Aus dem Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. A. Stolle
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau PD Dr. B. Schalch

Angefertigt am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit,
Dienststelle Oberschleißheim
Dr. U. Busch

Genotypische und phänotypische Charakterisierung von Shigatoxin-bildenden und enterohämorrhagischen *Escherichia coli*-Isolaten von Mensch, Tier, Lebensmittel und Wasser aus Bayern im Zeitraum von 2002 bis 2006

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
C a r o l i n Susanne Schreiber
aus München

München 2008

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Schalch

Korreferent/en: Prof. Dr. El-Matbouli

Tag der Promotion: 18. Juli 2008

Meinen Eltern

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Adenin
AE	attaching and effacing
ALTS	Arbeitskreis der auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene und der vom Tier stammenden Lebensmittel tätigen Sachverständigen
APEC	aviär pathogene *Escherichia coli*
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
bp	Basenpaare
C	Cytosin
DAEC	Diffus-adhärente *Escherichia coli*
Da	Dalton
DGHM	Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
DNA	Desoxyribonucleinsäure
eae	Intimin-Gen
EAEC	Enteroaggregative *Escherichia coli*
EAggEC	Enteroaggregative *Escherichia coli*
E. coli	*Escherichia coli*
EG	Europäische Gemeinschaft
EHEC	Enterohämorrhagische *Escherichia coli*
E-hly	Enterohämolysin
E-*hly*	Enterohämolysin-Gen
EIEC	Enteroinvasive *Escherichia coli*
EPEC	Enteropathogene *Escherichia coli*
ETEC	Enterotoxische *Escherichia coli*
FAO	Food and Agriculture Organization
G	Guanin
Gb_3	Globotriosylceramid
Gb_4	Globotetraosyl
H	Hauch-Antigen
H-	kein Hauch-Antigen
HC	Hämorrhagische Colitis
Hnt	Hauch-Antigen nicht typisierbar
HUS	Hämolytisch-urämisches Syndrom

IfSG	Infektionsschutzgesetz
kb	Kilo-Basenpaare
LEE	Locus of Enterocyte Effacement
LFGB	Lebens- und Futtermittelgesetzbuch
LGL	Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
LPS	Lipopolysaccharid
mRNA	mitochondriale Ribonukleinsäure
mTSB	modifizierte Tryptose-Soja-Bouillon
n	Anzahl
n. u.	nicht untersucht
O	Oberflächen-Antigen
Ont	Oberflächen-Antigen nicht typisierbar
PCR	Polymerasekettenreaktion
pH	potentia Hydrogenii
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed
RKI	Robert Koch-Institut
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
Saa	STEC-autoagglutinierendes Adhäsin
STEC	Shigatoxin-bildende *Escherichia coli*
Stx	Shigatoxin
stx	Shigatoxin-Gen
SubAB	Subtilase
T	Thymin
T_m	Schmelztemperatur
TNF	Tumornekrosefaktor
U	Umdrehungen
VO	Verordnung
VTEC	Verotoxin-bildende *Escherichia coli*
TrinkwV	Trinkwasserverordnung
TTP	thrombotisch-thrombozytopenische Purpura
WHO	World Health Organisation

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG 5

2 LITERATUR 6

2.1 Taxonomie und pathogene Bedeutung von *Escherichia coli* 6
2.2 Shigatoxin-bildende und enterohämorrhagische *Escherichia coli* 8
2.2.1 Shigatoxine 8
2.2.2 Die Subtypen der Shigatoxine 9
2.2.3 Intimin 13
2.2.4 Enterohämolysin 14
2.2.5 Subtilase 15
2.2.6 Weitere Virulenzfaktoren 16
2.2.7 Pathogenitätsmechanismus 17
2.2.8 Bei EHEC häufig ermittelte Serotypen 18
2.2.9 Bedeutung beim Menschen 19
2.2.10 Bedeutung beim Tier 21
2.2.10.1 Wiederkäuer 21
2.2.10.2 Schwein 23
2.2.10.3 Geflügel 24
2.2.10.4 Hund und Katze 25
2.2.10.5 Andere Tierarten 26
2.2.11 Möglichkeiten zur Unterbrechung der Infektionskette Tier – Mensch 27
2.2.12 Bedeutung beim Lebensmittel 29
2.2.13 Bedeutung beim Wasser 32
2.3 Rechtliche Grundlagen 33

3 MATERIAL UND METHODEN 37
3.1 Datenermittlung und Auswertung 39
3.2 Eigene praktische Untersuchungen 39
3.2.1 Probenvorbereitung 40
3.2.2 Real-Time-PCR 40
3.2.3 Schmelzkurvenanalyse 43
3.2.4 PCR auf *stx2, stx2*-Subtypen (*stx2/2c, 2d, 2e*) sowie auf Subtilase 44

4 ERGEBNISSE 48
4.1 Auswertung der STEC/EHEC-Daten 2002 bis 2006 48
4.1.1 Stuhlproben 48
4.1.2 Kotproben 56
4.1.3 Lebensmittel und Umgebungsproben 60
4.1.4 Wasser 64
4.1.5 Zusammenfassende Darstellung der nachgewiesenen Serovare 67
4.2 Subtypisierung der *stx2*-positiven Isolate 72
4.3 Untersuchung von Isolaten auf das Zytotoxin Subtilase 77

5 DISKUSSION 79
5.1 Methoden und Ergebnisse 79
5.1.1 Real-Time-PCR 79
5.1.2 EHEC-Nachweis beim Menschen 79
5.1.3 STEC-Nachweis bei Tier, Lebensmittel und Wasser 81

5.1.4 Ermittelte Serovare 82
5.1.5 Subtypisierung 85
5.1.6 Subtilase 89
5.1.7 Infektionskette Mensch - Tier/Lebensmittel/Wasser 90
5.2 Schlussfolgerung 91

6 ZUSAMMENFASSUNG 92

7 SUMMARY 93

8 ANHANG 94
8.1 Material und Methoden 94
8.1.1 Allgemeine Materialien 94
8.1.2 Anzucht von EHEC-Isolaten 95
8.1.3 PCR 95
8.1.3.1 Probenvorbereitung 95
8.1.3.2 Real-Time-PCR und Schmelzkurvenanalyse 96
8.1.3.3 Subtypen- und Subtilase-PCR 96
8.2 Anhang Ergebnisse 99
8.2.1 Detaillierte Daten der einzelnen Jahre 99
8.2.1.1 Jahr 2002 99
8.2.1.1.1 Stuhlproben 99
8.2.1.1.2 Kotproben 102
8.2.1.1.3 Lebensmittel 103
8.2.1.1.4 Wasser 104
8.2.1.2 Jahr 2003 105
8.2.1.2.1 Stuhlproben 105
8.2.1.2.2 Kotproben 108
8.2.1.2.3 Lebensmittel 110
8.2.1.2.4 Wasser 110
8.2.1.3 Jahr 2004 112
8.2.1.3.1 Stuhlproben 112
8.2.1.3.2 Kotproben 115
8.2.1.3.3 Lebensmittel 116
8.2.1.3.4 Wasser 118
8.2.1.4 Jahr 2005 119
8.2.1.4.1 Stuhlproben 119
8.2.1.4.2 Kotproben 122
8.2.1.4.3 Lebensmittel 124
8.2.1.4.4 Wasser 125
8.2.1.5 Jahr 2006 127
8.2.1.5.1 Stuhlproben 127
8.2.1.5.2 Kotproben 130
8.2.1.5.3 Lebensmittel 131
8.2.1.5.4 Wasser 133
8.2.2 Merkmale von Humanisolaten 2002-2006 143
8.2.3 Subtypisierungsergebnisse von *stx2* 148
8.2.4 Merkmale der STEC/EHEC-Isolate, die auf Subtilase geprüft wurden 150

9 LITERATURVERZEICHNIS 155

1 EINLEITUNG

Infektionen mit enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) galten lange Zeit als alleiniges Problem der Industrieländer, welche seit Jahren trotz intensiver Präventionsbemühungen einen Anstieg bei den Erkrankungsfällen beobachten. Allerdings wurde auch von Infektionen auf dem afrikanischen Kontinent berichtet, was auf eine weltweite Verbreitung dieser Keime schließen lässt.

In Deutschland stehen EHEC nach Angaben des Robert Koch-Instituts an fünfter Stelle der bakteriellen Enteritiserreger beim Menschen (RKI 2008). Ihre große Bedeutung kommt den Bakterien aber in erster Linie aufgrund der möglichen Komplikationen zu, die nach der eigentlichen Infektion auftreten können: Das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS), an dem meist Kleinkinder erkranken, kann auch heute noch trotz aller Notfallmedizin tödlich verlaufen. So berichtete das RKI im Jahr 2006 von zwei mit HUS in Verbindung stehenden Todesfällen bei einjährigen Kindern in Deutschland.

Ziel dieser Arbeit war es, STEC/EHEC-Isolate von Mensch, Tier, Lebensmittel und Wasser aus Bayern hinsichtlich ihrer geno- und phänotypischen Merkmale über einen Zeitraum von fünf Jahren (2002 bis 2006) zu vergleichen. Dafür wurden die dieser Studie zugrunde liegenden Daten erstmalig gesammelt und ausgewertet. Darüber hinaus wurden in eigenen Versuchen alle Shigatoxin-2-positiven STEC/EHEC-Isolate aus dem Jahr 2006 parallel mit zwei unterschiedlichen Feindifferenzierungsmethoden, der PCR und der Schmelzkurvenanalyse, subtypisiert. Somit sollte ein Einblick in Vorkommen und Verteilung vorhandener Shigatoxin-2-Varianten bei Isolaten vom Mensch, von Nutztieren, aus Lebensmittel und aus Wasser gewonnen werden. Nach neuesten Forschungsergebnissen ist die Kenntnis des jeweiligen Shigatoxin-2-Subtyps von großer Bedeutung, da Shigatoxin-2 häufiger mit schweren Krankheitsverläufen beim Menschen assoziiert ist als Shigatoxin-1, sich die Subtypen von Shigatoxin-2 aber erheblich in ihrer Pathogenität unterscheiden. Zusätzlich wurden erstmalig STEC/EHEC-Isolate auf das Vorhandensein des kürzlich entdeckten Zytotoxins Subtilase geprüft. Es wird derzeit vermutet, dass der Subtilase als Cofaktor zum Shigatoxin bei der Ausbildung von klinischen Symptomen im STEC/EHEC-Infektionsgeschehen eine Schlüsselrolle zukommen könnte.

2 LITERATUR

2.1 Taxonomie und Pathogene Bedeutung von *Escherichia coli*

Die Bakterienspezies *Escherichia (E.) coli* wird dem Genus *Escherichia* und der Familie der *Enterobactericeae* zugeordnet. Bei *E. coli* handelt es sich um ein gramnegatives, fakultativ anaerobes, sporenloses, Oxidase-negatives und Katalase-positives stäbchenförmiges Bakterium. Seine Größe beträgt zwischen 2,0 und 6,0 µm Länge und 1,1-1,5 µm Breite. Da das Wachstumsoptimum bei 37 °C liegt, handelt es sich um mesophile Bakterien (Holt et al. 1994). Der natürliche Lebensraum von *E. coli* ist der Dickdarm von Mensch und von warmblütigen Tieren, wo sie physiologische Funktionen übernehmen. Die Bakterien besiedeln den Gastrointestinaltrakt bereits wenige Stunden nach der Geburt (Kaper et al. 2004). Aufgrund seines Habitats spielt *E. coli* als Indikatorkeim für fäkale Verunreinigungen von Wasser und Lebensmitteln eine wichtige Rolle.

E. coli treten auch als Krankheitserreger in Erscheinung. Ursache hierfür ist das Vorhandensein bestimmter Virulenzfaktoren, wie zum Beispiel Toxine oder Adhäsine (Mühldorfer und Hacker 1994). Die Bakterien können in drei Pathotypen eingeteilt werden und intestinale Infektionen, Harntraktsinfektionen oder Sepsis/Meningitis verursachen (Kaper et al. 2004).
Die intestinalen Infektionserreger werden nach ihren Virulenzfaktoren und Pathogenitätsmechanismen verschiedenen Pathogruppen zugeordnet. Derzeit unterscheidet man (Nataro und Kaper 1998, Kaper et al. 2004, Bettelheim 2007):

- Enteropathogene *E. coli* (EPEC)
- Enterotoxische *E. coli* (ETEC)
- Verotoxinogene *E. coli* (VTEC) bzw. Shigatoxin-bildende *E. coli* (STEC) bzw. Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- Enteroaggregative *E. coli* (EAggEC/EAEC)
- Diffus-adhärente *E. coli* (DAEC)

Als **EPEC** werden *E. coli* bezeichnet, die im Darmepithel so genannte Attaching-and-effacing-Läsionen verursachen, aber im Gegensatz zu STEC keine Shigatoxine bilden können. Die Läsionen sind durch Mikrovilliverlust und Anreicherung von Cytoskelettproteinen an der Anheftungsstelle der Erreger gekennzeichnet. Die Bakterien lagern sich durch Intimin fest an die Enterocyten an (attaching), danach folgt die Zerstörung der Mikrovilli und der Umbau des Cytoskeletts (effacing). Sie gelten weltweit als wichtige Ursache für Säuglingsdiarrhö (Canadian Paediatric Society 1987, Nataro und Kaper 1998, Keskimäki et al. 2001, Kaper et al. 2004, Jensen et al. 2007).

ETEC ist die Pathogruppe mit der weltweit größten Bedeutung. Die Pathogenität der ETEC beruht auf einem hitzelabilen Enterotoxin (LT) und auf zwei hitzestabilen Toxinen (Sta und Stb). Das hitzelabile Protein stellt ein choleraähnliches Toxin dar. Des Weiteren kommen spezielle Fimbrien, so genannte Kolonisationsfaktoren (CFA), zur Anheftung an die Epithelzellen des Darms vor. Erreger dieser Gruppe lösen Durchfälle bei Kindern in Entwicklungsländern aus und gelten als wichtige Ursache der Reisediarrhö beim Menschen. Auch Durchfall bei Jungtieren wird durch ETEC verursacht (Canadian Paediatric Society 1987, Lopez-Vidal und Svennerholm 1990, Nataro und Kaper 1998, Kaper et al. 2004).

EIEC sind invasiv, können also in die Kolonschleimhaut penetrieren und geschwürige Veränderungen verursachen. In Genetik, Pathogenitätsmechanismus und biochemischen Verhalten sind die EIEC den Bakterien der Gattung *Shigella*, den Erregern der bakteriellen Ruhr beim Menschen, sehr ähnlich (Nataro und Kaper 1998, Stock 1999, Kaper et al. 2004).

Von den Pathogruppen **EAEC**/**EAggEC** und **DAEC** dagegen ist deutlich weniger bekannt. Erreger ersterer Gruppe kennt man als Auslöser von chronischem Durchfall beim Menschen. Auch bei Reisediarrhö sowie bei Durchfällen von Säuglingen und Kleinkindern sind Erreger dieser Pathogruppe beteiligt. Ebenfalls verantwortlich für infantile Diarrhö sind Keime aus der Pathogruppe **DAEC** (Nataro und Kaper 1998, Keskimäki et al. 2001, Kaper et al. 2004, Zamboni et al. 2004).

2.2 Shigatoxin-bildende und enterohämorrhagische *Escherichia coli*

Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) sind eine Untergruppe der Shigatoxin-bildenden *Escherichia coli* (STEC), auch als Verotoxin-bildende *Escherichia coli* (VTEC) bezeichnet, die humanpathogen sind. Da noch nicht bekannt ist, welche Eigenschaften einen STEC (VTEC) zum EHEC machen, müssen aus Sicherheitsgründen alle STEC (VTEC) als potentielle EHEC betrachtet werden (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, L 07-18-1, 2002).

2.2.1 Shigatoxine

Das namensgebende Shigatoxin stellt den Hauptvirulenzfaktor der STEC/EHEC dar (Nataro und Kaper 1998, Kaper et al. 2004). Es wurde von Konowalchuk et al. (1977) durch seine zytotoxische Wirkung auf Verozellen entdeckt und dementsprechend als Verotoxin bezeichnet. Später fanden O´Brien et al. (1982) in *E. coli*-Stämmen ein Toxin mit großer Ähnlichkeit zu Shigatoxin aus *Shigella dysenteriae* Typ 1, welches sie Shiga-like-Toxin nannten. Heute werden beide Begriffe, Shigatoxin und Verotoxin, in der Regel synonym verwendet.

Sie lassen sich in zwei große Gruppen, Shigatoxin-1 (Stx1) und Shigatoxin-2 (Stx2), unterteilen (Strockbine et al. 1986, Nataro und Kaper 1998). Ein STEC/EHEC-Stamm kann entweder nur Stx1, nur Stx2 oder beide Toxine bilden (Strockbine et al. 1986, Nataro und Kaper 1998). Man geht davon aus, dass Stx2-produzierende Stämme öfter mit ernsthaften Erkrankungen beim Menschen assoziiert sind, als Stämme, die Stx1 bilden (Bockemühl et al. 1998, Huber et al. 1998, Paton und Paton 1998, Friedrich et al. 2002, Jensen et al. 2007).

Shigatoxine bestehen aus einer enzymatisch aktiven A-Untereinheit mit einer Größe von 32 kDa, die sich in zwei Peptide, A_1 und A_2, welche über eine Disulfidbrücke verbunden sind, gliedern lässt. Für die enzymatische Wirkung ist das A_1-Peptid zuständig, das die Wirkung einer rRNA-N-Glycosidase entfaltet und die Hemmung der Proteinbiosynthese in der Zielzelle bewirkt. A_2 ist für die Bindung an die B-Untereinheiten zuständig. Diese weisen bei einer Größe von 7,7 kDa eine pentamere Struktur auf und sind an der Rezeptorbindung beteiligt.

Dieser ist für die Shigatoxinsubtypen Stx1, Stx2 und Stx2c Globotriosylceramid (Gb_3), das auf der Oberfläche von eukaryontischen Zellen vorkommt. Der Subtyp Stx2e bindet dagegen an Globotetraosyl (Gb_4). Die Rezeptoren für die weiteren beschriebenen Stx-Subtypen sind nicht bekannt (DeGrandis et al. 1989, Kamali 1989, Keusch et al. 1995, Nataro und Kaper 1998, Fruth et al. 2002). Vareille et al. (2007) entdeckten, dass die Synthese von Shigatoxinen durch Stickoxid gehemmt wird. Die Autoren sprachen dem Stickoxid eine große zukünftige Bedeutung in der Prävention von EHEC-Infektionen zu.

Die Gene für Stx1 und Stx2 liegen auf temperenten, lamboiden Phagen. Deshalb ist davon auszugehen, dass Phagen auch *in vivo* als Vektoren eine Rolle spielen und so aus apathogenen *E. coli*-Stämmen der normalen Darmflora neue STEC-Isolate entstehen können (Herold et al. 2004). In diesem Zusammenhang zeigten Creuzburg und Schmidt (2007), dass Bakteriophagen nicht nur Shigatoxingene, sondern auch Typ-III-Sekretionssystem-Effektoren exprimieren, was Phagen bei der Entstehung neuer *E. coli*-Pathotypen eine große Bedeutung zukommen lässt.

EHEC-Stämme können ihre Shigatoxingene auch im Lauf des Infektionsgeschehens verlieren (Friedrich et al. 2007).

Neben Shigatoxin-bildenden *E. coli* können auch einige Stämme von *Citrobacter freundii* und *Enterobacter spp.* Shigatoxingene besitzen (Schmidt et al. 1993, Nataro und Kaper 1998), was im Rahmen der EHEC-Diagnostik eine biochemische Prüfung der Bakterien unabdingbar macht.

2.2.2 Die Subtypen der Shigatoxine

Die Shigatoxingruppen Stx1 und Stx2 lassen sich jeweils in mehrere Subtypen oder Varianten unterteilen. So sind vom Shigatoxin-1 die Varianten Stx1c und Stx1d bekannt. Der Subtyp Stx**1c** wurde durch PCR-Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismen identifiziert (Zhang et al. 2002a), nachdem dieser Subtyp bereits unter dem Namen Stx_{1OX3} im Kot von Schafen beschrieben worden war (Paton et al. 1995). Zhang et al. (2002a) und Friedrich et al. (2003) wiesen diese Variante bei unterschiedlichen Serotypen nach, jedoch nie bei solchen, die regelmäßig mit schweren Erkrankungen bei Menschen assoziiert sind. Die Autoren ermittelten nur Intimin-negative EHEC-Stämme als Stx1c-positiv. Weiterhin verhielten sich mit

diesem Subtyp infizierte Personen asymptomatisch oder waren an leichtem Durchfall erkrankt. Ramachandran et al. (2003) berichteten dagegen vom Nachweis dieses Subtyps aus einem *eae*-positiven EHEC-Stamm des Serovars O5:H-, der von einem HUS-Patienten stammte.

Die Variante Stx1c wurde häufig bei Schafen, dagegen nur sehr selten bei Rindern nachgewiesen (Brett et al. 2003). Andere Autoren zeigten jedoch, dass Stx1c durchaus auch bei Rindern verbreitet ist (Kumar et al. 2004, Mayrshofer 2005).

Ein weiterer Subtyp von Stx1, genannt Stx**1d**, wurde aus einem *E. coli*-Stamm bovinen Ursprungs ermittelt und zeigt 92 %ige Übereinstimmung der Nukleotidsequenz mit der Variante Stx1c und eine Homologie von 91 % mit der Variante Stx1 (Bürk et al. 2003). Kuczius et al. (2004) konnten diese Variante auch beim Menschen nachweisen.

Tab. 1a) und b): Übersicht über die Shigatoxin-Subtypen

a) Stx1-Subtypen

Subtyp	**Nukleotidsequenzhomologie zu *stx1***		**Literatur**
	A-Untereinheit	**B-Untereinheit**	
Stx1	100 %	100 %	Strockbine et al. 1986
Stx1c	97,1 %	96,6 %	Zhang et al. 2002a
Stx1d	91 %		Bürk et al. 2003

b) Stx2-Subtypen

Subtyp	**Nukleotidsequenzhomologie zu *stx2***		**Literatur**
	A-Untereinheit	**B-Untereinheit**	
Stx2	100 %	100 %	Strockbine et al. 1986
Stx2c	99,7 %	95,2 %	Schmidt et al. 1991
Stx2d	94,9 %	86,6 %	Pierard et al. 1998
$Stx2d_{act}$	Keine Angabe		Kokai-Kun et al. 2000
Stx2e	94 %	79 %	Weinstein et al. 1988
Stx2f	63,4 %	75,4 %	Schmidt et al. 2000
Stx2g	Keine Angabe		Leung et al. 2003

Das Bild der Shigatoxin-2-Gruppe ist deutlich heterogener: Hier sind die Subtypen Stx2 und Stx2c (Schmitt et al. 1991), Stx2d (Pierard et al. 1998, Ramachandran et al. 2001), $Stx2d_{act}$ (Kokai-Kun et al. 2000), Stx2e (Weinstein et al. 1988), Stx2f (Schmidt et al. 2000) und Stx2g (Leung et al. 2003) bekannt.
Hinsichtlich ihrer Virulenz wurden beträchtliche Unterschiede zwischen den einzelnen Subtypen beschrieben: Während den Subtypen Stx**2** und **2c** eine hohe Virulenz zugesagt wird und immer wieder bei HUS-Fällen ermittelt werden, sind Stx**2d** und Stx**2e** mit milden oder asymptomatischen Infektionen beim Menschen assoziiert (Friedrich et al. 2002, Orth et al. 2007, Persson et al. 2007).

Von der Variante Stx2d unterscheidet sich Stx**$2d_{act}$** (aktivierbar). Diese Form des Toxins kann nach Inkubation mit Mucosazellen aus dem Darm von Mäusen durch Elatase aktiviert werden. Dem $Stx2d_{act}$ wird eine hohe Virulenz zugesprochen (Kokai-Kun et al. 2000). Es wurde bei Patienten mit blutigem Durchfall und auch bei HUS-Fällen nachgewiesen (Bielaszweska et al. 2006). In STEC-Isolaten von Rindern und Schafen wurde ebenfalls $Stx2d_{act}$ detektiert (Nitzsche et al. 2007).

Die Variante Stx**2e** nimmt eine Sonderstellung ein: Sie ist verantwortlich für die Ödemkrankheit der Absatzferkel (Weinstein et al. 1988) und bindet an den Rezeptor Gb_4 (DeGrandis et al. 1989, Keusch et al. 1995).

Der Subtyp Stx**2f** wurde zuerst bei Tauben beschrieben (Schmidt et al. 2000): Die Autoren konnten bei 12,5 % gesunder Tiere diese neue *stx2*-Genvariante nachweisen. Der Subtyp kann auch beim Menschen mit Durchfallerkrankung assoziiert sein (Sonntag et al. 2005b).

Die Variante, Stx**2g**, wurde von Leung et al. (2003) aus einem bovinen *E. coli* O2:H25-Isolat entdeckt. Die Homologie dieses Subtyps mit den Varianten Stx2 und Stx2c ist hoch, eine Zytotoxizität auf Vero- und HeLa-Zellen wurde nachgewiesen, allerdings keine Aktivierung durch Darm-Mucus. Über die humanpathogene Bedeutung dieses Subtyps ist nichts bekannt.

Reischl et al. (2002) publizierten erstmals zur Subtypisierung von Shigatoxin-1- und -2-Genen die Methode der Schmelzkurvenanalyse. Hierbei handelt es sich um die Mutationsanalyse eines Real-Time-PCR-Produkts durch Hybridisierungssonden (Lyon 2001). Die Schmelztemperatur eines Sonden-Target-Hybrids hängt sowohl von der Länge und dem GC-Gehalt der Sonde als auch vom Homologiegrad innerhalb des Hybrids ab. So trennen sich Sonden, die perfekt an die Target-DNA-Sequenz passen, bei einer höheren Schmelztemperatur ab, als Sonden, die mit dem Target über destabilisierende Fehlpaarungen verbunden sind (Lyon 2001).

Reischl et al. (2002) ermittelten, dass die zur Detektion von *stx1* verwendeten Hybridisierungssonden perfekt zu *stx1* passten, während zu dem Subtyp *stx1c* insgesamt zwei Fehlpaarungen ermittelt wurden und zu dem Subtyp *stx1d* fünf Fehlpaarungen. Im Bereich von *stx2* besteht eine Fehlpaarung zwischen Sonden und *stx2/2c*, vier Fehlpaarungen zwischen Sonden und *stx2e* und sechs zwischen Sonden und *stx2d*. Auf diesen Mutationen gründen die in Tabelle 2 aufgeführten ermittelten Schmelztemperaturen der *stx*-Subtypen.

Auch Kuczius et al. (2004) und Mayrshofer (2005) beschrieben Schmelztemperaturen von *stx*-Subtypen. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind ebenfalls in Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 2: Übersicht über die Schmelztemperaturen der *stx*-Subtypen in °C

Shigatoxintyp	**Mayrshofer (2005)**	**Kuczius et al. (2004)**	**Reischl et al. (2002)**
stx1	67	69-70	68
stx1c	63	65-66	65
stx1d	61	64	n. u.
stx2	n. u.	n. u.	71
stx2c	n. u.	n. u.	71
stx2d	n. u.	n. u.	55
stx2e	n. u.	n. u.	66

n. u. nicht untersucht

2.2.3 Intimin

Bei Intimin handelt es sich um ein 94-97 kDa großes äußeres Membranprotein. Seinen Namen verdankt es der von ihm vermittelten engen Anheftung zwischen Bakterium und Darmepithelzelle. Es wird vom „*E.coli* attaching and effacing“ (*eae*)-Gen kodiert (Jerse und Kaper 1991). Das Gen liegt in der Pathogenitätsinsel, die als „locus of enterocyte effacement“ (LEE) bezeichnet wird. Der LEE ist ein 35-45 kb großes chromosomales DNA-Fragment, das alle Gene, die nötig sind, um Attaching and effacing (AE)-Läsionen auszulösen, codiert. Man unterscheidet drei funktionelle Regionen: den 5`-Teil des LEE, in dem Gene (*esc*- und *sep*-Gene) lokalisiert sind, die für ein Typ-III-Sekretionssystem codieren, den 3`-Teil mit *esp*-Genen für Typ-III-sezernierte Proteine und den mittleren Bereich mit dem Intimingen *eae* und dem *tir*-Gen, das für die Ausbildung des Intiminrezeptors verantwortlich ist. Andere Autoren bevorzugen die Unterteilung des LEE in fünf Operons, LEE 1 bis LEE 5 (Kenny et al. 1996, Nataro und Kaper 1998, Donnenberg und Whittam 2001, Mainil und Daube 2005, Gyles 2007).

AE-Läsionen, wie sie von im LEE codierten Virulenzfaktoren verursacht werden, wurden erstmals bei EPEC-Stämmen beschrieben (Moon et al. 1983). Sie sind charakterisiert durch eine enge Adhäsion der Bakterien an das Epithel („attaching“) und durch lokale Zerstörung der Bürstensaum-Mikrovilli („effacing“). An der Anheftungsstelle findet man oft sockelartige Ausstülpungen der Wirtszelle.
Das Zytoskelett der Zelle wird unterhalb dieser Kontaktstellen umstrukturiert und polymerisiertes Aktin angereichert (Nataro und Kaper 1998). Pathogene Veränderungen solcher Art sind obligatorisch für die Gruppe der EPEC, aber auch bei EHEC wurden sie nachgewiesen (Donnenberg et al. 1993, Louie et al. 1993, Bertin et al. 2004, Spears et al. 2006). Das *eae*-Gen ist besonders oft bei klinischen Isolaten nachweisbar. So fanden Beutin et al. (2004) dieses Gen bei über 90 % der HUS-Erkrankten, aber nur bei 66,7 % der Patienten mit unblutigem Durchfall. Auch Ethelberg et al. (2004) identifizierte die Anwesenheit von Intimin als Risikofaktor für die Ausbildung eines HUS.
Beutin et al. (2004) detektierten *eae* häufig bei den Shigatoxinvarianten Stx1, 2, 2c, selten bei Stx2e und nie bei den Varianten Stx1c und 2d.

Mehrere Autoren berichteten von verschiedenen Subtypen von Intimin, die bei STEC- und/oder EPEC-Stämmen zu finden sind (Oswald et al. 2000, Zhang et al. 2002b, Jores et al. 2003, Blanco et al. 2003, Ramachandran et al. 2003, Blanco et al. 2004a, Blanco et al. 2004b, Krause et al. 2005, Blanco et al. 2005, Blanco et al. 2006, Garrido et al. 2006).
Ramachandran et al. (2003) detektierten bei EPEC-Stämmen, die aus Mensch und Wiederkäuer isoliert wurden, hauptsächlich β- und θ-Varianten. Bei Blanco et al. (2005) überwog in EPEC-Isolaten aus Rinderkot die Variante β1. Bei STEC aus Stuhl und Kot wurden die Subtypen α1, β1, γ1, γ2, ε1, ς, η und θ ermittelt (Ramachandran et al. 2003, Beutin et al. 2004, Blanco et al. 2005). Die hochpathogenen EHEC-Serovare O157:H7, O145:H- und O103:H2 traten hauptsächlich mit ε1- und γ1-Intimin auf (Blanco et al. 2005).

2.2.4 Enterohämolysin

Ein weiterer Virulenzfaktor ist das Enterohämolysin, auch EHEC-Hämolysin (E-hly) genannt. Es wurde erstmals aus EHEC-Stämmen unterschiedlicher Serogruppen beschrieben (Beutin et al. 1989). Manche Autoren schlagen die Bezeichnung „enterohaemorrhagic *E. coli* toxin“ (Ehx) vor. Beide Begriffe werden in der Literatur parallel verwendet (Bauer und Welch 1996, Mainil und Daube 2005).
Auf Schafblutagar bildet E-hly nach Übernachtkultur nur schmale, trübe Hämolysezonen aus, im Gegensatz zu α-Hämolysin, das bei extraintestinalen *E. coli* zu finden ist und bereits nach wenigen Stunden eine deutliche, klare Hämolysezone hervorruft.
Das Enterohämolysin gehört zur Familie der RTX-Toxine (**R**epeats in **T**o**X**in) und wird von vier Genen, die auf einem 60 MDa großem Virulenzplasmid (pO157) liegen, kodiert. Es lagert sich in die Cytoplasmamembran von eukaryontischen Zellen ein und bewirkt dort eine Porenbildung (Bauer und Welch 1996, Nataro und Kaper 1998, Paton und Paton 1998, Mainil und Daube 2005).

Dieser Virulenzfaktor wurde bei beinahe allen EHEC-O157:H7-Stämmen und vielen weiteren Nicht-O157-EHEC-Isolaten gefunden (Nataro und Kaper 1998).

Weiterhin konnte Enterohämolysin bei 90 % der HUS-/HC-Isolate detektiert werden, allerdings auch bei 93,4 % der Isolate von symptomlosen Ausscheidern (Bülte 2001). Gyles et al. (1998) vertraten die Meinung, dass Enterohämolysin im Vergleich zu Intimin seltener mit Virulenz einhergeht und dass der Nachweis von E-hly alleine nur begrenzte Schlüsse auf die Pathogenität des jeweiligen EHEC-Stammes zulässt. Die Arbeitsgruppe konnte entsprechende Gene auch bei bovinen Nicht-STEC-Isolaten nachweisen. Die tatsächliche klinische Bedeutung dieses Faktors ist weiterhin unklar.

2.2.5 Subtilase

Das Zytotoxin Subtilase (SubAB) wurde erstmalig bei einem EHEC-Stamm, der für einen HUS-Ausbruch in Australien verantwortlich gemacht wurde, von Paton et al. (2004) beschrieben. Es handelt sich bei der Subtilase um ein AB_5-Toxin mit einer 35 kDa großen A-Untereinheit und einem Pentamer von 13 kDa, das die B-Untereinheit bildet. Die A-Untereinheit stellt eine „subtilase-like serine protease“ dar, der B-Teil bindet an einen GM2-Rezeptor. Beide Untereinheiten weisen genetische Ähnlichkeit zu Proteinen von *Yersinia pestis* auf.
Die Subtilasegene sind auf einem konjugativen Virulenzplasmid lokalisiert.
Da dieses Zytotoxin nach parenteraler Gabe bei Mäusen Mikroangiopathie sowie Nekrosen an Gehirn, Leber und Niere verursacht, wird ihm eine direkte Beteiligung an durch EHEC verursachten Epithelschäden zugesprochen. So vermutet man, dass der Subtilase als Cofaktor zum Shigatoxin bei der Ausbildung von klinischen Symptomen eine Schlüsselrolle zukommen könnte (Paton et al. 2004, Paton und Paton 2005, Osek 2006, Khaitan et al. 2007, Morinaga et al. 2007).
Nach ihrer Erstbeschreibung prüften mehrere Autoren den Nachweis von SubAB. Das Toxin wurde von Osek (2006) in Polen und von Khaitan et al. (2007) in den USA in mehreren EHEC-Isolaten nachgewiesen. Die positiven Isolate stammten vom Mensch und Rind (Osek 2006, Khaitan et al. 2007) sowie aus Wasser (Khaitan et al. 2007). Beide Autoren fanden ein gehäuftes Auftreten von SubAB bei Stx2-positiven und *eae*-negativen EHEC-Stämmen. In Isolaten von Schweinen mit Ödemkrankheit oder Durchfall konnte die Subtilase bisher nicht nachgewiesen werden (Barth et al. 2007).

2.2.6 Weitere Virulenzfaktoren

Viele weitere Virulenzfaktoren kommen bei EHEC-Bakterien vor, ihre tatsächliche Bedeutung konnte noch nicht abschließend geklärt werden:

Bereits 1996 wurde von einem hitzestabilen Enterotoxin, genannt EAST1, das vom *astA*-Gen kodiert wird, berichtet (Savarino et al. 1996). Weiterhin kennt man bei EHEC die extrazelluläre Serin-Protease (EspP), die dafür zuständigen Gene liegen, wie die Gene für Enterohämolysin, auf dem Virulenzplasmid pO157 (Paton und Paton 1998).

Paton et al. (2001) entdeckten das STEC-autoagglutinierende-Adhäsin, abgekürzt Saa, bei *eae*-negativen EHEC-Isolaten von an HUS erkrankten Menschen. Es wird auf einem Megaplasmid in LEE-negativen Stämmen unterschiedlichen Serotyps gebildet und besteht aus 460 bis 534 Aminosäuren. Da dieser Virulenzfaktor öfter bei Rinderkotisolaten als bei Stuhlisolaten nachgewiesen wurde (Jenkins et al. 2003), vermutete Gyles (2007) eine mögliche Bedeutung des Saa für die Ansiedelung der EHEC im Darm von Rindern. Das zuständige *saa*-Gen konnte auch in Isolaten aus Meeresfrüchten und in Intimin-negativen Isolaten von Patienten mit blutigem Durchfall detektiert werden (Kumar et al. 2004).

Ein weiteres bekanntes Toxin neben den Shigatoxinen ist das Cytolethal-Distending-Toxin (CDT), das bei *eae*-negativen Nicht-O157-EHEC-Stämmen gefunden wurde (Bielaszewska et al. 2004). Es soll nur bei manchen EHEC-Serotypen (incl. O157) vorkommen (Orth et al. 2006). Die Autoren konnten keinen signifikanten Unterschied im Auftreten bei *eae*-positiven und -negativen EHEC-Isolaten feststellen.

Friedrich et al. (2006) sahen mögliche Virulenzfaktoren, vor allem bei *eae*-positiven Nicht-O157-EHEC, in Urease (*ure*)-Genen.

2.2.7 Pathogenitätsmechanismus

Eine große Rolle bei der Ansiedlung der Bakterien im Darm spielt die Tatsache, dass EHEC im sauren Milieu des Magens überleben können. Dazu verfügen die Bakterien über spezielle Säure-Adaptationssysteme. Die Säuretoleranz der EHEC variiert mit dem Serotyp und führt dazu, dass die Infektionsdosis dieser Keime gering ist (De Jonge et al. 2003, Forster 2004, Large et al. 2005).
Nach der Magenpassage kolonisieren die Bakterien schließlich den hinteren Dünn- und vor allem den Dickdarm (Paton und Paton 1998). EHEC sind nicht-invasiv, ihre Adhäsion erfolgt in Abhängigkeit von den vorhandenen Virulenzfaktoren, wobei die Anwesenheit des LEE eine entscheidende Rolle spielt. Im Darm angelangt, werden Shigatoxine ins Darmlumen sezerniert und können durch das Darmepithel in die Zirkulation gelangen (Paton und Paton 1998, Hurley et al. 2001). Te Loo et al. (2000, 2001) vertraten die Auffassung, dass die Toxine über eine Bindung an polymorphkernige Leukozyten in der Blutbahn transportiert werden, während Zimmerhackl (2007) einen Transport über Bindung an Thrombozyten für wahrscheinlicher hielt.

Das zelluläre Rezeptorprotein ist das Globotriosylceramid (Gb_3). Gb_3 findet sich hauptsächlich in renalen Endothelzellen, glomerulären und tubulären Epithelzellen, ZNS-Gewebe und in intestinalen Endothelzellen, was sich im klinischen Bild einer EHEC-Infektion widerspiegelt (Nataro und Kaper 1998, Proulx et al. 2001, Karch et al. 2005). Die Folge der Rezeptor-mediierten Endocytose der Shigatoxine ist letztlich die Hemmung der Proteinbiosynthese oder die Apoptose der Zelle (Nataro und Kaper 1998, Proulx et al. 2001).
In diesem Zusammenhang berichteten Schüller et al. (2004, 2007), dass Shigatoxine auch in Abwesenheit des Gb_3-Rezeptors Schäden am intestinalen Epithel beim Menschen verursachen können. Hierbei wird den Panethschen Zellen in den Lieberkühnschen Krypten eine große Bedeutung zugesprochen.

Zirkulierende proinflammatorische Zytokine, vor allem TNF-α und Interleukin-1β werden durch direkte Wirkung der Shigatoxine auf die Monocyten stimuliert. Sie verstärken die Toxinwirkung auf die Endothelzellen durch Förderung der Ausbildung von entsprechenden Rezeptoren (Proulx et al. 2001).

Als Ursache von mit EHEC-Infektionen einhergehenden Entzündungserscheinungen am Darm wird in jüngerer Zeit immer wieder das H-Antigen angesprochen: Miyamato et al. (2006) führten Darmentzündungen im Zusammenhang mit EHEC des Serovars O157:H7 in erster Linie auf das H7-Flagellin zurück. Die Autoren sprachen dem Geißelantigen mehr Bedeutung bei der Produktion von Chemokinen zu als den Shigatoxinen. Auch dem H21-Antigen wurde eine entscheidende Rolle im Virulenzgeschehen durch Versuche im Mausmodel nachgesagt. H21 wurde von den Wissenschaftlern als nichttoxischer accessorischer Virulenzfaktor bezeichnet (Rogers et al. 2006).

