

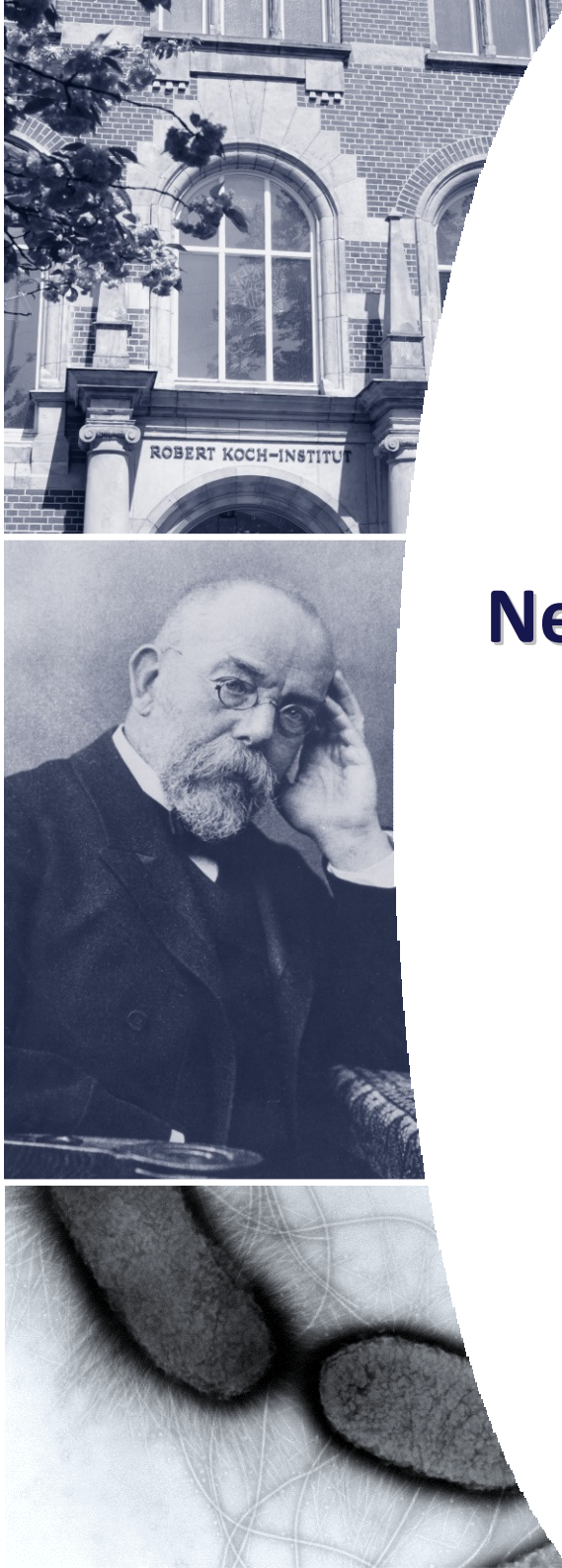


Wann ist der Fall ein Fall? Neues zur Diagnostik von darmpathogenen *Escherichia coli*

Dr. Angelika Fruth
Robert Koch-Institut

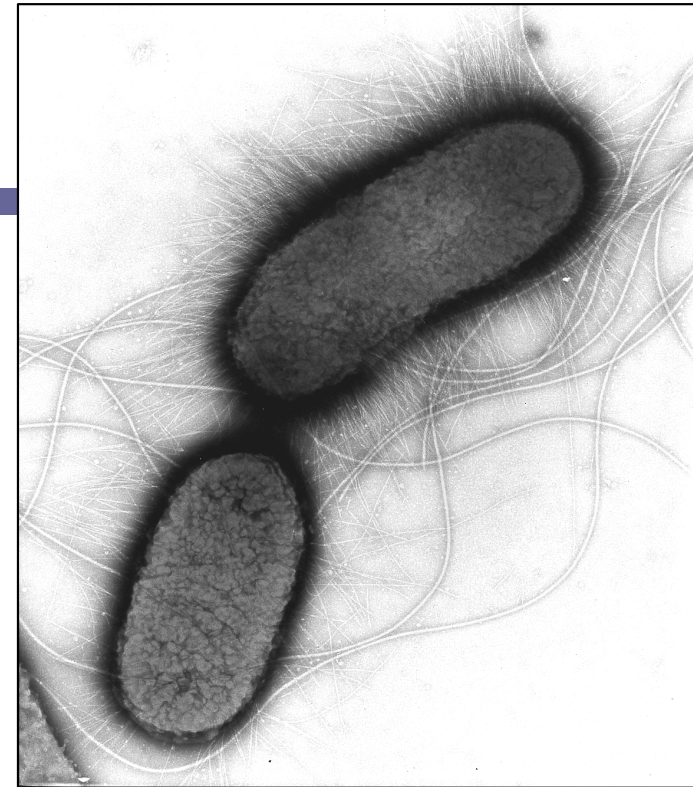
Fachgebiet Bakterielle darmpathogene Erreger und Legionellen
NRZ für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger

Fortbildung für den Öffentlichen Gesundheitsdienst, 26.-28. März 2014,
BfR, Berlin



Escherichia coli

- Gattung: Enterobacteriaceae,
- gramnegatives Stäbchen
- microaerophil
- peritrich begeißelt
- kann Kapseln und Fimbrien ausprägen
- nichtprofessionell fakultativ intrazellulär in Epithelzellen
- Klassifizierung nach Serovaren (System nach Kauffmann & Orskov)
- Infektionsdosis: z.T. unter 100 Keime
- Inkubationszeit: 1-14 Tage (Langzeitausscheidung möglich)



Reissbrodt, Gelderblom; RKI 2005



Erkrankungen durch darmpathogene *E. coli* (IPEC)

| Erreger | Klinik | Wirkort |
|---------|---|----------|
| EPEC | wässrige Durchfälle (besonders bei Säuglingen) | Dünndarm |
| EIEC | Dysenterie mit Tenesmen | Dickdarm |
| ETEC | Reisediarrhoe, choleraähnliche Durchfälle | Dünndarm |
| EAEC | wässrige Durchfälle, chronische Darmstörungen, Reisediarrhoe | Dünndarm |
| EHEC | wässrige, blutige Durchfälle bis zur hämorrhagischen Kolitis – Komplikation HUS (Hämolyse, Nierenversagen, Thrombopenie) | Dickdarm |



Statistik meldepflichtiger Infektionen des GI-Trakts nach IfSG

(Quelle: SurvStat, 2013)

| Erreger | Fälle |
|---|----------------------|
| Campylobacter | 63.195 ↑ |
| Salmonellen | 18.828 ↓ |
| S. Typhi / S. Paratyphi | 90 / 56 ↑ |
| EHEC (HUS) / <i>E. coli</i> , sonstige darmpathogene Stämme | 1.609 (76) / 7.748 ↑ |
| Yersinien | 2.563 ↓ |
| Shigellen | 577 ↑ |
| Norovirus | 88.702 ↓ |
| Rotavirus | 48.133 ↓ |
| Giardia lamblia | 4.122 ↓ |
| Kryptosporidium | 1.561 ↑ |



