
Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC) und enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC)

26.02.2010

Autoren: Marc Mühlemann und Jörg Hummerjohann. Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Schwarzenburgstrasse 161, CH-3003 Bern. E-Mail Adressen: marc.muehlemann@alp.admin.ch und joerg.hummerjohann@alp.admin.ch

Mikroorganismen

Escherichia coli gehört zur Familie der Enterobacteriaceen (gram-negative, oxidase-negative Stäbchen) und ist natürlicherweise in der Begleitflora des Darmes von Menschen, Säugetieren und Vögeln zu finden. Deshalb kommt *E. coli* in der Lebensmittelhygiene eine besondere Bedeutung als Markerorganismus einer fäkalen Kontamination zu. Der Nachweis von *E. coli* in Lebensmitteln deutet also auf eine unzureichende Verarbeitungshygiene hin und ist ein Indiz dafür, dass auch pathogene Darmbakterien wie z.B. Salmonellen, Yersinien oder Shigellen anwesend sein können.

Allerdings finden sich innerhalb der Spezies *E. coli* auch verschiedene pathogene Gruppen, die als Lebensmittelinfektionserreger eine Rolle spielen können. So sind zum Beispiel die Enterotoxin-bildenden *E. coli* (ETEC) als Hauptverursacher der sogenannten Reisediarrhö bekannt. Im Folgenden werden von den verschiedenen enteropathogenen *E. coli* aber nur die Shigatoxin-bildenden *E. coli* (STEC) behandelt.

Die Bezeichnung STEC stammt daher, dass die Bakterien ein Toxin produzieren, welches eine hohe Ähnlichkeit zum Shigatoxin aus *Shigella dysenteria* hat. Synonym werden STEC aufgrund ihrer zytotoxischen Wirkung an Affen- (Vero-) Zelllinien auch VTEC genannt (Verotoxin-bildende *E. coli*). Eine Untergruppe der STEC, von denen über 400 Serotypen beschrieben sind, bilden die enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC), welche besonders schwere Erkrankungen hervorrufen können (s.u.). Der „EHEC-Prototyp“ *E. coli* O157:H7 ist am häufigsten in Gruppenerkrankungen involviert und wurde hinsichtlich Pathogenität, Prävalenz in Patienten, Tierbeständen und Lebensmitteln ebenso gut untersucht wie seine Wachstums- und Überlebensparameter in der Umwelt oder während der Lebensmittelherstellung.

Die Analyse von STEC und ihre anschliessende Differenzierung erfordert sowohl traditionelle wie moderne Nachweisverfahren:

Anhand einer vorangereicherten bakteriellen Kultur wird die Toxin-Bildung

immunologisch bzw. das Vorhandensein der Toxingene molekularbiologisch mittels PCR nachgewiesen (Screening). Da die nachgewiesenen Signale von verschiedenen *E. coli*-Zellen oder von anderen Enterobakterien stammen können, ist eine Keimisolation inkl. Bestätigung auf *E. coli* notwendig. Bei einer serotyp-unabhängigen Keimisolation wird die Koloniehybridisierung eingesetzt, wobei deren Wiederfindungsrate im Vergleich zum Screening-Resultat recht gering ist (10–40 % bei Käseproben). Isolierte STEC-Stämme können dann sowohl serotypisiert (Oberflächen- und Geisselantigene O bzw. H) als auch auf diverse andere Pathogenitätsfaktoren untersucht werden. Daneben werden auch Methoden zu Isolation bestimmter Serogruppen (z.B. O157) eingesetzt, z.B. immunmagnetische Separation.