2.2.8 Bei EHEC häufig ermittelte Serotypen

Die Serotypisierung hat bei *Escherichia coli* eine große Bedeutung bei der Charakterisierung von Isolaten. So werden O-Antigene, die einen Bestandteil des LPS-Komplexes der Zellwand darstellen und H-Antigene, bei denen es sich um Geißelantigene handelt, für die Serovarbestimmung nach der O:H-Seroformel verwendet. Bei *E. coli* sind derzeit 174 O- und 53 H-Antigene bekannt (Gyles 2007). Die O-Antigene werden mit den Nummern eins bis 181 bezeichnet, wobei Nr. 31, 41, 67, 72, 93, 94 und 122 aus dem internationalen Schema gestrichen wurden (Gyles 2007). Viele Kolibakterien dagegen haben O- oder H-Antigene, die nicht in diesem Schema aufgeführt sind und damit nicht serotypisiert werden können. Diese werden als Ont bzw. Hnt (nicht typisierbar) bezeichnet. Man findet auch viele unbewegliche Typen. Diese werden *nonmotile* oder H- genannt.

Da weltweit EHEC-Isolate von schwer erkrankten Menschen (HUS) am häufigsten dem Serovar O157:H7 angehören, werden *E. coli* des Serotyps **O157** als klassische Vertreter der Gruppe der EHEC angesehen (Kamali 1989, Karch et al. 2005, Tarr et al. 2005, Beutin 2006). Aus diesem Grund ist bei Shigatoxin-bildenden *E. coli* eine Einteilung in zwei Hauptkategorien üblich: solche, die zu Serotyp O157 gehören und Nicht-O157-STEC (Karch et al. 2005, Gyles 2007).
Im Jahr 1988 wurden erstmals nichtbewegliche Sorbitol-fermentierende EHEC O157 nachgewiesen (Karch et al. 1990), die mittlerweile in Deutschland

regelmäßig in Isolaten von HUS-Fällen gefunden wurden (Karch und Bielaszewska 2001, Friedrich et al. 2002).
In letzter Zeit wurde allerdings immer wieder von der Isolierung von *E. coli*-O157-Stämmen aus Tieren berichtet, die **keine** Shigatoxine aufwiesen. Diese wurden bei Pferden (Goll 2005) und Schweinen (Stephan et al. 2007) gefunden. Das legt die Vermutung nahe, dass O157 seine klassischen EHEC-Merkmale verloren hat und auch als EPEC in Erscheinung treten kann (Stephan et al. 2007).
Friedrich et al. (2007) fanden sowohl *E. coli* O157-Stämme, die sich von Beginn der Untersuchungen an Shigatoxin-neagtiv zeigten, als auch solche, die, ehemals *stx*-positiv, ihre Toxine erst im Lauf des Infektionsgeschehens verloren hatten. Erstere wurden bei Patienten mit sporadischem, unkompliziertem Durchfall ermittelt, letztere waren immer noch für ernsthafte Erkrankungen verantwortlich.

Darüber hinaus wurden EHEC bei erkrankten Menschen verstärkt als Serotypen O26, O103, O111, O145, O143, O113 oder O128 nachgewiesen (Brooks et al. 2005, Beutin 2006, Fairbrother und Nadeau 2006, Bettelheim 2007).
Diesen und allen anderen Nicht-O157-STEC wird weltweit eine zunehmende Bedeutung zugesprochen (Brooks et al. 2005, Johnson et al. 2006, Bettelheim 2007). Nach Werber et al. (2006) werden in Deutschland 85 % aller EHEC-Infektionen beim Menschen durch Nicht-O157-Stämme verursacht. Bielaszewska et al. (2007) berichteten von EHEC des Serotyps O26, die zunehmend von HUS-Patienten in Deutschland isoliert wurden und die eine erhöhte Virulenz aufwiesen. Bei den Bakterien fand die Arbeitsgruppe zudem die „High-Pathogenicicity Island“, die zuerst in enteropathogenen *Yersinia* beschrieben wurde.

2.2.9 Bedeutung beim Menschen

Das Spektrum der Symptomatik einer EHEC-Infektion beim Menschen reicht von asymptomatischen Trägern oder mildem, unkompliziertem Durchfall bis hin zu hämorrhagischer Colitis (HC), thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) und dem hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS) (Karmali 1989). Diese Krankheit ist charakterisiert durch hämolytische Anämie, Thrombozytopenie, und akute Niereninsuffizienz (Karmali 1989, Zimmerhackl et al. 2002).

Risikogruppen für die Entwicklung solcher Komplikationen sind Kinder und ältere Personen (Taylor und Monnens 1998, Werber et al. 2006). HUS ist der häufigste Grund für akutes Nierenversagen in der Kindheit und wird zu über 90 % durch EHEC verursacht (Mahon et al. 1997, Tarr et al. 2005). Diese infektiöse Form der Krankheit, die initial mit Durchfall einhergeht, wird „typisches“ HUS genannt. Im Gegensatz dazu kennt die Medizin auch eine seltene „atypische“ Form des HUS, bei der als Ursache genetische Faktoren eine Rolle spielen (Zimmerhackl et al. 2002).
Die Inzidenz für „typisches“, infektiöses HUS beträgt 0,7 bis 1,0/100.000 Kinder unter 15 Jahren in Deutschland und Österreich. Etwa zwei Drittel der Erkrankten werden dialysepflichtig, die Letalität beträgt 1-3 %. Als Folgeerkrankungen treten arterielle Hypertonie, Proteinurie und chronische Niereninsuffizienz in bis zu 40 % der Fälle zehn bis 15 Jahre nach der Erkrankung auf (Zimmerhackl et al. 2002). Das Land mit der höchsten HUS-Inzidenz ist Argentinien: Hier wurden im Jahr 2002 12,2 Fälle/100.000 Kinder unter 5 Jahren nachgewiesen (Rivas et al. 2006). Um dieser Krankheit entgegen zu wirken entwickelten Smith et al. (2006) eine Vaccine für den Menschen gegen HUS, die die Bildung von neutralisierenden Antikörpern gegen Stx1 und 2 bewirkt. Im Mausversuch zeigte diese Vaccine eine gute Verträglichkeit. Praxiserfahrung liegt noch nicht vor.

Die Inkubationszeit einer EHEC-Infektion beträgt meist 1-3 Tage, mit einer Ansteckungsfähigkeit muss solange gerechnet werden bis keine Bakterien mehr im Stuhl nachgewiesen werden, was in der Regel fünf bis zehn (bis 20) Tage andauert. In Einzelfällen kann die Ausscheidung auch über Wochen bis Monate erfolgen (RKI 2001), was für die betroffene Person mit erheblichen Einschnitten im beruflichen und sozialen Umfeld verbunden ist. So findet sich in der Literatur die Falldarstellung eines EHEC-Langzeitausscheiders, eines Metzgermeisters, bei dem von Juli 2002 bis April 2005 durchgehend *stx1* nachgewiesen wurde, was erhebliche berufliche Einschränkungen zur Folge hatte (Oberparleiter et al. 2007). Solche asymptomatischen STEC-Ausscheider stellen ein nicht zu unterschätzendes Problem für die Gesellschaft dar: Die Bakterien wurden mehrfach bei gesunden Mitarbeitern von fleischverarbeitenden Betrieben gefunden (Gareis et al. 2000, Stephan et al. 2000), was wiederum lebensmittelhygienische Bedeutung hat.

Die Wege, auf denen sich der Mensch mit den Bakterien infizieren kann, sind vielfältig. In Frage kommen hierbei der direkte Kontakt zu Tieren, Lebensmittel oder auch die Übertragung von Mensch zu Mensch, die nicht unterschätzt werden darf (RKI 2005). Huber et al. (1998) ermittelten in 36 % der untersuchten Erkrankungsfälle Kontakte mit Durchfallpatienten als Hauptinfektionsquelle. Auch Werber et al. (2007) sahen als Ergebnis einer Kohortenstudie zu sekundären Haushaltsübertragungen in einer Trennung pädiatrischer EHEC-O157-Patienten von ihren Geschwisterkindern eine Interventionsmaßnahme mit hohem Präventionspotential.

2.2.10 Bedeutung beim Tier

2.2.10.1 Wiederkäuer

Wiederkäuer stellen das Hauptreservoir für STEC dar. Die Bakterien wurden weltweit bei den Hauswiederkäuern Rind, Schaf und Ziege nachgewiesen (Shere et al. 1998, Geue et al. 2002, Blanco et al. 2003, Hussein und Sakuma 2005, Wani et al. 2005, Cho et al. 2006, Fairbrother und Nadeau 2006, Hussein 2007, Tristao et al. 2007). Die Rinderdichte ist statistisch signifikant positiv assoziiert mit der STEC-Gesamtinzidenz. Pro 100 zusätzlich gehaltene Rinder pro Quadratkilometer steigt das Risiko einer STEC-Infektion beim Menschen um 68 % (Stark et al. 2007). Untersuchungen von Rinderbeständen in Deutschland zeigten, dass bei einem Großteil der klinisch gesunden adulten Tiere (29-82 %) STEC-Ausscheidung nachzuweisen war (Geue et al. 2002, Messelhäußer 2005). Milchkühe zeigten eine höhere Ausscheidungsrate als Mastrinder (Dean-Nystrom et al. 1998). Häufiger als bei adulten Tieren wurden die Bakterien bei Kälbern ermittelt, hierbei öfter bei an Durchfall erkrankten Kälbern als bei Tieren ohne Durchfall (Leomil et al. 2003). Die Untersuchung von 105 Mastitisisolaten auf STEC-Charakteristika durch Multiplex-PCR verlief dagegen durchwegs negativ (Murinda et al. 2004).

Experimentelle Infektionen zeigten, dass STEC-O157:H7-Stämme für Rinder, die älter als drei Wochen sind, als nicht pathogen betrachtet werden können (Dean-Nystrom et al. 1998).
Wieler et al. (2007) ermittelten signifikante Korrelationen zwischen dem Auftreten von Durchfall und der Ausscheidung von STEC-typischen Virulenzfaktoren bei Kälbern unterschiedlicher Altersstufen: Ausscheidung von Enterohämolysin in der ersten Lebenswoche, von Intimin in Lebenswoche eins und zehn, und von Shigatoxinen in der vierten Lebenswoche.

Wichtig im Infektionsgeschehen ist, dass sich ein Stamm innerhalb einer Herde oder eines Betriebs über Monate etablieren und so zu Reinfektionen der Tiere führen kann. Eine bedeutende Rolle kommt dabei der horizontalen Übertragung zwischen den einzelnen Herdenmitgliedern zu, aber auch abiotische und biotische Faktoren aus der Umgebung, wie zum Beispiel Oberflächen von Stallungen, Futtermittel oder Tränkewasser, dürfen in dieser Hinsicht nicht vernachlässigt werden (Hancock et al. 1998, Shere et al. 1998, Geue et al. 2002). In diesem Zusammenhang testeten Hancock et al. (1998) auch Poolproben von Fliegenfallen als positiv für *E. coli* O157. Die Bedeutung von Rindern im humanpathogenen Geschehen wird dadurch unterstrichen, dass auch *eae*-positive STEC-Stämme bei dieser Tierart gefunden wurden (Zweifel et al. 2005), umso mehr da auch Kühe und Ziegen in einem Streichelzoo als STEC-Ausscheider ermittelt werden konnten (DebRoy und Roberts 2006).

Aber nicht nur Rinder, auch andere Wiederkäuer spielen als Reservoir für STEC eine wichtige Rolle: So konnten Blanco et al. (2003) bei einem Großteil der untersuchten gesunden Schafe *stx*-Gene nachweisen, wobei *stx1* gegenüber *stx2* überwog. Auch bei Kameliden wurden die Bakterien detektiert: Aus einem an wässrigem Durchfall erkrankten Guanaco-Kalb wurde ein STEC-O26:H11-Stamm (Stx1 positiv, Intimin positiv, Enterohämolysin positiv) isoliert (Mercado et al. 2004).

2.2.10.2 Schwein

Erreger der Ödemkrankheit bei Absetzferkel, die charakterisiert ist durch Ödeme im Kopfbereich, zentralnervöse Störungen oder auch durch perakute Todesfälle, sind *E. coli*, die F18ab-Fimbrien und Shigatoxin-2e exprimieren. Aufgrund dieser Hauptvirulenzfaktoren werden die Erreger der Pathogruppe der STEC zugeordnet. Sie gehören meist den Serogruppen O138, O139, O141 und O147 an (Weinstein et al. 1988, Cheng et al. 2006, Helgerson et al. 2006).

Neben der krankmachenden Bedeutung beim Schwein selbst ist die Rolle der Tierart als Reservoir für den Menschen umstritten: Beutin et al. (1993) stuften STEC beim Schwein als weniger häufig ein: bei nur 7,5 % der im Raum Berlin geprüften Tiere konnten Shigatoxine gefunden werden (Beutin et al. 1993).
1995 wurde schließlich eine genetische Verwandtschaft zwischen *stx*2e-positiven *Escherichia coli* O101-Stämmen von Mensch und Schwein beschrieben (Franke et al. 1995a). Seitdem wird die Bedeutung dieser Tierart im menschlichen Infektionsgeschehen immer wieder aufgegriffen: Bauerfeind et al. (2004) stellten eine humanpathogene Bedeutung dieser Tierart eher in Frage, da bei Untersuchungen zwar häufig Stx2e-kodierende *E. coli* gefunden wurden, diese allerdings nur Charakteristika der Ödemkrankheit aufwiesen. Andere Toxinvarianten als Stx2e oder das *eae*-Gen wurden nicht nachgewiesen.
Sonntag et al. (2005a) zeigten, dass in Stx2e-bildenden Isolaten aus Mensch und Schwein Unterschiede im Virulenzprofil und in der wirtspezifischen Interaktion mit intestinalen Epithelzellen bestehen. Es wird auch hier von den Autoren die geringe Wahrscheinlichkeit einer krankmachenden Wirkung beim Mensch postuliert. Zweifel et al. (2006) fanden durch PCR und Kolonieblothybridisierung in Kotproben gesunder Schweine am Schlachthof STEC-Serovare, die auch bei infizierten Menschen nachgewiesen wurden. Keines der Isolate besaß das *eae*-Gen. Die Autoren betonten, dass sie, obwohl sie schwere Erkrankungen beim Mensch für eher unwahrscheinlich halten, das Schwein als Reservoir für EHEC nicht ausschließen können. Diese Meinung vertraten ebenfalls Barth et al. (2007).
Auch Fratamico et al. (2004) fanden in den USA bei einer Studie humanpathogene STEC-Stämme in Schweinen, allerdings gehörte keiner davon zum Serotyp O157. Bei den Untersuchungen waren 70 % der getesteten Schweine positiv für Stx1 oder Stx2.

Die Frage welche Bedeutung das Schwein als Überträger für EHEC im menschlichen Infektionsgeschehen spielt, kann nicht endgültig beantwortet werden.

2.2.10.3 Geflügel

E.coli beim Geflügel werden in der Gruppe der APEC, der **a**viär **p**athogenen ***E.c****oli*, zusammengefasst. Sie verursachen vor allem bei Huhn und Pute verschiedene Erkrankungen, weisen allerdings in aller Regel kein klassisches STEC/EHEC-Virulenzprofil auf. Bei der Untersuchung von Broilern mit klinischen Symptomen auf STEC-Virulenzfaktoren konnte in keinem von 50 Stämmen Shigatoxin oder Intimin nachgewiesen werden (Dias da Silveira et al. 2002).
Auch Parreira und Gyles (2002) beschäftigten sich mit dem Vorkommen von Shigatoxinen bei APEC. Die Autoren untersuchten insgesamt 97 Isolate von Hühnern und Puten, die an tiefer Dermatitis, Septikämie oder dem Swollen-Head-Syndrom erkrankt waren, sowie von gesunden Hühnern und fanden bei 53 % der Proben *stx*-Gensequenzen, wobei hauptsächlich *stx1* nachgewiesen wurde. Das *eae*- oder E-*hly*-Gen wurden nie gefunden. Die Autoren konnten also zeigen, dass *stx*-Gene in der Gruppe der APEC weit verbreitet sind, allerdings wurde keine zytotoxische Aktivität auf Verozellen beobachtet. Dies ließ die Wissenschaftler darauf schließen, dass die humanklinische Bedeutung der APEC eher gering ist.
Fries et al. (2005) untersuchten untauglich beurteilte Schlachtkörper von Puten auf STEC. Die Tiere waren klinisch unauffällig, post mortem wurde allerdings fibrinöse Serositis festgestellt. Stämme mit STEC-typischen Merkmalen konnten nicht isoliert werden. Auch Beutin et al. (1993) konnten im Kot gesunder Hühner keine STEC nachweisen. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Bedeutung von Geflügel als Reservoir für den Menschen lange für gering gehalten.
Andere Ergebnisse, die diese Ansicht widerlegen, präsentierten Dipineto et al. (2006): Die Arbeitsgruppe fand bei der Untersuchung von Kloakentupfern aus lebenden Legehennenbeständen STEC des Serovars O157:H7, welches nicht im Zusammenhang mit gastrointestinaler Erkrankung der Tiere stand. Die Autoren zeigten, dass in Legehennen ein neues wichtiges Reservoir für STEC-O157:H7-Stämme gesehen werden muss.

Mehr Beachtung im STEC/EHEC-Infektionsgeschehen wird schon seit längerem den **Tauben** geschenkt: so wurde bei 12,5 % gesunder Tiere eine neue *stx2*-Genvariante, *stx2f*, nachgewiesen (Schmidt et al. 2000). Sonntag und Kollegen zeigten, dass *stx2f* beim Menschen mit Durchfallerkrankung assoziiert sein kann (Sonntag et al. 2005b).
Wichtige Erkenntnisse in diesem Zusammenhang liefern auch Untersuchungen von Kotproben von Brief-, Rasse-, und Stadttauben (Großmann et al. 2005): Hierbei wurden bei 66,9 % der Proben Shigatoxingene gefunden, bei 36 % *stx1*, bei 9 % *stx2* und bei 37% *stx2f*, wobei hier der Anteil der Stadttauben am größten war. Nach Ansicht der Autoren kann *stx2f* als taubenspezifisch angesehen werden, allerdings wurde hier erstmals das Vorkommen von *stx1*- und *eae*-positiven STEC beschrieben. Die Wissenschaftler forderten deshalb die Betrachtung von Tauben, vor allem von Rasse- und Brieftauben, unter dem Aspekt einer möglichen Zoonose.

2.2.10.4 Hund und Katze

Bei Hund und Katze wurden regelmäßig STEC nachgewiesen, allerdings seltener als bei anderen Tierarten (Beutin et al. 1993). Ihre Bedeutung als krankmachendes Agens bei den Tieren selbst ist unklar (Beutin 1999). Sancak et al. (2004) detektierten die Bakterien bei Hunden mit akutem und chronischem Durchfall, allerdings auch bei klinisch gesunden Tieren, wobei bei dieser Gruppe der Anteil der Ausscheider deutlich geringer war. Auch Thamm (2000) hat *stx*-Gene sowohl bei gesunden als auch bei durchfallkranken Hunden gefunden. Hier waren 2,5mal häufiger Jungtiere als adulte Hunde betroffen.
Fenwick und Cowan (1998) sahen eine Verbindung von STEC zur *idiopathic cutaneous and renal glomerular vasculopathy of greyhounds* (CRGV oder CRVG). Diese Erkrankung weist klinische und pathophysiologische Gemeinsamkeiten mit dem HUS des Menschen auf. Die Autoren konnten bei einem Großteil, wenn auch nicht bei allen, an CRVG erkrankter Tiere STEC-Stämme nachweisen.

Die epidemiologische Rolle jedoch, die Hund und Katze bei an HUS erkrankten Kindern spielen ist eher unbedeutend, auch wenn einige Stämme mit humanpathogenen Merkmalen bei beiden Tierarten gefunden wurden (Bentacor et al. 2007).

Busch et al. (2007a) berichteten von einem Fall, bei dem bei Mensch und Katze enterohämorrhagische *Escherichia coli* mit den selben Pathogenitätsgenen gefunden wurden. Während beim Menschen blutiger Durchfall und Erbrechen auftrat, verhielt sich die Katze asymptomatisch. Die entscheidende Frage, ob hier das Tier den Menschen oder der Mensch das Tier infiziert hat, ließ sich nicht eindeutig klären. Epidemiologische Überlegungen machten allerdings den Infektionsweg Mensch-Katze wahrscheinlich. Dies ist ein völlig neuer Aspekt, dem Beachtung geschenkt werden muss. Im geschilderten Fall wurde die Katze erfolgreich mit einer eigens hergestellten Schluckvaccine behandelt.

2.2.10.5 Andere Tierarten

Auch **Kaninchen** stellen eine potentielle Infektionsquelle für den Menschen dar. Bei dieser Tierart fanden sich *stx1*- und *eae*-positive STEC-Stämme, allerdings nie *stx2* (Garcia und Fox 2003).

Ebenso wurde von **Pferden** im Zusammenhang mit EHEC-Infektionen beim Menschen berichtet (Chalmers et al. 1997). Auch Pirchner et al. (2005) isolierten aus Pferdefaeces einen EHEC-Stamm, welcher über Stx2c und Enterohämolysin verfügte und dem Serovar O113:H2 angehörte.

Untersuchungen von Wildtieren eines Zoologischen Gartens durch PCR zeigten bei insgesamt 50,8 % der untersuchten Kotproben Shigatoxin-Gene auf. Tiere der Ordnung Cetariodactyla und Rodentia konnten bei diesen Untersuchungen erstmals als EHEC-Reservoir ermittelt werden (Leotta et al. 2006). Auch bei in freier Wildbahn lebenden Tieren wurden die Bakterien gefunden, so bei **Seemöwen** (Makino et al. 2000), **Wildschweinen** (Wahlström et al. 2003) und **Hirschen** (Asakura et al. 1998, Ishii et al. 2007). Bei Untersuchungen in Deutschland konnten Lehmann et al. (2006) 51,8 % der untersuchten Kotproben von frei lebendem Wild als *stx*-positiv ermitteln.

Bei Wildtieren überwogen allerdings generell Keime geringer Virulenz (Intimin-negativ), die vor allem den Subtypen Stx1c und/oder Stx2d zuzuordnen waren (Lehmann et al. 2006, Ishii et al. 2007).

2.2.11 Möglichkeiten zur Unterbrechung der Infektionskette Tier – Mensch

Bei der großen Bedeutung, die Tiere im humanen Infektionsgeschehen haben, drängt sich die Frage nach Möglichkeiten zur Senkung des vom Tier ausgehenden Infektionsrisikos auf: Zum einen gibt es Versuche über eine Modifizierung des Fütterungsmanagements die STEC-Ausscheidungsrate bei Wiederkäuern zu beeinflussen. Verschiedene Arbeitsgruppen kamen hierbei zu widersprüchlichen Ergebnissen. So vertraten Hovde et al. (1999) und Bülte (2004) die Meinung, dass eine überwiegende Kraftfuttergabe mit einer Erhöhung der kurzkettigen Fettsäuren im Pansen und einer damit einhergehenden pH-Wert-Senkung zu einer Reduzierung der STEC-Ausscheidung führt. Alkalische pH-Werte, bedingt durch Heufütterung, würden dagegen eine Vermehrung der STEC und somit erhöhte Ausscheidungsraten bewirken. Da jedoch *E. coli* die Säurebarriere des Magens unterlaufen können (DeJonge et al. 2003, Forster 2004, Large et al. 2005), kann nach Bülte (2004) eine Umstellung der Fütterung nur zu einer Verminderung, nicht zu einer Vermeidung, der STEC-Ausscheidung führen. Allerdings könnte nach Ansicht des Autors eine entsprechende Umstellung des Futters circa eine Woche vor der Schlachtung der Tiere den Eintrag von *E. coli* reduzieren. In *vitro* Untersuchungen von Boukhors et al. (2002) belegten, dass Kraftfuttergabe zu einem sauren pH-Wert im Pansen führt, welcher sich nachteilig auf das Bakterienwachstum, nicht aber das Überleben der STEC auswirkt. Andere Quellen dagegen berichten den umgekehrten Effekt: Hier konnte die STEC-Ausscheidung durch Heufütterung im Gegensatz zu Kraftfuttergabe gesenkt werden (Diez-Gonzalez et al. 1998, Gregory et al. 2000).
Auch der Haltungsform der Tiere muss Beachtung geschenkt werden: Bülte (2002) verzeichnete bei einer Mutterkuhherde einen deutlichen Anstieg der STEC-Ausscheidung bei Weidehaltung im Vergleich zu Stallhaltung.
Eine weitere Möglichkeit zur Senkung der STEC-Ausscheidung sah Bülte (2002) in der gezielten Fütterung von Probiotika.

Mehrere Autoren berichteten hierbei von Erfolgen sowohl durch Nutzung des Prinzips der „competitive exclusion“ als auch durch Zugabe des Bakteriums *Lactobacillus acidophilus* sowohl bei adulten Wiederkäuern als auch bei Jungtieren (Zhao et al. 1998, Brashears et al. 2003, Tkalcic et al. 2003, Zhao et al. 2003, Younts-Dahl et al. 2005).

Weitere Möglichkeiten, die diskutiert wurden, sind der Einsatz von Antibiotika, Jonophoren, Bakteriophagen und Impfungen (Callaway et al. 2004).

Gute Ergebnisse wurden mit dem Antibiotikum Neomycin erzielt (Elder et al. 2002). Das Problem hierbei ist jedoch, wie bei jedem Antibiotikaeinsatz bei einer Resistenzbildung zu sehen. Callaway et al. (2004) hielten Neomycin jedoch in Anbetracht einer Wartezeit von nur 24 Stunden und einer geringen Verwendung in der Humanmedizin für durchaus viel versprechend zur Senkung der STEC-Aussscheidungsraten. Hierzu ist zu beachten, dass die Gabe von Antibiotika bei EHEC-Infektionen in der Humanmedizin als kontrainduziert angesehen wird. Sie kann zur Verlängerung der Bakterienausscheidung und zur Stimulierung der Toxinbildung führen (RKI 2008).

Substanzen, die immer wieder im Zusammenhang mit der Reduzierung der Bakterien bei Wiederkäuern Erwähnung fanden, sind Chlorate. Ihr Wirkprinzip beruht darauf, dass die bakterielle Nitratreduktase nicht zwischen Nitrat und seinem Analogum, Chlorat, unterscheiden kann. So wird Chlorat in Chlorit, welches für die Bakterien tödlich ist, umgewandelt (Stewart 1988, Callaway et al. 2004). Erfolge mit dieser Methode wurden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* von Anderson et al. (2000, 2002), Callaway et al. (2002), Callaway et al. (2003), Edrington et al. (2003) und Anderson et al. (2005) beschrieben. Hierbei gab es keine Berichte von nachteiligen Auswirkungen auf die Tiere.

Eine weitere Präventionsmöglichkeit, Impfungen, werden derzeit *in praxi* bei keiner Tierart angewendet, auch wenn es wissenschaftliche Überlegungen in diese Richtung gibt. Potter et al. (2004) berichteten von Erfolgen bei der Impfung von Rindern mit Tir und EspA, Typ-III-sezernierten Proteinen. Cook et al. (2005) verzeichneten gute Resultate mit der oralen Gabe von *Escherichia coli* O157:H7-IgY. Auch Dziva et al. (2006) vaccinierten Kälber gegen eine Infektion mit O157:H7 mit EspA und konnten so ein humorale Immunantwort bei den Tieren erzielen. Allerdings bildete sich kein Schutz gegen eine Darmbesiedelung der Bakterien aus. Eine EHEC-ausscheidende Katze wurde jedoch mit Erfolg mit einer

extra hergestellten Autovaccine behandelt. Hierzu wurde dem Tier an zehn aufeinander folgenden Tagen der hitzeinaktivierte EHEC-Stamm peroral verabreicht (Busch et al. 2007a), was zu seiner Elimination führte.

2.2.12 Bedeutung beim Lebensmittel

In Anbetracht der hohen Prävalenz von STEC bei Nutztieren ist das Vorkommen dieser Bakterien in Lebensmitteln tierischen Ursprungs nicht überraschend (Meng und Doyle 1998). Die Erstbeschreibung der Pathogruppe EHEC erfolgte bei dem nicht ausreichend erhitzten Fleischprodukt „Hamburger“ (Riley et al. 1983). Seitdem beschrieben viele Autoren den Nachweis dieser Bakterien aus Fleisch, Fleischwaren oder auch Rohmilchprodukten (Murinda et al. 2004, Messelhäußer 2005, Barlow et al. 2006, Caro und Garcia-Armesto 2007, Hazarika et al. 2007, Messelhäußer et al. 2007, Mora et al. 2007a, Mora et al. 2007b, Perelle et al. 2007, Varela-Hernandez et al. 2007).

Die Kontamination von Lebensmitteln tierischen Urprungs erfolgt in erster Linie durch Verunreinigung beim Schlachtvorgang (Meng und Doyle 1998, FAO/WHO 2002) oder beim Melken (FAO/WHO 2002).

Da mit Kot verunreinigtes Fleisch nach der VO (EG) 854/2004 für genussuntauglich zu erklären ist, kann es sich nur um Kontamination durch Fäkalpartikel handeln. Denkbar ist auch eine Kontamination von Fleisch durch Verletzung der Gallenblase beim Schlachtvorgang, da dieses Organ beim Rind *E. coli* O157 transient oder permanent beherbergen kann (Jeong et al. 2007). Auch ist eine Kontamination des Fleisches durch Ausscheider am Schlachthof möglich (Gareis et al. 2000, Stephan et al. 2000).

Das größte Risiko einer EHEC-Infektion durch Lebensmittel liegt somit im Verzehr roher Fleischprodukte, vor allem vom Rind, und von Rohmilch. So fanden Mora et al. (2007b) STEC in 12 % der untersuchten Rinderhackfleischproben, wobei 1 % dem Serovar O157:H7 zuzurechnen war. Neben den Shigatoxinen konnten ebenfalls Enterohämolysin und Intimin nachgewiesen werden. Perelle et al. (2007) konnten in 2,6 % der untersuchten Hackfleischproben und bei 4,8 % der getesteten Rohmilchproben Shigatoxine detektieren.

Chapmann et al. (2001) prüften das Vorkommen von EHEC des Serotyps O157 bei Rindern und Schafen am Schlachthof und in rohen Lebensmitteln dieser Tierarten im gleichen Zeitraum. Obwohl 12,9 % der Kotproben positiv befunden wurden, waren nur bei 0,4 % der Rind- und Lammfleischprodukte die gesuchten Bakterien nachzuweisen. Die Ursache hierfür sah Bülte (2004) in der hygienisch einwandfreien schlachttechnologischen Bearbeitung der Tierkörper unter Vermeidung einer fäkalen Kontamination. Geeignete Maßnahmen hierfür und hygienisch kritische Punkte im Schlachtprozess sind der Verschluss der Speiseröhre (Rodding), die Umhüllung und der Verschluss der Analregion, der Fellabzug und die Eröffnung der Bauchhöhle mit dem Ausweiden des Magen-Darm-Traktes (Bülte 2001).

Neben Rohmilch kommen auch Milchprodukte, wie zum Beispiel Weichkäse oder Schaf- und Ziegenkäse (Rey et al. 2006, Caro und Garcia-Armesto 2007, Mora et al. 2007a) als Infektionsquelle in Betracht. Ebenso müssen neben Fleisch auch Wurstwaren im Infektionsgeschehen Beachtung finden: In Kanada kam es 1999 zu einem EHEC-O157:H7-Ausbruch, der auf den Verzehr von Salami zurückzuführen war (MacDonald et al. 2004). Oteiza et al. (2006) testeten 3 % der untersuchten *Moracillas*, eine argentinische Rohwurstspezialität, positiv auf Shigatoxine. Streichfähige Rohwurst war auch das Lebensmittel, bei dem Messelhäußer et al. (2007) am häufigsten *stx*-positive Resultate verzeichneten.
Im Schnellwarnsystem der Europäischen Union für Lebens- und Futtermittel (RASFF, Rapid Alert System for Food and Feed) wurden in der Rubrik mikrobiologische Gefahren *Escherichia coli* des Serotyps O103 und O157 bei den Lebensmittelkategorien Fleisch, Obst/Gemüse und Kräuter/Gewürze erfasst (Europäische Kommission 2007).

Das RKI (2005) forderte zur Prävention von EHEC-Infektionen in diesem Zusammenhang den Verzicht auf den Genuss von rohen tierischen Lebensmitteln und eine ausreichende Erhitzung entsprechenden Materials: So soll Rohmilch, auch Vorzugsmilch, generell abgekocht werden, bereits eine Kurzpasteurisierung (72 °C für mind. 15 Sekunden) genügt zur Eliminierung der Bakterien. Weiterhin wird die Bedeutung aseptischer Bedingungen beim Abfüllen in der Molkerei betont, um eine Rekontamination zu verhindern (RKI 2005).

Bei Fleisch wurden Kerntemperaturen von > 68 °C (FAO/WHO 2002) bzw. 70 °C für mindestens 10 Sekunden (RKI 2005) empfohlen um STEC sicher abzutöten.

Auch pflanzliche Lebensmittel rücken im Zusammenhang mit STEC-Infektionen häufig in den Blickpunkt. Die Verunreinigung dieser Lebensmittelgruppe erfolgt über mit STEC kontaminiertes Wasser oder Gülle (FAO/WHO 2002). In Japan konnten mit Kot kontaminierte Rettichsprossen als Ursache für einen der bisher größten EHEC-Ausbrüche ermittelt werden (Itoh et al. 1998). Im Jahr 2006 erkrankten in den USA 199 Personen durch den Verzehr von rohem Spinat (Maki 2006). Solomon et al. (2002) wiesen nach, dass *E. coli* O157:H7 aus Boden und Wasser Salatpflanzen über das Wurzelwerk besiedeln kann. Auch Salat wurde als Infektionsquelle ermittelt, so bei einem EHEC-Ausbruch in Schweden (Welinder-Olsson et al. 2004): Das Personal einer Kinderklinik erkrankte nach dem Verzehr von Salat auf einer Betriebsfeier. Eine Übertragung von Personal auf Patienten wurde nicht berichtet.

Ein weiteres Reservoir für STEC stellen Schalentiere dar (Gourmelon et al. 2006). Die Autoren wiesen in 27,8 % der getesteten Muscheln, Austern und Herzmuscheln von der französischen Küste unterschiedliche STEC-Serotypen und Shiga-Toxin-Typen, darunter auch den relativ seltenen Subtyp Stx1d, nach. Es war keine Korrelation zwischen der *E. coli*-Zahl und dem Vorkommen von STEC festzustellen.

Zusammenfassend kommen nahezu alle Lebensmittel durch direkte oder indirekte Kontamination als potentielle Infektionsquelle in Betracht. Allerdings spielt nach Angaben des RKI (2006) die Übertragung von EHEC durch Lebensmittel bei **Kleinkindern**, die die Bevölkerungsschicht mit der höchsten EHEC-Inzidenz darstellen, eine eher untergeordnete Rolle. Hier überwiegen die Übertragungen von Mensch zu Mensch. Weiterhin stellte sich heraus, dass bei Lebensmitteln in Deutschland STEC-Serovare dominieren, die häufig bei **Erwachsenen** mit Durchfall nachgewiesen wurden (Beutin 2007a).

2.2.13 Bedeutung beim Wasser

Wasser spielt seit jeher eine wichtige Rolle als Überträger verschiedener Krankheitserreger, so auch für STEC/EHEC. Mit den Bakterien kontaminiertes Trink-, Schwimmbecken-, Oberflächen- oder Abwasser kann zur Erkrankung führen.
Bereits in den 90er Jahren wurde in England von einem Fall berichtet, bei dem als Auslöser für Hämorrhagische Colitis Schwimmen in einem See ermittelt wurde (Keene et al. 1994). Auf Trinkwasser dagegen wurde ein *E. coli* O157-Ausbruch in Walkerton, Kanada, im Jahr 2000 zurückgeführt. Hier erkrankten insgesamt 2003 Personen an Durchfall oder HUS, 18 Personen verstarben (WHO 2000, Schindler 2004, Garg et al. 2005). In Bayern wird Trinkwasser seit 1997 auf EHEC untersucht, wobei als erste positive Probe im Jahr 1998 Wasser aus einer Einzelwasserversorgung ermittelt wurde (Schindler 2004).

Die Belastung des Wassers mit EHEC kommt durch gewässernahen Viehtrieb, Weidenutzung, Gülleausbringung oder auch durch punktuelle Abwassereinleitungen aus Kläranlagen zustande (Vernozy-Rozard et al. 2002, Chern et al. 2004, Spano et al. 2005). Um die Bedeutung von Kläranlagen im Infektionsgeschehen abzuklären, wurde in den Jahren 2003 und 2004 eine Studie mit acht bayerischen Kläranlagen durchgeführt (Burckhardt et al. 2005). Dabei waren 25 % der untersuchten Proben EHEC-positiv.

In Anbetracht dieser Beobachtungen und auch im Hinblick darauf, dass *E. coli* O157:H7 im Trinkwasser eine Überlebenszeit von über 300 Tagen und im Wasser aus Seen bei kühleren Temperaturen von mehreren Wochen hat (Wang et al. 1998, Warburton et al. 1998), muss Wasser als Überträger in epidemiologischen Überlegungen berücksichtigt werden.

2.3 Rechtliche Grundlagen

Die wichtigste Rechtsnorm im Zusammenhang mit einer EHEC-Infektion ist das „Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen“ (**IfSG**) aus dem Jahr 2001. Nach diesem Gesetz zählen Infektionen mit EHEC zu den meldepflichtigen Erkrankungen. So ist nach § 6 (1) 1f des IfSG der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an enteropathischen hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS) namentlich zu melden. Gemeldet werden muss also bereits der Krankheitsverdacht von HUS, was Bales et al. (2003) damit begründeten, dass der Erregernachweis oft erst relativ spät erfolgt oder der Erreger nicht mehr nachweisbar ist. Die frühe Meldung ermögliche eine schnelle Auffindung der Infektionsquelle.
Nach § 7 (1) 12a des IfSG unterliegt weiterhin der direkte oder indirekte Nachweis von „*Escherichia coli*, enterohämorrhagische Stämme (EHEC)“ der namentlichen Meldepflicht. Die besondere Bedeutung von EHEC wird hier durch seine getrennte Auflistung von „*Escherichia coli*, sonstige darmpathogene Stämme“ (IfSG § 7(1)12b)) hervorgehoben.
Nach § 7 des IfSG sind also Nachweise bei vom Menschen stammenden Untersuchungsmaterial zu melden. Bales et al. (2003) kommentierten an dieser Stelle, dass Erreger in sonstigem Material, also z. B. Kot von Nutztieren oder Lebensmittel, **nicht** unter die Meldepflicht fallen. Erst wenn ein direkter Zusammenhang zwischen dem Nachweis in nicht humanen Material und einer konkreten akuten Infektion eines Menschen bestehe, so hat nach Bales et al. (2003) auch hier eine namentliche Meldung zu erfolgen.

Meldungen müssen grundsätzlich die vom RKI vorgegebenen Falldefinitionen zur Übermittlung von Erkrankungs- oder Todesfällen und Nachweisen von Krankheitserregern nach § 4 Abs. 2 des IfSG erfüllen. So ist nach der Falldefinition Nr. 14a der Nachweis einer EHEC-Infektion erfolgt, wenn **Shigatoxin** durch ELISA aus einem Isolat oder wenn **Shigatoxingene** aus einer Stuhlanreicherung, Mischkultur oder aus einem Isolat nachgewiesen wurden (RKI 2007).

Das IfSG regelt weiterhin Maßnahmen für Patienten und Kontaktpersonen: so dürfen nach § 34 Abs.1 des IfSG Personen, die an EHEC erkrankt oder auch nur verdächtig sind in Gemeinschaftseinrichtungen keine Lehr-, Erziehungs-, Pflege-, Aufsichts-, oder sonstige Tätigkeiten ausüben, bei denen sie Kontakt zu den dort Betreuten haben, bis nach ärztlichem Urteil eine Weiterverbreitung der Krankheit durch sie nicht mehr zu befürchten ist.
Ebenso dürfen gemäß § 42 des IfSG Personen, die EHEC ausscheiden, nicht beim Herstellen, Behandeln oder in Verkehr bringen bestimmter Lebensmittel, die in § 42 Abs.1 des IfSG aufgeführt sind, tätig sein oder beschäftigt werden.
Dies macht deutlich, wie weit reichend die Konsequenzen einer EHEC-Infektion sind und wie gegebenenfalls der Alltag einer betroffenen Person eingeschränkt werden kann. Oberparleitner et al. (2007) berichten von einem Metzger, bei dem durchgehend über drei Jahre *stx*-Gene nachgewiesen wurden und der während dieser Zeit nicht auf seinem ursprünglichen Betätigungsfeld arbeiten konnte.