EHEC / STEC / VTEC

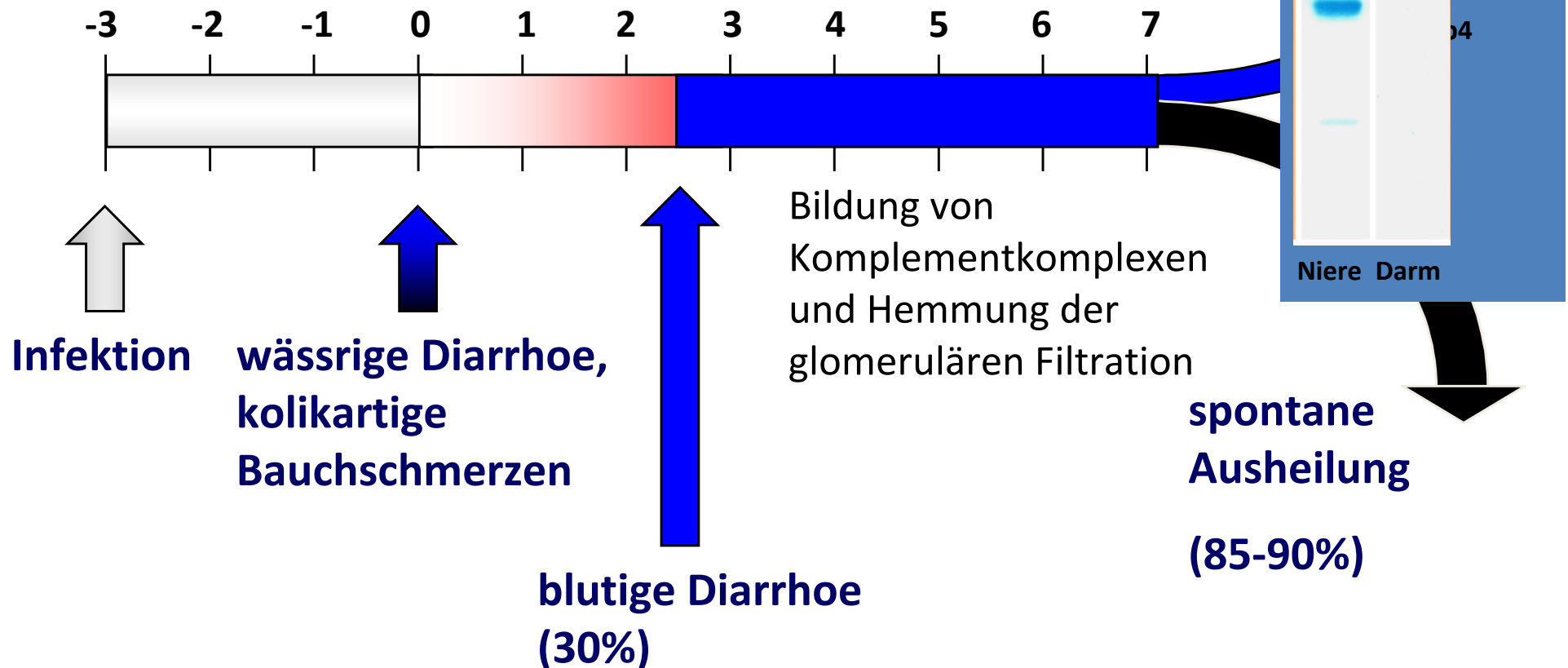
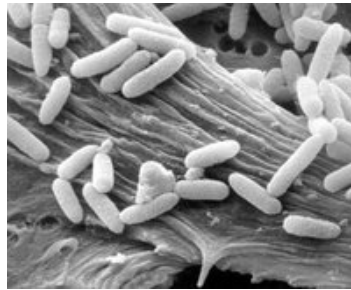
= Enterohämorrhagische / Shigatoxin bildende / Verotoxin bildende E*scherichia* c*oli*

- 1977 Erstbeschreibung durch Konowalchuk
- 1980er O'Brien (Shiga-like Toxin) und Karmali (Verotoxin)
- USA: „Hamburger disease“
- Haupttyp: Serovar **O157:H7**
(Serovarformel: LPS-O-Antigen aus Zellwand und Flagellen-H-Antigen)
- Vielfalt von Serovaren und weiteren Virulenzfaktoren

Erkrankungsverlauf bei Infektion mit EHEC

**HUS (5-10%), davon
lethal 3-5%**

Adhäsion (Intimin)





„Attack-Rate“

(nach Scheutz et al., 2011)

