und VTEC-Fälle aus humanen Proben im Jahr 2010. In einem zusätzlichen Fall stammte der Patient aus Deutschland, in zwei weiteren Fällen aus den Niederlanden.

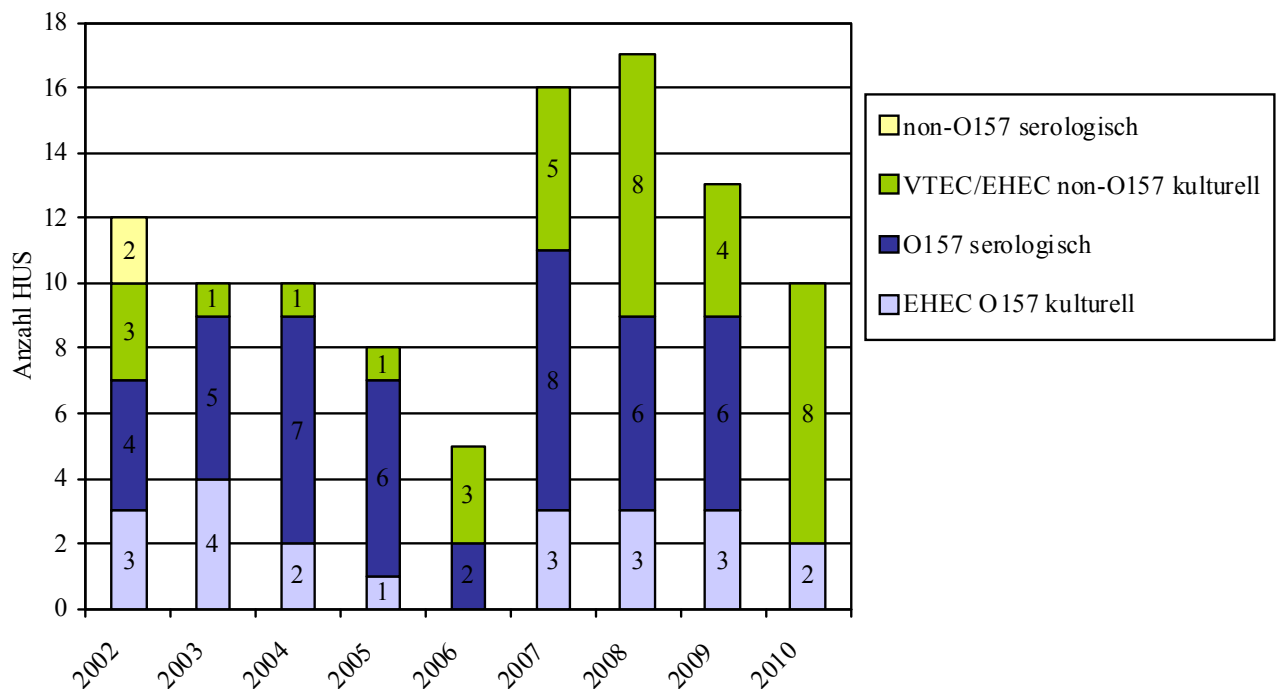


Bei den 88 verifizierten humanen EHEC- und VTEC-Infektionen des Jahres 2010 trat in 10 Fällen ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) als Komplikation auf. In einem zusätzlich klinisch bestätigten HUS-Fall konnte nur in der Stuhlanreicherung *stx2*-DNA detektiert werden (Der Stuhl war aufgrund einer Antibiotikagabe steril). Auch konnten bei diesem Patienten keine Antikörper gegen O157 nachgewiesen werden. Nur zwei HUS Fälle (im Vergleich: neun von 13 HUS-Fällen im Vorjahr) wurden durch EHEC O157 verursacht (siehe Abb. 4.). Eine dieser zwei Infektionen führte jedoch zum Tod eines einjährigen Kindes (Wien). Ein weiterer Todesfall einer 75-jährigen Patientin (Steiermark) wurde durch VTEC O105:H18 verursacht. In einem HUS-Fall wurden serologisch IgM-Antikörper gegen

O157 nachgewiesen, zusätzlich wurde EHEC O89/O143:HNM isoliert (Kärnten). Zwei HUS-Fälle traten im Zuge eines, weiter unten genauer beschriebenen, bundesländerübergreifenden, lebensmittelbedingten Krankheitsausbruchs (BL LMbKA) bedingt durch VTEC O174:H2 auf (Steiermark, Wien). Zwei Fälle wurden durch EHEC O26:HNM/H11 hervorgerufen (Wien, Niederlande). Weiters traten noch ein HUS-Fall durch VTEC O1:H42 in Kärnten und einer durch VTEC O104:H21 in Tirol auf.