Aus tierseuchenrechtlicher Sicht zählen Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* zu den meldepflichtigen Erkrankungen bzw. Erregernachweisen (Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten, Anlage zu § 1 Nr. 28). Nach § 1 (1) muss das Auftreten des Erregers vom Leiter der Veterinäruntersuchungsämter, der Tiergesundheitsämter, oder sonstiger öffentlicher oder privater Untersuchungsstellen unverzüglich der nach Landesrecht zuständigen Behörde unter Angabe des Datums der Feststellung, der betroffenen Tierarten, des betroffenen Bestandes und des Kreises oder der kreisfreien Stadt gemeldet werden.

Nach aktuellem Lebensmittelrecht darf ein Lebensmittel keine Gefährdung für die menschliche Gesundheit darstellen. Dies ist in Art.14 der **VO (EG) 178/2002** und in § 5 des **LFGB** verankert: „*Es ist verboten, Lebensmittel für andere derart herzustellen oder zu behandeln, dass ihr Verzehr gesundheitsschädlich ... ist*“ (LFGB § 5 (1)) bzw. „*Lebensmittel, die nicht sicher sind, dürfen nicht in Verkehr gebracht werden*“ (VO (EG) 178/2002 Art. 14 (1)).
Nach Art. 14 (2) a der VO (EG) 178/2002 gilt ein Lebensmittel als nicht sicher, wenn davon auszugehen ist, dass es **gesundheitsschädlich** ist.

Nach einem **ALTS** (Arbeitskreis der auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene und der vom Tier stammenden Lebensmittel tätigen Sachverständigen)-Beschluss (2001) ist bezüglich STEC eine Beurteilung nach § 8 des LMBG (jetzt Artikel 14 Abs. 2a der VO (EG) 178/2002) möglich, wenn nach positivem PCR- bzw. Real-Time-PCR-Ergebnis auch ein kultureller Nachweis des Keims geführt werden kann (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, L 07-18-1, 2002) und es sich um ein verzehrsfertiges Lebensmittel handelt. Somit werden Lebensmittel nach PCR-Nachweis von *stx* und anschließender kultureller Bestätigung als "gesundheitsschädlich" und damit „nicht sicher" gemäß Art. 14 Abs. 1 in Verbindung mit Absatz 2a der VO (EG) 178/2002 eingestuft. Werden die Bakterien in einem Lebensmittel nachgewiesen, das vor Verzehr durcherhitzt wird, wird es als „gesundheitsschädlich" und damit als „nicht sicher" im **rohen** Zustand gemäß Art. 14 Abs. 1 in Verbindung mit Abs. 2a der VO (EG) 178/2002 eingestuft. Da die VO (EG) 178/2002 allerdings auch die Verzehrsgewohnheiten sowie die Information des Verbrauchers berücksichtigt (Art. 14 Abs. 3) kann dieses Lebensmittel unter der Voraussetzung, dass es vor Verzehr durcherhitzt wird (entsprechende Kenntlichmachung auf der Verpackung), als „sicher" eingestuft werden (Messelhäußer, persönliche Mitteilung, 2007).

Eine weitere Rechtsvorschrift zur Lebensmittelsicherheit ist die **VO (EG) 2073/2005** über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. Die Zielgruppe, an die sich diese Verordnung richtet, sind die Lebensmittelunternehmer, die die Hauptverantwortung für die Sicherheit eines Lebensmittels tragen (VO (EG) 852/2004 Art. 1 (1) a). Nach Art. 3 (1) der VO (EG) 2073/2005 haben Lebensmittelunternehmer sicherzustellen, dass die in **Anhang I** dieser Verordnung aufgeführten mikrobiologischen Kriterien eingehalten werden. Die Verordnung unterscheidet Sicherheitskriterien und Prozesshygienekriterien. So spielt die Spezies *E. coli* bei den verschiedenen Lebensmittelgruppen als Indikator für eine Fäkalkontamination eine Rolle. STEC/EHEC gesondert wurden aufgrund einer Stellungnahme des Sub-Committee on Veterinary Public Health (SCVPH) nicht aufgenommen (VO (EG) 2073/2005 (14)).

Nach Art. 1 Satz 2 bleibt es jedoch Recht der zuständigen Behörde, „*weitere Probenahmen und Untersuchungen in Rahmen von Prozesskontrollen in Fällen, in denen der Verdacht besteht, dass Lebensmittel nicht unbedenklich sind, oder im Zusammenhang mit einer Risikoanalyse durchzuführen, um* ***andere***

***Mikroorganismen**, deren Toxine oder Metaboliten nachzuweisen oder zu messen".* Auch Krämer (2008) betont im Zusammenhang mit rechtsverbindlichen mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel besonders die Eigenverantwortung der Unternehmen: letztlich läge die Verantwortung für ein Lebensmittel beim Hersteller, er habe dafür Sorge zu tragen, dass sein Lebensmittel unbedenklich ist ebenso hinsichtlich der klassischen Erreger wie Salmonellen wie auch im Hinblick auf Erreger, die zunehmend an Bedeutung gewinnen, wie STEC/EHEC oder Viren.

Die Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) erstellte für verschiedene Lebensmittelgruppen mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung. Die Werte sind rechtlich nicht bindend, geben aber Anhaltspunkte hinsichtlich der Einhaltung allgemeinener Hygieneanforderungen. Die angegebenen Richt- oder Grenzwerte für *Escherichia coli* gelten als Hygieneindikatoren. Sollte das Ziel der Untersuchungen der Ausschluss pathogener *E. coli*-Species sein, sind die Richt und Warnwerte nicht anzuwenden. Die Isolate müssen in diesem Fall hinsichtlich des Vorkommens bestimmter Pathogenitätseigenschaften geprüft werden (Krämer 2007).

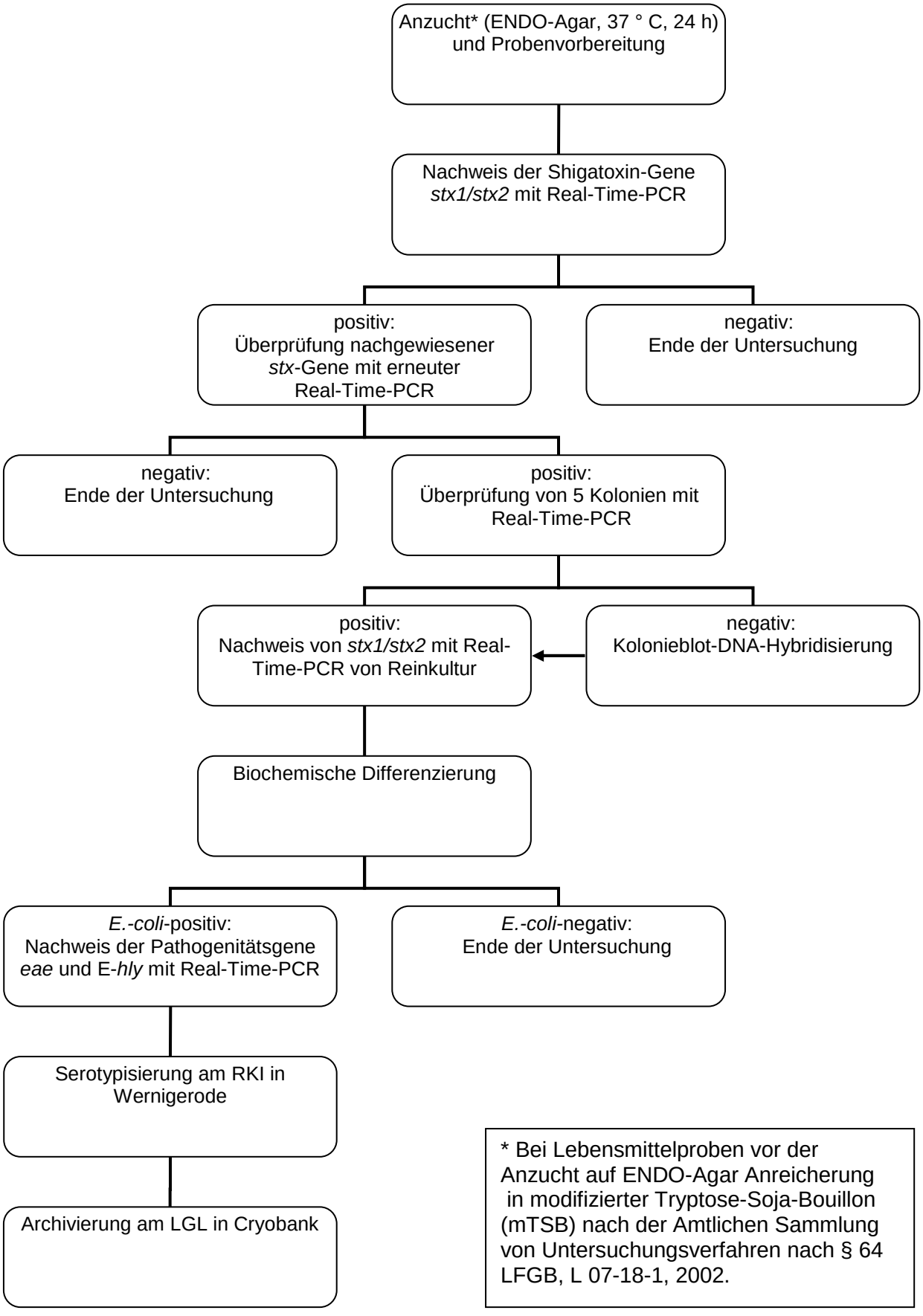
Eine ähnliche Situation findet sich auch in Rechtsvorschriften, die das Wasser betreffen. In § 1 der TrinkwV von 2001 wird als Zweck dieser Verordnung der Schutz der **menschlichen** Gesundheit genannt. STEC/EHEC werden auch hier nicht explizit genannt, die so genannten Kolibakterien spielen wiederum eine wichtige Rolle als Indikatorkeime für eine frische fäkale Kontamination und dürfen in 100 ml nicht nachweisbar sein. Gütekriterien für Badegewässer finden sich in der Richtlinie 2006/7/EG. Hier werden für *E. coli* als Indikator für eine fäkale Verunreinigung Werte von bis zu 1000 Bakterien/100 ml für Binnengewässer angegeben. Untersuchungen von Badegewässern auf STEC/EHEC sind nicht vorgeschrieben. Seit 1998 wurden in Bayern Proben von EG-Badegewässern mit Koloniezahlen von über 200 *E. coli* pro 100 ml auf EHEC untersucht, Wasserproben von Nicht-EG-Badeplätzen oder Flüssen dagegen nur auf Anordnung der jeweiligen Gesundheitsämter (Schindler et al. 2003).

3 MATERIAL UND METHODEN

Am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Oberschleißheim als zentraler Fachbehörde werden humane Stuhlproben, Kotproben von Haus- und Nutztieren, Lebensmittel tierischen und pflanzlichen Ursprungs, sowie Trink- und Oberflächenwasser auf das Vorliegen von STEC/EHEC untersucht.
Die humanen Stuhlproben, die in der vorliegenden Studie analysiert wurden, stammten entweder von Patienten mit Durchfallsymptomatik, mit HUS, Verdacht auf HUS oder von symptomlosen Ausscheidern. Kotproben von Haus- und Nutztieren wurden in der Regel im Rahmen von Umgebungsuntersuchungen auf STEC/EHEC untersucht – also vielmehr zur Abklärung der Infektionsquelle des erkrankten Menschen als zur Diagnostik von enteralen Symptomen beim Tier selbst. Bei den auf STEC/EHEC untersuchten Lebensmitteln handelte es sich um Proben im Rahmen des Probenplans sowie um Verdachts- oder Beschwerdeproben, bei den Wasserproben um Verdachtsproben.

Die EHEC-Diagnostik erfolgte am LGL mit kulturtechnischen und molekularbiologischen Methoden. Bis zum Jahr 2003 wurde der Nachweis der Shigatoxingene *stx1* und *stx2* mit konventioneller PCR durchgeführt, während ab 2004 die Real-Time-PCR in der Routinediagnostik etabliert wurde. An den Shigatoxin-Gen-Nachweis schloss sich die Keimisolierung durch Kolonieblot-DNA-Hybridisierung, die biochemische Prüfung der Keime, der Nachweis weiterer Pathogenitätsgene (*eae* und E-*hly*) und letztlich die Serotypisierung an, die am Robert Koch-Institut in Wernigerode durchgeführt wurde. Der vollständige Untersuchungsablauf ist in Abbildung 1 dargestellt.

Abb. 1: Der Datensammlung zugrunde liegender Untersuchungsablauf



3.1 Datenermittlung und Auswertung

Im Rahmen dieser Studie wurden Laborbücher und Befundberichte des EHEC-Labors am LGL Oberschleißheim aus den Jahren 2002 bis 2006 ausgewertet, alle positiven Ergebnisse mit geno- und phänotypischen Merkmalen analysiert und durch eigene Versuche ergänzt. Jede positive Probe wurde hinsichtlich der Pathogenitätsfaktoren Shigatoxin-1 (*stx1*), Shigatoxin-2 (*stx2*), Intimin (*eae*) und Enterohämolysin (E-*hly*) sowie des Serovars erfasst. Bei Proben humanen Ursprungs wurde weiterhin das Alter der *stx*-positiven Personen, bei Tieren die Tierart und bei Lebensmitteln die Art des Lebensmittels aufgenommen. Proben humanen Ursprungs auf die Bezug genommen wurde, kamen aus ganz Bayern, während Kotproben von Tieren, Lebensmittel-, und Wasserproben aus dem südbayerischen Raum stammten.
Zur Auswertung der ermittelten Daten wurde mit Methoden der deskriptiven Statistik gearbeitet.

Tab. 3: Anzahl der STEC/EHEC-Untersuchungen in den Jahren 2002-2006

Herkunft der Proben	**Jahr 2002**	**2003**	**2004**	**2005**	**2006**	**Summe**
Mensch	3118	4500	3491	3505	3078	**17692**
Tier	428	332	163	123	104	**1150**
Lebensmittel	244	80	175	333	253	**1085**
Wasser	1150	1088	624	444	427	**3733**
Summe	**4940**	**6000**	**4453**	**4405**	**3862**	**23660**

3.2 Eigene praktische Untersuchungen

Alle *stx2*-positiven Isolate des Jahres 2006 (n = 77) wurden sowohl durch PCR mit spezifischen Primern als auch durch Schmelzkurvenanalyse subtypisiert und die Ergebnisse beider Methoden verglichen.

Des Weiteren wurden insgesamt 233 *stx1*- und/oder *stx2*-positive EHEC-Isolate (185 von Menschen, 20 von Nutztieren, 10 aus Lebensmittelproben und 18 aus Wasserproben) mit PCR (Paton und Paton 2005) auf die Anwesenheit des *subA*-Gens, das für das Zytotoxin Subtilase kodiert, untersucht.

3.2.1 Probenvorbereitung

Die zu prüfenden Isolate wurden aus der Stammsammlung des LGL entnommen, auf ENDO-Agarplatten (Fa. Oxoid) ausgestrichen und 24 Stunden bei 37 ° C bebrütet. Das ENDO-Medium ist ein Selektivnährboden zum Nachweis von *Escherichia coli* und coliformer Keime. Es enthält u. a. Natriumsulfit und Fuchsin (siehe Anhang 8.1.2, S. 95), die einerseits das Wachstum grampositiver Keime hemmen, andererseits die Kolonien rot färben. *Escherichia coli*-Kolonien sind zusätzlich an einem metallenen Fuchsinglanz zu erkennen.
Nach der Inkubation und Reinheitsprüfung wurde je eine Einzelkolonie mit einer sterilen Öse in je ein Reaktionsgefäß mit 200 µl 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung eingerieben. Von dieser Suspension wurden 20 µl in 400 µl AmpuWa® (Fa. Fresenius) überpipettiert und als Ansatz für die nachfolgenden Untersuchungen, PCR und Real-Time-PCR, verwendet.
Die so vorbereiteten Proben wurden gemischt und bei 95 ° C für 15 Minuten erhitzt. Dies führt zur Abtötung und Zerstörung der Zellen und gleichzeitig zur Freisetzung der Bakterien-DNA.
Anschließend wurden die Proben zentrifugiert (15 s bei 14000 U), um Kreuzkontaminationen beim Öffnen zu vermeiden.

3.2.2 Real-Time-PCR

Die Methode der Real-Time-PCR kam zur Ermittlung der Pathogenitätsgene *stx1, stx2, eae und* E-*hly* zum Einsatz. Im Rahmen der Studie eingesetzte Primer und Sondensysteme sind in den Tabellen 4 und 5 dargestellt.

Tab. 4: Primer für die Real-Time-PCR auf *stx1/stx2* bzw. *eae/*E-*hly*

Primer	**Bezeichnung**	**Sequenz**	**Literatur**
stx1 und *stx2*	STEC-1	5`-GA(A/G) C(A/G)A AAT AAT TTA TAT GTG-3`	Reischl et al. (2002)
	STEC-2	5`-TGA TGATG(A/G) CAA TTC AGT AT-3`	
eae	eaeA	5`-GAC CCG GCA CAA GCA TAA GC-3`	Reischl et al. (2002)
	eaeAR	5`-CCA CCT GCA GCA ACA AGA GG-3`	
E-*hly*	hlyAF	5`-GCA TCA TCA AGC GTA CGT TCC-3`	Reischl et al. (2002)
	hlyAR	5`-CCA CCT GCA GCA ACA AGA GG- 3`	

Tab. 5: Sonden für die Real-Time-PCR auf *stx1/stx2* bzw. *eae/*E-*hly*

Sondensystem	**Bezeichnung**	**Sequenz**	**Literatur**
stx1	STEC-I HP-1	5`-TTT ACG TTT TCG GCA AAT ACA GAG GGG AT-(FL)-3`	Reischl et al. (2002)
	STEC-I HP-2	5`-(Red 640)-TCG TACAAC ACT GGA TGA TCT CAG TGG G-g-Ph-3`	
stx2	STEC-II HP-1	5`-TCA GGC ACT GTC TGA AAC TGC TCC TGT GTA- (FL)-3`	Reischl et al. (2002)
	STEC-II HP-2	5`-(Red 705)-TACAAC ACT GGA TGA TCT CAG TGG G-g-Ph-3`	
eae	eae-HP-1	5`-ACA GTT CTG AAA GCG AAA TGA TGA AGG C-(FL)-3`	Reischl et al. (2002)
	eae-HP-2	5`-(Red 640)-CCT GGT CAG CAG ATC ATT TTG CCA CT-g-Ph-3`	
E-*hly*	hlyA HP-1	5`-GCA TGG CTC TTG ATG AAT TGC TGA GA-(FL)-3`	Reischl et al. (2002)
	hlyA HP-2	5`-(Red 705)- CCA CGG GAA GGA GAG GAT ATA AGT CAG-g-Ph-3`	

Red 640 Red 640-N-hydroxy-succinimide-ester (LightCycler-Farbstoff)
Red 705 Red 705-phosphoramidite (LightCycler-Farbstoff)
FL Fluorescein

Die Komponenten des eingesetzten Mastermixes finden sich in Tabelle 6. Es wurde jeweils ein 20 µl Ansatz, bestehend aus 18 µl Mastermix und 2 µl extrahierter DNA, verwendet.

Tab. 6: Komponenten des Mastermixes für die Real-Time-PCR (20 µl Ansatz)

Target	**H_2O**	**$MgCl_2$ (25 mmol/l)**	**Primer (0,5 µmol)**	**Sonde (0,2 µmol)**	**HYB MasterMIX**
stx1/stx2	7,6 µl	2,4 µl	1,0 µl	1,0 µl	2,0 µl
eae/E-*hly*	5,6 µl	2,4 µl	1,0 µl	1,0 µl	2,0 µl

18 µl Mastermix und 2 µl extrahierte DNA wurden in PCR-Glaskapillaren pipettiert, abzentrifugiert und in den LightCycler® (Roche Diagnostics, Deutschland) verbracht. Als Kontrollen dienten die Stämme TU1 (*stx1, eaeA*, E-*hly*), TU2 (*stx2*) und TU3 (ohne Virulenzfaktoren, Negativkontrolle), sowie als Positivkontrollen für die jeweiligen Subtypen die in Tabelle 12, S. 47, aufgeführten Stämme.

Das für die Real-Time-PCR verwendete Temperatur-Zeit-Programm ist in Tabelle 7 aufgeführt.

Tab. 7: Temperatur-Zeit-Programm für die Real-Time-PCR

Programmschritt	**Temperatur (°C)**	**Zeitdauer**
Prä-Denaturierung	95	10 min
Amplifizierung (50 Zyklen)		
Denaturierung	95	10 s
Annealing	50	20 s
Extension	72	30 s
Kühlung	40	30 s

3.2.3 Schmelzkurvenanalyse

Grundlage der Schmelzkurvenanalyse ist der Hyperchromie-Effekt: DNA absorbiert ultraviolettes Licht, wobei das Maximum bei einer Wellenlänge von 260 nm liegt. Die Absorption von Licht verstärkt sich mit zunehmender Denaturierung der DNA. Bei der Schmelzkurvenanalyse werden die Wasserstoffverbindungen, die die beiden Stränge der DNA-Dopppelhelix zusammenhalten, durch langsame Temperaturerhöhung von 50 °C auf 95 °C gelöst.
Die Schmelztemperatur (T_m) ist diejenige Temperatur, bei der die Hälfte des DNA-Moleküls in denaturierter Form vorliegt. Mit ansteigender Temperatur kann die Denaturierung der DNA durch kontinuierliches Messen der Absorptionszunahme ultravioletten Lichts (260 nm) graphisch als Schmelzkurve dargestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Schmelzkurvenanalyse zur Subtypisierung von Shigatoxin-2-Genen im Anschluss an die Real-Time-PCR im LightCycler® im Sinne einer Mutationsanalyse mit Hybridisierungssonden durchgeführt.
Zur Erstellung der Schmelzkurven wurde unmittelbar nach dem letzten Zyklus der Real-Time-PCR die Temperatur in der Reaktionskammer des LightCyclers® langsam um 0,1-0,2 °C/s von 50 °C auf 95 °C erhö ht. Währenddessen wurde das Fluoreszenzsignal kontinuierlich erfasst.
Zur Visulisierung der Schmelztemperaturen (T_m) wurde mathematisch die erste negative Ableitung (-dF/dT) der Schmelzkurven berechnet und aus dem Wendepunkt der Kurve T_m abgelesen. T_m ist charakteristisch für die Basenzusammensetzung und hängt sowohl von Länge und GC-Gehalt der Hybridisierungssonde als auch vom Homologiegrad innerhalb des Sonden-Target-Hybrids ab. Daher separieren Sonden, die perfekt an die Target-DNA-Sequenzen passen, bei einer höheren Schmelztemperatur T_m als jene, die mit dem Target über destabilisierende Fehlpaarungen verbunden sind.
Schmelzkurven wurden mit Hilfe der LightCycler®-Auswertungssoftware (LC Software 3.5, Roche Diagnostics Mannheim GmbH, Deutschland) für alle *stx2*-positiven Isolate sowie für *stx2*-Subtypen-Kontrollstämme erstellt und analysiert.

3.2.4 PCR auf *stx2, stx2*-Subtypen (*stx2/2c, 2d, 2e*) sowie auf Subtilase

Die zu untersuchenden Isolate wurden auf ENDO-Agar angezüchtet (37 °C, 24 h), die DNA extrahiert und für die PCR eingesetzt.

Die Komponenten des eingesetzten Mastermixes finden sich in Tabelle 8. Es wurde jeweils ein 25 µl Ansatz, 17 µl Mastermix und 8 µl extrahierte DNA, verwendet.

Tab. 8: Komponenten des Mastermixes für die PCR (25 µl Ansatz)

Ziel	**H_2O**	**10xPuffer mit 15 mM $MgCl_2$**	**Primer (10 pmol/µl)**	**dNTP-Mix (je 10 mM)**	**Taq-Polymerase (5 U/µl)**
stx2, stx2c, stx2d, stx2e subA	12,4 µl	2,5 µl	1,0 µl	0,5 µl	0,1 µl

Es kam die DNA-Polymerase „AmpliTaq“ der Firma Applied Biosystems zum Einsatz. Die verwendeten Primer (Fa. Eurofins MWG GmbH, Deutschland) sind in Tabelle 9 aufgeführt.
Insgesamt wurden somit pro Probe jeweils 25 µl zur PCR eingesetzt und in den Thermocycler (Applied Biosystems, Deutschland) verbracht.

Tab. 9: Im Rahmen der Studie eingesetzte PCR-Primer

Primer	**Target**	**Sequenz**	**Länge**	**Literatur**
LP43	*stx2*A und Varianten	5`-ATC CTA TTC CCG GGA GTT TAC G-3`	584 bp	Cebula et al. (1995)
LP44		5`-GCG TCA TCG TAT ACA CAG GAG C-3`		
GK3	*stx2*B, *stx2c*B	5`-ATG AAG AAG ATG TTT ATG-3`	260 bp	Karch et al. (1997)
GK4		5`-TCA GTC ATT ATT AAA CTG-3`		
VT2- cm	*stx2d*B	5`-AAG AAG ATA TTT GTA GCG G-3`	256 bp	Pierard et al. (1998)
VT2-f		5`-TAA ACT GCA CTT CAG CAA AT-3`		
FK1	*stx2e*B	5`-CCC GGA TCC AAG AAG ATG TTT ATA G-3`	280 bp	Franke et al. (1995b)
FK2		5`-CCC GAA TTC TCA GTT AAA CTT CAC C-3`		
SubHCDF	*sub*A	5`-TAT GGC TTC CCT CAT TGC C- 3`	556 bp	Paton und Paton (2005)
SubSCDR		5`-TAT AGC TGT TGC TTC TGA CG-3`		

Der Einsatz der in der vorliegenden Studie verwendeten Primer zur Subtypisierung von *stx2* wurde von Mellmann et al. (2004) publiziert (siehe Tabelle 10).

Tab. 10: PCR-Primer und Identifizierungsstrategie für die *stx2*-Genotypisierung nach Mellmann et al. (2004)

	PCR-Produkt			
Primer	***stx2***	***stx2c***	***stx2d***	***stx2e***
LP43/LP44	+	+	+	+
GK3/GK4	+	+	-	-
VT2cm/VT2-f	-	-	+	-
FK1/FK2	-	-	-	+

+ positiv
- negativ

Die verwendeten Temperatur-Zeit-Programme sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tab. 11: Temperatur-Zeit-Programme für *stx2*-, *stx2*-Subtypen- und Subtilase-PCR

Prä-Denaturierung		94 °C, 5 min		
30 Zyklen		**Denaturierung**	**Annealing**	**Extension**
Target	**Primer**			
*stx2*A	LP43	94 °C, 30 s	57 °C, 60 s	72 °C, 60 s
	LP44	94 °C, 30 s	57 °C, 60 s	72 °C, 60 s
*stx2*B/*2c*B	GK 3	94 °C, 30 s	57 °C, 60 s	72 °C, 60 s
	GK4	94 °C, 30 s	57 °C, 60 s	72 °C, 60 s
*stx2d*B	VT2-cm	94 °C, 30 s	55 °C, 60 s	72 °C, 60 s
	VT2-f	94 °C, 30 s	55 °C, 60 s	72 °C, 60 s
*stx2e*B	FK1	94 °C, 30 s	55 °C, 60 s	72 °C, 40 s
	FK2	94 °C, 30 s	55 °C, 60 s	72 °C, 40 s
*sub*A	SubHCDF	94 °C, 30 s	57 °C, 60 s	72 °C, 60 s
	SubSCDR	94 °C, 30 s	57 °C, 60 s	72 °C, 60 s
Post-Elongation		72 °C, 10 min		
Post-PCR-Hold		4 °C, ∞		

Das PCR-Produkt wurde elektrophoretisch aufgetrennt. Hierzu wurden in eine Mikrotiterplatte für die entsprechende Probenanzahl je 2 µl Bromphenolblaupuffer vorgelegt und je 15 µl des PCR-Amplifikates hinzu pipettiert.

Ein 2 %iges Agarose-Gel wurde in eine mit 1x TBE-Puffer befüllte Elektrophoresekammer gelegt. In die einzelnen Geltaschen wurde 12 µl Ansatz sowie 10 µl DNA-Marker (pUCMix8; 50 ng/µl; Fa. Fermentas) zum späteren Vergleich der Bandenlängen gegeben. Ebenfalls mitgeführt wurden eine Positivkontrolle, eine Negativkontrolle und eine MasterMix-Kontrolle als Blindwert.

Nach 40 Minuten Laufzeit in der Elektrophoresekammer (100 Volt) erfolgte die Färbung des Gels mit Ethidiumbromid (0,05 %) und die Auswertung durch visuellen Vergleich der Banden mit dem Längenstandard pUCMix 8 unter UV-Licht.

Tab. 12: Verwendete Kontrollstämme für *stx2*-Subtypen- und Subtilase PCR

Bezeichnung	**Literatur**
stx2c E32511	Schmidt et al. (1996)
stx2d-Ount EH 250	Pierard et al. (1998)
stx2e E57 O138	Franke et al. (1995a)
subAB 98NK2 O113:H21	Paton und Paton (2005)

4 ERGEBNISSE

4.1 Auswertung der STEC/EHEC-Daten 2002 bis 2006

Im Folgenden wird die Charakterisierung von STEC/EHEC-Proben über einen Zeitraum von fünf Jahren (2002 bis 2006) zusammengefasst dargestellt, um die Einzelergebnisse der unterschiedlichen Jahre im zeitlichen Verlauf besser erfassen und beurteilen zu können. Die Teilresultate der einzelnen Jahre sind im Anhang (siehe 8.2.1) zu finden.

4.1.1 Stuhlproben

In den Jahren 2002 bis 2006 wurden insgesamt 17692 Stuhlproben auf EHEC untersucht. Hierbei konnte bei 898 Personen eine Neuinfektion mit dem Erreger nachgewiesen werden (2002: 176; 2003: 203; 2004: 182; 2005: 183; 2006: 154). Die Anzahl der EHEC-Neuinfektionen beim Menschen war in jedem betrachteten Jahr annähernd gleich: Im Durchschnitt zeigten sich 5,1 % (2002: 5,6 %; 2003: 4,5 %; 2004: 5,2 %; 2005: 5,2 %; 2006: 5,0 %) der geprüften Stuhlproben EHEC-positiv. Die *stx*-positiven Stuhlproben von **884** Personen sind in der vorliegenden Arbeit aufgeschlüsselt.

Die Altersverteilung der EHEC-Infizierten veranschaulicht Abbildung 2. Daraus geht hervor, dass der Großteil (42,0 %) der 884 *stx*-positiven Personen bis zu vier Jahre alt war. An zweiter Stelle standen mit 23,2 % Personen mit einem Alter von 21 bis 40 Jahren, gefolgt von den 5- bis 10-Jährigen (12,3 %), den 41- bis 60-Jährigen (10,2 %) und den über 60-Jährigen (6,4 %). Die Altersgruppe, bei der am seltensten *stx* in Stuhlproben nachgewiesen wurde, war die der 11- bis 20-Jährigen (5,9 %).

Abb. 2: Altersverteilung der EHEC-infizierten Personen (n = 884)

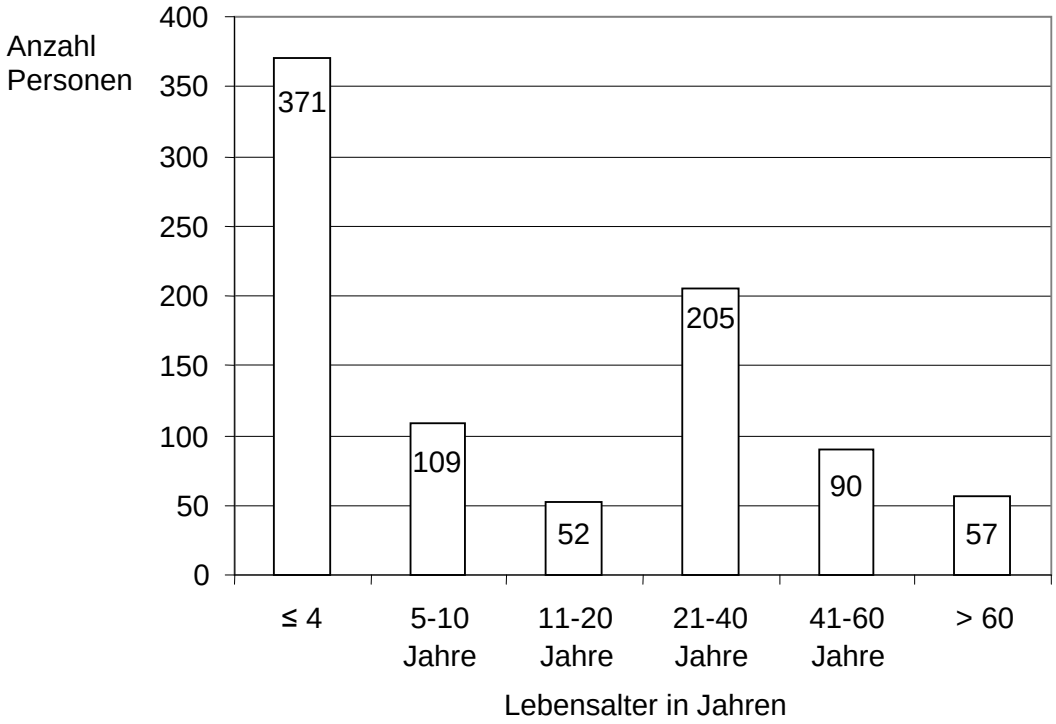
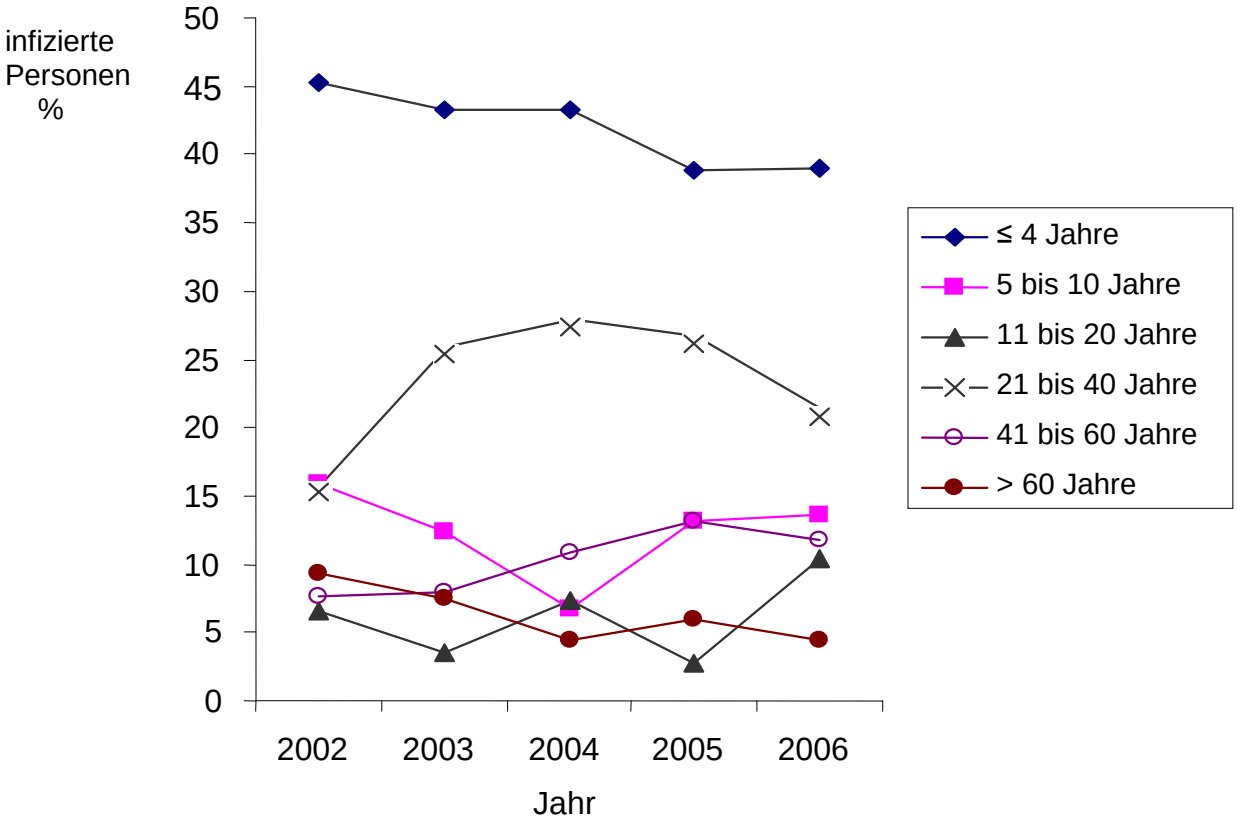


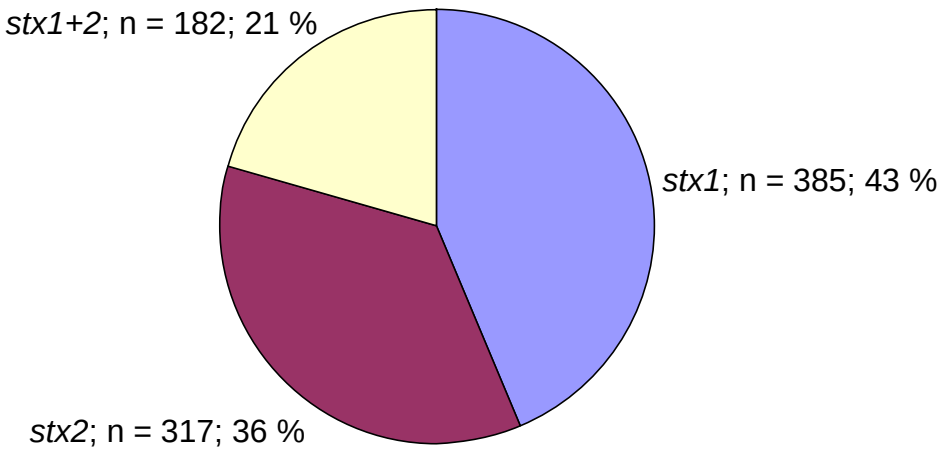
Abb. 3: Altersverteilung der infizierten Personen nach Jahren (n = 884)



Wie aus Abbildung 3 ersichtlich, stellte sich der Verlauf der Altersstruktur der infizierten Personen im direkten Vergleich der Jahre 2002 bis 2006 folgendermaßen dar: Die am stärksten vertretene Altersgruppe war konstant über jedes untersuchte Jahr hinweg die der Kleinkinder, wobei eine leicht fallende Tendenz beobachtet wurde. Die Altersgruppe der 21- bis bis 40-Jährigen stand jedes Jahr an zweiter Stelle, allerdings zeigten sich hier deutliche Abweichungen im jährlichen Vergleich. Die Anzahl der EHEC-positiven Stuhlproben von Fünf- bis Zehnjährigen war in den Jahren 2002, 2003, 2005 und 2006 ähnlich, während sich im Jahr 2004 ein deutlicher Abfall bemerkbar machte. Bei den Personen im Alter von 41 bis 60 Jahren zeichnete sich über vier Jahre (2002 bis 2005) ein Anstieg ab, während die Anzahl im Jahr 2006 wieder leicht zurückging. Bei den über 60-Jährigen ließ sich insgesamt eine leicht fallende Tendenz erkennen, während man bei den Elf- bis 20-Jährigen keinen klaren Trend sah.