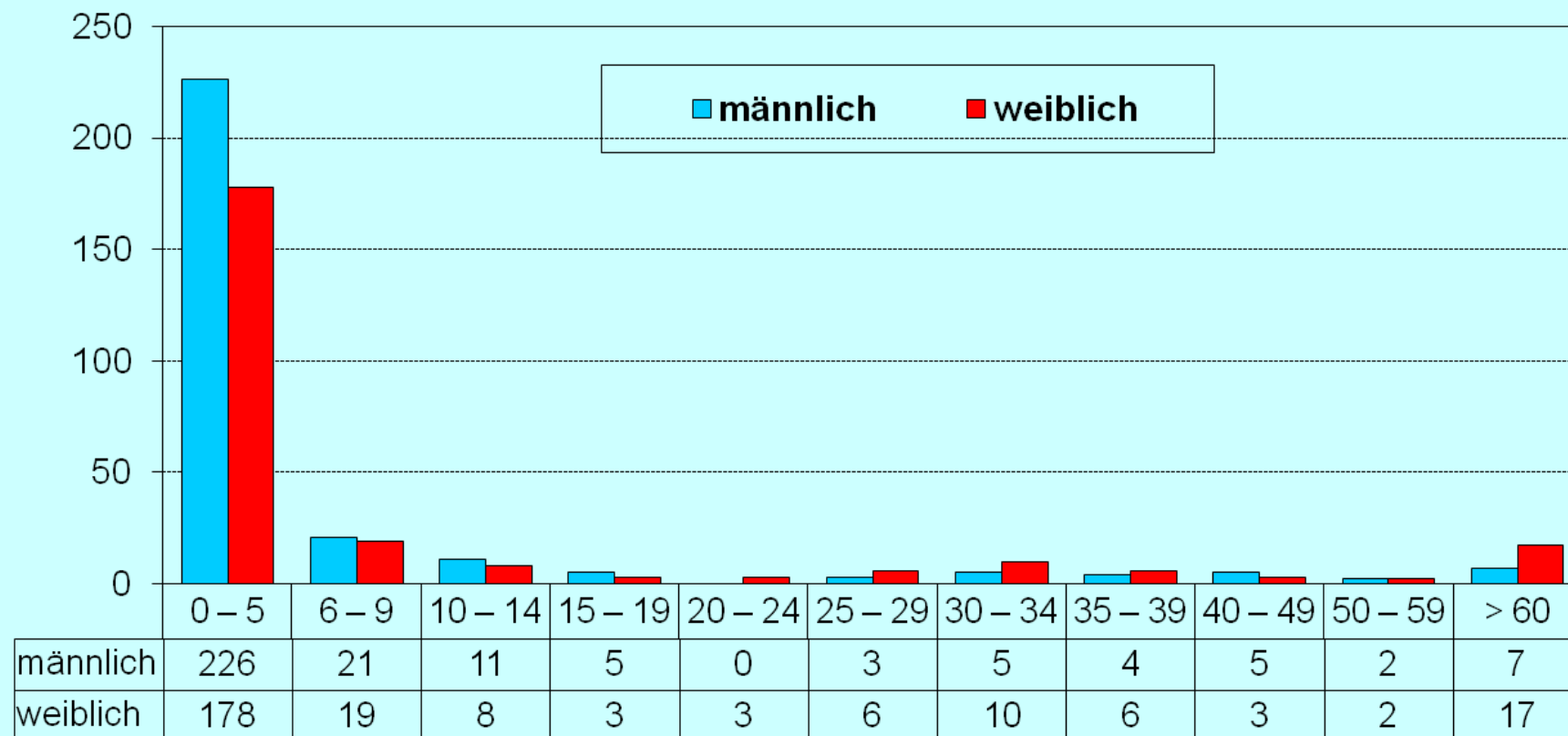
| Serovar | Shigatoxin | % HUS-Fälle |
|------------------------------|----------------------|-------------|
| O157 (<i>eaeA</i> +) | 1a+2a, 2a+2c, 2a, 2c | 13 |
| Non-O157 (<i>eaeA</i> +) | 1a+1c, 2a, 2a+2c | 8 |
| Non-O157 (<i>eaeA</i> -) | 2d (act) | 0,5 |
| O104:H4 (<i>eaeA</i> -) | 2a | 22 |



Altersverteilung bei Infektion mit EHEC

(Quelle: Daten NRZ 2006)

Anzahl n



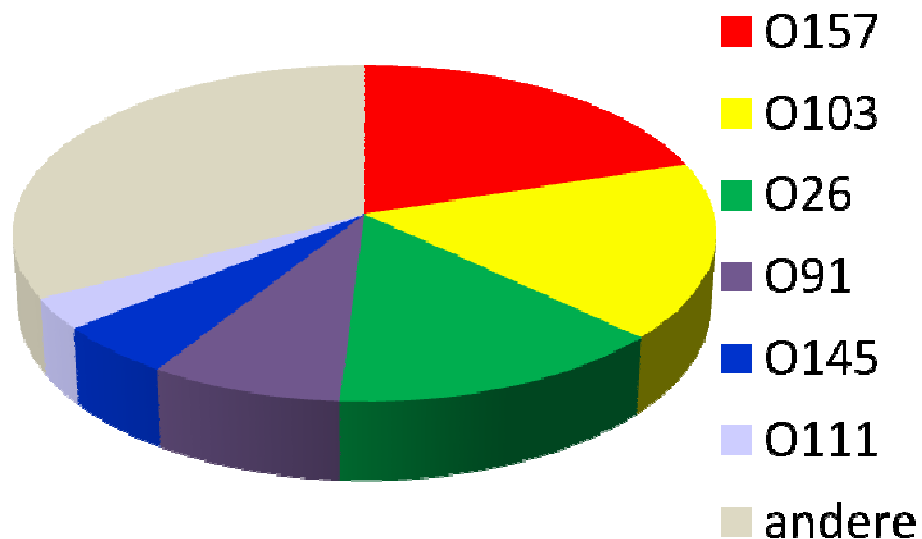


Serovarverteilung gemeldeter EHEC- und HUS-Fälle in Deutschland, 2001-2008

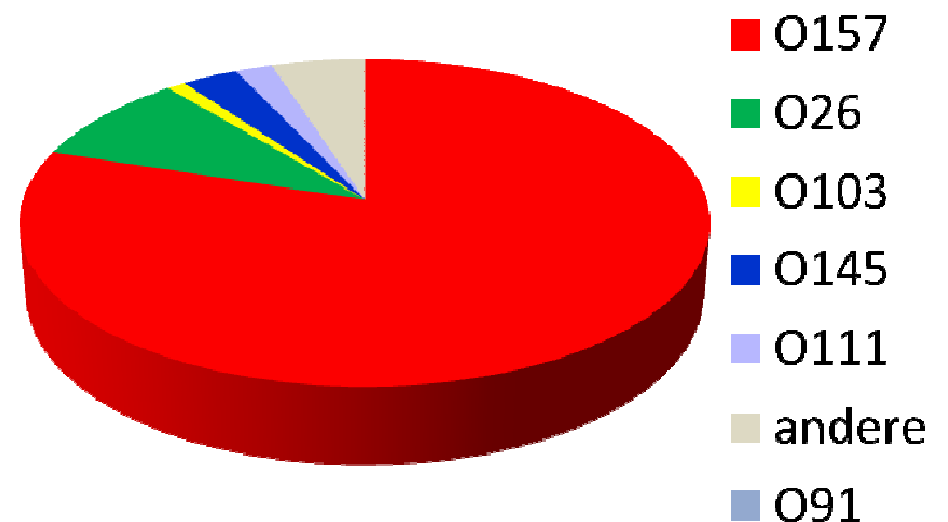
(Quelle: SurvStat)

43% der EHEC und 64% der HUS-Fälle wurden mit Serogruppe übermittelt.