Toxine und Virulenzfaktoren

Die hohe Pathogenität der EHEC lässt sich vor allem auf drei Virulenzfaktoren zurückführen: Sie haben erstens wie alle STEC die phagenkodierte Fähigkeit zur Bildung der Toxine *Stx1* (Shigatoxin-ähnlich) und/oder *Stx2*, wobei letzteres Toxin in verschiedenen Varianten mit unterschiedlichem Einfluss auf den Virulenzgrad vorkommt. Zweitens zeigen sie die chromosomal kodierten Merkmale des Adhäsionsproteins Intimin (*eaeA*). Dieses liegt mit weiteren Genen für einen bakteriellen Sekretionsapparat auf einer sehr variablen Pathogenitätsinsel, die bewirkt, dass EHEC an die Dickdarmepithelzellen adhäreren und diese schädigen. Die Toxine dringen dabei in die Zelle ein und lähmen die Proteinbiosynthese. Drittens beherbergen EHEC ein Virulenz-Plasmid mit den Genen für EHEC-Hämolysin. Diese Kombination der verschiedenen Virulenzfaktoren kann beim Menschen besonders häufig schwere Krankheitsverläufe auslösen. Dabei sind neben *E. coli* O157 auch EHEC der Serogruppen O26, O103, O111 und O145 involviert. STEC hingegen ohne Virulenzplasmide und/oder *eaeA*-Gen, die oft bei landwirtschaftlichen Nutztieren, insbesondere Rindern, zirkulieren und dementsprechend häufig aus Lebensmitteln isoliert werden, besitzen eine deutlich niedrigere oder gar keine Virulenz für den Menschen. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass darunter auch extrem virulente Serotypen vorkommen können.

Die Humanpathogenität der STEC basiert also nicht nur auf der Zugehörigkeit zu bestimmten Serotypen, sondern vor allem auf Kombinationen der vielfältigen Virulenzfaktoren. Bislang ist es noch nicht abschliessend gelungen zu definieren, was einen STEC-Stamm letztendlich

humanpathogen macht.

**Krankheit und
Symptome**

EHEC führen nach einer Inkubationszeit von 2–10 Tagen besonders häufig zu blutiger Diarrhöe mit Bauchkrämpfen (hämorrhagische Colitis) und zum Zerfall der roten Blutkörperchen und der Blutplättchen mit akutem Nierenversagen (hämolytisch–urämisches Syndrom, HUS). Diesen schwerwiegenden Verlauf nehmen ca. 5–10 % der EHEC–Infektionen, von denen wiederum ca. 2% tödlich sind und in 20–50% der Betroffenen chronische Nierenleiden hinterlassen. Die infektiöse Dosis kann nur 10–100 Mikroorganismen betragen. Die HUS–Erkrankungen, die vor allem bei Kleinkindern unter 5 Jahren auftreten, werden in der Schweiz von der Swiss Pediatric Surveillance Unit erfasst. HUS wurde 2008 in 28 Fällen festgestellt. Aus Stuhl- und Urinproben von 20 Fällen konnten STEC 13 mal und dreimal die problematische Serogruppe O157 nachgewiesen werden. Bei Erwachsenen tritt unter den schweren Erkrankungen statt HUS eher TPP auf (thrombotisch–thrombozytopenische Purpura), die stärker durch eine neurologische Symptomatik geprägt ist.

In den Jahren 2002–2006 wurden in der EU 64–76% der HUS–Erkrankungen durch *E. coli* O157 ausgelöst, 23–30% verteilten sich auf die anderen EHEC der Serogruppen O26, O145, O103 und O111 und wenige Prozent auf andere diverse STEC. Die jährliche Inzidenz von STEC–Erkrankungen liegt in Europa bei ca. 0.7 Fällen pro 100000 Einwohner (Daten von 2006; Vergleich zu Salmonellosen: 34 Fälle auf 100000 Einwohner), wobei aber grössere regionale Unterschiede auftauchen können, was u.a. von der unterschiedlichen Häufigkeit von *E. coli* O157:H7 im Rinderbestand abhängt.