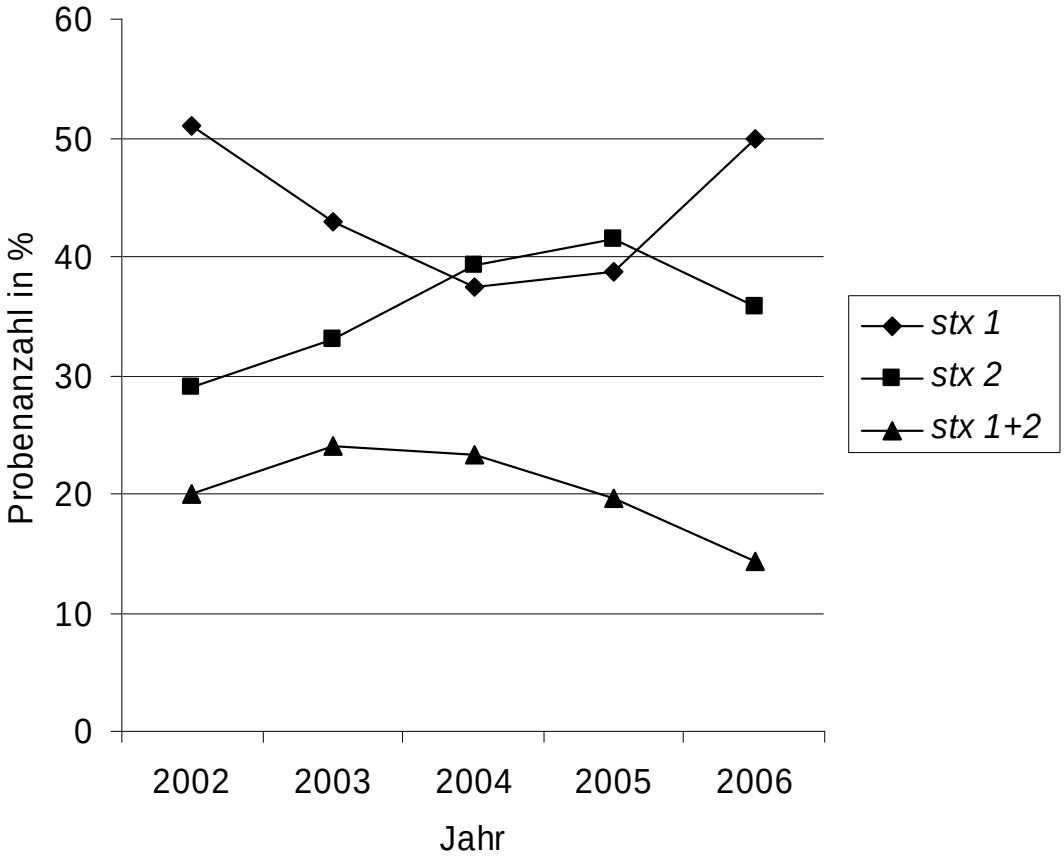
Bei 385 (43 %) der 884 *stx*-positiven Mischkulturen aus Stuhlproben konnte *stx*1 ermittelt werden, *stx*2 bei 317 (36 %) und beide Shigatoxingene zusammen bei 182 (21 %), wie in Abbildung 4 dargestellt.

Abb. 4: Verteilung der Shigatoxingene in Mischkulturen aus Stuhlproben (n_{gesamt} = 884) der Jahre 2002 bis 2006



Im direkten Vergleich der einzelnen Jahre dominierte in den Jahren 2002, 2003 und 2006 das Vorkommen von *stx1* alleine, während in den Jahren 2004 und 2005 beide Shigatoxingene fast gleichauf waren, wobei *stx2* geringgradig überwog. Das gleichzeitige Auftreten von *stx1* und *2* zusammen wurde jedes Jahr seltener detektiert, wobei generell eine Abnahme zu bemerken war. Dieser Verlauf ist in Abbildung 5 dargestellt.

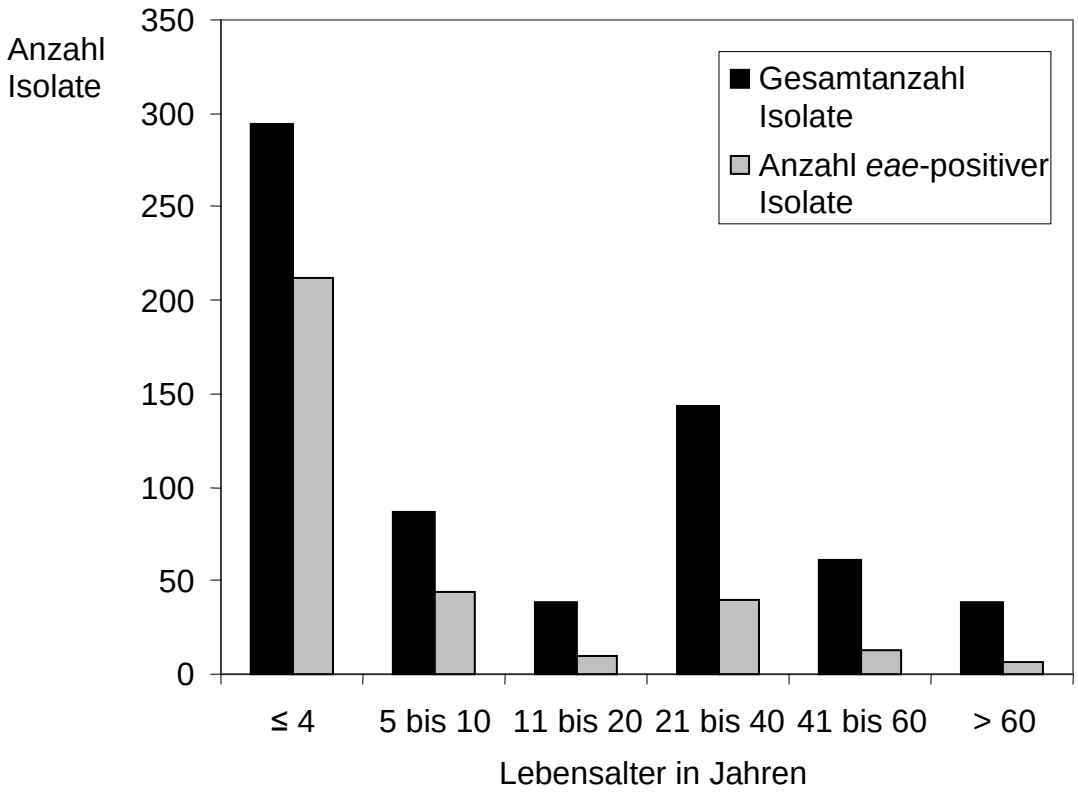
Abb. 5: Vorkommen von Shigatoxingenen in Mischkulturen aus Stuhlproben im direkten jährlichen Vergleich (n = 884).



Aus den *stx*-positiven Mischkulturen aus Stuhlproben gelang bei 75 % der Keimnachweis mittels Kolonieblot-DNA-Hybridisierung. So werden im Folgendem **661** Stuhlisolate bezüglich der weiteren Pathogenitätsgene *eae* und E-*hly* näher charakterisiert: 325 (49 %) der EHEC-positiven Stuhlisolate zeigten sich positiv für das *eae*-Gen, 465 (70 %) für das E-*hly*-Gen. *Eae* und *E-hly* zusammen wurden in 298 (45 %) Isolaten detektiert, während bei 169 (26 %) Stuhlisolaten neben den *stx* keine weiteren Pathogenitätsgene ermittelbar waren.

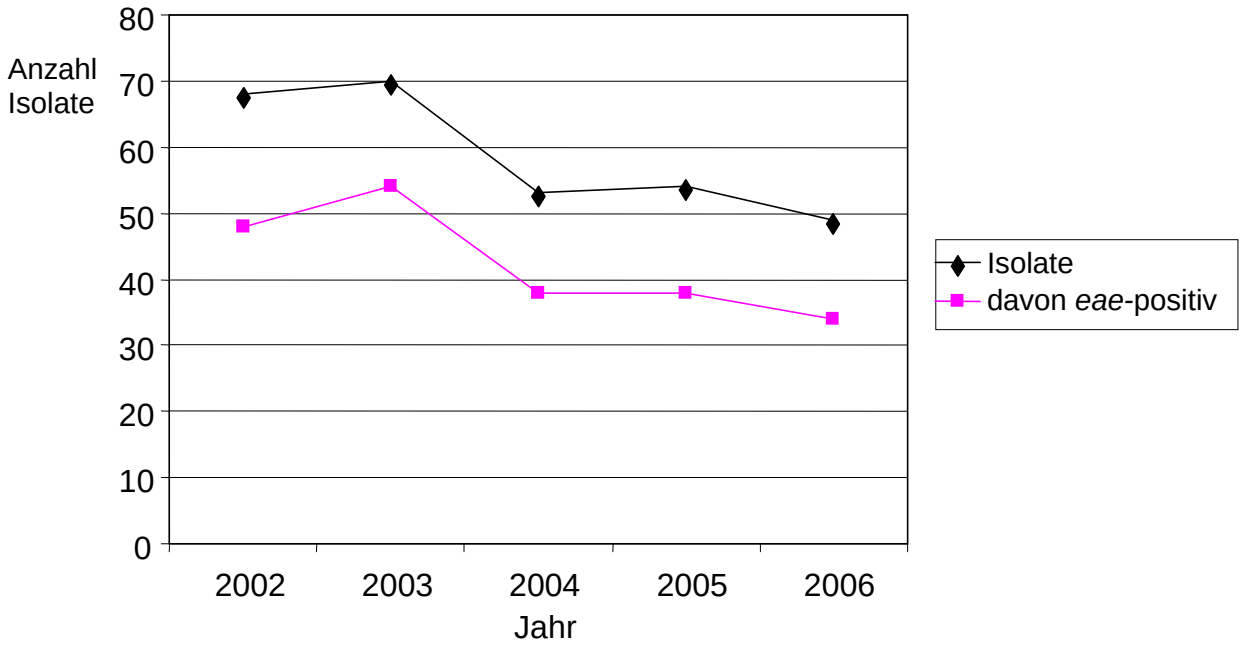
Wie in Abbildung 6 dargestellt, zeigte das Vorkommen von *eae* in Stuhlisolaten eine gewisse Altersabhängigkeit: *eae* wurde in 212 von 294 (72 %) Kleinkinderstuhlisolaten nachgewiesen. Weiterhin in 44 von 87 (51 %) Stuhlisolaten der 5- bis 10-Jährigen, in 10 von 38 (26 %) Stuhlisolaten der 11- bis 20-Jährigen, in 40 von 143 (28 %) Stuhlisolaten der 21- bis 40-Jährigen und in 13 aus 61 (21 %) Stuhlisolaten der 41- bis 60-Jährigen. Bei Personen über 60 Jahre wurde *eae* in 6 von 38 (16 %) Stuhlisolaten gefunden.

Abb. 6: Altersabhängiges Auftreten des *eae*-Gens in Stuhlisolaten (n = 325)



212 (65 %) aller *eae*-positiven Stuhlisolate stammten von Kleinkindern bis zu vier Jahren, wobei der Anteil der *eae*-positiven EHEC-Isolate bei dieser Altersgruppe über die Jahre hinweg sehr homogen war: Im Durchschnitt bei 72 % (69 %-77 %) der Kleinkinderstuhisolate wurde Intimin nachgewiesen (siehe hierzu Abbildung 7).

Abb. 7: Häufigkeit des *eae*-Gens in EHEC-Isolaten aus Kleinkinderstuhlproben (n = 294)



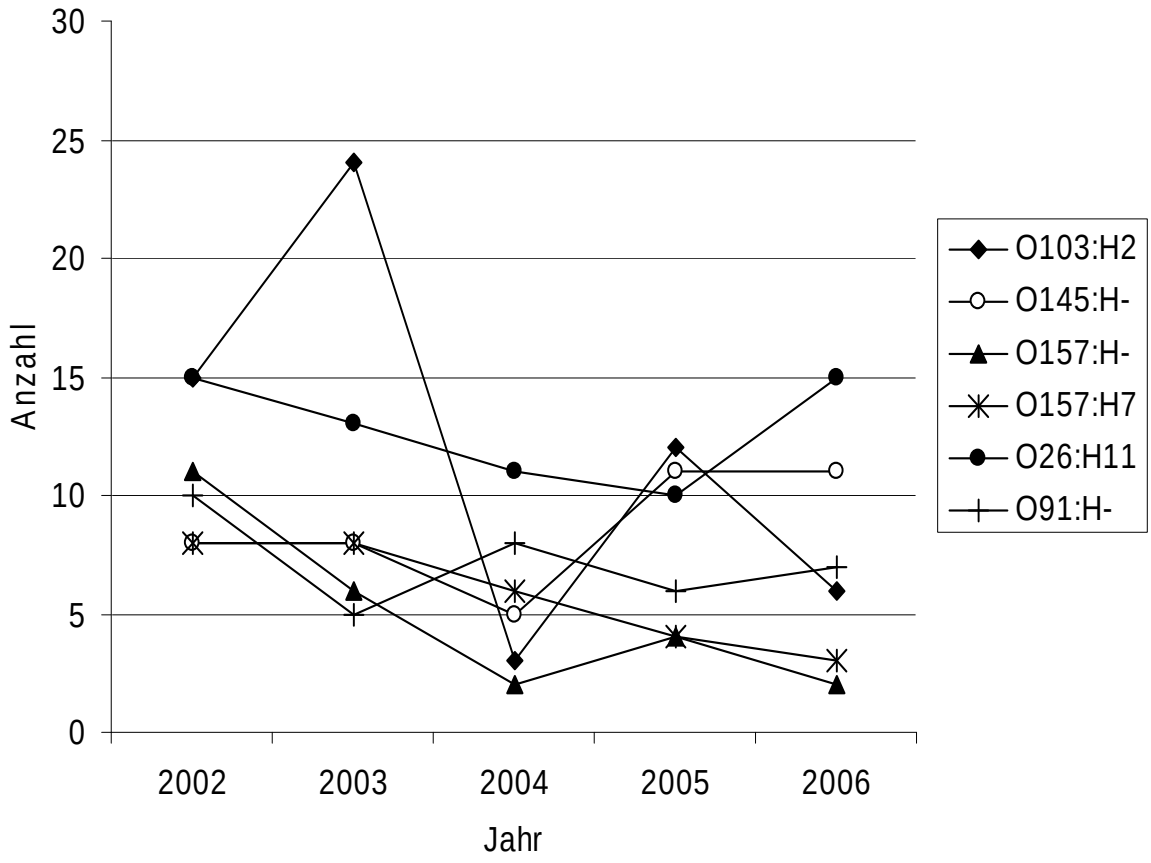
Die Stuhlisolate konnten **162** verschiedenen Serovaren zugeordnet werden (siehe Tabelle 16, Spalte 3, S. 67ff). Isolate aus Stuhlproben gehörten insgesamt am häufigsten den Serovaren O26:H11 (n = 64), O103:H2 (n = 60), O145:H- (n = 43), O91:H- (n = 36), O157:H7 (n = 29) und O157:H- (n = 27) an.

Im Jahr **2002** waren die häufigsten Serovare O103:H2 (n = 15), O26:H11 (n = 15), O157:H- (n = 11), O91:H- (n = 10), O145:H- (n = 8), O157:H7 (n = 8), O146:H21 (n = 6), O2:H6 (n = 6), im Jahr **2003** überwogen die Serovare O103:H2 (n = 24), O26:H11 (n = 13), O145:H- (n = 8), O157:H7 (n = 8), O157:H- (n = 6), ORF:H- (n = 6), O76:H19 (n = 5), O91:H- (n = 5), O128:H2 (n = 5), im Jahr **2004** wurden die Serovare O26:H11 (n = 11), O91:H- (n = 8), O157:H7 (n = 6), O145:H- (n = 5) am häufigsten detektiert, im Jahr **2005** die O-H-Kombinationen O103:H2 (n = 12),

O145:H- (n = 11), O26:H11 (n = 10), Ont:H- (n = 7), O91:H- (n = 6), O111:H- (n = 6), O157:H- (n = 6), ORF:Hnt (n = 5) und im Jahr **2006** O26:H11 (n = 15), O145:H- (n = 11), O91:H- (n = 7), O103:H2 (n = 6).

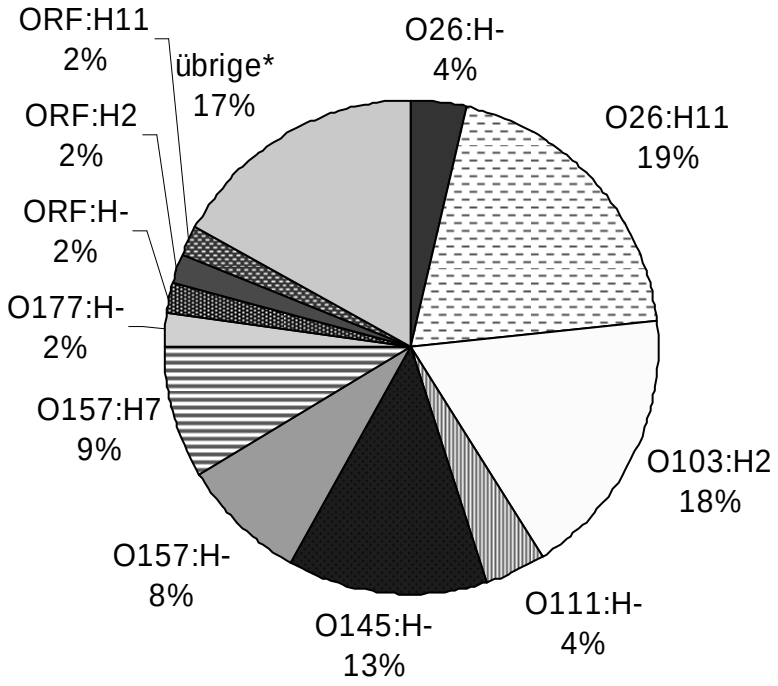
Die Verteilung der häufigsten Serovare beim Menschen im zeitlichen Verlauf ist in Abbildung 8 dargestellt. Hier wird erkennbar, dass das Vorkommen aller Serovare jährlichen Schwankungen unterlag. Diese waren besonders stark ausgeprägt beim Serovar O103:H2. Während es im Jahr 2003 stark detektiert wurde, trat es 2004 kaum auf, um im Folgejahr wieder anzusteigen ohne sein Maximum nochmals zu erreichen. Weiterhin ließ sich im Beobachtungszeitraum eine tendenzielle Abnahme der Serovare O157:H- und O157:H7 erkennen.

Abb. 8: Vorkommen der beim Menschen am häufigsten detektierten Serovare im Lauf von 5 Jahren



Die Stuhlisolate, bei denen das *eae*-Gen nachgewiesen wurde, gehörten **48** verschiedenen Serovaren an. Diese sind in Abbildung 9 dargestellt.
Hierbei überwogen die O:H-Kombinationen O26:H- (4 %), O26:H11 (19 %), O103:H2 (18 %), O111:H- (4 %), O145:H- (13 %), O157:H- (8 %) und O157:H7 (9 %). Das Serovar O91:H-, das insgesamt 36mal detektiert wurde, wurde nur einmal aus einer *eae*-positiven Stuhlprobe isoliert.

Abb. 9: Zuordnung der *eae*-positiven Stuhlisolate (n = 325) zu Serovaren



* O1:H-, O5:H-, O21:H25, O26:HRF, O40:HRF, O55:H7, O77:H11, O77:H18, O80:H- O84:H-, O90:H15, O91:H-, O103:H11, O109:H25, O111:H8, O112:H-, O112:H11, O117:H-, O118:H16, O123:H-, O145:H28, O145:Hnt, O156:H-, O158:H-, O171:H25, O176:H-, O177:H11, Ont:H-, Ont:H11, Ont:H16, Ont:H19, Ont:H21, Ont:H31, Ont:Hnt, ORF:H19, ORF:H21, ORF:Hnt

4.1.2 Kotproben

In den betrachteten fünf Jahren wurden insgesamt **1150** Kotproben von Haus- und Nutztieren auf STEC/EHEC untersucht (Jahr 2002: 428; 2003: 332; 2004: 163; 2005: 123; 2006: 104).

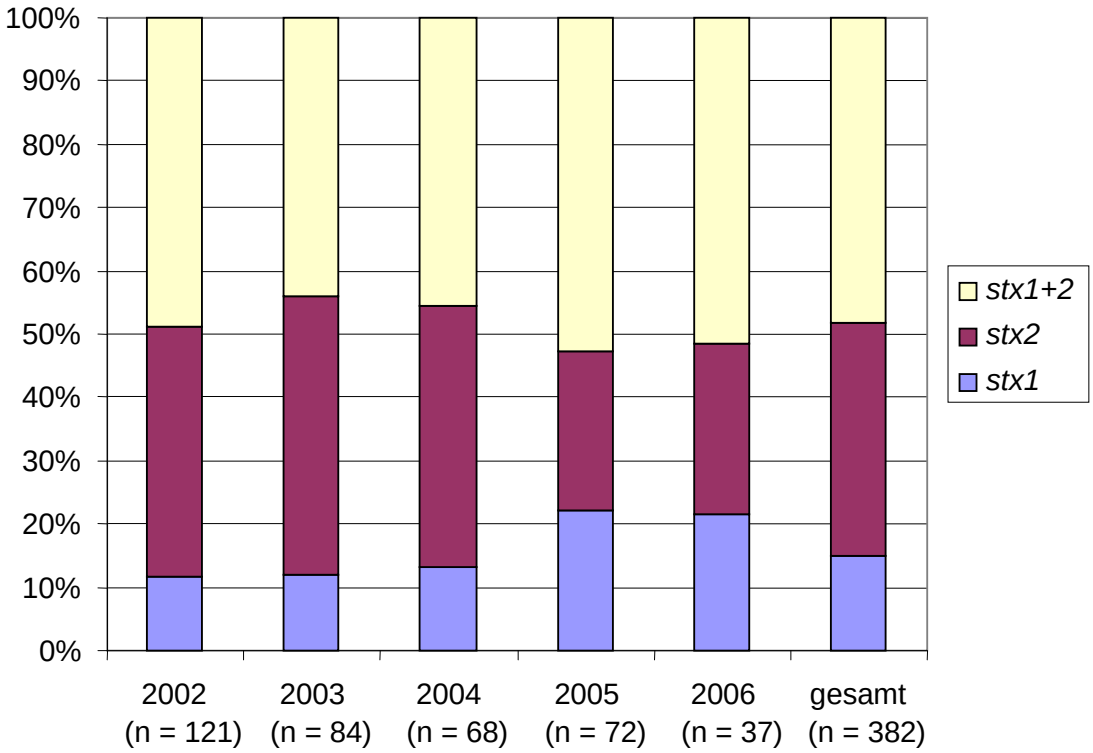
79 % der Kotproben stammten von Rindern (n = 277), die restlichen 21 % ließen sich folgenden Tierarten zuordnen: Schaf (n = 49), Ziege (n = 39), Damwild (n = 36), Rotwild (n = 9), Reh (n = 2), Kamel (n = 3), Lama (n = 2), Schwein (n = 36), Pferd (n = 34), Esel (n = 3), Katze (n = 10), Hund (n = 5), Meerschweinchen (n = 2), Kaninchen (n = 4), Chinchilla (n = 1), Biber (n = 1), Huhn (n = 4), Ente (n = 3), Emu (n = 1), Nandu (n = 1).

Bei insgesamt **390** (34 %) Kotproben konnten STEC ermittelt werden (Jahr 2002: 121, 2003: 84, 2004: 74, 2005: 74, 2006: 37). Beim Tier schwankte der prozentuale Anteil der positiven Kotproben stark zwischen 29 % im Jahr 2003 und 60 % im Jahr 2005.

382 dieser 390 Fälle ließen sich im Rahmen der vorliegenden Studie analysieren. Die *stx*-positiven Kotproben stammten von folgenden Tierarten: Rind (277/905), Schaf (35/49), Schwein (23/36), Ziege (18/39), Damwild (14/36), Rotwild (4/9), Katze (4/10), Hund (2/5), Kamel (2/3), Lama (1/2), Reh (1/2), Huhn (1/4).

Wie in Abbildung 10 dargestellt, wurde in Mischkulturen aus Kotproben am häufigsten die Kombination von *stx1* und *2* zusammen (184/382) ermittelt, gefolgt von Mischkulturen, die nur *stx2* positiv (141/382) waren. *Stx1* alleine stellte sich deutlich seltener dar (57/382).

Abb. 10: Prozentuales Auftreten von Shigatoxingenen in Mischkulturen aus Kotproben in den Jahren 2002 bis 2006



105 Isolate aus Kotproben ließen sich näher charakterisieren. Intimin war davon in 7 (7 %) Kotisolaten zu finden, Enterohämolysin konnte in 55 (52 %) nachgewiesen werden. Die Intimin-positiven Kotisolate gehörten folgenden Serovaren und Tierarten an: O5:H- (Rind), O69:H- (Rind), O103:H2 (Katze), O145:H- (Katze), O177:H- (2x, Rind), Ont:H- (Rind). Die vollständigen Charakteristika aller Kotisolate zeigt Tabelle 13.

Am häufigsten wurden die Kotisolate dem Serovar **O174:H8**, gefolgt von **O5:H-** zugeordnet.

Serovare, denen Isolate aus Kot zuzurechnen waren, sind im direkten Vergleich zu Serovaren bei Isolaten aus Stuhl-, Lebensmittel- und Wasserproben in Tabelle 16, S. 67ff aufgelistet.

Tab. 13: Herkunft und Charakteristika der STEC-Isolate aus Kotproben

Tierart	**Serovar**	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
Rind	O1:H10	+	+	-	+
Katze	O103:H2	+	-	+	+
Rind	O111:H-	+	-	+	+
Schaf	O113:H4	+	+	-	+
Rind	O118:H-	+	-	-	-
Damwild	O128:H2	+	+	-	+
Damwild	O128:H2	+	+	-	+
Rind	O128:H2	+	+	-	+
Rind	O136:H16	+	-	-	+
Ziege	O145:H-	+	-	-	+
Katze	O145:H-	+	+	+	+
Schaf	O146:H21	+	+	-	+
Schaf	O146:H21	+	+	-	+
Schaf	O146:H21	+	+	-	+
Schaf	O146:H21	+	+	-	+
Kamel	O146:H21	-	+	-	-
Reh	O146:H28	-	+	-	-
Rind	O153:H25	+	+	-	+
Rind	O153:H25	+	+	-	+
Rind	O174:H-	-	+	-	-
Rind	O174:H4	-	+	-	-
Damwild	O174:H8	-	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Schaf	O174:H8	+	+	-	-
Schaf	O174:H8	+	+	-	-
Schaf	O174:H8	+	+	-	-
Schaf	O174:H8	-	+	-	-
Schaf	O174:H8	-	+	-	-
Schaf	O174:H8	+	+	-	-
Schaf	O174:H8	-	+	-	-
Ziege	O174:H8	+	+	-	-
Ziege	O174:H8	-	+	-	-
Rind	O177:H-	-	+	+	+
Rind	O177:H21	+	+	-	-
Rotwild	O179:H8	-	+	-	+
Rind	O179:H8	-	+	-	+
Rind	O179:H8	-	+	-	+
Ziege	O21:H21	+	+	-	-
Rind	O22:H8	+	+	-	+
Rind	O28:Hnt	-	+	-	-
Rind	O46:H38	+	+	-	+
Schaf	O5:H-	+	+	-	+
Schaf	O5:H-	+	-	-	-
Schaf	O5:H-	+	+	-	+

Fortsetzung Tab. 13

Tierart	**Serovar**	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
Schaf	O5:H-	+	+	-	+
Schaf	O5:H-	+	+	-	+
Schaf	O5:H-	+	+	-	+
Schaf	O5:H-	+	+	-	+
Rind	O5:H-	+	-	+	+
Kalb	O55:H31	+	-	-	+
Rind	O55:Hnt	+	-	-	-
Rind	O55:Hnt	+	-	-	-
Rind	O55:Hnt	+	-	-	-
Rind	O55:Hnt	+	-	-	-
Rind	O69:H-	+	-	+	+
Rind	O74:H42	-	+	-	+
Rind	O74:H42	-	+	-	+
Rind	O74:H42	-	+	-	+
Rind	O74:H42	-	+	-	+
Rind	O74:H42	-	+	-	+
Schaf	O76:H19	+	-	-	+
Schaf	O76:H19	+	+	-	+
Ziege	O76:H19	+	-	-	+
Schaf	O76:H19	+	+	-	+
Rind	O8:H19	+	-	-	-
Rind	O8:H19	+	+	-	+
Hund	O8:H19	-	+	-	-
Rind	O84:H-	+	+	-	-
Rind	O86:H-	+	-	-	-
Schaf	O87:H16	+	+	-	-
Schaf	O87:H16	-	+	-	-
Schaf	O87:H16	-	+	-	+
Schaf	O87:H19	-	+	-	-
Rind	O88:H25	+	+	-	+
Ziege	O9:H31	+	-	-	-
Rind	O91:H21	+	+	-	+
Rind	O91:H21	+	+	-	+
Rind	O91:H21	+	+	-	+
Rind	O91:H21	+	+	-	+
Rind	Ont:H-	-	+	-	-
Rind	Ont:H-	+	+	-	-
Rind	Ont:H-	+	-	+	+
Rotwild	Ont:H-	-	+	-	-
Ziege	Ont:H16	+	-	-	-
Rind	Ont:H2	+	-	-	+
Rind	Ont:H2	-	+	-	-
Rind	Ont:H28	+	+	-	+
Damwild	Ont:H49	+	-	-	-
Rind	Ont:H8	-	+	-	+
Rind	Ont:H8	-	+	-	+
Rotwild	Ont:H8	-	+	-	-
Katze	Ont:Hnt	-	+	-	-
Rind	Ont:Hnt	+	+	-	+
Rind	Ont:H25	+	+	-	+

Fortsetzung Tab. 13

Tierart	Serovar	*stx1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*
Rind	ORF:H-	-	+	-	+
Rind	ORF:H-	+	+	-	-
Rind	ORF:H-	+	+	-	-
Rind	ORF:H-	+	+	-	-
Damwild	ORF:H7	-	+	-	-
Schaf	ORF:H8	+	+	-	-

+ positiv
- negativ

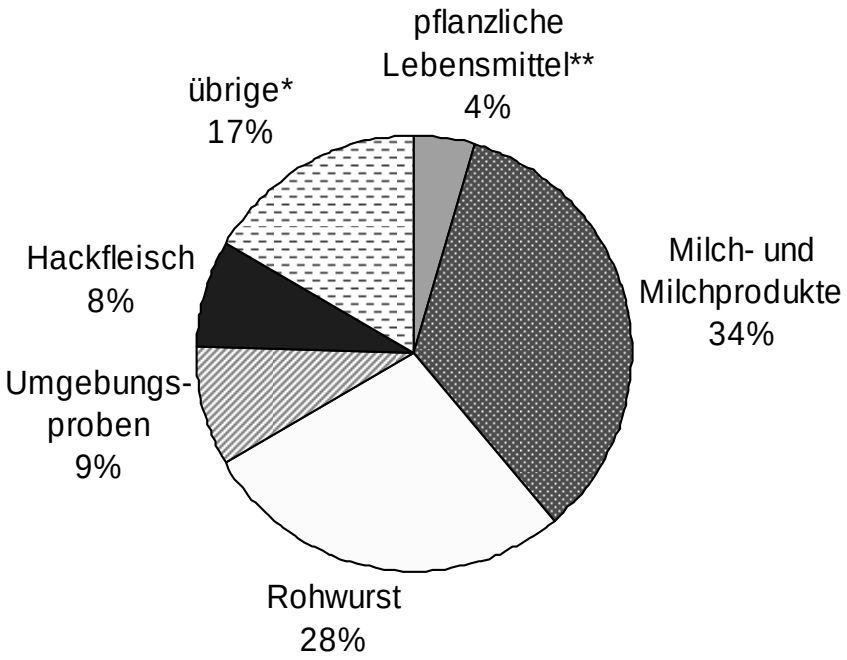
4.1.3 Lebensmittel und Umgebungsproben

In den Jahren 2002 bis 2006 wurden 1085 Untersuchungen von Lebensmittelproben (Proben im Rahmen des Probenplans sowie Verdachts- und Beschwerdeproben) auf STEC erfasst (Jahr 2002: 244; 2003: 80; 2004: 175; 2005: 333; 2006: 253). Hierbei zeigten sich sich insgesamt 91 Lebensmittel *stx*-positiv (2002: 4; 2003: 16; 2004: 15; 2005: 42; 2006: 14). Der Durchschnitt der positiven Lebensmittelproben lag bei 10 %, wobei sich in den einzelnen Jahren deutliche Schwankungen darstellten (2002: 2 %; 2003: 20 %; 2004: 9 %; 2005: 13 %; 2006: 6 %).

90 STEC-positive Lebensmittel werden im Folgenden näher charakterisiert: Vier der 90 STEC-positiven Lebensmittelproben waren pflanzlichen Ursprungs (zweimal vorzerkleinerter Salat und zweimal Tee), 76 tierischen Ursprungs, bei zwei handelte es sich um Mischfutter, bei acht um Umgebungsproben aus der Lebensmittelproduktion (Messer, Tisch, Haken).

Die Verteilung der *stx*-positiven Lebensmittel wird in Abbildung 11 veranschaulicht.

Abb. 11: *stx*-positive Lebensmittelproben (n = 90)

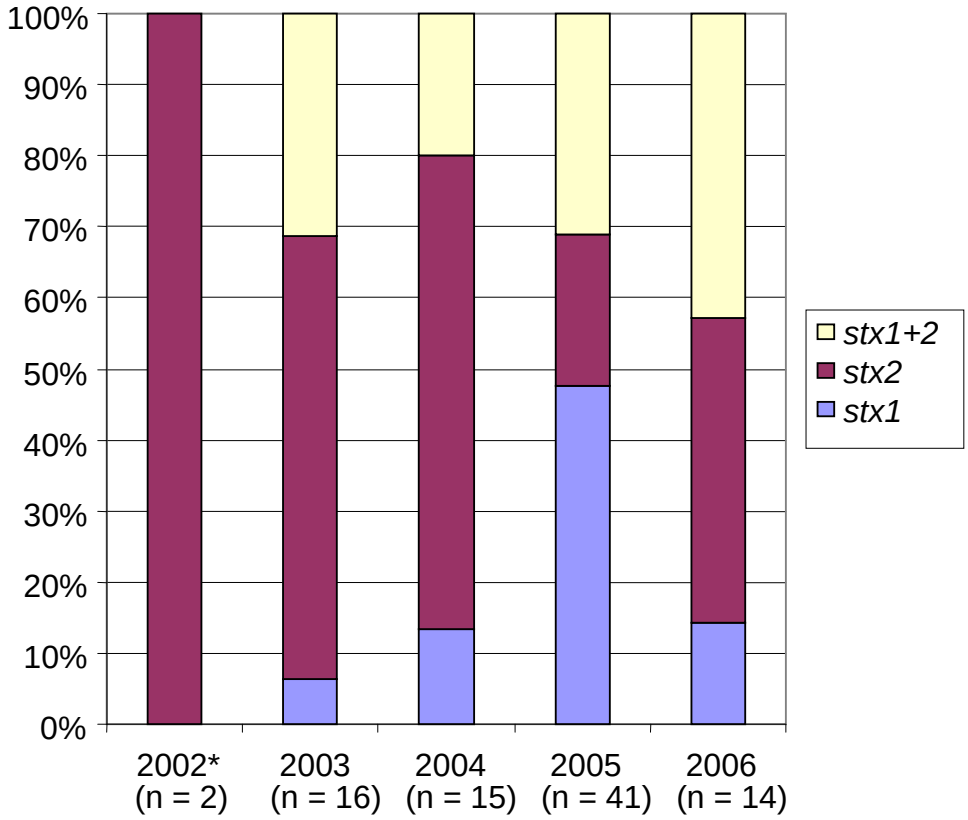


* Schaf-/Lammfleisch, Verarbeitungsfleisch, Rindfleisch, Kalbfleisch, Rinderfett, Schweinebauch, Mischfutter

** Tee, vorzerkleinerter Salat

In Mischkulturen aus Lebensmittelproben dominierte *stx*2 (38/90), *stx*1 (25/90) und *stx*1 und 2 zusammen (27/90) waren dagegen seltener nachweisbar (siehe Abbildung 12).

Abb. 12: Prozentuales Auftreten von Shigatoxingenen in Mischkulturen aus Lebensmittelproben in den Jahren 2002 bis 2006



* in diesem Jahr nur bei zwei positiven Proben nähere Angaben zu den Shigatoxintypen

Die Keimisolierung gelang bei 48 % (n = 43) der *stx*-positiven Mischkulturen aus Lebensmittelproben. Intimin war in 1 (2 %) von 43 Lebensmittelisolaten zu finden. Das *eae*-positive Isolat stammte aus einer Milchprobe und konnte dem Serovar O174:H8 zugeordnet werden. Enterohämolysin kam dagegen deutlich häufiger vor. Es konnte bei 15 von 43 (35 %) Lebensmittelisolaten nachgewiesen werden. Die vollständigen Charakteristika der Isolate aus Lebensmittelproben sind in Tabelle 14 aufgeführt. Alle Serovare, in die Lebensmittelisolate eingeteilt werden konnten, sind im Vergleich zu Serovaren, als die sich Isolate aus anderen Herkünften dastelllten, in Tabelle 16, S. 67ff zu sehen.

Tab.14: Herkunft und Charakteristika von STEC-Isolaten aus Lebensmittelproben

Lebensmittel	**Serovar**	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
Milch	O1:Hnt	+	-	-	+
Rindfleisch	O100:H-	-	+	-	-
Tisch, Messer	O100:H-	-	+	-	-
Milch	O105:H18	-	+	-	+
Milch	O105:H18	-	+	-	+
Salami	O113:H21	-	+	-	+
Milch	O130:H11	+	-	-	+
Milch	O154:H31	+	-	-	+
Salami	O157:H-	-	+	-	-
Milch	O174:H8	+	+	+	-
Zwiebelmettwurst	O2:H32	-	+	-	-
Brät	O2:H32	-	+	-	-
Zwiebelmettwurst	O2:H32	-	+	-	-
Mettwurst	O2:H32	-	+	-	-
Salami	O2:H32	-	+	-	-
Schweinebauch	O20:H-	-	+	-	-
Hackfleisch	O22:Hnt	-	+	-	+
Milch	O55:H12	+	-	-	-
Milch	O55:H31	+	-	-	-
Milch	O55:H31	+	-	-	-
Milch	O6:H1	-	+	-	-
Milch	O76:H19	+	-	-	+
Milch	O76:H19	+	-	-	+
Hackfleisch	O86:Hnt	+	-	-	-
Zwiebelmettwurst	O91:H-	+	-	-	-
Teewurst	O91:H-	+	-	-	+
Hackfleisch	Ont:H-	-	+	-	-
Mettwurst	Ont:H-	-	+	-	-
Salami	Ont:H-	-	+	-	-
Schaffleisch	Ont:H-	+	+	-	+
Rindfleisch	Ont:H-	+	+	-	-
Kalbfleisch	Ont:H-	+	+	-	+
Tisch, Messer	Ont:H-	-	+	-	-
Mettwurst	Ont:H-	-	+	-	-
Zwiebelmettwurst	Ont:H-	-	+	-	-
Rindfleisch	Ont:H11	+	-	-	-
Salami	Ont:H7	-	+	-	-
Tisch, Messer	Ont:H7	+	-	-	-
Kalbfleisch	Ont:Hnt	+	+	-	+
Hackfleisch	ORF:H-	+	+	-	+
Milch	ORF:H12	+	-	-	+
Salami	ORF:H19	-	+	-	-
Salami	ORF:H19	+	+	-	-

+ positiv
- negativ

4.1.4 Wasser

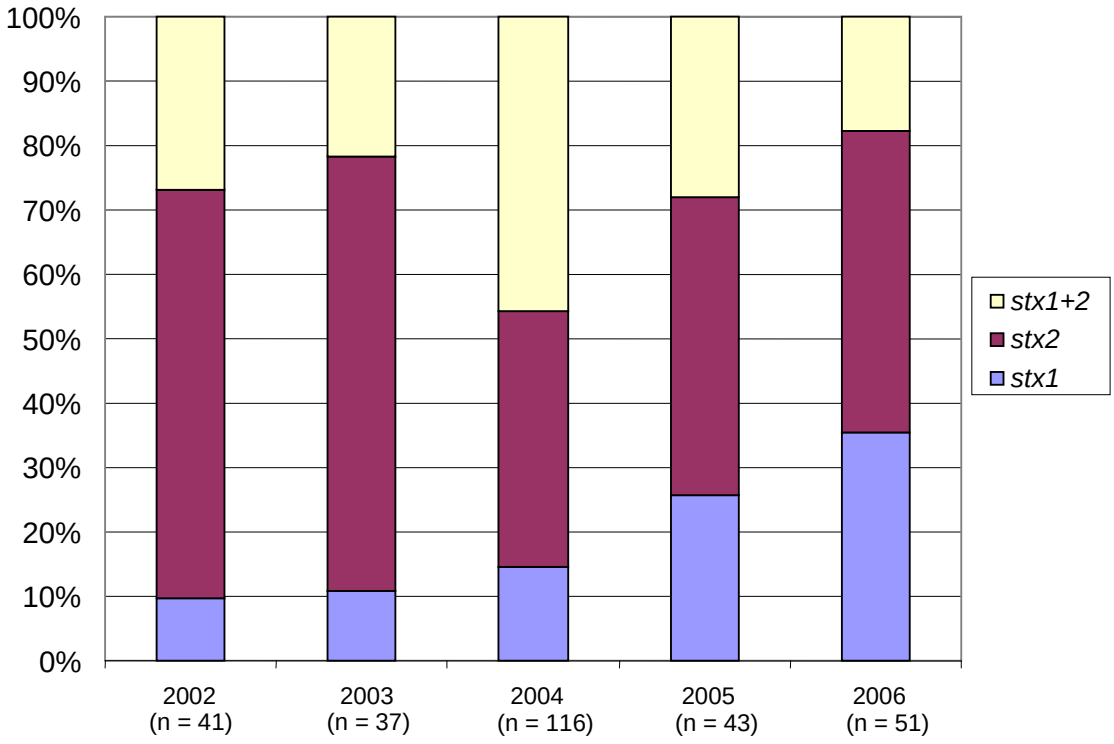
In den Jahren 2002 bis 2006 wurden insgesamt 3733 Trink- und Oberflächenwasserproben auf STEC untersucht (Jahr 2002: 1150; 2003: 1088; 2004: 624; 2005: 444; 2006: 427). Alle diese Wasserproben stellten Verdachtsproben dar.