EHEC



HUS





Seropathovare von EHEC

nach KARMALI 2003 und GYLES 2007

| Sero-pathovar | Relative Inzidenz | Assoziation mit Ausbrüchen | Assoziation mit HUS und HC | Serovare |
|---------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|--|
| A | hoch | häufig | ja | O157 |
| B | mittel | mäßig | ja | O26, O103, O111, O121, O145 |
| C | niedrig | selten | ja | O45, O91, O104, O113, O165 u.a. |
| D | niedrig | selten | nein | verschiedene |
| E* | nicht human | nicht bekannt | nein / ? | verschiedene |

* z.B. Shigatoxin-produzierende *E. coli* bei Schweinen EDEC



E. coli, sonstige darmpathogene Stämme (*E.-coli*-Enteritis)

- EPEC
 - > „klassische“ EPEC (typische EPEC): LEE (Intimin), EAF-Plasmid
 - > aEPEC (atypische EPEC): LEE (Intimin)
 - > Nachweis von aEPEC auch in Lebensmitteln (Vorstufe von EHEC?)
 - > Häufungen beobachtet

- ETEC
 - > selten Ausstattung mit beiden Toxinformen (ST, LT)
 - > wirtsadaptierte Formen (Mensch, Schwein)
 - > in D nicht endemisch

- EAEC
 - > typische EAEC: Virulenzplasmid (kodiert verschiedene Fimbrientypen) und *aatA* (Dispersin-Transporter), häufig hitzestabiles Enterotoxin bildend (*astA*)
 - > aEAEC (nur *aatA*-Gen positiv)
 - > Mensch als Reservoir
 - > in D wenig über Inzidenz und Prävalenz bekannt

- EIEC
 - > *ipaH* (Invasion)
 - > Verwandtschaft zu Shigellen (Unterscheidung durch automatisierte Identifizierungssysteme eingeschränkt möglich)
 - > in D nicht endemisch



Kombination verschiedener Pathovar-bestimmender Virulenzmerkmale („Mosaikform“)

Daten NRZ Salmonellen

| Pathovar | Virulenzmerkmal | Serovar |
|-----------|-------------------------------------|------------------|
| EHEC/EAEC | <i>stx1, stx2, eaeA, ehxA, astA</i> | O157:H-, O26:H11 |
| STEC/EAEC | <i>stx1, astA</i> | O115:H10 |
| STEC/EAEC | <i>stx2, astA</i> | O146:H28, O43:H2 |
| STEC/EAEC | <i>stx1, stx2, ehxA, astA</i> | O91:H-, O113:H4 |
| EPEC/EAEC | <i>eaeA, astA</i> | O99:H33 |
| ETEC/EAEC | <i>sth, astA</i> | O25:H- |

Die Klassifizierung der Mosaikformen sollte immer nach der patho-physiologisch bedeutendsten Komponente erfolgen. Produziert der Erreger Shigatoxin, so wird er als EHEC bezeichnet (nach IfSG).



Meldepflicht nach IfSG, 2001 (nov. 2013)

Separate Meldekategorien für EHEC und HUS

- **§7,1: EHEC:** Direkter oder indirekter Nachweis
(“Labormeldepflicht”)
- **§ 6(1): enteropathisches HUS:** Verdacht, Erkrankung, oder Tod
(“Arztmeldepflicht”)
- **§6,2(b):** ≥ 2 Erkrankungen mit epidemischen Zusammenhang
(wahrscheinlich / vermutet)



Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)

(Referenzdefinition gemäß IfSG-Meldevorschriften für enteropathisches HUS)

Klinik:

2 von 3 Manifestationen

- hämolytische Anämie
- Thrombocytopenie ≤ 150.000 Zellen/mm³
- Nierenversagen (Anurie)

- Komplikation bei EHEC-Infektion
- gehäuftes Auftreten im Alter von 0-5 Jahren
- auch virale (Hantavirus) oder weitere bakterielle (Pseudomonas), sowie genetische (vWF, Faktor H-Mangel) Ursachen bekannt



Diagnostik-Strategien und die Auswirkungen des EHEC O104:H4 - Ausbruchs

- Ende der 90er Jahre wenige Selektivmedien die auf *E.c.* O157:H7 ausgerichtet waren (z.B. Sorbitol-Macconkey-Agar) und 3 ELISA-Systeme zum Nachweis von Shigatoxin
- 2000 Entwicklung eines Stufenplans zur EHEC-Diagnostik
- 2014 Vielzahl von Verfahren auf Gen- und Proteinebene anwendbar
- Vorteil der molekularen Methoden: neben EHEC auch andere Pathovaren durch gezielten Nachweis der Virulenzfaktoren durch Virulenzgen-PCR definierbar
- für die eindeutige Diagnose (und Meldung) ist die Abarbeitung als Stufenplan weiterhin notwendig



Leitmerkmale zur Diagnostik von *E. coli*

| Pathovar | Virulenzfaktor | Zielgen |
|-----------------|--|--|
| EHEC / EHEC-LST | Shigatoxin Intimin Enterohämolysin | <i>stx1</i> und <i>stx2</i> <i>eaeA</i> <i>ehxA</i> |
| EPEC / aEPEC | Intimin Virulenzplasmid | <i>eaeA</i> EAF, <i>bfp</i> |
| EIEC | Invasin/Membranprotein Virulenzplasmid | <i>ipaH</i> <i>ial</i> |
| ETEC / aETEC | Enterotoxine Kolonisationsfaktoren | <i>lth</i>, <i>sth</i> <i>cfa</i> |
| EAEC-I / aEAEC | Virulenzregulator Virulenzplasmid | <i>aggR</i> EAEC-probe, <i>aatA</i> |
| EAEC-II | Virulenzregulator Virulenzplasmid P-Fimbrien Aerobactin Yersiniabactin | <i>aggR</i> EAEC-probe, <i>aatA</i> <i>pap</i> <i>iucC</i> <i>irp2</i> |



Leitmerkmale zur Diagnostik von *E. coli*

| Pathovar | Virulenzfaktor | Zielgen |
|-----------------|---|--|
| DAEC-I | Intimin Adhäsın (AIDA-I-Fimbrien) Afa-Fimbrien | <i>eaeA</i> <i>AIDA</i> <i>afaC</i> |
| DAEC-II | Afa-Fimbrien Hämolyisin Yersiniabactin | <i>afaC</i> <i>hlyA</i> <i>irp2</i> |
| ExPEC | P-Fimbrien Hämolyisin Kapsel-Antigen Yersiniabactin Aerobactin S-Fimbrien Invasionsfaktor | <i>pap</i> <i>hlyA</i> <i>ksp</i> <i>irp2</i> <i>iucC</i> <i>sfa</i> <i>ibeA</i> |

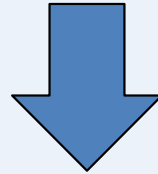


Neue phänotypische und molekulare Testverfahren

- Enzym-Immuno-Assays (EIA/ELISA)
- Lateral Flow-Immuno-Assays (LFIA)
- Latex-Agglutinationstest (LAT) für die Identifikation von Isolaten
- Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)
- PCR-ELOSA (Enzyme linked oligosorbent assay)
- RT-PCR
- Genotyping Array
- Luminex-Systemanalyse: xTAG[®] Gastrointestinal Pathogen Panel



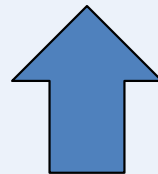
Anwendung moderner (molekularer) Verfahren in der Praxis (flächendeckend, zeitnah)



Diagnose schnell und effizient

vs.