Für das Kindesalter (0-14 Jahre) errechnet sich in Österreich für das Jahr 2010 aus 6 kulturell nachgewiesenen (2x O157, 4x non-O157), sowie einem HUS-Fall mit PCR-positiver Stuhlanreicherung eine Inzidenz von 0,53 HUS-Fällen per 100.000 Kinder.

Abbildung 4: Verteilung der am Nationalen Referenzzentrum für enterohämorrhagische *Escherichia coli*, Innsbruck (2002-2009) und in der Nationalen Referenzzentrale für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin bildender *E. coli* (2010) kulturell oder serologisch verifizierten HUS-Fälle, Österreich 2002 - 2010



Im Jahr 2010 gab es keinen größeren EHEC/VTEC-Ausbruch, lediglich 6 kleinere Familienausbrüche mit je 2 Beteiligten, einen mit drei Beteiligten sowie einen mit vier Beteiligten. Jeder Ausbruch wurde mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE, siehe Abb. 5.) bestätigt.

Es gab zeitgleich (April 2010) zwei Familienausbrüche mit **EHEC O26:H11/HNT**, drei Fälle in Tirol (Ausbruch (A)1) mit jeweils dem gleichen Bandenmuster in der PFGE und 2 Isolate aus Oberösterreich (A2) mit untereinander identem PFGE-Bandenmuster. Im dritten Quartal gab es zwei weitere kleine Familienausbrüche mit EHEC O26:H11/HNM: Zwei Fälle in Wien (A3) mit identem PFGE-Bandenmuster, und zwei Fälle in Tirol (A4), ebenfalls mit identem PFGE-Bandenmuster. Im Zeitraum 01.01.2010 bis 30.09.2010 wurden insgesamt 16 Stämme EHEC O26:H11/HNT/HNM (zwei HUS-Fälle) isoliert. Außer den Stämmen aus den vier Familienausbrüchen zeigten lediglich ein Fall aus Niederösterreich und ein Fall

aus Kärnten das gleiche Muster in der PFGE, und mit einer Bande Unterschied (= closely related) ein Fall aus Wien (aber unterschiedlich zu den oben erwähnten Familienausbrüchen). Bei diesen letzten drei Fällen gab es jedoch keine zeitliche Korrelation.

Weiters gab es im dritten Quartal einen Familienausbruch (A5) mit zwei **EHEC O103:HNT/H2** mit in der PFGE identen Isolaten in Tirol.