Bei insgesamt **347** (9 %) wurden STEC nachgewiesen. 306 positive Proben gehörten dem Oberflächenwasser und 41 dem Trinkwasser an.

Der prozentuale Anteil der positiven Wasserproben schwankte von Jahr zu Jahr, und lag im Durchschnitt bei 10,5 % (2002: 3,6 %; 2003: 8,8 %; 2004: 18,6 %; 2005: 9,7 %; 2006: 12 %).

In Mischkulturen aus Wasserproben, die näher charakterisiert wurden (n = 288), konnte das Gen *stx2* alleine am häufigsten gefunden werden (n = 141), gefolgt von der Kombination *stx1* und *2* (n = 93) und von *stx1* alleine (n = 54).

Abb. 13: Prozentuales Auftreten von Shigatoxingenen in Mischkulturen aus Wasserproben (n = 288)



Intimin war bei 4 von 74 Wasserisolaten (5 %) zu finden. Diese Isolate ließen sich folgenden Serovaren und Herkünften zuordnen: O157:H- (2mal, Trinkwasser), O103:H2 (Trinkwasser), O103:H25 (Trinkwasser).

Enterohämolysin dagegen konnte bei 33 (45 %) Wasserisolaten aufgezeigt werden und kam somit deutlich öfter vor als Intimin. Alle Serovare, denen Wasserisolate angehörten, sind in Tabelle 16, Spalte 6, S. 67ff aufgeführt, die vollständigen Charakteristika der Wasserisolate finden sich in Tabelle 15.

Tab.15: Charakteristika der STEC-Isolate aus Wasserproben

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O103:H2	+	-	+	+
O103:H25	+	-	+	+
O104:H21	+	+	-	+
O113:H-	-	+	-	-
O113:H4	+	-	-	-
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	-
O113:H4	+	+	-	+
O116:H21	-	+	-	+
O15:H8	-	+	-	-
O15:H8	-	+	-	+
O15:H8	-	+	-	+
O154:H31	+	-	-	-
O154:Hnt	+	-	-	+
O154:Hnt	-	+	-	-
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O163:H19	-	+	-	+
O165:H-	-	+	-	+
O168:H8	-	+	-	-
O174:H2	+	+	-	+
O174:H2	+	+	-	+
O174:H21	-	+	-	-
O175:H28	-	+	-	-
O175:H28	-	+	-	+
O175:H28	-	+	-	+
O175:H28	-	+	-	+
O175:H8	-	+	-	+
O176:H-	+	-	-	-
O18:H7	-	+	-	-
O18:H9	-	+	-	-
O2:H27	-	+	-	+
O55:H12	+	+	-	-
O55:Hnt	+	-	-	-
O55:Hnt	+	-	-	-
O74:H28	-	+	-	-

Fortsetzung Tab. 15

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O74:H28	-	+	-	-
O74:H28	-	+	-	-
O76:H-	+	-	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O77:H18	+	-	-	+
O8:H-	-	+	-	-
O8:H19	+	+	-	+
O8:H4	-	+	-	-
O8:Hnt	-	+	-	-
O8:Hnt	+	+	-	-
O8:HRF	-	+	-	-
O82:H8	+	+	-	+
O9:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	+	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H14	-	+	-	-
Ont:H14	-	+	-	+
Ont:H2	+	+	-	+
Ont:H21	+	-	-	-
Ont:H25	-	+	-	+
Ont:H41	+	-	-	+
Ont:H48	-	+	-	-
Ont:H8	+	-	-	+
Ont:Hnt	-	+	-	-
Ont:Hnt	-	+	-	-
ORF:H-	+	-	-	-
ORF:H-	+	-	-	-
ORF:H12	-	+	-	-
ORF:H14	-	+	-	+
ORF:H21	-	+	-	-
ORF:H23	+	+	-	-
ORF:H23	+	-	-	-
ORF:H51	+	-	-	-
ORF:H8	´+	+	-	+

+ positiv
- negativ

4.1.5 Zusammenfassende Darstellung der nachgewiesenen Serovare

Alle STEC/EHEC-Isolate im erfassten Zeitraum gehörten **207** verschiedenen Serovaren an. Diese sind in Tabelle 16 aufgeführt.

Die O:H-Kombinationen unterschieden sich bezüglich ihrer Häufigkeit und den Herkünften, Mensch (Stuhl), Tier (Kot), Lebensmittel, Wasser, aus denen sie isoliert wurden. Die insgesamt meist detektierten Serovare waren: **O26:H11** (64mal), **O103:H2** (62mal), **O145:H-** (45mal), **O91:H-** (38mal), **Ont:H-** (34mal), **O157:H-** (30mal), **O157:H7** (29mal), und **ORF:H-** (28mal).

Tab. 16: Ermittelte Serovare, Häufigkeit und Herkunft

Serovar	Anzahl	Mensch	Tier	Lebensmittel	Wasser
O1:H-	2	2			
O1:H10	1		1		
O1:Hnt	2	1		1	
O2:H-	1	1			
O2:H4	1	1			
O2:H6	12	12			
O2:H27	4	3			1
O2:H32	9	4		5	
O5:H-	9	1	8		
O6:H1	2	1		1	
O6:H10	4	4			
O6:H31	1	1			
O8:H-	3	2			1
O8:H4	1				1
O8:H8	1	1			
O8:H19	7	3	3		1
O8:Hnt	6	4			2
O8:HRF	1				1
O9:H-	3	2			1
O9:H31	1		1		
O10:H42	1	1			
O13:H4	1	1			
O15:H8	3				3
O18:H7	1				1
O18:H9	1				1
O20:H-	1			1	
O21:H21	1		1		
O21:H25	1	1			
O22:H8	5	4	1		
O22:Hnt	1			1	
O23:H15	4	4			
O23:H16	1	1			
O23:H21	1	1			
O26:H-	12	12			

Fortsetzung Tab. 16

Serovar	Anzahl	Mensch	Tier	Lebensmittel	Wasser
O26:H11	64	64			
O26:HRF	1	1			
O28:Hnt	2	1	1		
O40:HRF	1	1			
O42:H-	1	1			
O43:H2	1	1			
O46:H38	1		1		
O48:H8	1	1			
O48:H49	1	1			
O51:H14	1	1			
O55:H6	1	1			
O55:H7	1	1			
O55:H12	2			1	1
O55:H31	3		1	2	
O55:Hnt	10	4	4		2
O55:HRF	1	1			
O69:H-	1		1		
O74:H-	2	2			
O74:H27	2	2			
O74:H28	8	5			3
O74:H42	7	2	5		
O74:Hnt	1	1			
O75:H-	1	1			
O75:H55	1	1			
O76:H-	4	3			1
O76:H19	17	10	4	2	1
O77:H11	1	1			
O77:H18	3	2			1
O77:H41	1	1			
O78:H-	2	2			
O80:H-	3	3			
O82:H8	1				1
O84:H-	2	1	1		
O86:H-	1		1		
O86:Hnt	1			1	
O87:H16	3		3		
O87:H19	1		1		
O88:H-	1	1			
O88:H25	1		1		
O90:H15	1	1			
O91:H-	38	36		2	
O91:H14	13	13			
O91:H21	7	3	4		
O91:H28	1	1			
O91:Hnt	1	1			
O91:HRF	1	1			
O96:H12	1	1			
O98:H8	1	1			
O100:H-	4	2		2	
O103:H-	1	1			
O103:H-	1	1			

Fortsetzung Tab. 16

Serovar	Anzahl	Mensch	Tier	Lebensmittel	Wasser
O103:H2	62	60	1		1
O103:H11	1	1			
O103:H25	1				1
O104:H12	1	1			
O104:H21	1				1
O105:H18	2			2	
O106:H-	1	1			
O106:H18	1	1			
O109:H25	1	1			
O111:H-	17	16	1		
O111:H8	1	1			
O112:H-	2	2			
O112:H2	1	1			
O112:H4	1	1			
O112:H11	1	1			
O113:H-	3	2			1
O113:H4	15	10	1		4
O113:H21	3	2		1	
O113:H28	1	1			
O113:H41	1				1
O115:H-	4	4			
O115:H10	4	4			
O115:H18	1	1			
O116:H21	1				1
O117:H-	1	1			
O117: H7	1	1			
O118:H-	1		1		
O118:H16	3	3			
O119: H4	2	2			
O123: H-	1	1			
O128: H2	9	6	3		
O129: H11	1	1			
O130:H-	1	1			
O130:H11	2	1		1	
O136:H12	1	1			
O136:H16	1		1		
O136:Hnt	2	2			
O138:H8	1	1			
O143:H4	1	1			
O145: H-	45	43	2		
O145:H28	1	1			
O145:Hnt	3	3			
O146:H-	4	4			
O146:H21	19	14	5		
O146:H28	8	7	1		
O147:H21	1	1			
O153:H19	1	1			
O153:H25	2		2		
O153:Hnt	1	1			
O153:HRF	1	1			
O154:H20	1	1			

Fortsetzung Tab. 16

Serovar	Anzahl	Mensch	Tier	Lebensmittel	Wasser
O154:H31	5	3		1	1
O154:H4	1	1			
O154:Hnt	2				2
O155:H-	2	2			
O155:H31	1	1			
O156:H-	1	1			
O156:H7	2	2			
O157:H-	30	27		1	2
O157:H7	29	29			
O158: H-	1	1			
O160:H-	1	1			
O163:H19	1				1
O165:H-	1				1
O168:H8	1				1
O171:H25	1	1			
O174:H-	2	1	1		
O174:H2	4	2			2
O174:H4	1		1		
O174:H8	19	2	16	1	
O174:H21	1				1
O175:H4	1	1			
O175:H8	2	1			1
O175:H28	5	1			4
O176:H-	2	1			1
O177:H-	8	7	1		
O177:H11	3	3			
O177:H21	1		1		
O178:H-	1	1			
O178:H7	2	2			
O178:H19	1	1			
O179:H8	3		3		
O181:H8	1	1			
O181:H16	1	1			
Ont:H-	35	17	4	9	5
Ont:H2	6	3	2		1
Ont:H4	3	3			
Ont:H6	4	4			
Ont:H7	3	1		2	
Ont:H8	4		3		1
Ont:H9	1	1			
Ont:H10	1	1			
Ont:H11	2	1		1	
Ont:H14	2				2
Ont:H16	4	3	1		
Ont:H17	1	1			
Ont:H18	2	2			
Ont:H19	6	6			
Ont:H21	3	2			1
Ont:H25	3	1	1		1
Ont:H28	2	1	1		
Ont:H31	3	3			

Fortsetzung Tab. 16

Serovar	Anzahl	Mensch	Tier	Lebensmittel	Wasser
Ont:H35	1	1			
Ont:H41	1				1
Ont:H48	2	1			1
Ont:H49	1		1		
Ont:Hnt	9	4	2	1	2
ORF:H-	28	21	4	1	2
ORF:H2	10	10			
ORF:H4	3	3			
ORF:H7	1		1		
ORF:H8	2		1		1
ORF:H11	6	6			
ORF:H12	2			1	1
ORF:H14	2	1			1
ORF:H19	5	3		2	
ORF:H21	2	1			1
ORF:H23	2				2
ORF:H28	2	2			
ORF:H45	2	2			
ORF:H51	1				1
ORF:Hnt	5	5			
ORF:HRF	1	1			

4.2 Subtypisierung der *stx2*-positiven Isolate

Alle *stx2*-positiven Isolate des Jahres 2006 wurden in der vorliegenden Studie durch Schmelzkurvenanalyse subtypisiert sowie durch PCR mit Subtypen-spezifischen Primern untersucht. Überprüft wurden auf diese Art 52 Isolate humanen Ursprungs und insgesamt 16 Isolate aus Kot-, Lebensmittel-, und Wasserproben.

Durch die **Schmelzkurvenanalyse** zeigte sich bei den Stuhlisolaten 24mal der Subtyp *stx*2/2c, 18mal *2d* und 8mal *2e*, in Isolaten nicht humanen Ursprungs 9mal der Subtyp *stx*2/2c, 2mal *2d* und 4mal *2e*. Abbildung 15 veranschaulicht exemplarisch die Schmelzkurven je eines *stx*2c-, *2d*-, und *2e*-positiven EHEC-Stammes.
Alle auf diese Weise als *stx*2/2c- oder *2d*-positiv ermittelten Isolate konnten durch Subtypen-spezifische PCR bestätigt werden.
Von den als *stx*2e-positiv ermittelten Isolaten konnten ein Trinkwasserisolat und ein Stuhlisolat nicht durch Subtypen-spezifische PCR als *stx*2e-positiv bestätigt werden. Sie zeigten sich in der PCR wiederholt *stx*2e negativ und *stx*2/2c positiv (siehe Abbildung 16).
Weitere drei Isolate (2 Stuhlisolate, 1 Kotisolat) ließen sich durch Schmelzkurvenanalyse keinem Subtyp zuordnen: ihre Schmelzpunkte / bzw. -kurven lagen um etwa 2 ° C niedriger als die des *stx2e*-Kontrollstamms (siehe Abbildung 16). Diese Isolate stellten sich in der Subtypen-PCR wiederholt *stx*2e negativ und *stx*2/2c positiv dar.
Die Verteilung der Subtypen durch **PCR** brachte folgendes Ergebnis:
In Stuhlisolaten 27mal der Subtyp *stx*2/2c, 18mal *2d* und 7mal *2e*, bei den Isolaten aus Kot-, Lebensmittel-, oder Wasserproben 11mal *stx*2/2c, 2mal *2d* und 3mal *2e.*

Tab. 17: Ergebnisse der Subtypisierung durch Schmelzkurvenanalyse und PCR (n = 68)

Schmelzkurvenanalyse				PCR			Herkunft der Isolate
stx2/2c	*stx2d*	*stx2e*	nicht eindeutig	*stx2/2c*	*stx2d*	*stx2e*	
24	18	7	2	27	18	7	Mensch (Stuhl)
9	1	0	1	10	1	0	Tier (Kot)
0	0	3	0	0	0	3	Lebensmittel
0	1	1	0	1	1	0	Trinkwasser
33	20	12	3	38	20	10	gesamt

Abb. 14: Vergleichende Darstellung der Ergebnisse von Schmelzkurvenanalyse und PCR

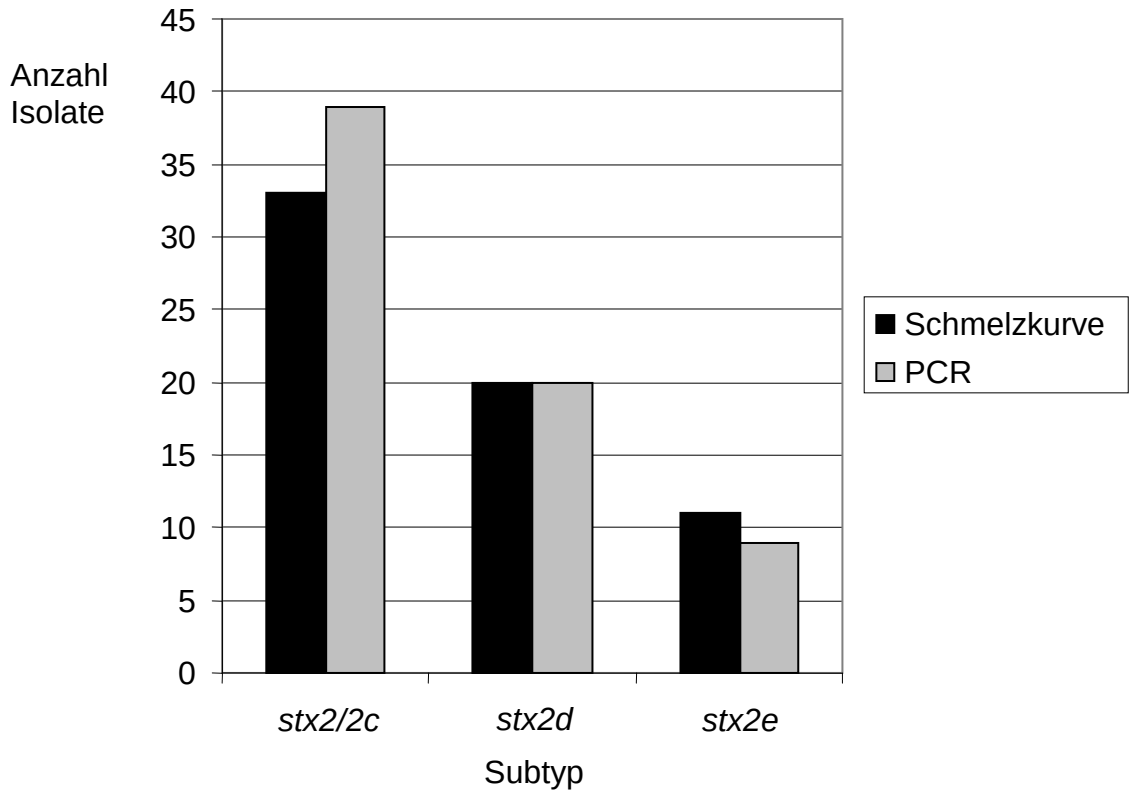
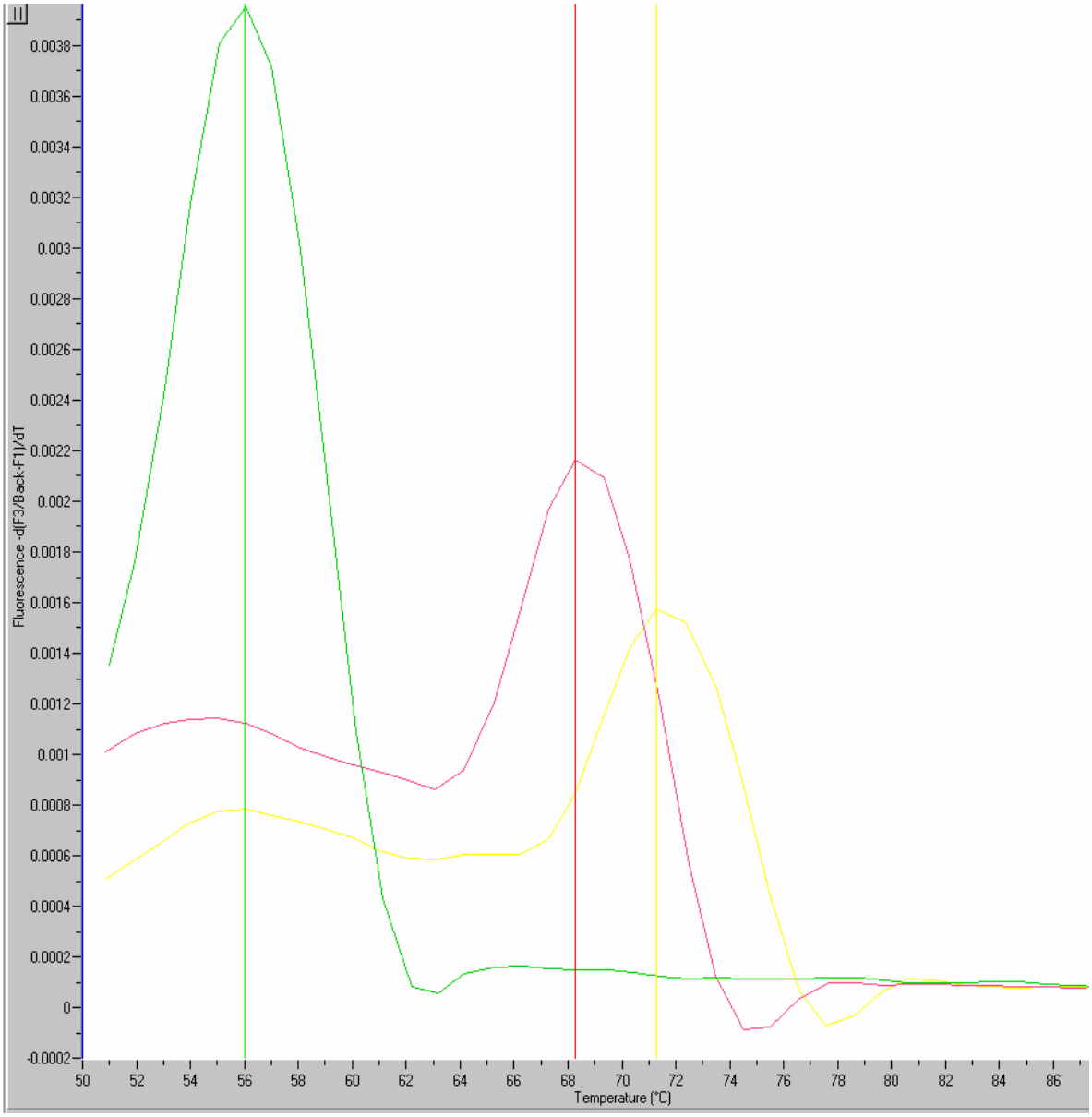
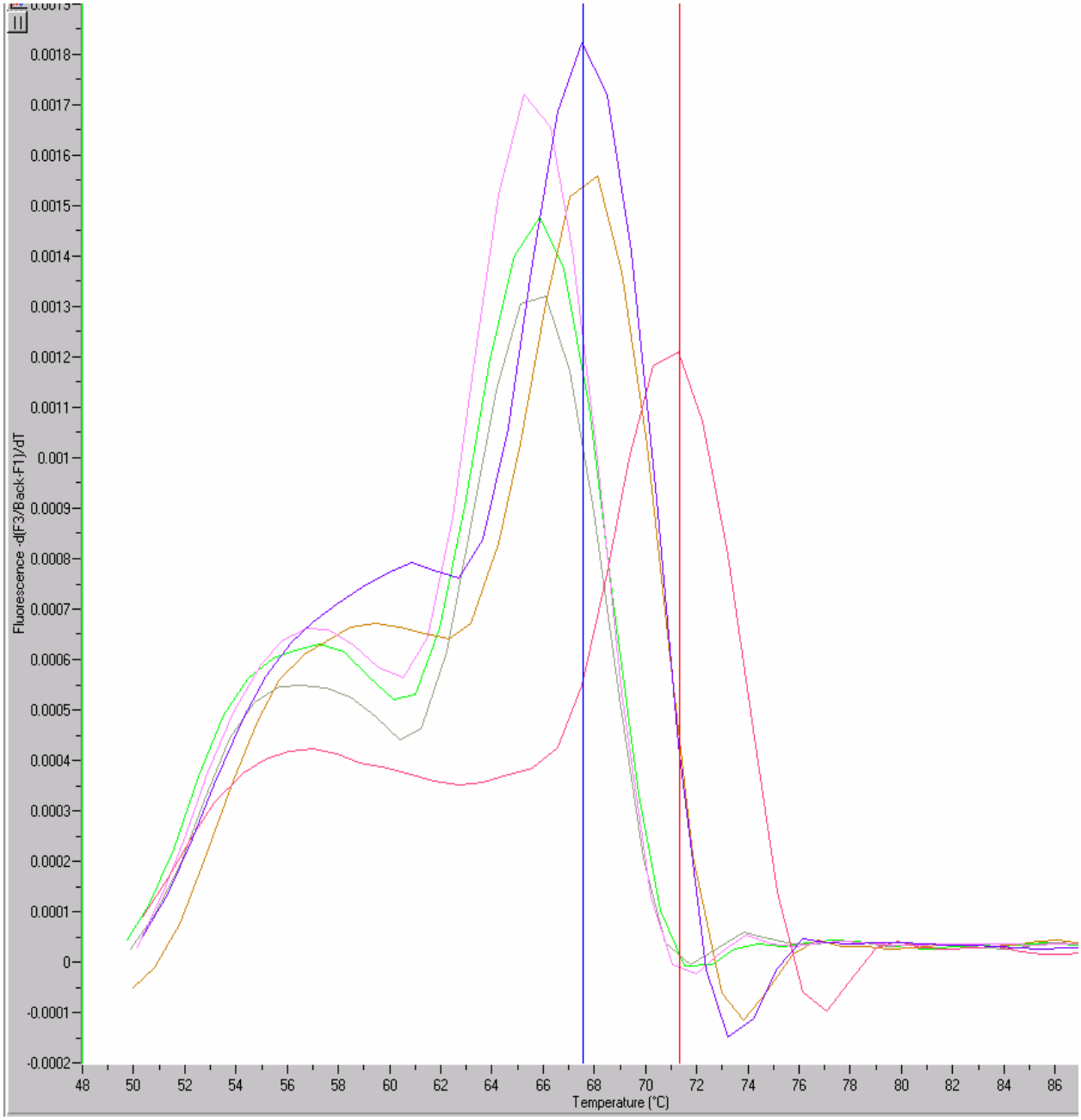


Abb. 15: Beispiel der Schmelzkurvenanalyse. Schmelzkurven der Kontrollstämme *stx*2c, *stx*2d und *stx*2e (siehe Tabelle 12, S. 47).



Gelbe Kurve: Kontrollstamm *stx*2c
(Schmelztemperatur 71 °C; ersichtlich am Lot durch den Kurvenscheitel)
Rote Kurve: Kontrollstamm *stx*2e
(Schmelztemperatur 68 °C; ersichtlich am Lot durch den Kurvenscheitel)
Grüne Kurve: Kontrollstamm *stx*2d
(Schmelztemperatur 56 °C; ersichtlich am Lot durch den Kurvenscheitel)

Abb. 16: Schmelzkurvenanalyse. Kurven der Kontrollen *stx*2c und *stx*2e, sowie Kurven von drei Isolaten, die durch Schmelzkurvenanalyse nicht zugeordnet werden konnten, und Kurve eines Isolats, dessen Schmelztemperatur *stx*2e entspricht, aber in der PCR *stx*2c-positiv getestet wurde.

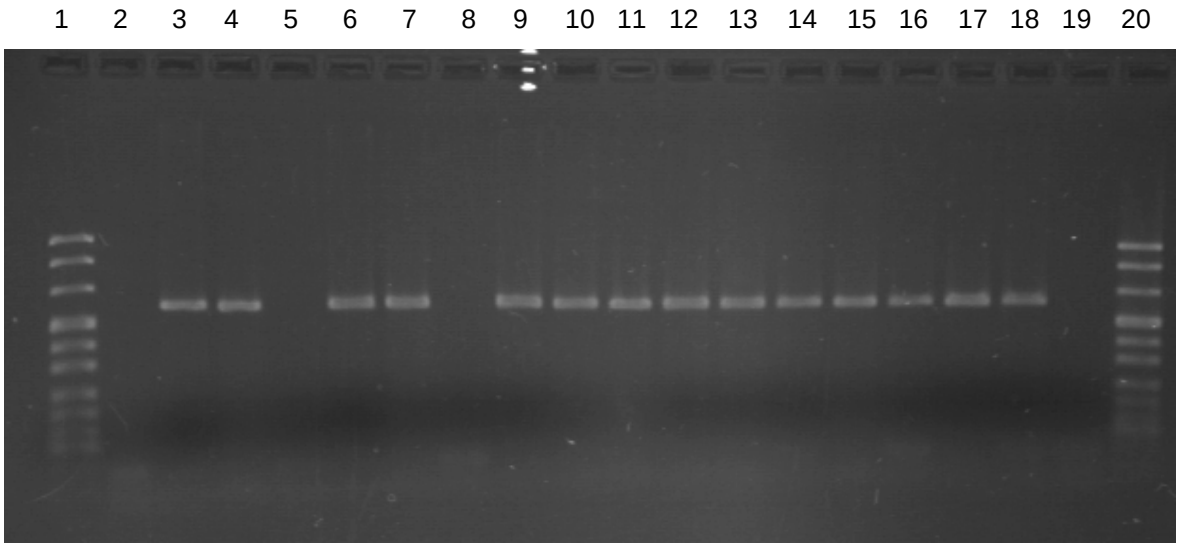


Rote Schmelzkurve: Kontrollstamm *stx*2c

Blaue Schmelzkurve: Kontrollstamm *stx*2e

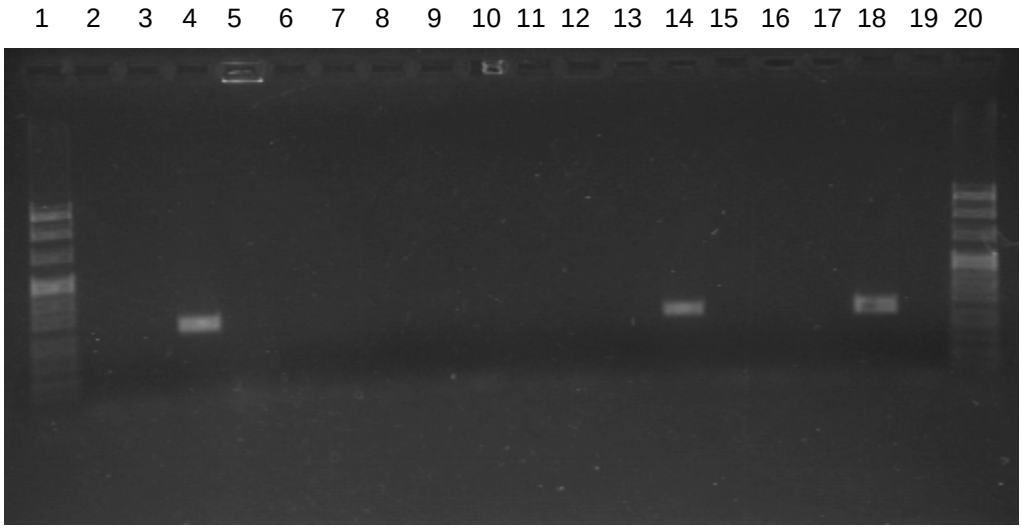
Restliche Schmelzkurven (rosa, grün, grau, orange): in PCR mit *stx*2c-spezifischen Primern positiv (GK3/4) und *stx*2e-negativ (FK1/2).

Abb. 17: *stx*2-PCR mit LP43/44



1, 20: Längenstandard
2, 5, 8: *stx2*-negative Isolate
3, 4, 6, 7,9-17: *stx2*-positive Isolate
18: Positivkontrolle
19: Negativkontrolle

Abb. 18: *stx*2e-PCR mit FK1/2



1, 20: Längenstandard
2, 3, 5-13, 15-17: *stx2e*-negative Isolate
4, 14: *stx2e*-positive Isolate
18: Positivkontrolle
19: Negativkontrolle

Von den 27 in der Subtypen-spezifischen PCR *stx2/2c*-positiv gestesteten Stuhlisolaten waren 20 *eae*- und 22 E-*hly*-positiv. Keines der elf *stx2/2c*-positiven Isolate aus Kot und Trinkwasser zeigte sich positiv für Intimin, sieben für Enterohämolysin.
Von den 18 *stx2d*-positiven Stuhlisolaten wurde *eae* in drei, E-*hly* in zehn detektiert. Von den zwei *stx2d*-positiven Isolaten aus Kot- und Trinkwasserproben war keines *eae*-, eines E-*hly* positiv. Weiterhin wurde *eae* in keinen, E-*hly* in einem der sieben *stx2e*-positiven Stuhlisolate nachgewiesen. Keines der drei *stx2e*-positiven Lebensmittelisolate besaß das *eae*- oder das E-*hly*-Gen.

4.3 Untersuchung von Isolaten auf das Zytotoxin Subtilase

Fünf (3 %) der 185 untersuchten Stuhlisolate zeigten sich Subtilase-positiv.
Die vollständigen Virulenzprofile dieser fünf Isolate zeigt Tabelle 18.

Tab. 18: Subtilase-positive Stuhlisolate

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O171:H25	-	+	+	-
O106:H18	+	-	-	+
Ont:H2	+	+	-	+
Ont:H25	-	+	-	+
O130:H11	+	-	-	+

+ positiv
- negativ

Von den zehn untersuchten Lebensmittelisolaten erwies sich eines aus der Martrix Milch als Subtilase-positiv. Dieses ließ sich folgendermaßen charakterisieren:

Tab. 19: Subtilase-positives Isolat aus Milch

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O105:H18	-	+	-	+

+ positiv
- negativ

Von den 20 Stämmen, die aus Kot isoliert worden waren, stellten sich zwei als Subtilase-positiv dar.

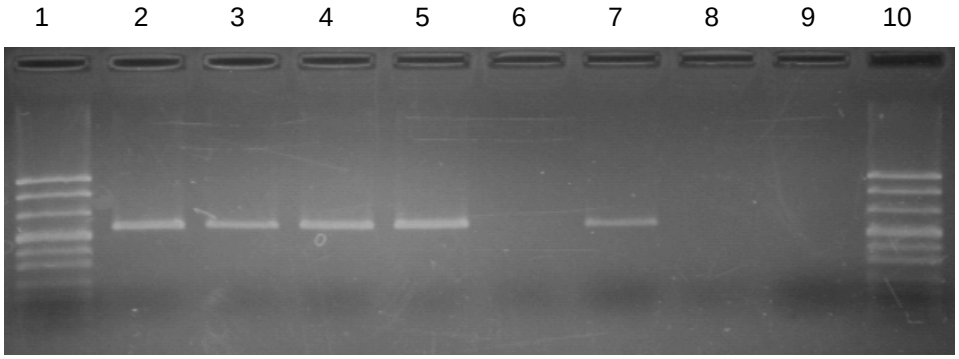
Tab.20: Subtilase-positive Isolate aus Kot

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***	***Tierart***
O179:H8	-	+	-	+	Rind
O21:H21	+	+	-	-	Ziege

+ positiv
- negativ

Die untersuchten Wasserisolate waren alle Subtilase-negativ.

Abb. 19: Ergebnis einer Subtilase-PCR



1, 10: Lägenstandard
2-5: Subtilase-positive Proben (Bande bei 556 bp)
6: Subtilase-negative-Probe
7: Positivkontrolle (Bande bei 556 bp)
8, 9: Negativkontrolle

5 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden erstmalig STEC/EHEC-Untersuchungsergebnisse von unterschiedlichem Probenmaterial wie Stuhl, Kot, Lebensmittel und Wasser aus Bayern in einem Zeitraum von fünf Jahren analysiert. Alle ermittelten Daten stammten von Proben aus dem Untersuchungsmaterial des LGL. Allerdings lagen keine Informationen zum klinischen Bild der EHEC-infizierten Personen vor. Deshalb erlaubt diese Arbeit eine Darstellung der geno- und phänotypischen Merkmale der nachgewiesenen Bakterien, jedoch keine Aussage über deren tatsächliche pathogene Bedeutung. In der Regel stammte die Mehrzahl der *stx*-positiven Proben von symptomlosen Ausscheidern, sowohl von Menschen als auch von Tieren, die im Rahmen von Umgebungsuntersuchungen zur Ermittlung der Infektionsquelle erkrankter Personen untersucht wurden (Busch, persönliche Mitteilung, 2008).

5.1 Methoden und Ergebnisse

5.1.1 Real-Time-PCR

Die angewandte Real-Time-PCR ist eine sensitive Methode zum Nachweis des *stx1*- bzw. *stx2*-Gens. Auf diesem Wege kann für *stx1* und *stx2* jeweils **eine** Kopie sicher nachweisen werden. Die Nachweisgrenze in der konventionellen Blockcycler-PCR liegt sowohl für *stx1* als auch für *stx2* bei 10 bis 100 DNA-Kopien pro Ansatz (Busch et al. 2007b).

5.1.2 EHEC-Nachweis beim Menschen

Der Bevölkerungsanteil, bei dem in der vorliegenden Studie in Stuhlproben am häufigsten EHEC nachgewiesen wurden, war der der Kleinkinder. Dies stimmt mit Angaben in der Literatur überein. Bei Untersuchungen von Beutin et al. (2004) stellte diese Altersgruppe ebenfalls den größten der Teil der mit EHEC-infizierten Personen. Auch Bockemühl et al. (1997) zeigten, dass von EHEC- und HUS-Fällen in Deutschland am häufigsten Kinder bis zehn Jahre betroffen waren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden EHEC zu 23 % in Stuhlproben von 21- bis 40-Jährigen detektiert. Eine Erklärung hierfür ist, dass in diese Altersgruppe die Eltern von erkrankten Kleinkindern fallen, die per Mensch zu Mensch Übertragung durch ihre Kinder infiziert werden. Huber et al. (1998) sprachen diesem Übertragungsweg eine wichtige Rolle zu. Weiterhin ermittelten die Autoren, dass bei asymptomatischen EHEC-Infektionen, die im Durchschnitt höhere Altersstufen (3. bis 5. Lebensjahrzehnt) betrafen, Frauen stärker vertreten waren. Ein Grund hierfür könnte im intensiveren Kontakt von Mutter und Kind liegen.
Niedrig (6 %) war in der vorliegenden Studie dagegen der Anteil der EHEC-positiven Personen über 60 Jahre. Auch bei Untersuchungen von Beutin et al. (2004) waren dieser Altergruppe nur 7 % der Infizierten zuzurechnen.

Darüber hinaus wurde in dieser Arbeit das *eae*-Gen in 49 % und das E-*hly*-Gen in 70 % der Stuhlisolate detektiert, 72 % der Stuhlisolate von Kindern bis zu vier Jahren zeigten sich *eae*-positiv. Ebenso verwiesen Beutin et al. (2004) auf eine enge Verbindung zwischen Patientenalter und Anwesenheit von *eae*: Die Arbeitsgruppe ermittelte bei 88 % EHEC-infizierter Kinder unter 6 Jahren dieses Virulenzmerkmal, das als Risikofaktor für die Ausbildung eines HUS betrachtet wird. Das gehäufte Auftreten von *eae* bei dieser Altersgruppe kann als mögliche Ursache dafür gesehen werden, dass Kleinkinder öfter und schwerer erkranken als Personen anderen Alters (Bockemühl et al. 1997, Ethelberg et al. 2004).

Weiterhin zeigte diese Studie, dass *stx1* (43 %) in Mischkulturen aus Stuhlproben gegenüber *stx2* (36 %) und der Kombination von *stx1* und *stx2* zusammen (21 %) dominierte. Dies lässt sich mit der Herkunft der Proben erklären: der Großteil stammte von symptomlosen Ausscheidern oder nur leicht erkrankten Personen. Bockemühl et al. (1998) ermittelten, dass Shigatoxin-1 häufiger bei Personen mit leichten enteralen Symptomen, Shigatoxin-2 öfter bei schwereren Krankheitsverläufen nachgewiesen wird.

5.1.3 STEC-Nachweis bei Tier, Lebensmittel und Wasser

In der vorliegenden Studie konnten STEC bei folgenden Tierarten ermittelt werden: Rind (277/905), Schaf (35/49), Schwein (23/36), Ziege (18/39), Damwild (14/36), Rotwild (4/9), Katze (4/10), Hund (2/5), Kamel (2/3), Lama (1/2), Reh (1/2), Huhn (1/4). Die Literatur beschrieb diese Tierarten ebenfalls als Reservoir für die nachgewiesenen Bakterien (Beutin et al. 1993, Asakura et al. 1998, Geue et al. 2002, Blanco et al. 2003, Mercado et al. 2004, Dipineto et al. 2006, Lehmann et al. 2006, Stephan et al. 2007).

Lebensmittelgruppen, die sich in dieser Arbeit häufig STEC-positiv zeigten, waren Milch- und Milchprodukte sowie Rohwürste. Bei den Milchproben handelte es sich in der Regel um Roh- und Vorzugsmilch. Dreesmann et al. (2007) berichteten von einem EHEC-Ausbruch mit 59 erkrankten Personen, bei dem aufgrund epidemiologischer Ergebnisse Rohmilch aus einem landwirtschaftlichen Betrieb mit hoher Sicherheit als Infektionsquelle angesehen werden konnte. Dies sollte in Anbetracht des Trends zu Produkten aus der Direktvermarktung zu denken geben: Milch, die nicht zuvor abgekocht wurde, sollte, vor allem von Kleinkindern, nicht konsumiert werden.

Die Tatsache, dass sich Rohwürste in der vorliegenden Studie oft STEC-positiv darstellten, deckt sich mit Berichten von MacDonald et al. (2004), Oteiza et al. (2006) und Messelhäußer et al. (2007). Jedoch ist die Tatsache in der Hinsicht interessant, dass aus Fleischproben deutlich seltener STEC nachgewiesen wurden als aus Wurstwaren. Das wirft die Frage auf, inwieweit die Keimbelastung des Ausgangsmaterials Fleisch tatsächlich verantwortlich ist für das Vorkommen von STEC/EHEC in den Rohwürsten oder ob die Hauptursache in einer Rekontamination während des Herstellungsprozesses liegt.
Die Bedeutung, die hierbei der Personalhygiene zukommt, legten Gareis et al. (2000) und Stephan et al. (2000) dar. Beide Arbeitsgruppen wiesen STEC bei gesunden Mitarbeitern in fleischverarbeitenden Betrieben nach. Pirchner et al. (2006) kamen bei der Untersuchung von Salamiprodukten ebenfalls zu dem Schluss, dass STEC auf hygienische und/oder technologische Mängel bei der Herstellung schließen lassen.