Epidemiologische Analysen



Meldung und Feindifferenzierung eines Isolats

Entscheidungshilfe zur Falldefinition

Eingang der Meldung aus einem Labor:

- Was wird gemeldet?
- Mit welchem Verfahren wurde diese Diagnose gestellt?
- Welches Material wurde für das Verfahren benutzt?
- Wurde der Erreger isoliert und weiterführend charakterisiert?
- Wurde der Erreger zur weiterführenden Untersuchung an ein Speziallabor/NRZ versandt?



„EDWIN“ (Erreger, Diagnose, Woraus?, Isolat, NRZ)



Beispiel

| LABOR-MELDEFORMULAR | |
|---|--|
| Nachweise von Krankheitserregern gemäß §§ 7, 8, 9 IfSG | |
| Bitte separates Meldeformular des Robert Koch-Instituts für Meldungen gemäß § 7 Abs. 3 IfSG von <i>H. pylori</i> , <i>T. pallidum</i> , <i>E. coli</i> , <i>Plasmodium</i> spp. sowie konzentrierte <i>Toxoplasma gondii</i> -Infektionen nutzen. | |
| Vertraulich | Meldendes Labor / Meldende Untersuchungsstelle |
| Gesundheitsamt | Labor / Untersuchungsstelle |
| Straße | Strasse und Hausnummer |
| PLZ Ort | PLZ Ort |
| Tel: Fax | Meldende Person Telefon |
| | E-Mail Tag Monat Jahr |
| Patient/In | |
| Name, Vorname: <input type="checkbox"/> Weiblich <input type="checkbox"/> Männlich | Geburtsdatum: / / |
| Hauptwohnsitz: <input type="checkbox"/> Strasse und Hausnummer | PLZ: Ort: |
| Derzeitiger Aufenthaltsort: <input type="checkbox"/> Strasse und Hausnummer | PLZ: Ort: |
| Labordiagnostischer Untersuchungsbefund | |
| Krankheitserreger / Untersuchungsbefund: <input type="checkbox"/> (evtl. Antigenzusatzes, Genotyp, Pathogen, Resistenz etc., sonst freigegeben) | |
| Untersuchungsmaterial: <input type="checkbox"/> | Eingangsdatum des Materials: / / |
| Über mehreren Materialen bitte kennzeichnen welche Nachweise beide / welches Material verwendet wurde | |
| Nachweismethode: Nur bei positivem Befund ankreuzen (Angaben nach § 9 Abs. 2 Nr. 7 IfSG zwingend erforderlich, s. Rückseite) | |
| Serologischer Nachweis | Direkter Erregernachweis |
| Ermalig deutlich erhöhter Wert <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> Erregerisolierung (kulturell) / Virusisolierung |
| Deutliche Änderung zwischen 2 Proben <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> Nukleinsäurenachweis (z.B. PCR) |
| IgM <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> Antigennachweis * |
| IgG <input type="checkbox"/> | * z.B. HBs-Antigen, Lipopolysaccharide |
| IgA <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> Mikroskopischer Nachweis * |
| Antikörpernachweis | * z.B. Trichostemonen, Amöben, gramnegative Bakterien, Trichostemonen |
| Andere nähere Bezeichnung* <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> Elektronenmikroskopie |
| * z.B. HBs-Antigen, Lipopolysaccharide, Intrahepatische Gallenbläschen | <input type="checkbox"/> Zusatztest * |
| * z.B. Immunofluoreszenz, ELISA, RT-PCR | * z.B. RT-PCR, Nukleinsäurenachweis bei HBV |
| Toxinnachweis | Histologischer Nachweis / Histopathologischer Befund |
| <input type="checkbox"/> Toxinnachweis <input type="checkbox"/> Toxin-Genachweis (z.B. PCR) | <input type="checkbox"/> Charakteristische Veränderungen |
| Virulenzfaktornachweis | Befund: <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> eae <input type="checkbox"/> ipaH <input type="checkbox"/> andere <input type="checkbox"/> | Methicillinresistenz-Nachweis bei <i>Staph. aureus</i> |
| | <input type="checkbox"/> Empfindlichkeitsprüfung |
| | <input type="checkbox"/> MecA-Gen-Nachweis |
| Einsendende/r ÄrztIn/Arzt bzw. einsendendes Krankenhaus | Interpretation des Befundes, evtl. zusätzliche Informationen |
| Name der Einrichtung | |
| Name der einsendenden Person | Telefon |
| PLZ | Ort |

Krankheitserreger: EHEC
(enterohämorrhagischer *E. coli*)

Untersuchungsmaterial: Stuhl

(Nach IfSG nur aus Stuhl meldepflichtig, kommt aber selten auch im Urin oder Blut vor!)

Nachweismethode: Nukleinsäurenachweis

(Hier kann ein Erregernachweis ohne Isolierung möglich sein! > Stuhl direkt oder sogen. Anreicherungsbouillon.)

Toxinnachweis: Toxin-Genachweis (z.B. PCR)

(In der Regel keine Unterscheidung zwischen Shigatoxin 1 und 2)

Virulenzfaktornachweis: eae

(gleichzeitiger Nachweis von *stx* und *eae* möglich > kennzeichnend für erhöhtes Risikopotential; andere: z.B. *aat*)

Hinweise über das Vorliegen des Erregers als Isolat oder den Serotyp sollten unter „Direkter Erregernachweis“ eingetragen werden, fehlen aber häufig!

Nachweis von **Shigatoxin**

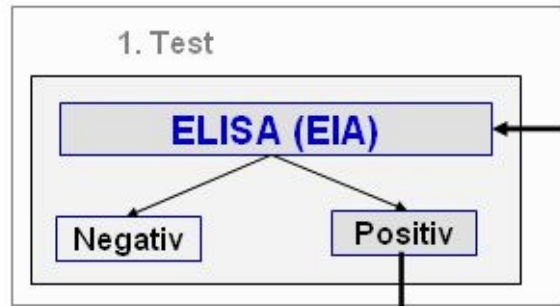
(STX, STX1, STX2. Synonyme: *Shiga-like toxin*, SLT, SLTX, *Vero(cyto)toxin*, VT, VTX*)

Nachweis des **Shigatoxin-Gens**

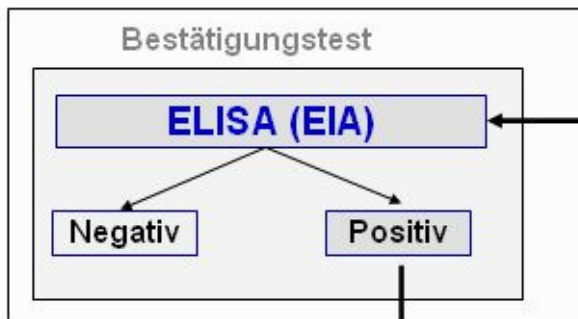
(*stx1*, *stx2*; Synonyme: *vt*, *vtx*, *slt*, *sltx**)