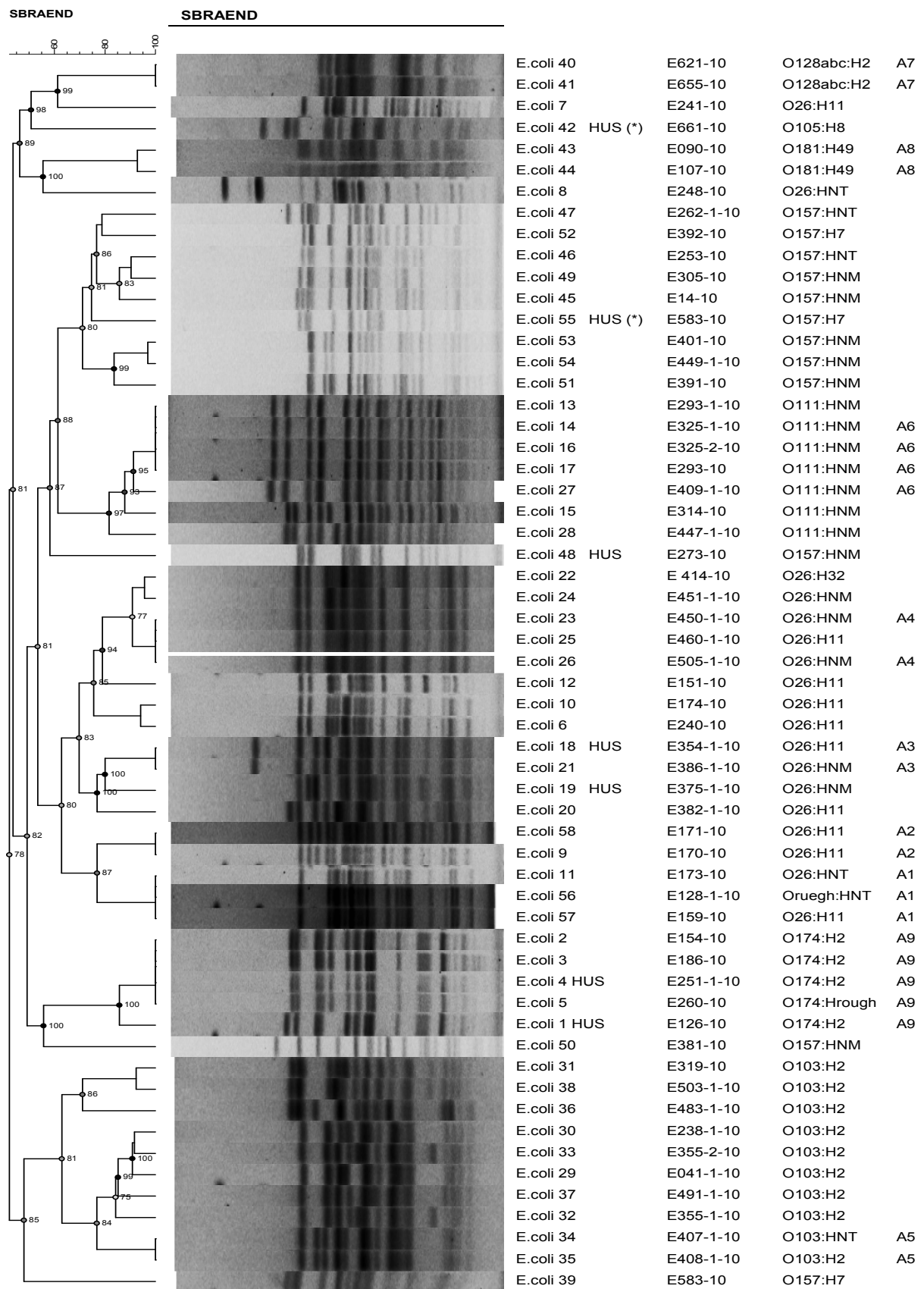
Außerdem wurden in Tirol vier in der PFGE idente Isolate von **EHEC O111:HNM** nachgewiesen (A6). Von einem Patienten wurden zwei EHEC O111:HNM Isolate gewonnen, eines Enterohämolysin-positiv, eines -negativ. Ein entsprechendes Isolat der Zwillingsschwester dieses Patienten konnte nach dem Auftauen für die PFGE nicht mehr als EHEC bestätigt werden. Als gesichert gilt bei dieser Patientin das zu den anderen Isolaten passende Pathogenitätsgen-Muster (PCR) und die O111-PCR-Positivität. Es gibt einen epidemiologischen Zusammenhang dieser vier PatientInnen.

Zwei **VTEC O181:H49** von zwei Geschwisterkindern aus Tirol (A8) zeigten ein PFGE-Bandenmuster mit 2 Banden Unterschied.

Die elf **EHEC O157:H7/HNT/HNM** (zwei HUS-Fälle, davon ein Todesfall) zeigten keine epidemiologischen Zusammenhänge. In der PFGE zeigten zwei Isolate aus Tirol das gleiche Bandenmuster.

Am 30.06.2010 wurde ein bundesländerübergreifender, lebensmittelbedingter Krankheitsausbruch (BL LMbKA) (A9) bedingt durch VTEC O174:H2 mit sieben Beteiligten gemeldet (BMG-Ausbruchs-ID 5/2010/VTEC O174:H2/Feldkirchen). Aus einer Probe eines HUS-Patienten vom 13.04.2010 (geb. 1964) aus Feldkirchen (ST) wurde der Erreger erstmalig nachgewiesen. Weitere positive Proben kamen von Patienten aus Innsbruck (T) (geb. 1964), Graz (ST) (geb. 1918) und Wien (HUS-Patient, geb. 1944). Eine Umgebungsuntersuchung dieses letzten Patienten erbrachte ein weiteres Isolat. Der Durchfall begann bei der Ehefrau des Wiener HUS-Patienten drei Tage nachdem dieser vom Krankenhaus nach Hause gekommen war. Hier ist eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung am wahrscheinlichsten. Von den letzten vier Isolaten sind die PFGE-Bandenmuster ident, das erste Isolat unterscheidet sich geringfügig. Der Innsbrucker Patient war am 22.01.2010 berufsbedingt in Graz und konsumierte Aufstrichbrötchen. Fünf Tage später wurde ihm übel, er bekam Schüttelfrost und Durchfall. Zwei seiner Kollegen, die auch diese Aufstrichbrötchen aßen, zeigten die gleiche Symptomatik. Einer dieser Betroffenen stammt auch aus Innsbruck (T), der andere aus München (D). Bis auf die zwei Wiener PatientInnen konnten bei allen Betroffenen als mögliche Infektionsquellen für VTEC O174:H2 die, bei einer Abendveranstaltung, in Graz konsumierten Aufstrichbrötchen bzw. sonstige Lebensmittel in oder um Graz identifiziert werden.