In der mangelnden personellen und technologischen Hygiene könnte somit auch die Erklärung für die in dieser Arbeit gefundenen *stx*-positiven Umgebungsproben (Messer, Tisch, Haken) liegen.

In Mischkulturen aus Kot-, Lebensmittel- und Wasserproben wurde in der vorliegenden Studie *stx2* (44 %) oder die Kombination von *stx1* und *2* (36 %) häufiger detektiert als *stx1* (20 %). Dem kommt eine große Bedeutung zu, da Shigatoxin-2-bildende STEC/EHEC öfter mit ernsthaften Erkrankungen beim Menschen assoziiert sind, als Erreger, die nur Shigatoxin-1 ausbilden (Bockemühl et al. 1998, Huber et al. 1998, Friedrich et al. 2002). Insofern besitzt ein Großteil der STEC aus Kot, Lebensmittel und Wasser pathogenes Potential für den Menschen. Intimin, als Risikofaktor für die Ausbildung von HUS betrachtet (Bockemühl et al. 1997, Ethelberg et al. 2004), wurde in dieser Arbeit bei 7 % aller Kotisolate und in je 5 % der Isolate aus Lebensmittel und Wasser nachgewiesen. Ähnliche Ergebnisse ermittelten Beutin et al. (2007a): Die Arbeitsgruppe konnte Intimin-positive STEC bei 1,8 % der untersuchten Lebensmittel detektieren, fast die Hälfte besaß Shigatoxin-2 oder -2-Varianten, die als ein Hauptvirulenzmerkmal für schwere Krankheitsverläufe gelten.

5.1.4 Ermittelte Serovare

Die STEC/EHEC-Isolate der vorliegenden Studie ließen sich 207 verschiedenen Serovaren zuordnen. Bei Mensch, Tier, Lebensmittel **und** Wasser wurden die Serovare O76:H19, Ont:H-, Ont:Hnt und ORF:H- isoliert. Dies stellt in Anbetracht der Fülle von insgesamt 207 unterschiedlichen O:H-Kombinationen nur eine sehr geringe Zahl dar.

Die Isolate aus Stuhl gehörten am häufigsten den Serovaren O26:H11 (n = 64), O103:H2 (n = 60), O145:H- (n = 43) und O91:H- (n = 36) an. Dieses Resultat harmonisiert mit Literaturangaben. Die genannten O:H-Kombinationen wurden weltweit häufig bei EHEC-infizierten Personen nachgewiesen (Brooks et al. 2005, Beutin 2006, Bettelheim 2007).

Der bei einer Langzeitstudie (1983-2002) in den USA (Brooks et al. 2005) dominante Serotyp O111 wurde dagegen in der vorliegenden Studie seltener (n = 18) detektiert, die in den USA ebenfalls häufigen Serotypen O45 und O126 traten nicht auf.
Die Serotypen O91, O103 und O145 ließen sich im Rahmen dieser Arbeit bei Menschen, aber auch bei Tieren, Lebensmittel und Wasser isolieren: O91 aus Lebensmittel- und Rinderkotproben, O103 aus Wasser und Katzenkot und Serotyp O145 aus Kotproben von Katze und Ziege. Dem Serotyp O91 wird jedoch im Gegensatz zu allen anderen Serotypen ein anderes Verbreitungsmuster zugewiesen: er wird in der Regel nicht beim Wiederkäuer gefunden, als Reservoir gelten Mensch und Lebensmittel (Stark et al. 2007). Entgegen dieser Beobachtung konnte in der vorliegenden Studie das O91-Antigen neben Isolaten von Mensch und Lebensmittel auch in Kotisolaten bovinen Ursprungs ermittelt werden. Allerdings trat beim Wiederkäuer O91 ausschließlich in Kombination mit dem H21-Antigen auf, bei Lebensmitteln dagegen ohne H-Antigen und beim Menschen sowohl mit H14 als auch in unbeweglicher Form (H-), nicht jedoch, wie bei Wiederkäuern, mit H21.
Der bei Tieren in dieser Studie am häufigsten detektierte Serotyp O174 wurde von Barlow et al. (2006) sehr häufig bei Rindfleischproben ermittelt.

Alle Isolate, die in der vorliegenden Arbeit dem Serovar **O157:H7** angehörten, waren humanen Ursprungs. Isolate dagegen, die sich **O157:H-** zuordnen ließen, stammten darüber hinaus auch aus einer Lebensmittel- und zwei Trinkwasserproben. Karch et al. (2005) sind entgegen dieser Beobachtung der Meinung, das O157:H- in erster Linie beim Menschen, O157:H7 dagegen in vielen anderen Quellen zu finden ist.
Indessen waren sich die Serovare O157:H7 (29mal) und O157:H- (30mal) dieser Studie in ihrer Häufigkeit sehr ähnlich. In Isolaten humanen Ursprungs nahmen die O:H-Kombinationen O157:H7 (n = 29) und O157:H- (n = 27) die fünfte und sechste Stelle der am häufigsten ermittelten Serovare ein, nach O26:H11 (n = 64), O103:H2 (n = 60), O145:H- (n = 43) und O91:H- (n = 36).

Die aus der vorliegenden Arbeit gewonnene Erkenntnis, dass beim Serotyp O157 generell eine abnehmende Tendenz zu beobachten ist, deckt sich mit Beobachtungen von Brooks et al. (2005), Johnson et al. (2006) und Bettelheim (2007) dahingehend, dass die Bedeutung der Nicht-O157-EHEC im Steigen begriffen ist.

Bettelheim beschäftigte sich indes schon seit längerem mit der Wichtigkeit der Nicht-O157-EHEC und veröffentlichte (2000, 2003) im *MicroBioNet* den so genannten „*VETC-Table",* eine Zusammenstellung aller bis zu diesem Zeitpunkt beschriebenen Nicht-O157-STEC-Serovare mit Herkunft, Datum und gegebenenfalls entsprechender Klinik.
Im Rahmen dieser Studie gehörten STEC-Isolate 59 typisierbaren O:H-Kombinationen an, die Bettelheim nicht aufgelistet hat, so zum Beispiel O1:H10, O10:H42, O55:H31, O104:H12, O106:H18, O109:H25, O112:H11, O113:H41 und O129:H11. O:H-Kombinationen mit den in der vorliegenden Arbeit detektierten Serotypen O155, O158, O176, O177, O178, O179 und O181 waren bei Bettelheim nicht zu finden. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die letzte aktualisierende Ergänzung Bettelheims „*VETC-Table"* bereits aus dem Jahr 2003 stammt, und dass seitdem weitere STEC-Serovare in der Literatur beschrieben wurden.

Sowohl aus Bettelheims (2000, 2003) *„VTEC-Table"* als auch aus der vorliegenden Studie, die 207 unterschiedliche O:H-Kombinationen aufführt, wird deutlich, wie vielen unterschiedlichen Serovaren STEC/EHEC angehören können.
Daraus, und aus Angaben in der Literatur (Blum et al. 1995, Heißenhuber et al. 2005), geht hervor, dass *E. coli* nicht anhand des Serotyps einer Pathogruppe zugeordnet werden kann.
Dies macht deutlich, dass die Diagnostik einer EHEC-Infektion nicht über den Serotyp, sondern ausschließlich über den Nachweis der Shigatoxine geführt werden sollte, zumal auch vom Nachweis Shigatoxin-negativer *E. coli* O157 berichtet wurde (Friedrich et al. 2007, Stephan et al. 2007).

5.1.5 Subtypisierung

Da Shigatoxin-2 häufiger bei ernsthaften Erkrankungen des Menschen nachgewiesen wurde als Shigatoxin-1, sich jedoch die Subtypen von Stx2 erheblich in ihrer Pathogenität unterscheiden, ist die Kenntnis des jeweiligen Subtyps einer jeden *stx2*-positiven Probe von enormer Wichtigkeit um prognostisch Schlüsse auf den weiteren Verlauf einer EHEC-Infektion ziehen zu können. Vor allem die Varianten *stx*2/2c sind oft mit schweren klinischen Symptomen verbunden, während *stx*2d und 2e in der Regel bei symptomlosen Ausscheidern oder nur leicht erkrankten Personen nachgewiesen werden (Friedrich et al. 2002, Mellmann et al. 2004, Orth et al. 2007, Persson et al. 2007). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit die Subtypisierung aller *stx*2-positiven Isolate eines Jahres vorgenommen, um einen Einblick in Vorhandensein und Verteilung der *stx2*-Subtypen bei Isolaten von Mensch, aber auch von Tieren, Lebensmittel und Wasser zu bekommen.
Untersucht wurde in der vorliegenden Studie auf das Vorliegen der Subtypen *stx2/2c* (Strockbine et al. 1986, Schmitt et al. 1991), *stx2d* (Pierard al. 1998) und *stx2e* (Weinstein et al. 1988). Hierzu wurden zwei unterschiedliche, unabhängige Methoden angewandt, Schmelzkurvenanalyse und PCR mit subtypenspezifischen Primern.

Bei Ermittlung des Subtypen *stx2d* lieferten beide Methoden identische Ergebnisse, während beim Nachweis der Subtypen *stx*2/2c und *stx*2e zum Teil unterschiedliche Resultate erzielt wurden: Zwei durch Schmelzkurvenanalyse eindeutig *stx2e* zuordenbare Isolate aus Trinkwasser- und Stuhlproben zeigten sich in der subtypenspezifischen PCR *stx2*e-negativ und *stx2/2c*-positiv.
Weiterhin war es durch Schmelzkurvenanalyse nicht möglich, alle Isolate einem Subtyp zuzuordnen: so konnten drei Isolate aus Stuhl- und Kotproben anhand ihrer Schmelztemperatur keinem Referenzstamm zugeordnet werden. Auch diese Isolate stellten sich in der subtypenspezifischen PCR *stx2/2c*-positiv dar.

Die im Rahmen dieser Studie ermittelten Ergebnisse zeigten, dass der Subtyp *stx*2/2c neben der von Reischl et al. (2002) beschriebenen Schmelztemperatur von 71 °C auch mit einer Schmelztemperatur von etwa 64 °C, die unter der des Subtyps *stx*2e (66 °C; Reischl et al. 2002) liegt, in Erscheinung treten kann. Des Weiteren verbarg sich die Variante *stx2/2c* in seltenen Fällen mit einer Schmelztemperatur von ca. 66 °C komplett unter der Schmelzkurve von *stx*2e. Die vorliegenden Ergebnisse der Schmelzkurvenanalyse sind durch neben den von Reischl et al. (2002) beschriebenen Fehlpaarungen zwischen Hybridisierungssonden und *stx*-Subtypen nur durch weitere Mutationen erklärbar, da das Prinzip der Schmelzkurvenanalyse darauf beruht, dass die Schmelztemperatur umso höher ist, je besser die Sonde zum Target passt, und umso niedriger, je mehr Fehlpaarungen zwischen Sonde und Targetsequenz vorhanden sind. Daraus ergeben sich nach Reischl et al. (2002) Schmelztemperaturen von 71 °C für *stx2/2c* (eine Fehlpaarung), von 66 °C für *stx2e* (vier Fehlpaarungen) und von 55 °C für *stx2d* (sechs Fehlpaarungen).

Interessant ist in diesem Zusammenhang der Bericht von Persson et al. (2007), dem gemäß die Variante Stx2c aus zwei verschiedenen Toxingruppen bestehe. Die Autoren fanden Sequenzunterschiede in Untereinheit A und B bei manchen Toxinvarianten im Vergleich zu anderen Stx2c-Varianten. Weiterhin wurden diese nur in *eae*-negativen EHEC-Stämmen ermittelt. Die Autoren gaben diesem neuen Subtyp den Namen Stx2b. Jejacic et al. (2003) beschrieben dagegen die Variante Stx2c2, die sich letztlich nur in einer einzigen Aminosäure von Stx2c unterscheidet. Über das Schmelzverhalten der DNA dieser beiden Subtypen ist nichts bekannt. Inwieweit sie jedoch eine Rolle spielen könnten bei in dieser Arbeit ermittelten abweichenden Schmelztemperaturen *stx2c*-positiver Isolate muss durch weitere Versuche überprüft werden.
Auch Bischoff (2008, persönliche Mitteilung) fand bei der Subtypisierung von *stx2* mittels Schmelzkurvenanalyse und subtypenspezifischer PCR Isolate, die sich durch Schmelzkurvenanlyse als *stx2e*, durch PCR dagegen zum Teil als *stx2/2c* darstellten, und kam durch Sequenzierung zu dem Ergebnis, dass die Sequenzen der fraglichen Stämme die höchste Übereinstimmung mit dem Subtyp *stx2g* (Leung et al. 2003) zeigten.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse kann die Methode der Schmelzkurvenanalyse eingesetzt werden, um einen orientierenden Überblick über vorhandene Subtypen zu bekommen. Wegen ihrer Schnelligkeit ist sie gut als Screeningverfahren anwendbar, da die wenig pathogene Variante *stx*2d anhand ihrer Schmelzkurve in der vorliegenden Studie eindeutig identifiziert werden konnte.
Die vorliegenden Resultate weisen jedoch klar darauf hin, dass zur Absicherung des Nachweises der Varianten *stx2/2c* und *stx2e* immer eine Subtypen-spezifische PCR durchgeführt werden muss, denn aufgrund der unterschiedlichen Pathogenität beider Subtypen ist eine genaue Differenzierung von großer Bedeutung. Auch Friedrich et al. (2002), Mellmann et al. (2004), Beutin et al. (2007b) und Orth et al. (2007) arbeiteten mit PCR um *stx*2-Varianten zu ermitteln.
Zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang auch, dass in der Literatur von STEC-Stämmen berichtet wird, bei denen durch PCR verschiedene *stx*2-Varianten, z. B. *stx*2 und *stx*2d, gleichzeitig gefunden wurden (Beutin et al. 2007b). Die Möglichkeit, solche Stämme durch Schmelzkurvenanalyse zu identifizieren, bleibt abzuklären.

In Anbetracht der Tatsache, dass, unabhängig von der Methode, alle geprüften Subtypen (*stx2/2c, 2d, 2e*) beim Menschen nachgewiesen wurden, stellt sich die Frage, ob die Subtypisierung in die Routinediagnostik aufgenommen werden sollte, da das Untersuchungsergebnis „*stx*2-positiv“ ohne die Kenntnis des jeweiligen Subtyps nicht umfassend bewertet werden kann. Auch Orth et al. (2007) messen der Differenzierung der Subtypen in diesem Zusammenhang eine große Bedeutung bei. So wäre es zum Beispiel denkbar, beim Nachweis der Varianten *stx*2d und *stx*2e zu weniger einschneidenden Maßnahmen für die infizierten Personen, gerade bei Langzeitausscheidern, zu greifen, als beim Nachweis der pathogeneren Variante *stx*2/2c.

Beutin et al. (2004) betrachteten den Zusammenhang von Shigatoxinsubtypen und dem Auftreten von *eae.* Die Autoren ermittelten 260 (62 %) von 419 untersuchten humanen EHEC-Stämmen der Subtypen Stx2 bzw. 2c als *eae*-positiv. Von 14 untersuchten Stx2d positiven Stämmen zeigte sich keiner, von 6 Stx2e-positiven Stämmen einer *eae*-positiv.

In der vorliegenden Arbeit wurde *eae* in 20 (53 %) von 38 *stx2/2c*-positiven STEC/EHEC-Stämmem nachgewiesen, weiterhin in drei (15 %) von 20 *stx2d*-positiven und in keinem von zehn *stx2e*-positiven Isolaten.

Das RKI (2008) spricht in aktuellen Veröffentlichungen die Empfehlung aus, bei Langzeitausscheidern das Virulenzprofil des EHEC-Stammes (einschließlich Serotyp, Toxinsubtyp und Vorhandensein des *eae*-Gens) in die Risikoabwägung einzubeziehen.

Aber nicht nur beim Menschen, sondern auch bei Tieren, Lebensmitteln und Wasser spielt die Subtypisierung von *stx2* eine wichtige Rolle, um Aussagen über das pathogene Potential der jeweiligen Keime für den Menschen treffen zu können. In der vorliegenden Studie wurden alle geprüften *stx*2-Varianten auch in STEC-Isolaten aus Kot-, Lebensmittel-, oder Wasserproben ermittelt.
In Isolaten aus Wiederkäuerkotproben wurden häufiger die als besonders pathogen geltenden *stx2*-Varianten *stx2/2c* detektiert (n = 10), als die weniger pathogenen Varianten *stx2d* (n = 1) und *2e* (n = 0). Zweifel et al. (2005) konnten bei 37 % von 24 *stx2*-positiven Rinderkotproben den Subtyp *stx2c* detektieren.
Aus den drei im Rahmen dieser Arbeit subtypisierten Lebensmittelisolaten konnte dagegen nur die wenig pathogene Variante *stx*2e nachgewiesen werden. Das führt zum einen zu der Überlegung, ob der direkte Kontakt zu Tieren, v. a. Wiederkäuer, für den Menschen eine größere Gefahr hinsichtlich einer EHEC-Erkrankung birgt, als der Konsum von Lebensmitteln. Zum anderen stellt sich somit auch die Frage, ob die Kontamination von Lebensmitteln mit den STEC/EHEC-Bakterien hauptsächlich faecal im Rahmen des Schlachtvorgangs oder eher durch mangelnde Personalhygiene im Sinne einer Rekontamination zustande kommt, denn die bei Lebensmittelisolaten nachgewiesene Variante *stx*2e wurde in der vorliegenden Studie beim Menschen, nicht aber beim Tier gefunden. Allerdings ist vom Subtyp Stx2e bekannt, dass er vor allem beim Schwein zu finden ist (Bauerfeind et al. 2004). Da in der vorliegenden Arbeit kein Isolat porcinen Ursprungs in die Subtypisierung miteinbezogen wurde, ist es nicht weiter überraschend, dass *stx2e* in Kotisolaten nicht detektiert werden konnte.

Anzumerken ist jedoch, dass für die vorliegenden Ergebnisse eine zu geringe Anzahl an Kot-, Lebensmittel-, und Wasserproben subtypisiert wurde um eine endgültige Aussage treffen zu können, denn in der vorliegenden Arbeit ging es vornehmlich darum, einen ersten Einblick in vorhandene Varianten zu bekommen.

Im Gegensatz zu den vorliegenden Resultaten über *stx2*-Subtypen in Lebensmittelisolaten sehen Beutin et al. (2007b) Lebensmittel als bedeutsame Infektionsquelle für pathogene *stx*2-Varianten. Die Arbeitsgruppe konnte alle gesuchten *stx2*-Varianten mit Ausnahme von *stx2f* in Fleisch, Rohmilch oder Käse nachweisen. Am häufigsten wurden, vor allem in Rindfleischisolaten, die als hochpathogen geltenden Subtypen *stx*2 und *stx*2d_{act} detektiert.

5.1.6 Subtilase

Das Zytotoxin Subtilase wurde im Rahmen der vorliegenden Studie auch in Isolaten aus Bayern nachgewiesen: Es konnte bei EHEC/STEC-Isolaten humanen (5mal) und tierischen (Rind: Kot und Milch, Ziege: Kot, insgesamt 3mal) Ursprungs nachgewiesen werden.
Die Subtilase wurde bisher hauptsächlich in *eae*-negativen, *stx2*-positiven Stämmen gefunden (Osek 2006, Khaitan et al. 2007). In der vorliegenden Arbeit zeigte sich jedoch auch ein *eae*-positiver Stamm als Subtilase-positiv. Vier der *subAB*-positiven EHEC-Stämme waren *stx2* positiv, zwei dagegen waren positiv für *stx1* und *2* zusammen und zwei waren positiv für *stx1*.

Die klinische Bedeutung der Subtilase muss derzeit noch als ungeklärt eingestuft werden, zumal kein klinischer Bericht zu den positiven EHEC-Stämmen vorlag.

5.1.7 Infektionskette Mensch-Tier/Lebensmittel/Wasser

In Anbetracht der Tatsache, dass die Anzahl der infizierten Menschen jedes betrachtete Jahr annähernd gleich war, während die Zahl der STEC-positiven Tiere, Lebensmittel und Wasserproben starken Schwankungen unterlag, ist kein direkter Zusammenhang zwischen der Zahl der infizierten Personen, Tiere, kontaminierte Lebensmittel oder Wasser erkennbar. Dies gilt auch in Anbetracht der Tatsache dass bei Umgebungsproben verstärkt *stx2* detektiert wurde, während in Stuhlproben *stx1* überwog. Dieses Ergebnis legt die Vermutung nahe, dass für den Menschen andere Infektionswege, wie etwa die Mensch-zu-Mensch-Übertragung, eine große Rolle spielen können. Diese Beobachtung machten auch andere Autoren (Bockemühl und Karch 1996), Huber at al. 1998), Werber et al. 2007).

Nichts desto trotz darf die Gefährdung, die von Tier, Lebensmittel oder Wasser ausgehen kann, nicht unterschätzt werden. Bei Tieren, in Lebensmitteln und Wasser wurden STEC nachgewiesen, welche aufgrund ihrer Charakteristika (vor allem *stx2*, und, wenn auch selten, Intimin) für den Menschen pathogen einzustufen sind.
Auch die Serotypen O91, O103, O145, O157, die häufig bei schwer erkrankten Personen vorkamen (Beutin 2006), wurden in der vorliegenden Studie in Isolaten von Tier, Lebensmittel oder Wasser gefunden.

5.2 Schlussfolgerung

- Bei Tieren, Lebensmitteln und im Wasser sind STEC/EHEC nachweisbar, die aufgrund ihrer Pathogenitätsgene als potentielle Krankheitserreger für den Menschen betrachtet werden müssen

- Die Subtypisierung von *stx*-Genen sollte eingesetzt werden, um Prognosen hinsichtlich des Krankheitsverlaufs zu treffen. Hierzu ist die Schmelzkurvenanalyse als Screeningverfahren geeignet

- Das seit kurzem bekannte Zytotoxin Subtilase wurde in STEC/EHEC-Isolaten von Mensch, Tier und Lebensmittel gefunden. Weitere Untersuchungen hinsichtlich Verbreitung und Bedeutung dieses Zytotoxins müssen folgen

6 ZUSAMMENFASSUNG

Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) sind weltweit Ursache für gastrointestinale Erkrankungen unterschiedlichen Schweregrades. Zum Teil treten, vor allem bei Kleinkindern, schwere postinfektiöse Komplikationen wie das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) auf. Als primäres Reservoir für diese Bakterien gelten Wiederkäuer, wo sie bei Adulten zur regulären Darmflora gehören. Insofern besitzen Lebensmittel – tierische, wie auch pflanzliche, bei denen eine gewisse fäkale Kontamination nicht gänzlich auszuschließen ist – als Infektionsquelle große Bedeutung. Auch die Übertragung von Mensch zu Mensch spielt eine entscheidende Rolle im Infektionsgeschehen. Als Hauptvirulenzfaktoren von STEC/EHEC werden die Shigatoxine (Stx) betrachtet, die sich in zwei Typen, Stx1 und Stx2 einteilen lassen. Innerhalb dieser beiden Gruppen sind mehrere Subtypen bekannt, die sich in ihrer Pathogenität unterscheiden. Vor allem die Varianten Stx2/2c sind oft mit schweren Erkrankungsfällen beim Mensch assoziiert. Ein weiterer, erst kürzlich beschriebener Virulenzfaktor ist das Zytotoxin Subtilase. Es wird angenommen, dass der Subtilase als Cofaktor zum Shigatoxin bei der Ausbildung von klinischen Symptomen eine Schlüsselrolle zukommen könnte.

Ziel dieser Studie war es zum einen, STEC/EHEC-Isolate aus verschiedenen Habitaten, also von Mensch, Tier, Lebensmittel- und Wasserproben aus Bayern anhand ihrer geno- und phänotypischen Charakteristika über einen Zeitraum von fünf Jahren (2002 bis 2006) zu vergleichen. Darüber hinaus sollten alle *stx2*-positiven Isolate aus dem Jahr 2006 sowohl durch Schmelzkurvenanalyse als auch durch PCR mit spezifischen Primern subtypisiert und STEC/EHEC-Isolate unterschiedlicher Herkunft auf das Vorkommen des kürzlich entdeckten Zytotoxins Subtilase überprüft werden. Im Rahmen dieser Studie wurden STEC/EHEC, die aufgrund ihrer Pathogenitätsgene die Fähigkeit besitzen, beim Menschen klinische Symptome auszulösen, aus Bakterienisolaten, die von Tieren, Lebensmitteln und Wasser stammten, nachgewiesen. Subtypen, die als besonders pathogen gelten (*stx2/2c*), wurden sowohl in Stuhlisolaten als auch in Isolaten aus Umgebungsproben gefunden, ebenso wie die weniger pathogenen Varianten *stx2d* und *stx2e*. Das Zytotoxin Subtilase konnte in STEC/EHEC-Isolaten menschlicher und tierischer Herkunft (Rind: Kot und Milch, Ziege: Kot) detektiert werden.

7 SUMMARY

Genotypic and phenotypic characterization of Shigatoxin-producing and enterohemorrhagic *Escherichia coli*-isolates of human, animal, food, and water origin from Bavaria in the time period from 2002 to 2006

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) cause gastrointestinal diseases of different severity worldwide. Severe post infectious complications like the hemolytic-uremic syndrome (HUS) partly appear, especially in infants. Ruminants have been identified as the main reservoir for these bacteria, because STEC are found as a part of the normal intestinal flora of the adult animals. So food of animal or even vegetarian origin, by which a certain fecal contamination cant´t be entirely excluded, bears a big meaning as source of infection. Person-to-person transmission is very important to infection, too. Shiga toxins (Stx) are regarded to be the cardinal virulence factors of STEH/EHEC. They can be divided into two groups, Stx1 and Stx2. Subtypes, which differ in their pathogenicity, are known from each group. Especially subtypes Stx2/2c are considered to be more frequently associated with severe clinical symptoms in human. Another virulence factor is the novel subtilase cytotoxin. Subtilase is expected to be possibly an important Shiga toxin-cofactor in developing clinical symptoms.

The aim of this study was to compare the geno- and phenotypical characteristics of STEC/EHEC-isolates of human, animal, food, and water origin from Bavaria over a 5-year time period (2002 to 2006). Furthermore, a subtyping of all *stx2*-positve isolates of the year 2006 was carried out by melting-curve analysis and by PCR with specific primers and STEC/EHEC-isolates of different origin were investigated for novel subtilase cytotoxin. Within this study, STEC/EHEC, which are capable of producing clinical symptoms in human because of their virulence gens, were detected in isolates of animal, food and water origin. The subtypes *stx2/2c,* which are presumed to be pathogenic, were found in isolates of human and environmental origin as well as the less pathogenic subtypes *stx2d* and *stx2e*. STEC/EHEC-isolates from human, cattle (milk and feces) and goat (feces) were tested positive for the novel subtilase cytotoxin.

8 ANHANG

8.1 Material und Methoden

8.1.1 Allgemeine Materialien

- Handschuhe

- Safe skin Satin Plus powder-free latex exam gloves, Size S, REF SP 2220E (Kimberly-Clark, USA)
- Safe skin Purple Nitrile powder-free exam gloves, Size S, REF 52001M (Kimberly-Clark, USA)

- Pipetten (Eppendorf, Deutschland)

- eppendorf reference 0, 5-10 µl
- eppendorf reference 2-10 µl
- eppendorf reference 10-100 µl
- eppendorf reference 100-1000 µl
- eppendorf Multipette® plus

- Pipettenspitzen (Eppendorf, Deutschland)

- ep T.I.P.S. filter PCR clean Nr. 0030 007.040 10 µl
- ep T.I.P.S. filter PCR clean Nr. 0030 077.067 100 µl
- ep T.I.P.S. filter PCR clean Nr. 0030 077.105 1000 µl
- ep T.I.P.S. filter reload Nr. 0030 073.80 2-200 µl
- eppendorf Combitips plus Nr. 0030 069.463 10 ml
- eppendorf Combitips plus Nr. 0030 069.455 50 ml

8.1.2 Anzucht von EHEC-Isolaten

- Cryoröhrchen, Nr. 791701 (MAST DIAGNOSTICA, Deutschland)
- Gefrierschrank - 80 °C, Nr. 51014463 (Kendro, Deu tschland)
- Cryoblock, Nr. 291610 (MAST DIAGNOSTICA, Deutschland)
- ENDO-Agarplatten, Nr. P05005A (Oxoid, Deutschland)
  Fleischextrakt 10,0 g; Pepton aus Fleisch 10,0 g; Natriumchlorid 5,0 g; Laktose 10,0 g; Fuchsin 0,5 g; Natriumsulfit 2,5 g; Agar 20,0 g.
- Wattetupfer, WA1-I (Herenz, Deutschland)
- Metallösen
- Bunsenbrenner, Gasprofi 2 (WLD-TEC)
- Brutraum, 37 °C

8.1.3 PCR

8.1.3.1 Probenvorbereitung

- isotone Kochsalzlösung 0,9 % Braun, 250 ml (B. Braun Melsungen AG)
- Wasser für Injektionszwecke, 50 ml (Grünenthal GmbH, Aachen)
- eppendorf Thermomixer comfort (Eppendorf, Deutschland)
- Tischzentrifuge 5417 R (Eppendorf, Deutschland)
- Sterilbank Hera Safe (Heraeus Instruments GmbH, Deutschland)
- eppendorf Thermomixer comfort (Eppendorf, Deutschland)
- MicroAmp Reaction tubes N 801-0838
  (Perkin Elmer-Applied Biosystems, Kanada)
- MicroAmp Capes N 801-0535
  (Perkin Elmer-Applied Biosystems, Kanada)
- eppendorf safe-lock-tubes, 1,5 ml, 1000 St. Nr. 0030 120.086
  (Eppendorf, Deutschland)
- eppendorf safe-lock-tubes, 2,0 ml, 1000 St. Nr. 0030 120.094
  (Eppendorf, Deutschland)

8.1.3.2 Real-Time-PCR und Schmelzkurvenanalyse

- Primer (Sequenzen siehe Tab. 4, S. 41)
  (Eurofins MWG GmbH, Deutschland)
- Sonden (Sequenzen siehe Tab. 5, S. 41)
  (Eurofins MWG GmbH, Deutschland)
- LightCycler Fast Start HybProbe DNA Master Kit, 04957199702
  (Roche, Deutschland)
- Wasser zu Injektionszwecken, 2 ml (Jenapharm, Deutschland)
- AmpuWa®, Wasser, DNAse-frei, 2 ml
  (Fresenius Kabi Deutschland GmbH)
- LightCycler Capillaries 20 µl Kat. Nr. 1 909 339 (Roche, Deutschland)
- LightCycler Carousel Centrifuge (Roche, Deutschland)
- LightCycler Nr. 1403282 (Roche, Deutschland)
- Computer, HP Vectra VL, mit Auswertungssoftware LC Software Version 3.5 (Roche, Deutschland)

8.1.3.3 Subtypen- und Subtilase-PCR

- Primer (Sequenzen siehe Tab. 9, S. 45)
  (Eurofins MWG GmbH, Deutschland)
- Wasser zu Injektionszwecken, 2 ml (Jenapharm, Deutschland)
- AmpuWa®, Wasser, DNAse-frei, 2 ml
  (Fresenius Kabi Deutschland GmbH)
- AmpliTaq® DNA Polymerase with GeneAmp® 10x PCR Puffer, N808-0152
  (Applied Biosystems, Deutschland)
- GeneAmp® dNTP-Mix, N808-0007, 10 mMol dATP, dCTP, dGTP, dTTP
  (Applied Biosystems, Deutschland)
- Blockcycler Perkin Elmer Gene Amp PCR System 9600
  (Perkin Elmer-Applied Biosystems, Kanada)
- Blockcycler Gene Amp PCR System 9600
  (Applied Biosystems, Deutschland)

- Gelherstellung

- peqGOLD Universal Agarose 500 g Nr. 35-1020
  (peqlab Biotechnologie, GmbH Deutschland)
- Analysenwaage KERN EW max.1500 g, min. 0,05 g (Kern, Deutschland)
- Mikrowelle (Siemens, Deutschland)
- TBE-Puffer (Tris-Borat-EDTA), Stammlösung 5 x TBE
  54,0 g Tris-Base (Trizma® Base 1 kg, T-8524)
  (Sigma-Aldrich, Deutschland)
  27,5 g Borsäure H_3BO_3, Art. Nr. 6943.1 (Roth, Deutschland)
  3,72 g EDTA-Na_2, 250 g, Art. Nr. 8043.1 (Roth, Deutschland)
  Aqua dest. ad 1000 ml
  Gebrauchslösung: 1 x TBE (1 Teil Stammlösung und 4 Teile Aqua dest.)
- Gelkammer (Bio-RAD, Deutschland)
- Kämme 10, 15 und 20 Well (Bio-RAD, Deutschland)

- Elektrophorese

- Molekulargewichtsmarker pUC 8; 0,5 mg DNA/mol SM0301
  (Fermentas MBI, Deutschland)
- Mikrotiterplatten (Sarstedt, Deutschland)
- Elektrophorese-Kammer SUB-CELL® (Bio-RAD, Deutschland)
- Stromquelle POWER PAC 300 (Bio-RAD, Deutschland)
- Gel-Loading-Puffer:
  62,5 mg Bromphenolblau
  62,5 mg Xylencyanol
  62,5 mg Ficoll (Typ 400)
  Aqua dest. ad 25 ml

- Färbung und Auswertung

- Ethidiumbromid-Lösung 10 mg/ml, Art. 2218.1 (Roth, Deutschland)
- UV-Kammer mit integrierter Kamera Gel-Doc 1000
  (Bio-RAD, Deutschland)
- Computer mit Auswertungssoftware Molecular Analyst 1.5
  (Bio-RAD, Deutschland)
- Drucker Mitsubishi Video Copy Processor PG 6 DE (Mitsubishi, Japan)

8.2 Anhang Ergebnisse

8.2.1 Detaillierte Daten der einzelnen Jahre

8.2.1.1 Jahr 2002

8.2.1.1.1 Stuhlproben

Tab. 21: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der EHEC-Untersuchungen von Stuhlproben im Jahr 2002

Untersuchte Stuhlproben	*stx*-positive Stuhlproben*
3118	176** (5,6 %)

* Erstinfektionen
** Erreger von 170 infizierten Personen wurden in der vorliegenden Studie analysiert

Abb. 20: Altersverteilung der *stx*-positiven Personen (n = 170) im Jahr 2002

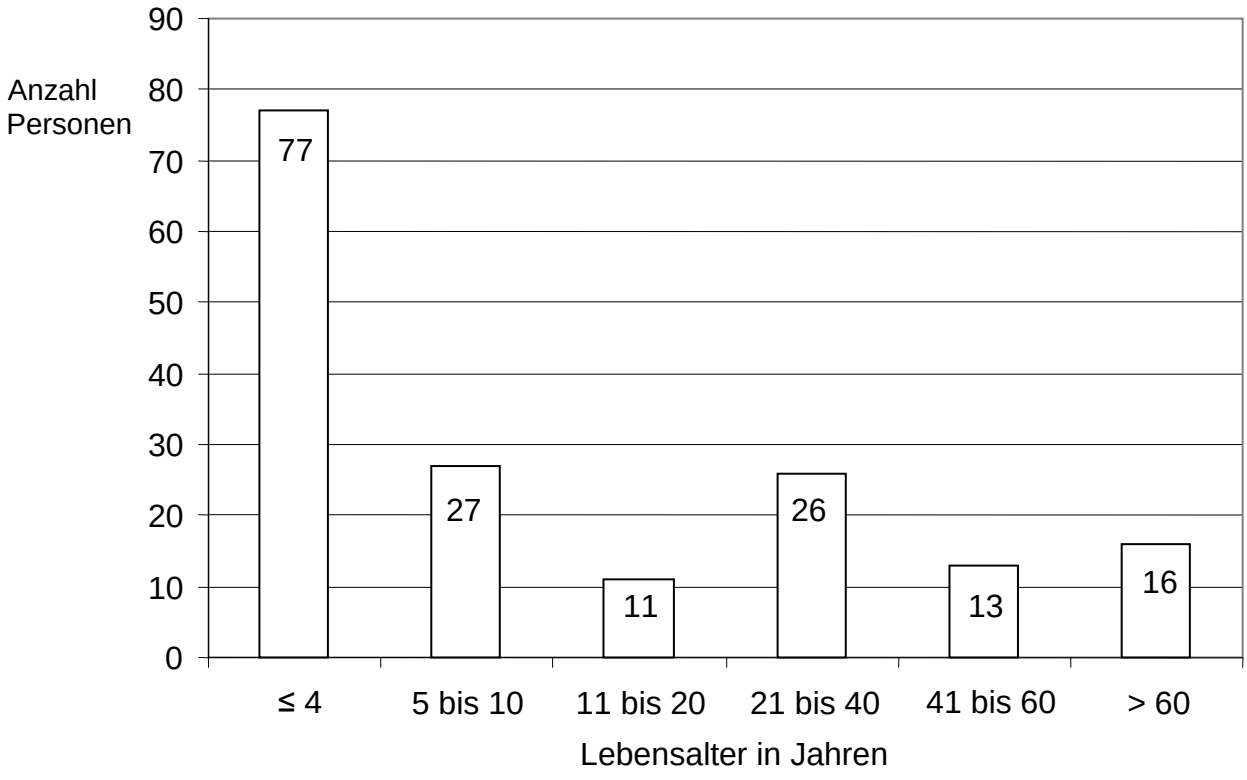
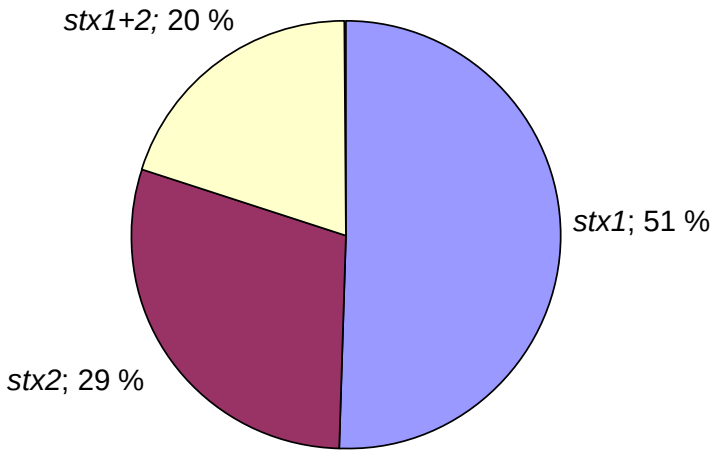


Abb. 21: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Stuhlproben (n = 170) im Jahr 2002



Tab. 22: Intimin und Enterohämolysin in Stuhlisolaten (n = 143) 2002

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv	*eae*+E-*hly*-positiv	kein *eae*/E-*hly*
143	73	107	70	33

Tab. 23: Serotypen beim Menschen im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 143)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O100	1	O103	15	O104	1	O111	2	O112	1
O113	3	O115	2	O118	1	O128	1	O145	10
O146	6	O154	2	O156	2	O157	19	O175	1
O177	1	O178	2	O181	1	O2	6	O22	1
O23	1	O26	18	O55	1	O6	4	O74	2
O76	1	O78	2	O8	1	O80	1	O84	1
O90	1	O91	14	O96	1	O98	1	Ont	8
ORF	8								

Tab. 24: Serovare beim Menschen im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 143)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O100: H-	1	O103:H2	15	O104:H12	1	O111:H-	2	O112:H2	1
O113:H-	1	O113:H4	2	O115:H-	1	O118:H16	1	O115:H18	1
O145:H-	8	O145:Hnt	2	O146:H21	6	O154:H20	1	O154:H4	1
O156:H7	2	O157:H-	11	O157:H7	8	O177:H-	1	O178:H-	1
O178:H19	1	O181:H16	1	O2:H6	6	O22:H8	1	O23:H15	1
O26:H-	3	O26:H11	15	O128:H2	1	O175:H8	1	O55:Hnt	1
O6:H1	1	O6:H10	3	O74:H28	1	O74:H42	1	O76:H19	1
O78:H-	2	O8:H-	1	O80:H-	1	O84:H-	1	O91:H-	10
O90:H15	1	O91:H14	1	O91:H21	1	O91:H28	1	O91:Hnt	1
O96:H12	1	O98:H8	1	Ont:H-	2	Ont:H10	1	Ont:H17	1
Ont:H19	1	Ont:H2	1	Ont:H4	1	Ont:Hnt	1	ORF:H-	3
ORF:H2	2	ORF:H28	1	ORF:H4	1	ORF:H45	1		