* Erläuterung zur Schreibweise:

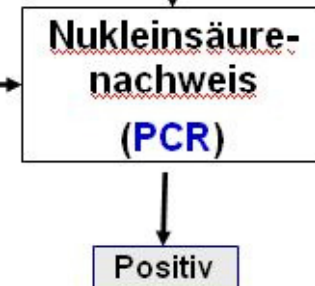
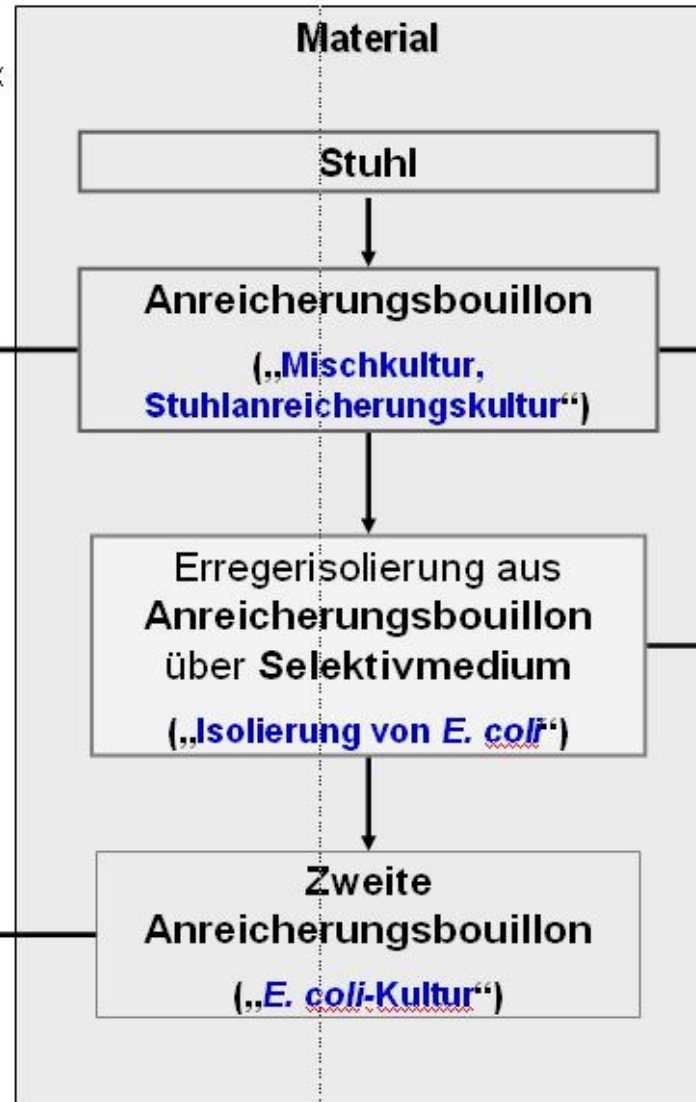
Großbuchstaben verweisen i.d.R. auf das Toxin selbst, *kursive Klein-schreibung* auf das für das Toxin kodierende Gen; es gibt jeweils Typ1 und Typ2



Fallddefinition NICHT erfüllt!
Als Bestätigungstest zweiter ELISA aus *E.-coli*-Kultur erforderlich!



Fallddefinition erfüllt!



①

②

Weitere *E.-coli*-Differenzierung empfohlen:
Serotypie (Angabe der O- und H-Antigene)
PCR (*stx1*, *stx2*, *eaeA*, *ehxA*)
Lysotypie (bei *E. coli* O157)

Fallddefinition erfüllt!



Bewertung der Labormeldung „EHEC“

Meldung als EHEC:

1. Erreger wurde diagnostiziert durch molekularen Nachweis der Shigatoxin-Gene direkt aus Stuhl (oder aus einer Anreicherung)

- „Toxin-Gennachweis (z.B. PCR)“ = *stx-Gen positiv* + „Nukleinsäurenachweis (z.B. PCR)“ = *für Escherichia coli spezifische Gene positiv*
- Zusatzinformation: *eae* positiv? Serovar angegeben?

2. Erreger wurde indirekt diagnostiziert durch Nachweis des Toxins mittels ELISA (nicht direkt aus Stuhl, sondern über Anreicherungsverfahren)

- Kann als Meldung akzeptiert werden, wenn ersichtlich ist, dass der Erreger isoliert und von diesem ein weiterer Test mittels ELISA positiv ermittelt wurde
oder
- ELISA und molekulare Verfahren parallel angewandt wurden.
ansonsten

EHEC-Verdacht, der einer Bestätigung bedarf!

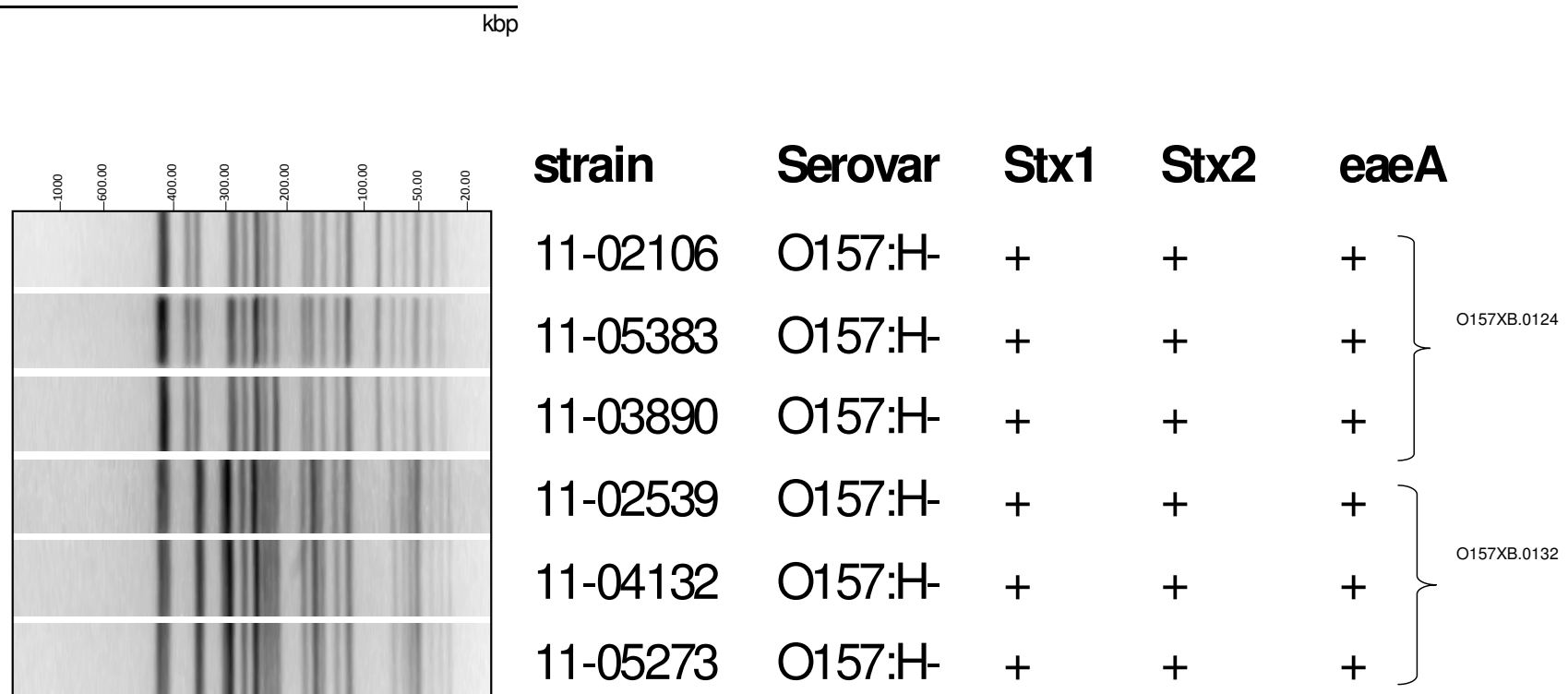
AKTION: Im Labor nachfragen! HUS?