Bei den anderen STEC dominiert als Krankheitssymptom ein wässriger, unblutiger Durchfall. Es muss allerdings wegen der auf mobilen Genelementen lokalisierten Pathogenitätsfaktoren mit Neukombinationen und folglich mit dem Auftauchen neuer pathogener Subtypen von unterschiedlich schweren Pathogenitätsgraden gerechnet werden. So löst z.B. STEC O91:H21 bei Erwachsenen häufig Durchfall aber auch sporadisch HUS aus, obwohl diesem Serotyp das Intimin–Anheftungssystem fehlt. Die unterschiedlichen Pathogenitätsgrade und die klonale Evolution innerhalb der STEC–Populationen machen eine abschliessende Abschätzung der Pathogenitätskriterien und folglich auch eine lebensmittelrechtliche

Beurteilung der STEC sehr schwierig.

spezielle physiologische Eigenschaften

Zur Vermehrung brauchen *E. coli* Bedingungen zwischen 7–46°C (Optimum 35–40°C), pH 4,4–9 (Opt. 6–7) und einen minimalen a_w -Wert von 0,95. EHEC O157:H7 überleben Kühlung von Lebensmitteln bei 4 °C wie auch Gefriertemperaturen. Zudem können sich einige Stämme bis 49°C vermehren. In Gegenwart von Milchsäure bei pH 4,5 ist ihre Vermehrung gestoppt, wobei an Milchsäure adaptierte Stämme sich bis pH 4,0 vermehren und bis pH 3,8 überleben können. In Gegenwart von Salzsäure vermögen die Keime sogar noch besser zu überleben, so dass die Magenpassage etwa nach dem Konsum eines kontaminierten Lebensmittels kein Hindernis darstellt. Dies gilt selbst für nur sehr wenige Zellen, was einen grossen Unterschied zu den Salmonellen darstellt und einen wichtigen Beitrag zur niedrigen Infektionsdosis von STEC ausmacht.

E. coli verfügt über ein spezielles „Stressantwort-System“ und kann somit auf extreme Temperaturen, pH-Werte, Salzgehalte etc. flexibel reagieren und sich so sein Überleben sichern. Die verschiedenen Regulationssysteme sind miteinander vernetzt, so dass z.B. säureadaptierte Zellen gleichzeitig eine höhere Temperaturtoleranz zeigen oder wachstumslimitierte Zellen auch bei niedrigen Temperaturen lange persistieren können. Früher schrieb man besonders *E. coli* O157:H7 spezielle Überlebensfähigkeiten bei extremen Bedingungen zu. Aktuelle Studien zeigen hingegen, dass diese besonderen Eigenschaften nicht speziellen Serotypen zuzuordnen sind, sondern mit einer grossen stammspezifischen Variabilität bei pathogenen und nicht-pathogenen Stämmen von *E. coli* auftauchen.

Die genannten Eigenschaften ermöglichen es den pathogenen Mikroorganismen, in einer Vielzahl der Lebensmittel unter schonenden Produktions- und normalen Lagerungsbedingungen zu überleben.

Vorkommen in der Natur, Reservoirs

STEC haben ein breites Wirtsspektrum, das Säuger, Vögel und Insekten mit einschliesst. Wiederkäuer, besonders Kühe, werden als hauptsächliches Reservoir für humanpathogene STEC, insbesondere O157, angesehen. Dabei sind die Prävalenzen von STEC beeinflusst durch die Saison, die Probenahme und die Analytik. Weltweit zeigt die Analyse von Fäkalien von Milchkühen Prävalenzen von 0,2–48,8% für STEC O157 und von 0,4–74,0% für nicht-O157 STEC. In der Schweiz wurden bei gesunden Schlachtrindern aus 1,3% der Fäkalproben *E. coli* O157 isoliert. Ausserdem

wurde gezeigt, dass die Prävalenz von STEC auf Häuten bzw. Fellen von Wiederkäuern noch höher ist als in deren Fäzes.