Tab. 25: *eae*-positive Serovare im Jahr 2002

Serovar	n_{gesamt}	$n_{eae\text{-}positiv}$	Serovar	n_{gesamt}	$n_{eae\text{-}positiv}$
O26:H-	3	3	O145:H-	8	8
O26:H11	15	15	O145:Hnt	2	2
O80:H-	1	1	O157:H-	11	11
O84:H-	1	1	O157:H7	8	8
O90:H15	1	1	O177:H-	1	1
O103:H2	15	15	Ont:Hnt	1	1
O111:H-	2	2	ORF:H-	3	2
O118:H16	1	1	ORF:H2	2	1

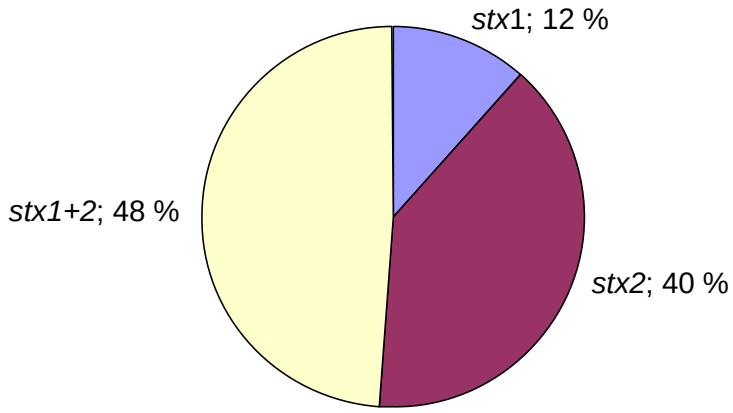
8.2.1.1.2 Kotproben

Tab. 26: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Kotproben im Jahr 2002

Untersuchte Kotproben	*stx*-positive Kotproben
428	121*

* Tierarten: Damwild (n = 14), Schaf (n = 26), Reh (n = 1), Huhn (n = 1), Ziege (n = 9), Rind (n = 70)

Abb. 22: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Kotproben (n = 121) im Jahr 2002



Tab. 27: Serotypen bei Tieren im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 51)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O113	1	O128	2	O146	5	O174	17	O5	7	O55	1
O74	5	O76	2	O8	1	O87	4	Ont	4	ORF	2

Tab. 28: Serovare bei Tieren im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 51)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O113:H4	1	O128:H2	2	O146:H21	4	O146:H28	1
O174:H-	1	O174:H8	16	O5:H-	7	O55:Hnt	1
O74:H42	5	O76:H19	2	O8:H19	1	O87:H16	3
O87:H19	1	Ont:H16	1	Ont:H49	1	Ont:H8	2
ORF:H7	1	ORF:H8	1				

Tab. 29: Intimin und Enterohämolysin in Kotisolaten (n = 51) im Jahr 2002

Kotisolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
51	0	23

8.2.1.1.3 Lebensmittel

Tab. 30: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Lebensmittelproben im Jahr 2002

Untersuchte Lebensmittelproben	*stx*-positive Lebensmittelproben
244*	4** (Salat, Mettwurst, Lammfleisch)

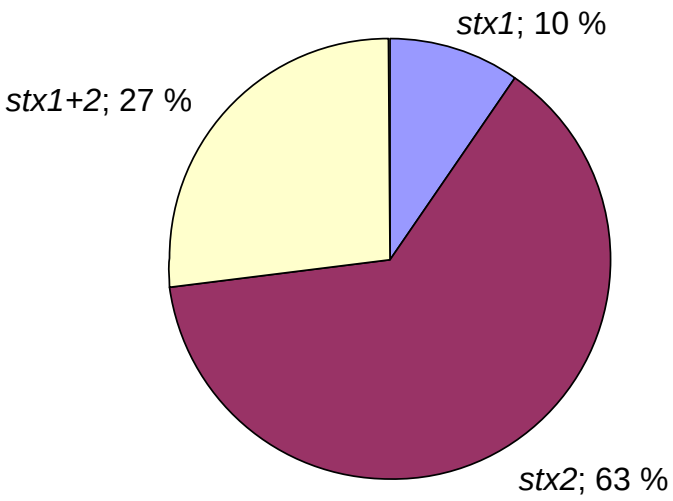
* 240 pflanzliche und 4 tierische Lebensmittel
** alle *stx2*-positiv; 1mal Keimisolierung (Ont:H-)

8.2.1.1.4 Wasser

Tab. 31: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Wasserproben im Jahr 2002

Untersuchte Wasserproben	*stx*-positive Wasserproben
1150	41
davon 865 Oberflächenwasser- und 285 Trinkwasserproben	davon 21 Oberflächenwasser- und 20 Trinkwasserproben

Abb. 23: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Wasserproben (n = 41) im Jahr 2002



Tab. 32: Serotypen bei Wasserproben im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 20)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O104	1	O113	2	O116	1	O157	2
O163	1	O168	1	O175	1	O74	3
O8	2	O82	1	Ont	5		

Tab. 33: Serovare im Oberflächenwasser im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 8)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O104:H21	1	O113:H4	1	O168:H8	1	O74:H28	1
O8:Hnt	1	Ont:H-	1	Ont:H21	1	Ont:H41	1

Tab. 34: Serovare im Trinkwasser im Jahr 2002 (n_{gesamt} = 12)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O113:H41	1	O116:H21	1	O157:H-	2	O163:H19	1
O175:H8	1	O74:H28	2	O8:H19	1	O82:H8	1
Ont:H14	1	Ont:H2	1				

Tab. 35: Intimin und Enterohämolysin in Wasserisolaten (n = 20) im Jahr 2002

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
20	2	11

8.2.1.2 Jahr 2003

8.2.1.2.1 Stuhlproben

Tab. 36: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der EHEC-Untersuchungen von Stuhlproben im Jahr 2003

Untersuchte Stuhlproben	*stx*-positive Stuhlproben*
4500	203** (4,5 %)

* Erstinfektionen
** Erreger von 201 infizierten Personen wurden in der vorliegenden Studie analysiert

Abb. 24: Altersverteilung der *stx*-positiven Personen im Jahr 2003 (n = 201)

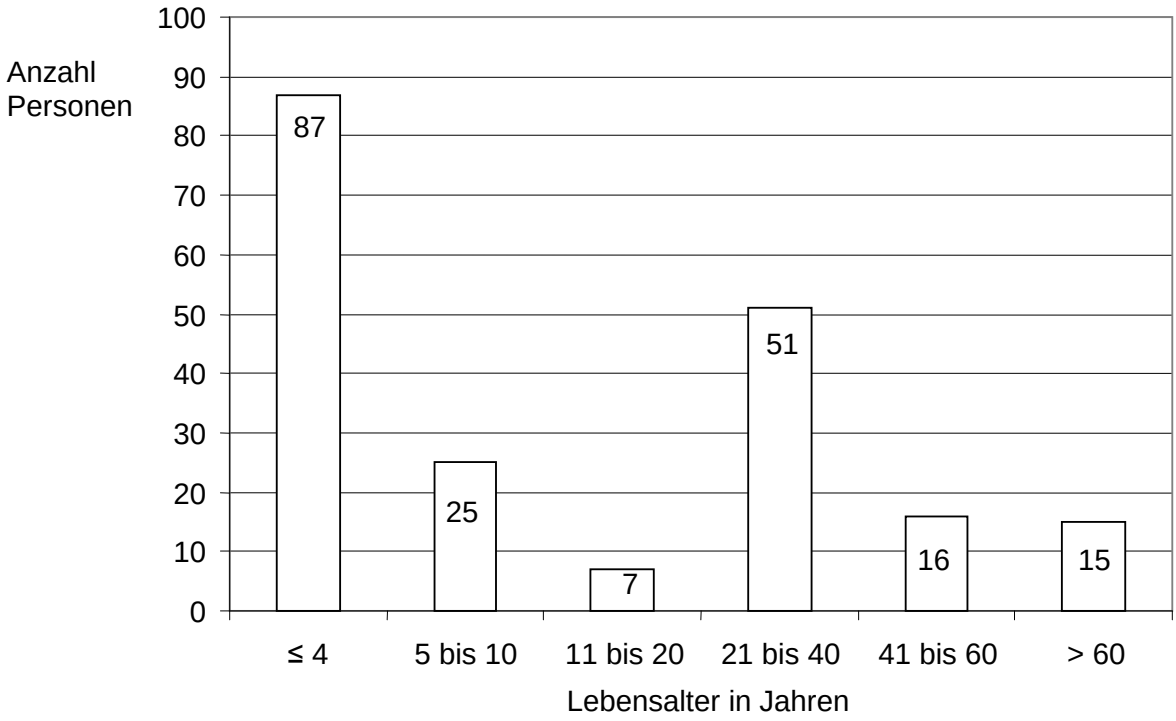
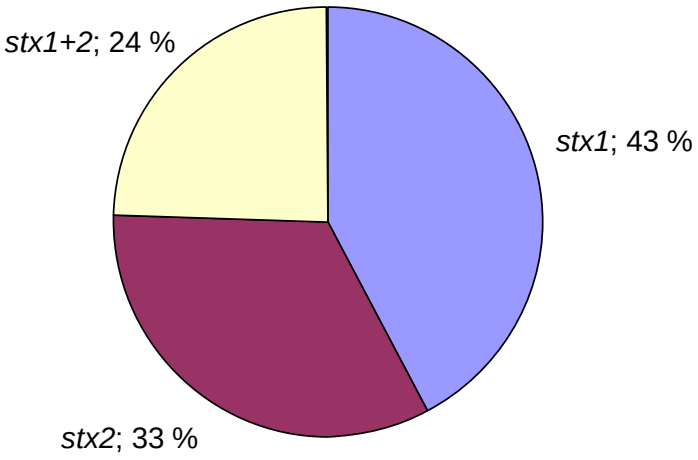


Abb. 25: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Stuhlproben (n = 201) im Jahr 2003



Tab. 37: Serotypen beim Menschen im Jahr 2003 (n_{gesamt} = 155)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O1	1	O103	24	O109	1	O111	4	O112	1
O113	5	O117	1	O123	1	O128	5	O129	1
O145	9	O146	6	O155	3	O157	14	O174	2
O177	3	O178	2	O181	1	O2	3	O21	1
O23	1	O26	18	O40	1	O42	1	O43	1
O48	1	O55	1	O74	1	O76	6	O8	3
O80	1	O88	1	O9	1	O91	10	Ont	9
ORF	11								

Tab. 38: Serovare beim Menschen im Jahr 2003 (n_{gesamt} = 155)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O1:H-	1	O103:H2	24	O109:H25	1	O111:H-	3	O111:H8	1
O112:H4	1	O113:H21	2	O113:H4	3	O117:H7	1	O123:H-	1
O128:H2	5	O129:H11	1	O145:H-	8	O145:H28	1	O146:H21	4
O146:H28	2	O155:H-	2	O155:H31	1	O157:H-	6	O157:H7	8
O174:H-	1	O174:H2	1	O177:H-	2	O177:H11	1	O178:H7	2
O181:H8	1	O2:H32	1	O2:H6	2	O21:H25	1	O23:H16	1
O26:H-	4	O26:H11	13	O26:HRF	1	O40:HRF	1	O42:H-	1
O43:H2	1	O48:H8	1	O55:HRF	1	O74:H28	1	O76:H-	1
O76:H19	5	O8:H19	2	O8:Hnt	1	O80:H-	1	O88:H-	1
O9:H-	1	O91:H-	5	O91:H14	4	O91:HRF	1	Ont:H-	4
Ont:H18	1	Ont:H19	1	Ont:H2	1	Ont:H9	1	Ont:Hnt	1
ORF:H-	6	ORF:H11	2	ORF:H2	2	ORF:H21	1		

Tab. 39: Intimin und Enterohämolysin in Stuhlisolaten (n = 155) in Jahr 2003

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv	*eae*+E-*hly*-positiv	kein *eae*/E-*hly*
155	83	113	75	34

Tab. 40: *eae*-positive Serovare im Jahr 2003

Serovar	n gesamt	n *eae*-positiv	Serovar	n gesamt	n *eae*-positiv
O1:H-	1	1	O123:H-	1	1
O21:H25	1	1	O145:H-	8	8
O26:H-	4	4	O145:H28	1	1
O26:H11	13	13	O157:H-	6	6
O26:HRF	1	1	O157:H7	8	8
O40:HRF	1	1	O177:H-	2	2
O80:H-	1	1	O177:H11	1	1
O103:H2	24	23	Ont:H-	4	1
O109:H25	1	1	ORF:H2	2	2
O111:H-	3	3	ORF:H11	2	2
O111:H8	1	1	ORF:H21	1	1

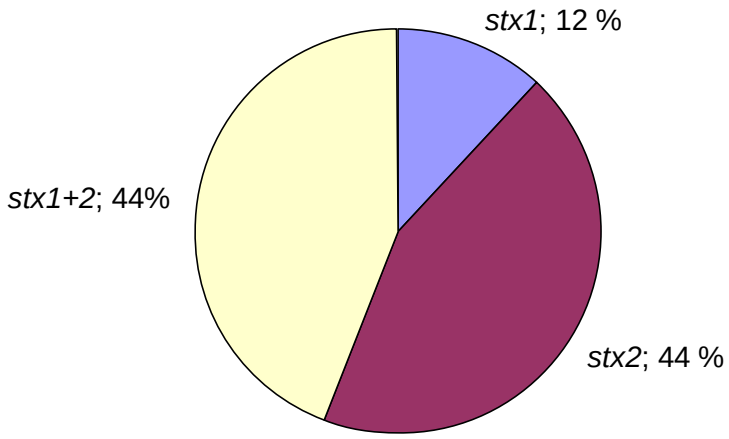
8.2.1.2.2 Kotproben

Tab. 41: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Kotproben im Jahr 2002

Untersuchte Kotproben	*stx*-positive Kotproben
332	84*

* Tierarten: Rind (n = 75), Schaf (n = 4), Ziege (n = 3), Hund (n = 1), Katze (n = 1)

Abb. 26: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Kotproben (n = 84) im Jahr 2003



Tab. 42: Serotypen bei Tieren im Jahr 2003 (n_{gesamt} = 7)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O103	1	O46	1	O84	1	O91	3	Ont	1

Tab. 43: Serovare bei Tieren im Jahr 2003 (n_{gesamt} = 7)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O103:H2	1	O46:H38	1	O84:H-	1	O91:H21	3	Ont:H-	1

Tab. 44: Intimin und Enterohämolysin in Kotisolaten (n = 7) im Jahr 2003

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
7	1	5

8.2.1.2.3 Lebensmittel

Tab. 45: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Lebensmittelproben im Jahr 2003

Untersuchte Lebensmittelproben	*stx*-positive Lebensmittelproben
80	16* davon Milch (n = 7), Rohwurst (n = 4), Verarbeitungsfleisch (n = 3), Rinderfett (n = 2)

* 10mal *stx2*, 5mal *stx1+2*, 1mal *stx1* (O105:H18, O6:H1)

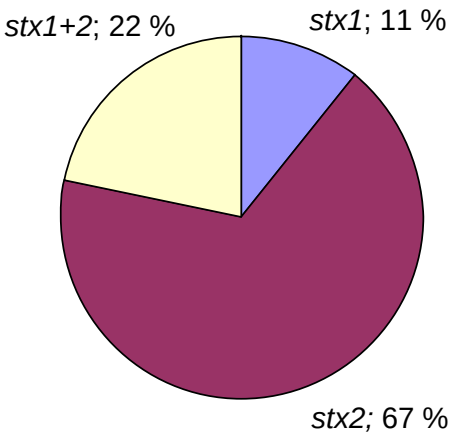
8.2.1.2.4 Wasser

Tab. 46: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Wasserproben im Jahr 2003

Untersuchte Wasserproben	*stx*-positive Wasserproben
1088 davon 894 Oberflächenwasser- und Trinkwasserproben, 194 Proben aus Kläranlagen	96*

* 37 der *stx*-positiven Wasserproben (Oberflächenwasser) wurden in der vorliegenden Arbeit analysiert

Abb. 27: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Wasserproben (n = 37) im Jahr 2003



Tab. 47: Serotypen im Wasser im Jahr 2003 (n_{gesamt} = 8)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O174	1	O175	1	O18	1	O76	1	O8	2	Ont	2

Tab. 48 : Serovare im Wasser im Jahr 2003 (n_{gesamt} = 8)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O174:H2	1	O175:H28	1	O18:H9	1	O76:H-	1
O8:Hnt	1	O8:HRF	1	Ont:H-	1	Ont:H25	1

Tab. 49: Intimin und Enterohämolysin in Wasserisolaten (n = 8) im Jahr 2003

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
8	0	3

8.2.1.3 Jahr 2004

8.2.1.3.1 Stuhlproben

Tab. 50: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der EHEC-Untersuchungen von Stuhlproben im Jahr 2004

Untersuchte Stuhlproben	*stx*-positive Stuhlproben*
3491	182** (5,2 %)

* Erstinfektionen
** Erreger von 176 infizierten Personen wurden in der vorliegenden Studie analysiert

Abb. 28: Altersverteilung der *stx*-positiven Personen (n = 176) im Jahr 2004

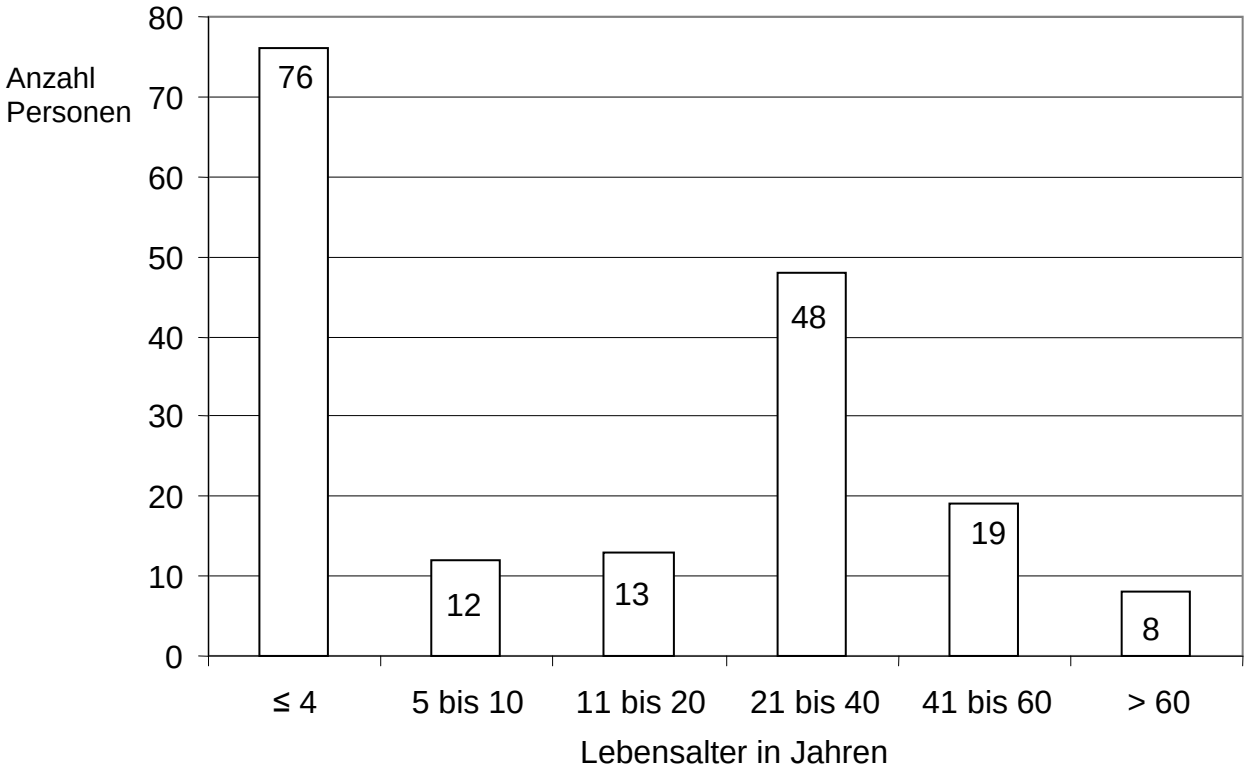
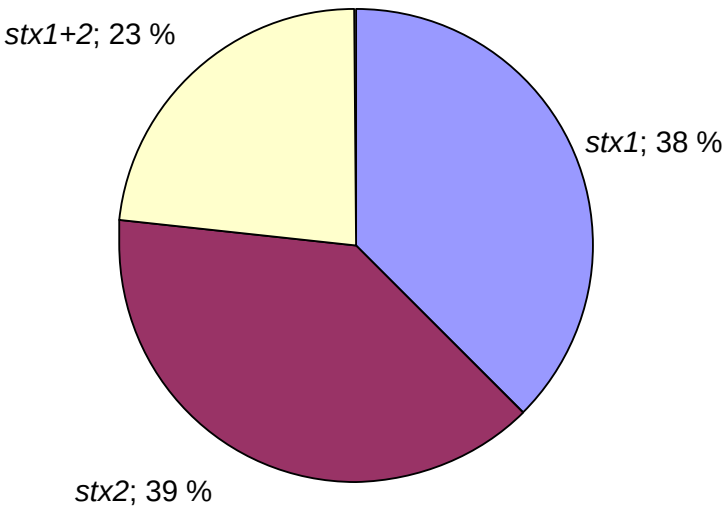


Abb. 29: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Stuhlproben (n = 176) im Jahr 2004



Tab. 51: Serotypen beim Menschen im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 106)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O1	1	O103	5	O111	2	O112	1	O113	4	O117	1
O118	2	O13	1	O145	6	O146	6	O153	2	O156	1
O157	8	O160	1	O174	1	O175	1	O176	1	O177	1
O2	4	O22	1	O23	2	O26	12	O48	1	O5	1
O55	1	O6	1	O74	1	O75	1	O76	2	O77	2
O8	2	O9	1	O91	8	Ont	13	ORF	8		

Tab. 52: Serovare beim Menschen im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 106)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O1:H-	1	O103:H-	1	O103:H11	1	O103:H2	3	O111:H-	2
O112:H11	1	O113:H4	4	O117:H-	1	O118:H16	2	O13:H4	1
O145:H-	5	O145:Hnt	1	O146:H-	1	O146:H21	3	O146:H28	2
O153:H19	1	O156:H-	1	O157:H-	2	O157:H7	6	O160:H-	1
O174:H2	1	O175:H28	1	O176:H-	1	O177:H-	1	O2:H27	1
O2:H32	2	O2:H6	1	O22:H8	1	O23:H15	2	O26:H11	11

Fortsetzung Tab. 52

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O48:H49	1	O5:H-	1	O55:H6	1	O6:H10	1	O74:H42	1
O75:H-	1	O76:H19	2	O77:H18	2	O8:H-	1	O8:H19	1
O9:H-	1	O91:H-	8	Ont:H-	3	Ont:H11	1	Ont:H16	1
Ont:H19	2	Ont:H21	1	Ont:H31	2	Ont:H35	1	Ont:H6	2
ORF:H-	4	ORF:H14	1	ORF:H19	1	ORF:H28	1	O153:HRF	1
O26:H-	1	ORF:H2	1						

Tab. 53: Intimin und Enterohämolysin in Stuhlisolaten (n = 106) im Jahr 2004

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv	*eae*+E-*hly*-positiv	kein *eae*/E-*hly*
106	49	68	45	34

Tab. 54: *eae*-positive Serovare im Jahr 2004

Serovar	n $_{gesamt}$	n $_{eae\text{-positiv}}$	Serovar	n $_{gesamt}$	n $_{eae\text{-positiv}}$
O1:H-	1	1	O145:Hnt	1	1
O26:H-	1	1	O156:H-	1	1
O26:H11	11	11	O157:H-	2	2
O5:H-	1	1	O157:H7	6	5
O77:H18	2	2	O176:H-	1	1
O91:H-	8	1	O177:H-	1	1
O103:H11	1	1	Ont:H11	1	1
O103:H2	3	3	Ont:H19	1	1
O111:H-	2	2	Ont:H21	1	1
O112:H11	1	1	ORF:H-	4	1
O117:H-	1	1	ORF:H2	1	1
O118:H16	2	2	ORF:H19	1	1
O145:H-	5	5			

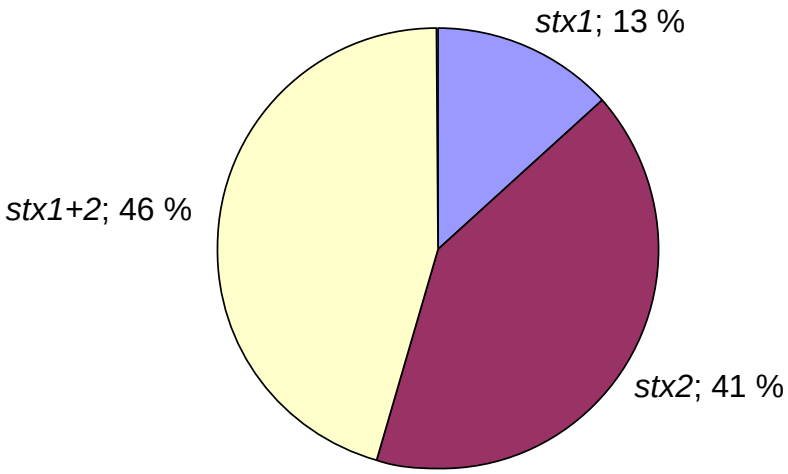
8.2.1.3.2 Kotproben

Tab. 55: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Kotproben im Jahr 2004

Untersuchte Kotproben	*stx*-positive Kotproben
163	74*/**

* 68 der *stx*-positiven Kotproben wurden in der vorliegenden Arbeit analysiert
** Tierarten: Rind (n = 43), Schwein (n = 23), Ziege (n = 1) und Katze (n = 1)

Abb. 30: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Kotproben (n = 68) im Jahr 2004



Tab. 56: Serotypen bei Tieren im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 12)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O118	1	O145	2	O153	2	O177	2
O5	1	O69	1	O8	1	Ont	2

Tab. 57: Serovare bei Tieren im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 12)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O118:H-	1	O145:H-	2	O153:H25	2
O177:H-	1	O177:H21	1	O5:H-	1
O69:H-	1	O8:H19	1	Ont:H-	2

Tab. 58: Intimin und Enterohämolysin in Kotisolaten (n = 12) im Jahr 2004

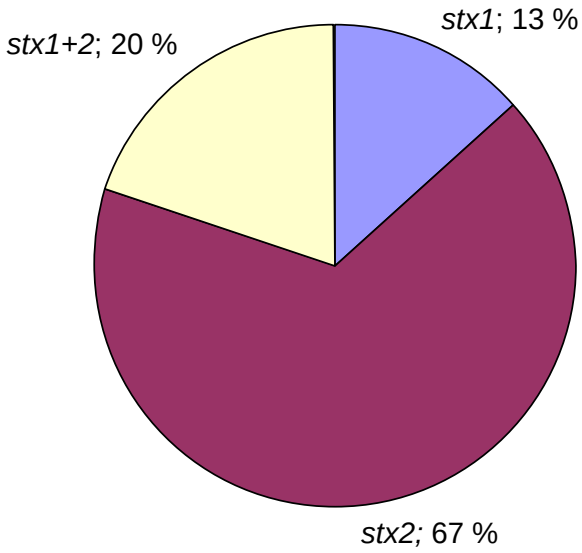
Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
12	5	9

8.2.1.3.3 Lebensmittel

Tab. 59: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Lebensmittelproben im Jahr 2004

Untersuchte Lebensmittelproben	*stx*-positive Lebensmittelproben
175	15 davon Milch (n = 2), Rohwurst (n = 9), Hackfleisch (n = 1), Kalbfleisch (n = 1), Schweinebauch (n = 1), Fencheltee (n = 1)

Abb. 31: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Lebensmittelproben (n = 15) im Jahr 2004



Tab. 60: Intimin und Enterohämolysin in Lebensmittelisolaten (n = 13) im Jahr 2004

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
13	0	4

Tab. 61: Serotypen bei Lebensmittelproben im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 13)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O105	1	O113	1	O154	1	O2	1	O22	1
O6	1	O86	1	O91	1	Ont	3	ORF	2

Tab. 62: Serovare bei Lebensmittelproben im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 13)

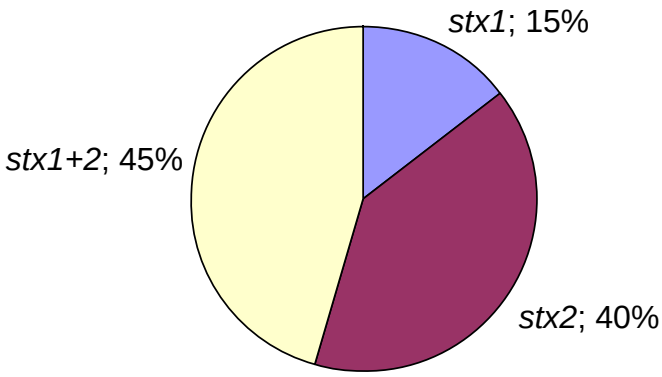
Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O91:H-	1	O105:H18	1	O113:H21	1	O154:H31	1	O20:H-	1
O22:Hnt	1	O6:H1	1	O86:Hnt	1	Ont:H-	1	Ont:H7	1
Ont:Hnt	1	ORF:H19	2						

8.2.1.3.4 Wasser

Tab. 63: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Wasserproben im Jahr 2004

Untersuchte Wasserproben	*stx*-positive Wasserproben
624	116
davon 579 Oberflächenwasserproben incl. 188 aus Kläranlagen, 45 Trinkwasserproben	davon 104 Oberflächenwasserproben, 12 Trinkwasserproben

Abb. 32: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Wasserproben (n = 116) 2004



Tab. 64: Serotypen bei Wasserproben im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 18)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O103	1	O113	1	O15	1	O154	2	O165	1	O174	2
O55	1	O76	1	O77	1	O8	1	O9	1	Ont	4
ORF	1										

Tab. 65: Serovare bei Wasserproben im Jahr 2004 (n_{gesamt} = 18)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O103:H2	1	O113:H4	1	O15:H8	1	O154:Hnt	2	O165:H-	1
O174:H2	1	O174:H21	1	O55:H12	1	O76:H19	1	O77:H18	1
O8:H-	1	O9:H-	1	Ont:H-	2	Ont:H14	1	Ont:Hnt	1
ORF:H12	1								

Tab. 66: Intimin und Enterohämolysin in Wasserisolaten (n = 18) im Jahr 2004

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
18	1	8

8.2.1.4 Jahr 2005

8.2.1.4.1 Stuhlproben

Tab. 67: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der EHEC-Untersuchungen von Stuhlproben im Jahr 2005

Untersuchte Stuhlproben	*stx*-positive Stuhlproben*
3505	183** (5,2 %)

* Erstinfektionen
** Erreger von 176 infizierten Personen wurden in der vorliegenden Studie analysiert

Abb. 33: Altersverteilung der *stx*-positiven Personen im Jahr 2005 (n = 183)

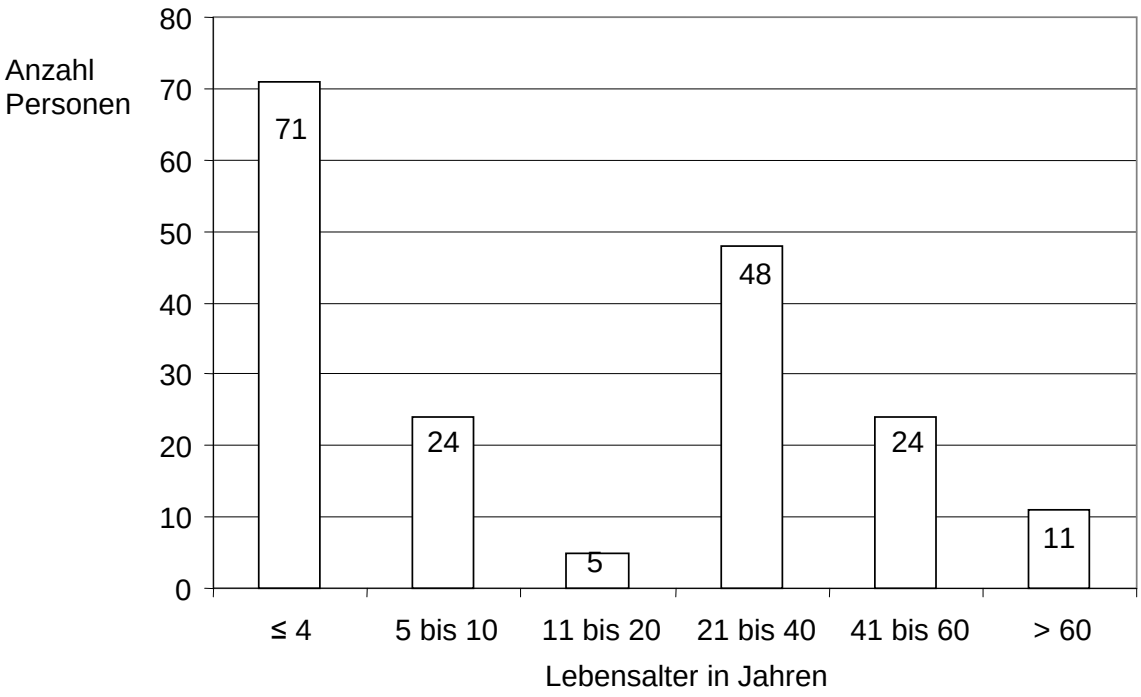
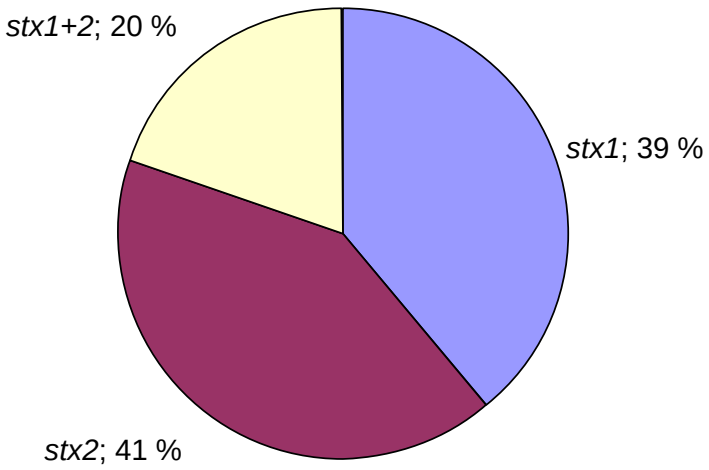


Abb. 34: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Stuhlproben (n = 183) 2005



Tab. 68: Serotypen beim Menschen im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 131)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O1	1	O103	12	O106	2	O111	6	O113	2	O115	4
O119	1	O130	1	O136	2	O138	1	O145	11	O146	2
O153	1	O154	2	O157	10	O175	1	O177	1	O2	7
O23	2	O26	11	O51	1	O55	1	O74	3	O75	1
O76	2	O77	1	O8	3	O91	12	Ont	13	ORF	14

Tab. 69: Serovare beim Menschen im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 131)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O1:Hnt	1	O103:H2	12	O106:H-	1	O106:H18	1	O111:H-	6
O113:H28	1	O113:H4	1	O115:H-	3	O115:H10	1	O119:H4	1
O130:H-	1	O136:H12	1	O136:Hnt	1	O138:H8	1	O145:H-	11
O146:H21	1	O146:H28	1	O153:Hnt	1	O154:H31	2	O157:H-	6
O157:H7	4	O175:H4	1	O177:H-	1	O2:H-	1	O2:H27	2
O2:H32	1	O2:H6	3	O23:H15	1	O23:H21	1	O26:H-	1
O26:H11	10	O51:H14	1	O55:H7	1	O74:H27	2	O74:H28	1
O75:H55	1	O76:H-	1	O76:H19	1	O77:H41	1	O8:Hnt	3
O91:H-	6	O91:H14	4	O91:H21	2	Ont:H-	7	Ont:H19	1
Ont:H2	1	Ont:H21	1	Ont:H28	1	Ont:H4	1	Ont:H6	1
ORF:H-	4	ORF:H11	2	ORF:H2	2	ORF:Hnt	5	ORF:HRF	1

Tab. 70: Intimin und Enterohämolysin in Stuhlisolaten (n = 131) im Jahr 2005

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv	*eae*+E-*hly*-positiv	kein *eae*/E-*hly*
131	61	95	56	31

Tab. 71: *eae*-positive Serovare im Jahr 2005

Serovar	n gesamt	n eae-positiv	Serovar	n gesamt	n eae-positiv
O26:H-	1	1	O157:H7	4	4
O26:H11	10	10	O177:H-	1	1
O55:H7	1	1	Ont:H-	7	3
O103:H2	12	12	ORF:H-	4	3
O111:H-	6	5	ORF:H11	2	2
O145:H-	11	11	ORF:Hnt	5	2
O157:H-	6	6			

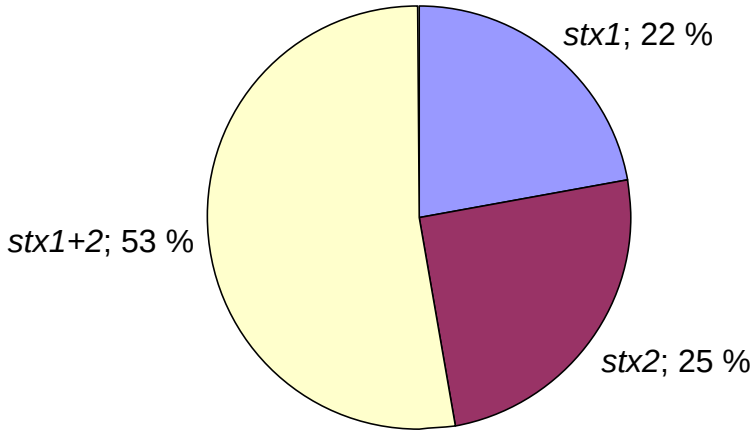
8.2.1.4.2 Kotproben

Tab. 72: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Kotproben im Jahr 2005

Untersuchte Kotproben	*stx*-positive Kotproben
123	74*/**

*72 der *stx*-positiven Kotproben wurden in der vorliegenden Studie analysiert
** Tierarten: Rind (n = 58), Schaf (n = 4), Ziege (n = 3), Hund (n = 1), Katze (n = 2), Rotwild (n = 4)

Abb. 35: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Kotproben (n = 72) 2005



Tab. 73: Serotypen bei Tieren im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 14)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O111	1	O128	1	O174	1	O179	1	O55	1	O76	1
O8	1	O86	1	Ont	4	ORF	2				

Tab. 74: Serovare bei Tieren im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 14)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O111:H-	1	O128:H2	1	O174:H4	1	O179:H8	1	O55:H31	1	O76:H19	1
O8:H19	1	O86:H-	1	Ont:H-	1	Ont:H2	1	Ont:H8	1	Ont:Hnt	1
ORF:H-	2										

Tab. 75: Intimin und Enterohämolysin in Kotisolaten im Jahr 2005 (n = 14)

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
14	1	7

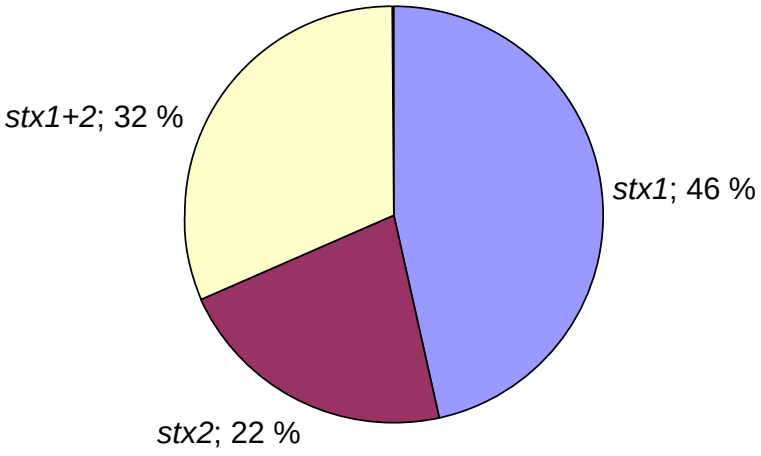
8.2.1.4.3 Lebensmittel

Tab. 76: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Lebensmittelproben im Jahr 2005

Untersuchte Lebensmittelproben	*stx*-positive Lebensmittelproben
333	42* davon Milch- und Milchprodukte (n = 20), Wurstwaren und Fleisch (n = 12), Umgebungsproben (n = 8), Tee (n = 1)

*****41 der *stx*-positiven Lebensmittelproben wurden in der vorliegenden Studie analysiert

Abb. 36: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Lebensmittelproben (n = 41) im Jahr 2005