Abbildung 5: Pulsfeldgelelektrophoretische Auswertung der humanen Isolate (A1 – A9: Ausbruch 1 – 9, (*): Todesfall). Österreich 2010.



Diskussion

Seit November 2006 erfüllt das AGES-Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene Graz die Aufgaben des Nationalen Referenzlabors für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin bildender *E. coli* für Lebens- und Futtermittel und für den Veterinärbereich. Am 01.01.2010 wurden auch die Aufgaben einer Nationalen Referenzzentrale für humane Proben von der Medizinischen Universität Innsbruck, Department für Hygiene, Mikrobiologie und Sozialmedizin übernommen. Es wurden in den Jahresbericht 2010 auch vom Österreichischen Referenzzentrum für EHEC, Innsbruck generierte Vergleichsdaten aus den Vorjahren mit aufgenommen.

EHEC-Infektionen stellen in industrialisierten Ländern derzeit die einzige lebensmittelbedingte bakterielle Erkrankung dar, an der zuvor völlig gesunde Kleinkinder schwer erkranken und sogar versterben können. Die Überwachung dieser lebensmittelbedingten Infektionskrankheit zählt deshalb zu den vordringlichsten Aufgaben des öffentlichen Gesundheitswesens [1]. Die erstmalige Erkennung und Aufklärung eines lebensmittelbedingten Kleinausbruchs bedingt durch *Escherichia coli* O174:H2 in Österreich unterstreicht das Potential molekulargenetischer Subtypisierungsmethoden.

Danksagung

Die Nationale Referenzzentrale für *Escherichia coli* einschließlich Verotoxin bildender *E. coli* dankt allen Bezirkshauptmannschaften und Gesundheitsämtern und allen folgenden Einsendern für die gute Zusammenarbeit: AKH Wien, Allg. öff. Krankenhaus der Stadt Linz, Analyse Biolab GmbH, BKH Lienz, BKH St. Johann i. T., Dr. Friedrich Silbernagel, Dr. Klaus Larcher, Dr. Michael Sporer, Dr. Auer Klaus, Dr. Christian Hilkenmeier, Laboratorium Dr. Dieter Kosak, Dr. Grässl Gerhard, Dr. Hansjörg Somavilla, Dr. med. Ludwig-Christoph Doczy, Dr. Plangger Philipp, Dr. Schröcksnadel Wolfgang, Hygieneinstitut der Medizinischen Universität Graz, Kardinal Schwarzenberg'sches Krankenhaus Abt. Bakteriologie, KH BB Eisenstadt, KH der Barmherzigen Schwestern Ried, Klinikum Wels-Grieskirchen, Krankenanstalt Rudolfstiftung der Stadt Wien, Krankenhaus Lienz, Landes-Frauen-und Kinderklinik Linz, Landesklinikum Feldkirch, Landesklinikum St. Pölten, Landesklinikum Krems, Landesklinikum Thermenregion Mödling, Lebensmitteluntersuchungsanstalt der Stadt Wien, LKH Graz West, LKH Klagenfurt, LKH- Univ. Klinikum Graz, Mikrobiologie Labor Dr. Mustafa/Dr. Richter, OÖ Landes-Nervenlinik Wagner-Jauregg, SALK Labor GmbH, SALK Universitätsklinikum, Sozialmedizinisches Zentrum Süd, TILAK IBK, Univ. Klinik Innsbruck.

Literatur

[1] Schlager S, Kornschöber C, Wassermann-Neuhold M, Luckner-Hornischer A, Stirling J, Allerberger F, Springer B (2011) **Outbreak of Shigatoxin producing *Escherichia coli* O174:H2 infections, Austria 2010**. Abstracts of the ESCMID 2011, Mailand, CMI: in press.