PFGE-Analyse der O157:Hnm – Cluster aus 2011

Quelle: NRZ-Bericht 2012, PulseNet Protocol

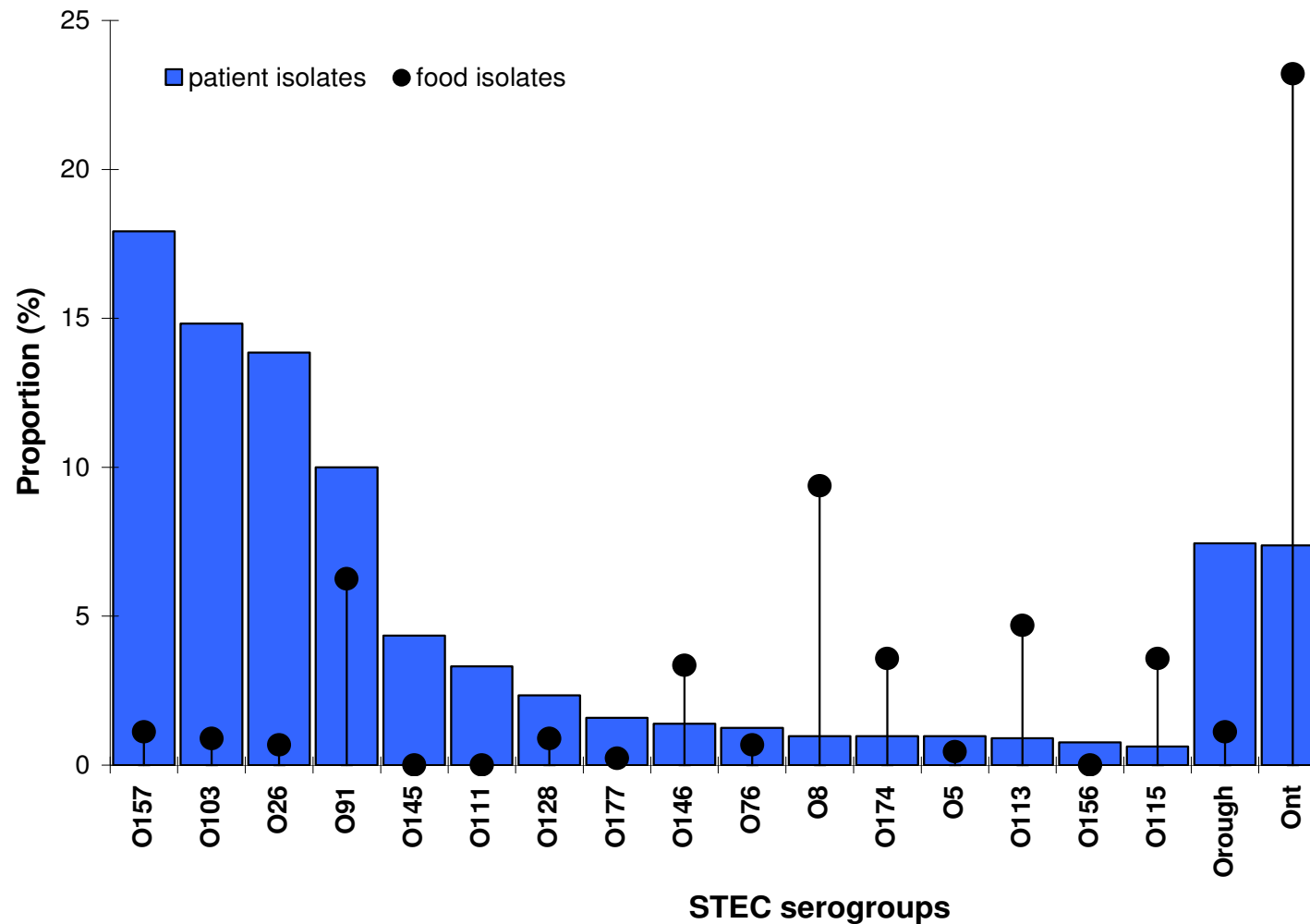
PFGE-XbaI



Grundvoraussetzung: Vergleich identischer Serovare!



Vergleich der EHEC-Isolate von Patienten mit Isolaten aus Lebensmittelkontrollen



Werber, Beutin, Pichner, Stark, Fruth: STEC Serogroups in Food and Patients, Germany. Emerg Infect Dis 2008; 14(11): 1803-6



Molekulare Surveillance von EHEC

Untersuchung auf EHEC gemäß Indikationsliste:

Kinder mit Diarrhoe unter 6 J., Patienten mit blutigen Durchfällen ohne Altersbeschränkung, Vorliegen eines HUS, Häufung von Diarrhoe-Fällen in Gemeinschaftseinrichtungen etc. (MIQ)

mittels zertifizierter Verfahren (EIA, PCR)

bei positivem Nachweis des Shigatoxins / Shigatoxingene

Isolierung des Erregers

Versand des Isolats an Speziallabore mit eindeutigem Identifikator / Minimum an Epi-Info
(LUA's, KL, NRZ)

Lagerung des Probenmaterials für weitere Untersuchungen (mind. 14 Tage)

Typisierung des Erregers (NRZ, KL):

- mit **Phänotypie**: Serotypie, biochem. Differenzierung, Resistenztestung
- und **molekularen Methoden**: Virulenzgenprofil, PFGE, MLST, SLST

Zusammenführung aller Daten und Analyse zur Ausbruchserkennung
(zentrale Datenbank am NRZ und Stammsammlung)