In der Natur überlebt *E. coli* O157:H7 in Dung, Wasser und Trinkwasser zwischen mehreren Wochen bis zu zwei Jahren.

Aufgrund dieser Daten ist es klar, dass STEC-Infektionen nicht nur auf kontaminierte Lebensmittel tierischer Herkunft zurückzuführen sind. Eine deutsche Fallkontrollstudie sporadischer STEC-Erkrankungen ermittelte für Kinder unter 3 Jahren den Kontakt zu Wiederkäuern als wichtigsten Risikofaktor. Dazu kamen Spielen im Sandkasten und Konsum von Rohmilch (einziges Lebensmittel in dieser Altersgruppe). Bei Kindern zwischen 3–9 Jahren waren es neben Spielen im Sandkasten auch „privates“ Baden in Seen, Planschbecken etc., erst bei Personen über 10 Jahren waren Lebensmittel die wichtigsten Risikofaktoren (Konsum von Lammfleisch und streichfähigen Rohwürsten). Daraus wurde gefolgert, dass die direkte Übertragung von STEC durch Lebensmittel für die Kinder unter 3 Jahren, welche das grösste Risiko haben, an STEC zu erkranken und HUS auszubilden, eine geringe Rolle spielt, und dass es insgesamt ein grosses Potenzial für Präventionsmassnahmen gibt wie z.B. Händewaschen, kontrollierten Tierkontakt und die Vermeidung bestimmter Lebensmittel. Für die Schweiz wurde eine Studie durchgeführt, die zu neben den oben genannten Risikofaktoren noch auf Wohnen in ländlicher Umgebung und Auslandsreisen hinwies. Rohmilchkäsekonsum wurde bislang nicht als Risikofaktor identifiziert.

***Vorkommen in
Lebensmitteln und
Milchprodukten***

Übertragende Lebensmittel können insbesondere rohes oder ungenügend gekochtes Hackfleisch, sowie seltener Rohmilch und nicht pasteurisierte Fruchtsäfte aus Eigen- oder Kleinherstellung sein. Ausbrüche von STEC-Erkrankungen traten ebenfalls durch kontaminierte Rohwurst, Joghurt und Käse auf. Wie beim unpasteurisierten Fruchtsaft können auf Grund der tiefen infektiösen Dosis von STEC auch Oberflächen- oder Kreuzkontaminationen in der Küche sowie Früchte, Gemüse und Salate Ausbrüche verursachen. Einzige Bedingung hierzu ist, dass während der Kultivierung oder Verarbeitung ein direkter oder auch indirekter Kontakt mit Fäkalien stattgefunden hat, z.B. durch kontaminiertes Wasser.

In der Nordschweiz wurden im Zeitraum von 1995 bis 1998 insgesamt 296 genussfertige und 551 nicht genussfertige Lebensmittel auf das

Vorhandensein von STEC mittels PCR untersucht. In 1,7% nicht genussfertiger roher Hackfleischprodukte, in 16% roher Rindfleischproben sowie in 6,4% Rohmilchproben konnten STEC festgestellt werden. Bei keinem der 18 STEC-Isolate handelte es sich um *E. coli* O157. In anderen schweizerischen Studien waren 2.5% der Kuhmilchproben, 12.7% der Ziegenmilchproben und 16.3% der Schafsmilchproben auf Ebene Sammeltank STEC-positiv (PCR).

2006–2008 wurden im Rahmen des nationalen Monitoringprogramms für Milch und Milchprodukte 1502 Proben von Schweizer Rohmilchkäse (v.a. Halbhartkäse) auf STEC untersucht. 5.7% waren PCR-positiv und aus 29 Proben (1.9%) konnten STEC-Isolate gewonnen werden. Die betroffenen Betriebe waren vor allem Alpkäsereien und Landwirtschaftsbetriebe mit Milchverarbeitung, aber auch einige gewerbliche Käsereien. Kein Isolat war Intimin-positiv, keines gehörte zu den klassischen EHEC der Serogruppen O157, O26, O103, O111 und O145. Neun Isolate trugen die Gene für EHEC-Hämolysin, 17 Isolate gehörten zu Serotypen, die als humane STEC bekannt sind, wovon wiederum 6 Isolate zu den Serotypen O22:H8, O91:H10, O91:H21 und O174:H21 gehörten, welche HUS auslösen können.