Ergänzung der Meldedaten

Übermittlung relevanter Informationen nach IfSG an Landesstellen und ECDC / TESSy

Netzwerk der Primärdiagnostik-Labore

Meldung an GA

Netzwerk der LUA's
+

NRZ / KL
RKI, Abt. 3
(SurvNet)



Bedeutung der weiterführenden Analyse der Erreger

- Zeitnahe **Ausbruchsentdeckung** und – kontrolle
- Vermeidung von **Sekundärübertragungen**
 - Häufig (5-15%); bei O157:H-/H7 publiziert
 - Übertragung früh in der Erkrankungsphase
 - Betrifft vor allem (jüngere) Geschwisterkinder
 - Hohes HUS-Risiko
- **Risikobewertung** wird ermöglicht
 - z.B. im Zusammenhang mit Therapieempfehlungen, Empfehlungen für Hygienemaßnahmen, Umgang mit Langzeitausscheidern, Wiederezulassung zu Gemeinschaftseinrichtungen etc.
- Erfassung des Spektrums der **Virulenzausstattung** der Erreger (Sammlung von Stamminformationen)
- Ableitung von Maßnahmen zur **Prophylaxe** (Impfprävention, Intervention in der Lebensmittelproduktion, Erweiterung des Diagnostik-Panels)



Bewertung der Labormeldung anderer *E. coli* - Pathovaren

- Hierarchie in der Bedeutung, begründet in Pathogenität und Prävalenz: **EHEC**>EPEC>EAEC>ETEC>EIEC
- Diagnostik erfolgt in der Regel nicht molekular, sondern über Serotypie, die nicht mit Virulenzausstattung korrelieren muss
- Priorität hat die Diagnose für den Patienten/behandelnden Arzt
- Information über Reiseassoziation kann von Bedeutung sein
- gute Therapieoptionen (Langzeitausscheider etc.)
- Wiederezulassung zu Gemeinschaftseinrichtungen etc. analog zum Vorgehen bei enterischen Salmonellen



Serovarverteilung von EPEC, EAEC, ETEC in Deutschland

(Daten NRZ 2010-2013)

| Pathovar | Anzahl typisierter Isolate | | | | Anzahl Serovare | | | | Häufigste Serovare |
|----------|----------------------------|------|------|------|-----------------|------|------|------|--|
| | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | |
| EPEC | 135 | 202 | 146 | 103 | 129 | 79 | 76 | 55 | Ont:H- /H33/H49/H4/H19; O128:H2; O127:H45; O145:H34; O55:H7; O103:H2; O49:H-; O51:H49; O76:H7; O88:H25 |
| EAEC | 42 | 9 | 29 | 23 | 28 | 6 | 13 | 19 | Ont:H- /H10/H16/H18/H30; O111:H21; O128:H12/H35; O55:H12; O176:H34; O78:Hnt; O86:H30; O33:H- |
| ETEC | 3 | 4 | 13 | 5 | 3 | 2 | 8 | 4 | O3:H2; O25:H-; O128:Hnt; O169:H-; Ont:H- |



Resümee

- Die Anwendung molekularer Verfahren in der mikrobiologischen Labordiagnostik ist weit vorangeschritten.
- Aus der Sicht der Meldepflicht für EHEC und andere darmpathogenen *E. coli* resultieren hieraus Labormeldungen, die in ihrer Aussage den Falldefinitionen mitunter nur schwer zuzuordnen sind.
- Durch die Anwendung von Identifizierungsmethoden aus Rohmaterial fehlen für die weitere Feintypisierung der Erreger zur Surveillance und Ausbruchsanalyse entsprechende Patientenisolat.
- Abhilfe könnte eine Kopplung der Isolatgewinnung und -versendung an die Meldung der Erreger nach IfSG schaffen.
- Für den Aufbau einer umfassenden leistungsstarken molekularen Surveillance der lebensmittelbedingten Erreger stellt der ÖGD eine Schlüsselfunktion dar.
- Der Nutzen einer weiterführenden Analyse liegt in der Erfassung und Überwachung der Erregervielfalt als Basis für Risikoanalysen und der Aufklärung von Ausbrüchen.



Weiterführende Literatur

- M. Kist, A. Ackermann, I. B. Autenrieth, Chr. von Eichel-Streiber, J. Frick, A. Fruth, E. O. Glocker, G., Gorkiewicz, A. von Graevenitz, M. Hornef, H. Karch, E. Kniehl, G. Mauff, A. Mellmann, L. von Müller, T. Pietzcker, R. Reissbrodt, H. Rüssmann, E. Schreier, J. Stein, N. Wüppenhorst: **Gastrointestinale Infektionen. MiQ_09_2013**: A. Podbielski M., Abele-Horn M. ,Herrmann E., Kniehl H. ,Mauch H., Rüssmann (Hrsg.); Urban & Fischer Verlag München
- **DGPI-Handbuch**, 6. Auflage 2013
- **Verordnung zur Neufassung der Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit Biologischen Arbeitsstoffen und zur Änderung der Gefahrstoffverordnung (BioStoffV) vom 15. Juli 2013**
- W. Kiehl (Hrsg.): **Kompendium Infektiologie & Infektionsschutz**, H. Hoffmann GmbH Verlag, 2009



Identifizierung von EHEC-Erkrankungen durch mikrobiologische Laboratorien in Deutschland

Stufendiagnostik

1. Primärdiagnostik

- Shigatoxin-Produktion oder Nachweis der stx-Gene in einer coliformen bakteriellen Flora (einer Stuhlprobe) aus Anreicherungskultur (mittels Elisa, PCR)
- Nutzung von Indikator-/Selektiv-medien für *E. coli* z.B. O157:H7 (sorbitol non-fermenting)
- Üblicherweise keine Isolierung (Reinkultur) der Stämme, aber nach Diagnosestellung Meldung an die Gesundheitsämter
- ... danach: Weiterleitung der Proben (insbesondere Isolate) !



2. Weiterführende bzw. Spezialdiagnostik

- Spezialisierte Labore (NRZ, KL HUS, LUA's) verarbeiten die Proben (Mischkulturen) aus den Laboren der Primärdiagnostik
- daraus Stammisolierung als Grundvoraussetzung für epidemiologisches Subtypisieren
- Testung von Virulenzgen-Profilen / Genotypisierung (PCR, Sequenzierung)
- Serotypisierung, MLST zur Sequenztypbestimmung (Macro-Evolution)
- PFGE (PT, MLVA) für Klärung epidemiologischer Zusammenhänge (Micro- Evolution)



**Danke für Ihre
Aufmerksamkeit!**



Nationales Referenzzentrum (NRZ) für
Salmonellen und andere bakterielle
Enteritiserreger
Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode
Burgstrasse 37
38855 Wernigerode
Tel.: (030) 18754 4206
FAX: (030) 18754 4207