In einer aktuellen Studie aus Deutschland wurden Zweidrittel der STEC-Serogruppen aus Lebensmitteln auch aus Patienten isoliert. Die drei am häufigsten aus Patienten identifizierten Serogruppen (O157, O103, O26) repräsentierten 46% der Patientenisolate, hingegen nur 3% der Lebensmittelisolate. Diese ungleiche Verteilung (Ausnahme: STEC O91 ist sowohl in Patienten als auch in Lebensmittel recht häufig) kann man unter anderem auf Differenzen in der Pathogenität der Serogruppen oder auf die Tatsache, dass Lebensmittel nur ein möglicher STEC-Übertragungsweg sind, zurückführen. Ausserdem zeigt eine französische Studie, dass selbst wenn gleiche Serotypen aus Patienten und Lebensmitteln im gleichen Zeitraum und in derselben Region gefunden werden, sich diese meistens anhand von anderen genetischen Markern unterscheiden, die Stämme also nicht identisch sind.

**Risikoeinschätzungen
in der EU und
empfohlene
Vorsichtsmassnahmen
für die Milch- und
Fleischwirtschaft**

Für STEC gibt es weder einen Grenzwert in den Hygieneverordnungen der EU und der CH, noch gibt es eine einheitliche lebensmittlerechtliche Beurteilung. Ebenso fehlt, ausser für *E. coli* O157, eine international standardisierte Nachweismethode. Die Vollzugspraxis der

Lebensmittelkontrollorgane ist entsprechend heterogen: Während in Deutschland alle Proben beanstandet werden, aus denen *Stx*-positive STEC unabhängig vom Serotyp isoliert werden konnten, werden z.B. in England und den Niederlanden nur O157-positive Proben beanstandet. Fast alle anderen Länder, darunter die CH, werden wegen des fehlenden Grenzwertes nur fallweise aktiv, wenn lebensmittelbedingte STEC-Erkrankungen bekannt werden. In fast allen Ländern Europas werden Monitoringprogramme durchgeführt. Der Europäischen Lebensmittelsicherheitsbehörde EFSA sind diese Schwierigkeiten bekannt, die in der grossen Varietät der STEC begründet liegen. Bei einer serotypunabhängigen Erfassung werden schätzungsweise 30–40% aller Proben „zu Unrecht“ beanstandet, weil diese STEC-Lebensmittelisolate noch nie mit humanen Erkrankungen in Bezug gebracht werden konnten. Beschränkt man sich hingegen auf die Erfassung weniger humanpathogener Subtypen wird ein Teil STEC-positiver Lebensmittel nicht beanstandet, obwohl diese wahrscheinlich gesundheitsgefährdend sind. Die EFSA hat die risikobasierte Einteilung von STEC in verschiedene Seropathotypen prinzipiell anerkannt, auch wenn noch nicht abschliessend gesagt werden kann, welche Faktoren STEC humanpathogen werden lassen. Gemäss dieser Einteilung werden Monitoringprogramme empfohlen, welche sich vor allem auf die klinisch sehr relevanten Intimin-positiven EHEC der Serogruppen O157, O26, O103, O111 und O145 konzentrieren sollen. Laut eines aktuellen EFSA-Dokumentes sollen in der EU in den nächsten Jahren alle Monitoringprogramme auf diese STEC-Untergruppen in einem einheitlichen Vorgehen beschränkt werden. Dabei werden neben Rinderhäuten, Schaffellen und Schlachtkörpern folgende Lebensmittel beprobt: Frisches Fleisch von Wiederkäuern (Rind, Ziege, Schaf, Wild), Hackfleisch und Zubereitungen daraus, genussfertige getrocknete oder fermentierte Fleischprodukte (z.B. Salami), genussfertige vorgeschnittene Salate, Gemüse und Sprossen, niedrig erhitzte und rohe Milch von Kühen, Schafen und Ziegen bestimmt für den direkten Konsum, Weich- und Halbhartkäse aus roher oder niedrig erhitzter Milch. Damit verbunden ist ein Entwurf für eine europäische Referenzmethode zum STEC-Nachweis in Lebensmitteln, in dem man sich ebenfalls auf diese für den Menschen besonders gefährlichen STEC-Untergruppen konzentriert.

Die Einhaltung der Guten Hygiene Praxis in Schlachthöfen und Lebensmittelverarbeitungsbetrieben wird von der EFSA als die wahrscheinlich effektivste Methode zur Reduktion der Gesundheitsrisiken durch STEC-Infektion angesehen. Dabei kommt dem Monitoring von Hygieneindikatoren (*Enterobacteriaceae* und gewöhnliche *E. coli*) eine grosse Bedeutung zu. Ausserdem ist die Implementierung validierter HACCP-Prozeduren zur Produktion von konsumfertigem rohem Fleisch, Fleischzubereitungen und anderen Lebensmitteln wichtig.

Für Weich- und Halbhartkäse aus roher oder niedrig erhitzter Milch sind neben hervorragender Rohmilchqualität (v.a. Melkhygiene) das Einhalten der Guten Herstellungspraxis (v.a. Milchlagerung < 8°C) wichtig. Da die *E. coli* Zellzahlen in Halbhartkäse während der Reifung abnehmen, gelten Produkte mit längeren Reifungszeiten als sicherer, allerdings nicht absolut gesehen: STEC können z.B. auch noch nach 90 Tagen nachgewiesen werden. Ausserdem verringert die Absenz von Milch produzierenden Wiederkäuern in unmittelbarer Nachbarschaft zur Käseproduktion den STEC-Kontaminationsdruck.

Käsereien und andere Lebensmittelverarbeitungsbetriebe, in denen STEC nachgewiesen wurden, sollten hygienische Abklärungen vornehmen, um mögliche Schwachpunkte zu identifizieren.

***Vorsichtsmassnahmen
und Empfehlungen für
Konsumentinnen und
Konsumenten***

Für Vorsichtsmassnahmen und Empfehlungen bezüglich VTEC und EHEC verweisen wir auf die Internet-Links des BAG, Bulletin 14/08 (http://www.bag.admin.ch/dokumentation/publikationen/01435/04412/index.html?lang=de&sort=ta&superflex=0_0&filter_dms_thema=11&temp_dms_fix=BAG+Bulletin+2008&filter_dms_jahre=) und anderer zuständiger Stellen:

Kontakt mit Tieren

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>

In der Küche

<http://www.bfr.bund.de/cd/9870>

Beim Verzehr von Lebensmitteln

http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/biohaz_op_ej579_vtec_en.pdf

weiterführende Links

http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/biohaz_op_ej579_STEC_en.pdf

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1366.htm>

International Commission on Microbiological Specifications on Foods.
Microorganisms in Foods 5: Characteristics of Microbial Pathogens. 1996.
London: Blackie Academic & Professional. ISBN: 041247350X.

http://www.bag.admin.ch/k_m_meldesystem/00737/index.html?lang=de

http://www.rki.de/cln_048/nm_195942/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2004/50_04.templateId=raw.property=publicationFile.pdf/50_04.pdf

<http://www.bl.ch/docs/vsd/labor/aktuell/publ/STEC.htm>

Nationales Untersuchungsprogramm Milchprodukte 2008, BVET 2009