Tab. 77: Serotypen bei Lebensmittelproben im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 24)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O1	1	O100	2	O157	1	O174	1	O2	5
O55	3	O76	2	O91	1	Ont	6	ORF	2

Tab. 78: Serovare bei Lebensmittelproben im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 24)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O1:Hnt	1	O100:H-	2	O157:H-	1	O174:H8	1	O2:H32	5
O55:H12	1	O55:H31	2	O76:H19	2	O91:H-	1	Ont:H-	4
Ont:H11	1	ORF:H-	1	ORF:H12	1	Ont:H7	1		

Tab. 79: Intimin und Enterohämolysin in Lebensmittelisolaten (n = 24) im Jahr 2005

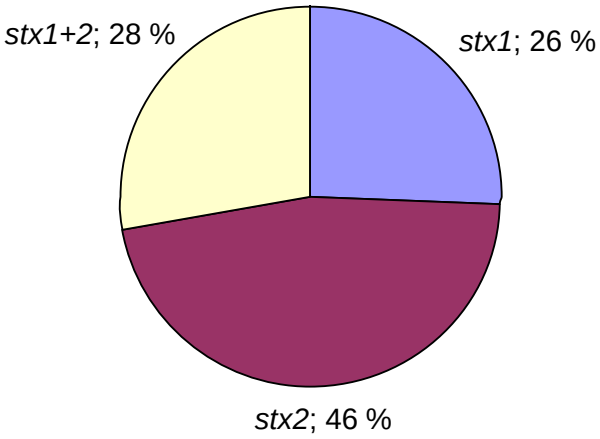
Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
24	1	8

8.2.1.4.4 Wasser

Tab. 80: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Wasserproben im Jahr 2004

Untersuchte Wasserproben	*stx*-positive Wasserproben
444	43
davon 352 Oberflächenwasserproben 92 Trinkwasserproben	davon 38 Oberflächenwasserproben, 5 Trinkwasserproben

Abb. 37: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Wasserproben (n = 43) 2005



Tab. 81: Serotypen bei Wasserproben im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 25)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O103	1	O113	3	O15	2	O154	1	O175	1	O176	1
O18	1	O2	1	O55	2	O8	1	Ont	4	ORF	7

Tab. 82: Serovare bei Wasserproben im Jahr 2005 (n_{gesamt} = 25)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O103:H25	1	O113:H-	1	O113:H4	2	O15:H8	2	O154:H31	1
O175:H28	1	O176:H-	1	O18:H7	1	O2:H27	1	O55:Hnt	2
O8:H4	1	Ont:H48	1	Ont:H8	1	Ont:H-	1	Ont:Hnt	1
ORF:H-	2	ORF:H14	1	ORF:H21	1	ORF:H23	2	ORF:H8	1

Tab. 83: Intimin und Enterohämolysin in Wasserisolaten (n = 25) im Jahr 2005

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
25	1	9

8.2.1.5 Jahr 2006

8.2.1.5.1 Stuhlproben

Tab. 84: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der EHEC-Untersuchungen von Stuhlproben im Jahr 2006

Untersuchte Stuhlproben	*stx*-positive Stuhlproben*
3078	154 (5 %)

* Erstinfektionen

Abb. 38: Altersverteilung der *stx*-positiven Personen im Jahr 2006 (n = 154)

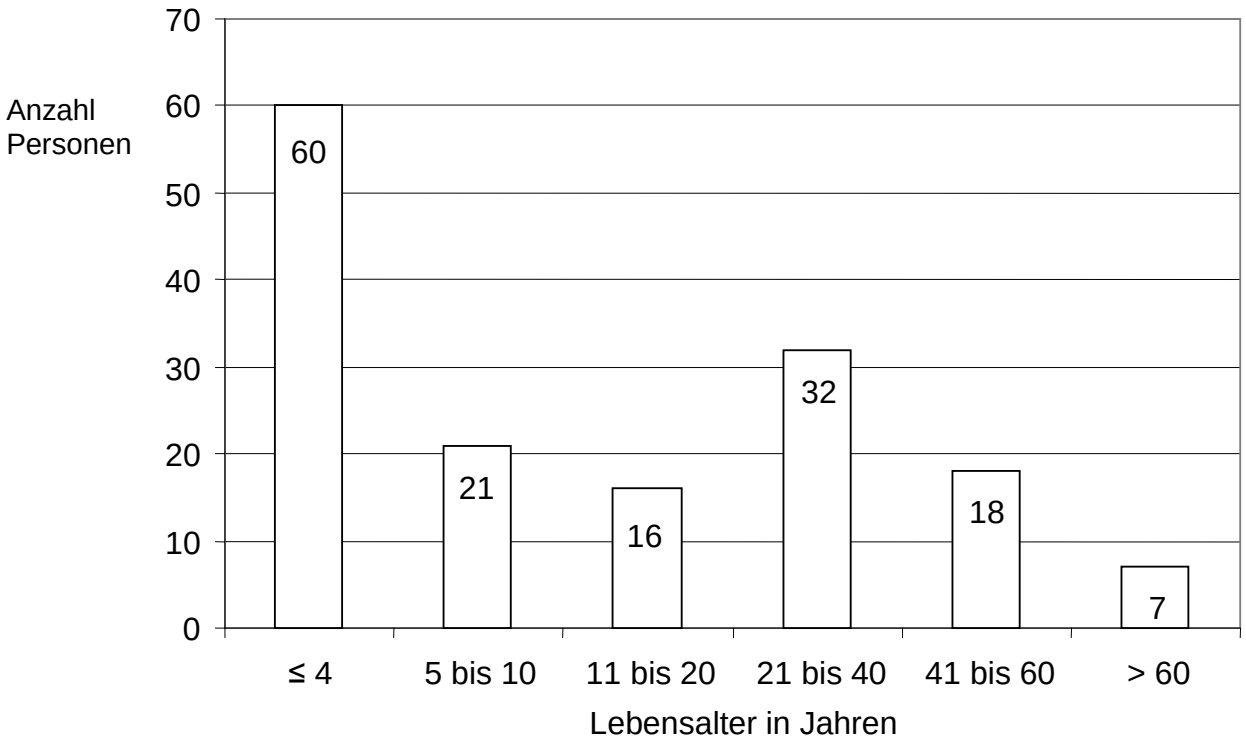
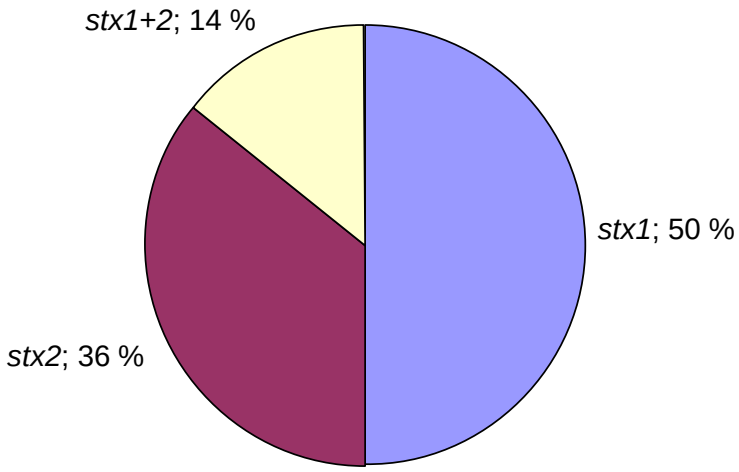


Abb. 39: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Stuhlproben im Jahr 2006 (n = 154)



Tab. 85: Serotypen beim Menschen im Jahr 2006 (n_{gesamt}= 126)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O10	1	O100	1	O103	6	O111	3	O112	2	O113	1
O115	3	O119	1	O130	1	O136	1	O143	1	O145	11
O146	5	O147	1	O154	1	O157	5	O158	1	O171	1
O174	2	O177	4	O2	1	O22	2	O26	18	O28	1
O55	3	O6	1	O74	4	O76	2	O77	1	O8	1
O80	1	O91	11	Ont	13	ORF	15				

Tab. 86: Serovare beim Menschen im Jahr 2006 (n_{gesamt} = 126)

Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O10:H42	1	O100:H-	1	O103:H2	6	O111:H-	3	O112:H-	2
O113:H-	1	O115:H10	3	O119:H4	1	O130:H11	1	O136:Hnt	1
O143:H4	1	O145:H-	11	O146:H-	3	O146:H28	2	O147:H21	1
O154:H31	1	O157:H7	3	O157:H-	2	O158:H-	1	O171:H25	1
O174:H8	2	O177:H-	2	O177:H11	2	O2:H4	1	O22:H8	2
O26:H-	3	O26:H11	15	O28:Hnt	1	O55:Hnt	3	O6:H31	1
O74:H-	2	O74:H28	2	O74:Hnt	1	O76:H-	1	O76:H19	1
O77:H11	1	O8:H8	1	O80:H-	1	O91:H-	7	O91:H14	4
Ont:H-	1	Ont:H16	2	Ont:H18	1	Ont:H19	1	Ont:H25	1
Ont:H31	1	Ont:H4	1	Ont:H48	1	Ont:H6	1	Ont:H7	1
Ont:Hnt	2	ORF:H-	4	ORF:H19	2	ORF:H11	2	ORF:H2	3
ORF:H4	2	ORF:H45	1						

Tab. 87: Intimin und Enterohämolysin in Stuhlisolaten (n = 126) im Jahr 2006

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv	*eae*+E-*hly*-positiv	kein *eae*/E-*hly*
126	59	82	52	37

Tab. 88: *eae*-positive Serovare im Jahr 2006

Serovar	n gesamt	n *eae*-positiv	Serovar	n gesamt	n *eae*-positiv
O26:H-	3	3	O158:H-	1	1
O26:H11	15	15	O171:H25	1	1
O77:H11	1	1	O177:H-	2	2
O80:H-	1	1	O177:H11	2	1
O103:H2	6	5	Ont:H16	2	2
O111:H-	3	3	Ont:H31	1	1
O112:H-	2	1	Ont:Hnt	2	1
O145:H-	11	11	ORF:H2	3	3
O157:H-	2	2	ORF:H11	2	2
O157:H7	3	3			

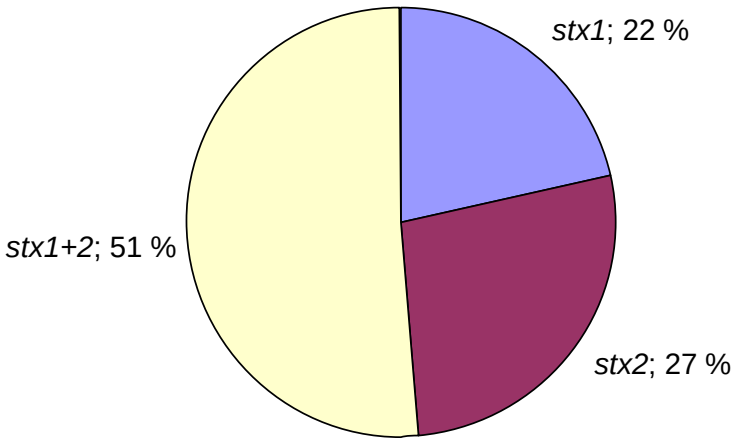
8.2.1.5.2 Kotproben

Tab. 89: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Kotproben im Jahr 2006

Untersuchte Kotproben	*stx*-positive Kotproben
104	37*

* Tierarten: Rind (n = 31), Schaf (n = 1), Ziege (n = 2), Lama (n = 1), Kamel (n = 2)

Abb. 40: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Kotproben (n = 37) im Jahr 2006



Tab. 90: Intimin und Enterohämolysin in Kotisolaten im Jahr 2006 (n = 21)

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
21	0	11

Tab. 91: Serotypen bei Tieren im Jahr 2006 (n_{gesamt} = 21)

Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n	Serotyp	n
O1	1	O136	1	O146	1	O179	2	O21	1	O22	1
O28	1	O55	3	O76	1	O88	1	O9	1	O91	1
Ont	4	ORF	2								

Tab. 92: Serovare bei Tieren im Jahr 2006 (n_{gesamt} = 21)

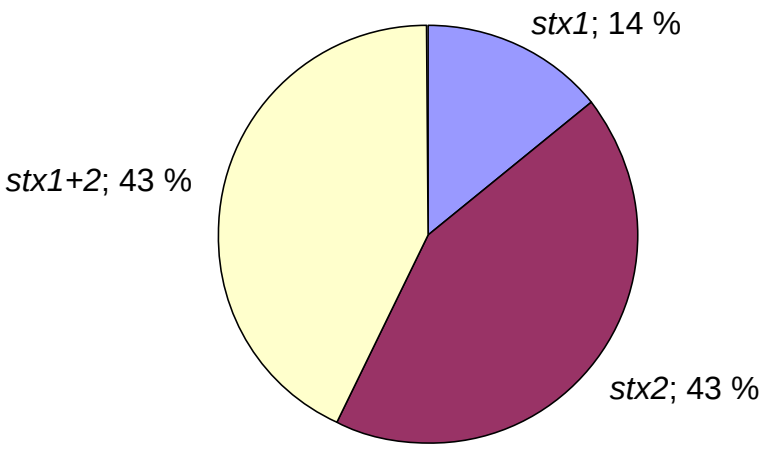
Serovar	n	Serovar	n	Serovar	n
O1: H10	1	O136: H16	1	O146: H21	1
O179: H8	2	O21: H21	1	O22: H8	1
O28: Hnt	1	O55: Hnt	3	O76: H19	1
O88: H25	1	O9: H31	1	O91: H21	1
Ont: H2	1	Ont: H25	1	Ont: H28	1
Ont: Hnt	1	ORF: H-	2		

8.2.1.5.3 Lebensmittel

Tab. 93: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Lebensmittelproben im Jahr 2005

Untersuchte Lebensmittelproben	stx-positive Lebensmittelproben
253	14 davon Hackfleisch (n = 5), Mettwurst (n = 4), Milch (n = 2), Mischfutter (n = 2), Lammfleisch (n = 1)

Abb. 41: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Lebensmittelproben im Jahr (n = 14) 2006



Tab. 94: Serovare bei Lebensmittelisolaten im Jahr 2006 (n_{gesamt} = 4)

Serovar	n	Serovar	n
O130:H11	1	Ont:H-	3

Tab. 95: Intimin und Enterohämolysin in Lebensmittelisolaten 2006 (n = 4)

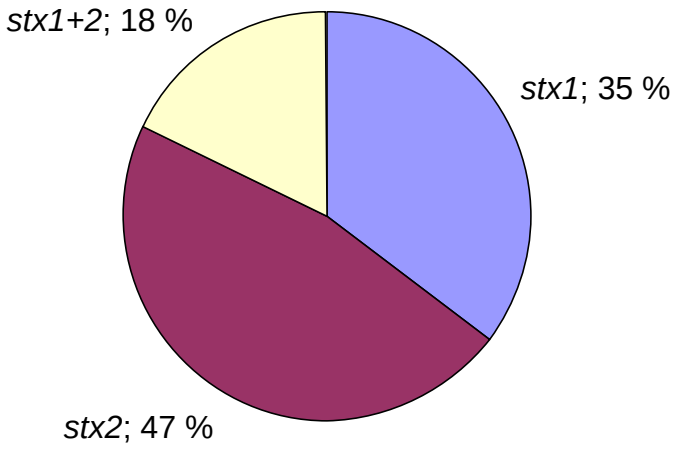
Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
4	0	1

8.2.1.5.4 Wasser

Tab. 96: Übersicht über Anzahl und Ergebnis der STEC-Untersuchungen von Wasserproben im Jahr 2006

Untersuchte Wasserproben	*stx*-positive Wasserproben
427	51
davon 390 Oberflächenwasserproben 37 Trinkwasserproben	davon 47 Oberflächenwasserproben, 4 Trinkwasserproben

Abb. 42: Shigatoxingene in Mischkulturen aus Wasserproben (n = 51) im Jahr 2006



Tab. 97: Intimin und Enterohämolysin in Wasserisolaten im Jahr 2006 (n = 3)

Isolate	*eae*-positiv	E-*hly*-positiv
3	0	2

Tab. 98: Serovare bei Wasserproben im Jahr 2006 (n_{gesamt} = 3)

Serovar	n	Serovar	n
O175:H28	2	ORF:H51	1

8.2.2 Merkmale von Humanisolaten 2002-2006

Serovar	*stx1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*
O1:H-	-	+	+	-
O1:H-	+	-	+	+
O1:Hnt	+	-	-	+
O10:H42	+	-	-	-
O100:H-	+	+	-	-
O100:H-	-	+	-	-
O103:H-	-	+	-	-
O103:H11	+	+	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	-
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	-	+	+	+
O103:H2	-	+	+	-
O103:H2	-	+	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O103:H2	+	-	-	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	-
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	+	+	+
O103:H2	+	-	-	-
O103:H2	+	-	+	+
O103:H2	+	-	+	+
O104:H12	+	+	-	-
O106:H-	+	-	-	+
O106:H18	+	-	-	+
O109:H25	-	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	-	+	+
O111:H-	+	-	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	+	-	-	+
O111:H-	+	-	+	+
O111:H-	+	+	+	+
O111:H-	-	+	+	+
O111:H-	-	+	+	+
O111:H-	+	-	+	+
O111:H8	+	+	+	+
O112:H-	+	-	-	-
O112:H-	+	-	+	-
O112:H11	+	-	+	+
O112:H2	+	+	-	+

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O112:H4	+	+	-	-
O113:H-	+	+	-	+
O113:H-	+	+	-	+
O113:H21	-	+	-	-
O113:H21	-	+	-	-
O113:H28	-	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	-	+	-	-
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O113:H4	+	+	-	+
O115:H-	+	-	-	+
O115:H-	+	-	-	+
O115:H-	+	-	-	+
O115:H-	+	-	-	+
O115:H10	+	-	-	-
O115:H10	+	-	-	-
O115:H10	+	-	-	-
O115:H10	+	-	-	-
O115:H18	+	-	-	-
O117:H-	+	-	+	-
O117:H7	+	-	-	-
O118:H16	+	-	+	+
O118:H16	+	-	+	+
O118:H16	+	-	+	+
O119:H4	+	-	-	-
O119:H4	+	-	-	-
O123:H-	+	-	+	+
O128:H2	+	+	-	+
O128:H2	+	+	-	-
O128:H2	-	+	-	+
O128:H2	+	+	-	+
O128:H2	-	+	-	+
O128:H2	+	-	-	+
O129:H11	+	-	-	-
O13:H4	+	-	-	-
O130:H-	-	+	-	-
O130:H11	+	-	-	+
O136:H12	-	+	-	-
O136:Hnt	-	+	-	-
O136:Hnt	+	-	-	-
O138:H8	-	+	-	-
O143:H4	-	+	-	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	-	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	-	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	-	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	-
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	-	+	-
O145:H-	+	-	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	-	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H-	+	-	+	+
O145:H-	-	+	+	+
O145:H28	+	-	+	+
O145:Hnt	-	+	+	+
O145:Hnt	+	-	+	+
O145:Hnt	-	+	+	+
O146:H-	-	+	-	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O146:H-	+	-	-	+
O146:H-	+	-	-	+
O146:H-	+	+	-	+
O146:H21	-	+	-	+
O146:H21	+	-	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	+	-	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	+	-	-	-
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	-	+	-	-
O146:H21	+	-	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H21	+	+	-	+
O146:H28	-	+	-	-
O146:H28	-	+	-	-
O146:H28	-	+	-	-
O146:H28	-	+	-	-
O146:H28	-	+	-	-
O146:H28	-	+	-	-
O146:H28	-	+	-	-
O147:H21	-	+	-	+
O153:H19	-	+	-	-
O153:Hnt	-	+	-	-
O153:HRF	+	-	-	-
O154:H20	-	+	-	+
O154:H31	+	-	-	-
O154:H31	+	+	-	-
O154:H31	+	-	-	-
O154:H4	+	-	-	-
O155:H-	-	+	-	-
O155:H-	-	+	-	-
O155:H31	+	+	-	-
O156:H-	+	-	+	+
O156:H7	+	-	-	-
O156:H7	+	-	-	-
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	+	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H-	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	+	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	+	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	+	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	-	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O157:H7	-	+	+	+
O158:H-	+	+	+	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O160:H-	+	-	-	+
O171:H25	-	+	+	-
O174:H-	-	+	-	+
O174:H2	+	+	-	+
O174:H2	+	+	-	+
O174:H8	+	-	-	-
O174:H8	+	+	-	-
O175:H28	-	+	-	+
O175:H4	-	+	-	+
O175:H8	-	+	-	-
O176:H-	+	-	+	-
O177:H-	+	-	+	-
O177:H-	+	-	+	-
O177:H-	-	+	+	+
O177:H-	-	+	+	+
O177:H-	-	+	+	+
O177:H-	+	-	+	-
O177:H-	+	-	+	-
O177:H11	+	-	+	-
O177:H11	+	-	-	-
O177:H11	+	-	+	+
O178:H-	+	+	-	+
O178:H19	+	+	-	+
O178:H7	+	+	-	+
O178:H7	+	-	-	+
O181:H16	+	-	-	+
O181:H8	+	+	-	+
O2:H-	-	+	-	-
O2:H27	-	+	-	+
O2:H27	-	+	-	+
O2:H27	-	+	-	+
O2:H32	-	+	-	-
O2:H32	-	+	-	-
O2:H32	-	+	-	+
O2:H32	-	+	-	-
O2:H4	+	-	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	+
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	+	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-
O2:H6	-	+	-	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O21:H25	+	-	+	+
O22:H8	-	+	-	-
O22:H8	+	+	-	+
O22:H8	+	+	-	-
O22:H8	+	+	-	-
O23:H15	+	-	-	+
O23:H15	+	-	-	+
O23:H15	+	+	-	+
O23:H15	+	-	-	+
O23:H16	+	-	-	+
O23:H21	-	+	-	-
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	+	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	+	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	+	+	+
O26:H-	+	-	+	+
O26:H-	+	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	+	+	+	+
O26:H11	+	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	+	+	+
O26:H11	+	+	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O26:H11	-	+	+	+
O26:HRF	+	-	+	+
O26:H11	+	-	+	+
O28:Hnt	-	+	-	-
O40:HRF	+	-	+	+
O42:H-	-	+	-	+
O43:H2	-	+	-	+
O48:H49	-	+	-	-
O48:H8	-	+	-	+
O5:H-	+	-	+	+
O51:H14	+	-	-	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O55:H6	+	-	-	-
O55:H7	-	+	+	-
O55:Hnt	+	-	-	-
O55:Hnt	+	-	-	-
O55:Hnt	+	-	-	-
O55:Hnt	+	-	-	-
O55:HRF	+	-	-	-
O6:H1	+	-	-	+
O6:H10	+	-	-	-
O6:H10	+	-	-	-
O6:H10	+	+	-	-
O6:H10	+	+	-	-
O6:H31	-	+	-	-
O74:H-	-	+	-	-
O74:H-	-	+	-	-
O74:H27	-	+	-	+
O74:H27	-	+	-	+
O74:H28	-	+	-	-
O74:H28	-	+	-	-
O74:H28	-	+	-	+
O74:H28	-	+	-	+
O74:H42	+	+	-	+
O74:H42	+	+	-	+
O74:Hnt	-	+	-	-
O75:H-	-	+	-	
O75:H55	+	+	-	-
O76:H-	+	-	-	+
O76:H-	+	+	-	+
O76:H-	+	-	-	+
O76:H19	+	-	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O76:H19	+	-	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O76:H19	+	-	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O76:H19	+	+	-	+
O77:H11	+	-	+	+
O77:H18	-	+	+	+
O77:H18	-	+	+	+
O77:H41	+	-	-	+
O78:H-	+	+	-	+
O78:H-	+	+	-	+
O8:H-	-	+	-	-
O8:H-	-	+	-	-
O8:H19	-	+	-	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O8:H19	-	+	-	-
O8:H19	+	+	-	-
O8:H8	-	+	-	+
O8:Hnt	-	+	-	-
O8:Hnt	-	+	-	-
O8:Hnt	-	+	-	-
O8:Hnt	-	+	-	-
O80:H-	-	+	+	+
O80:H-	-	+	+	+
O80:H-	-	+	+	+
O84:H-	+	-	+	+
O88:H-	+	+	-	´+
O9:H-	-	+	-	-
O9:H-	-	+	-	-
O90:H15	+	-	+	-
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	+	-	+
O91:H-	+	+	-	+
O91:H-	+	+	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	+	-
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	+	-	-
O91:H-	+	+	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	+	-	-
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	-	-	-
O91:H-	+	+	-	-
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	+	-	-	+

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
O91:H-	+	-	-	+
O91:H-	-	+	-	+
O91:H-	+	-	-	-
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	-
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H14	+	-	-	+
O91:H21	-	+	-	+
O91:H21	+	+	-	+
O91:H21	+	+	-	+
O91:H28	+	+	-	-
O91:Hnt	+	-	-	+
O91:HRF	+	-	-	-
O96:H12	+	+	-	+
O98:H8	+	-	-	-
Ont:H-	+	-	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	+	+
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	+	-	-	-
Ont:H-	+	+	-	+
Ont:H-	+	-	+	-
Ont:H-	+	-	+	-
Ont:H-	-	+	+	+
Ont:H-	+	+	-	+
Ont:H-	-	+	-	+
Ont:H-	+	+	-	+
Ont:H-	-	+	-	-
Ont:H-	+	+	-	+
Ont:H10	+	-	-	-
Ont:H11	+	-	+	+
Ont:H16	+	-	-	-
Ont:H16	+	-	+	+
Ont:H16	+	-	+	+
Ont:H17	+	-	-	-
Ont:H18	+	-	-	-

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
Ont:H18	+	+	-	+
Ont:H19	-	+	-	+
Ont:H19	+	-	-	-
Ont:H19	-	+	+	+
Ont:H19	-	+	-	-
Ont:H19	-	+	-	-
Ont:H19	-	+	-	-
Ont:H2	+	+	-	+
Ont:H2	+	+	-	+
Ont:H2	+	+	-	+
Ont:H21	-	+	+	-
Ont:H21	-	+	-	+
Ont:H25	-	+	-	+
Ont:H28	-	+	-	+
Ont:H31	-	+	-	-
Ont:H31	+	-	-	-
Ont:H31	-	+	+	-
Ont:H35	-	+	-	-
Ont:H4	+	-	-	-
Ont:H4	+	+	-	+
Ont:H4	+	-	-	-
Ont:H48	-	+	-	+
Ont:H6	+	-	-	-
Ont:H6	-	+	-	-
Ont:H6	-	+	-	-
Ont:H6	-	+	-	-
Ont:H7	+	-	-	+
Ont:H9	-	+	-	-
Ont:Hnt	+	-	+	+
Ont:Hnt	-	+	-	-
Ont:Hnt	-	+	+	+
Ont:Hnt	-	+	-	-
ORF:H-	+	+	-	-
ORF:H-	+	+	+	+
ORF:H-	+	-	+	+
ORF:H-	+	+	-	+
ORF:H-	+	+	-	+
ORF:H-	+	+	-	-
ORF:H-	+	+	-	+
ORF:H-	+	+	-	+
ORF:H-	+	-	-	+
ORF:H-	+	+	-	-
ORF:H-	+	+	-	-
ORF:H-	+	-	-	-
ORF:H-	+	-	+	+
ORF:H-	+	+	+	+
ORF:H-	+	-	+	+
ORF:H-	-	+	+	+

Fortsetzung 8.2.2

Serovar	***stx1***	***stx2***	***eae***	**E-*hly***
ORF:H-	+	-	-	+
ORF:H-	+	+	-	-
ORF:H-	+	-	-	+
ORF:H-	+	+	-	-
ORF:H-	+	+	-	+
ORF:H19	+	-	-	-
ORF:H11	+	-	+	+
ORF:H11	+	-	+	+
ORF:H11	+	-	+	+
ORF:H11	+	-	+	+
ORF:H11	+	-	+	+
ORF:H11	+	-	+	+
ORF:H14	+	-	-	+
ORF:H19	+	-	+	+
ORF:H19	+	-	-	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H2	+	+	-	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H2	+	+	-	+
ORF:H2	+	+	-	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H2	+	-	+	+
ORF:H21	+	-	+	+
ORF:H21	+	-	-	+
ORF:H28	-	+	-	-
ORF:H28	+	-	-	+
ORF:H4	+	+	-	+
ORF:H4	+	+	-	+
ORF:H4	+	+	-	-
ORF:H45	-	+	-	-
ORF:H45	-	+	-	-
ORF:Hnt	+	-	+	+
ORF:Hnt	-	+	-	-
ORF:Hnt	+	-	+	+
ORF:Hnt	+	-	-	-
ORF:Hnt	+	+	-	+
ORF:HRF	+	-	-	+

+ positiv
- negativ

8.2.3 Subtypisierungsergebnisse von *stx2*

Isolat-Nummer	PCR				Schmelzkurvenanalyse	*eae*	E- *hly*
	LP43/44	GK3/4	VT-cm/f	FK1/2	Tm °C		
631	-	-	-	-	72,0	-	+
2168	+	+	-	-	72,6	-	+
2740	+	+	-	-	72,7	+	-
2981	-	-	-	-	69,5	+	+
3146	+	+	-	-	71,8	+	+
3148	+	+	-	-	72,2	+	+
3193	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	72,1	+	+
3361	+	+	-	-	72,0	+	+
5137	+	+	-	-	71,8	+	+
5138	+	+	-	-	71,8	+	+
5558	+	+	-	-	72,0	-	+
6030	+	+	-	-	73,0	+	+
6595	+	+	-	-	71,7	+	+
6597	+	+	-	-	71,0	+	+
7172	+	+	-	-	72,7	+	+
7193	+	+	-	-	71,6	+	+
9013	+	+	-	-	72,9	-	+
9910	-	-	-	-	72,4	-	-
9991	+	+	-	-	71,6	+	+
10621	+	+	-	-	73,0	+	+
10808	+	+	-	-	71,3	+	+
10809	+	+	-	-	71,4	+	+
10965	+	+	-	-	71,8	+	+
11325	+	+	-	-	73,0	+	+
12179	+	+	-	-	71,0	+	+
12356	-	-	-	-	71,0	+	+
12362	+	+	-	-	69,8	-	-
12364	+	+	-	-	69,9	+	+
vet6292	-	-	-	-	n. u.	n. u.	n. u.
3570/4	-	-	-	-	n. u.	n. u.	n. u.
3570/12	+	+	-	-	71,4	-	-
4011/31	+	+	-	-	71,7	-	+
4011/38	+	+	-	-	72,3	-	+
4011/54	+	+	-	-	72,3	-	+
6334/10	+	+	-	-	71,5	-	-
6334/7a	+	+	-	-	72,2	-	+
6334/7b	+	+	-	-	72,2	-	-
6334/9	+	+	-	-	71,5	-	-
945/4	+	+	-	-	71,0	-	+
1122	+	-	+	-	55,8	-	+
1529	+	-	+	-	54,9	-	+
1533	+	-	+	-	54,9	-	+
2380	+	-	+	-	54,6	-	-
2677	+	-	+	-	56,0	-	-
2742	+	-	+	-	56,5	+	+
4007	+	-	+	-	56,8	-	+
6032	+	-	+	-	55,7	-	-
8171	+	-	+	-	56,2	-	-
10667	+	-	+	-.	56,3	-	-

Fortsetzung 8.2.3

Isolat-Nummer	PCR				Schmelzkurvenanalyse	*eae*	E- *hly*
	LP43/44	GK3/4	VT-cm/f	FK1/2	T_m °C		
11218	+	-	+	-	56,0	-	-
12026	+	-	+	-	54,9	+	+
12585	+	-	+	-	55,5	-	+
13895	+	-	+	-	56,5	-	-
13905	+	+	-	-	71,8	+	-
15314	+	-	+	-	56,4	-	-
16893	+	-	+	-	56,0	-	+
17069	+	-	+	-	56,2	-	+
18419	+	-	+	-	56,0	-	-
TW8021	+	-	+	-	56,1	-	+
vet6209	+	-	+	-	55,2	-	-
1197	+	+	-	-	67,8	-	-
1454	+	+	-	-	68,9	-	+
2221	+	+	-	-	66,8	-	-
2565	-	-	-	-	67,7	-	-
3565	-	-	-	-	67,7	-	-
5625	+	-	-	+	68,2	-	-
9367	+	-	-	+	67,6	-	-
11051	+	-	-	+	66,0	-	-
12040	+	-	-	+	67,0	-	-
12042	+	-	-	+	69,0	-	-
12161	+	-	-	+	68,9	-	-
16966	+	-	-	+	68,8	-	-
LM17654	+	-	-	+	68,0	-	-
LM26657	+	-	-	+	68,4	-	-
P15164	+	-	-	+	68,0	-	-
TW8020	+	+	-	-	68,0	-	+
vet945/1	+	+	-	-	67,0	-	+
+2c	+	+	-	-	71,7	n. u.	n. u.
+2d	+	-	+	-	56,0	n. u.	n. u.
+2e	+	-	-	+	68,0	n. u.	n. u.

+ positiv
- negativ
n. u. nicht untersucht

8.2.4 Merkmale der STEC/EHEC-Isolate, die auf Subtilase geprüft wurden

Nummer	*stx 1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*	Serovar
10167/06	+	-	+	+	O26:H11
10368/06	+	-	-	-	O55: nt
10370/06	+	-	+	-	O145:H-
10373/06	+	-	+	+	O145:H-
11051/06	-	+	-	-	O8:H8
11218/06	-	+	-	-	O146:H28
11352/06	+	+	+	+	O26:H-
11634/06	+	-	-	-	O136:Hnt
1197/06	+	+	-	-	O22:H8
12042/06	-	+	-	-	O74:H-
12356/06	+	+	+	+	O26:H11
12362/06	-	+	-	-	O28:Hnt
12364/06	-	+	+	+	O157:H7
12585/06	-	+	-	+	O147:H21
13348/06	+	-	-	-	O112:H-
14373/05	-	+	-	-	O23:H21
1454/06	-	+	-	+	O74:H28
14768/06	+	-	-	-	O2:H4
14870/06	+	-	-	-	O10:H42
1533/06	+	+	-	+	O91:H-
15465/06	+	-	-	-	O119:H4
16966/06	-	+	-	-	O100:H-
188/06	+	-	-	-	O115:H10
19167/05	-	+	-	-	O8:Hnt
21085/05	+	-	-	-	O115:H10
2221/06	+	+	+	-	O22:H8
2380/06	+	+	-	-	O174:H8
2556/06	-	+	+	+	O157:H-
2565/06	-	+	-	-	O143:H4
2740/06	-	+	+	-	O171:H25
2742/06	+	+	-	+	O76:H19
2979/06	+	-	+	+	O103:H2
2981/06	+	+	+	+	O103:H2
3148/06	-	+	+	+	O26:H11
3361/06	-	+	+	+	O145:H-
5191/06	+	-	-	+	O91:H14
5540/06	+	-	-	-	O154:H31
5622/06	+	-	+	-	O177:H-
6030/06	-	+	+	+	O111:H-
7172/06	-	+	+	+	O80:H-
8345/06	+	-	-	+	O146:H-
8720/06	+	-	-	-	O55:Hnt
9171/06	+	-	+	+	O77:H11
9254/06	+	-	+	+	O26:H-
9338/06	+	-	-	-	O174:H8
967/06	+	-	-	+	O91:H-
9735/06	+	-	+	+	O177:H11
9861/06	+	-	+	-	O112:H-
9910/06	-	+	-	-	O6:H31
9991/06	-	+	+	+	O111:H-

Fortsetzung 8.2.4

Nummer	*stx 1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*	Serovar
10080/05	+	-	+	-	O103:H2
10083/05	+	+	-	+	O91:H21
10254/05	+	+	+	+	O145:H-
10265/05	-	+	+	+	ORF:H-
10361/05	+	-	-	+	O91:H14
10532/05	+	-	+	+	O103:H2
10891/05	+	-	+	+	O103:H2
10997/05	-	+	+	+	Ont:H-
11188/05	+	-	-	+	O106:H18
11280/05	-	+	+	+	O145:H-
11435/05	+	-	+	+	O103:H2
11436/05	+	-	+	+	O103:H2
11478/05	-	+	+	+	O157:H7
11686/05	-	+	-	-	ORF:Hnt
12138/05	-	+	-	-	O136:H12
13935/04	+	-	-	-	O13:H4
15981/05	-	+	+	+	O157:H-
16977/05	+	+	-	+	ORF:H2
16994/05	+	+	+	+	Ont:H-
19252/05	+	-	-	+	O91:H14
4131/07HUS	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	O157:H7
8516/05	+	+	+	+	O26:H11
8726/05	+	+	-	+	ORF:H2
8915/05	+	+	+	+	ORF:H-
8918/05	+	+	+	+	O26:H11
9429/05	+	-	+	+	ORF:H-
9431/05	+	-	+	+	ORF:H11
9504/05	+	-	-	-	O154:H31
9619/05	-	+	-	-	Ont:H19
9633/05	+	+	-	+	O113:H4
9667/05	+	-	-	-	O51:H14
9801/05	+	-	+	+	O111:H-
9802/05	+	+	+	+	O111:H-
9979/05	+	+	-	+	Ont:H2
915/06	+	-	-	+	O91:H-
631/06	-	+	-	+	Ont:H48
1121/06	+	-	-	+	ORF:H21
1122/06	+	+	-	+	O113:H-
2168/06	-	+	-	+	Ont:H25
1529/06	+	+	-	+	ORF:H-
3146/06	-	+	+	+	O26:H11
2677/06	-	+	+	-	Ont:H31
3684/06	+	-	+	+	O145:H-
3193/06	-	+	+	+	O26:H11
4007/06	+	+	-	+	Ont:H-
5138/06	-	+	+	+	O145:H-
5558/06	-	+	-	+	O91:H-
5702/06	+	-	-	-	ORF:H19
5802/06	+	-	-	+	O91:H-
5393/06	+	-	+	+	O26:H11
5546/06	+	-	+	+	O26:H11

Fortsetzung 8.2.4

Nummer	*stx 1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*	Serovar
6032/06	+	+	-	-	ORF:H-
5625/06	-	+	-	-	Ont:H19
5137/06	-	+	+	+	O145:H-
6595/06	-	+	+	+	O157:H-
6597/06	-	+	+	+	O157:H-
7193/06	-	+	+	+	O145:H-
8001/06	+	-	+	+	ORF:H2
7542/06	+	-	+	+	O26:H11
8171/06	-	+	-	-	ORF:H45
8364/06	+	-	+	+	ORF:H11
8365/06	+	-	+	+	O26:H11
8604/06	+	-	-	+	O146:H-
8706/06	+	-	+	+	ORF:H2
9013/06	+	+	-	+	Ont:H18
9367/06	-	+	-	-	Ont:Hnt
10166/06	+	-	+	+	ORF:H2
9998/06	+	-	-	-	O177:H11
10371/06	+	-	+	+	O145:H-
10353/06	+	-	+	+	O26:H11
10667/06	-	+	-	-	Ont:H6
10965/06	-	+	+	+	O145:H-
10792/06	+	-	+	+	O26:H11
10795/06	+	-	+	+	O103:H2
10808/06	-	+	+	+	Ont:Hnt
10809/06	-	+	+	+	O145:H-
10306/06	+	-	-	-	O91:H-
10621/06	-	+	+	+	O145:H-
11319/06	+	-	+	+	O111:H-
11625/06	+	-	+	+	O103:H2
11769/06	+	-	-	+	O91:H14
11773/06	+	-	-	+	Ont:H7
11909/06	+	-	-	+	O76:H-
11927/06	+	-	-	-	Ont:H4
12026/06	-	+	+	+	O157:H-
12040/06	-	+	-	-	O74:Hnt
11325/06	+	+	+	+	O26:H-
12179/06	+	+	+	+	O26:H-
12039/06	+	-	+	+	O26:H11
12161/06	-	+	-	-	O74:H-
11395/06	+	-	+	+	O26:H11
11851/06	+	-	+	+	ORF:H11
13895/06	+	+	-	+	ORF:H4
13905/06	-	+	+	-	O158:H-
13338/06	+	-	+	+	O103:H2
14770/06	+	-	+	+	O103:H2
15252/06	+	-	-	+	ORF:H-
15314/06	-	+	-	-	O146:H28
15325/06	+	-	+	-	O177:H-
15917/06	+	-	+	+	O26:H11
16505/06	+	-	+	+	Ont:H16
15710/06	+	-	-	-	O55:Hnt

Fortsetzung 8.2.4

Nummer	*stx 1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*	Serovar
15535/06	+	-	-	+	ORF:H19
16893/06	+	+	-	+	ORF:H4
15199/06	+	-	-	+	O130:H11
16510/06	+	-	+	+	Ont:H16
16877/06	+	-	-	+	O91:H14
17135/06	+	-	-	+	O91:H15
18419/06	+	+	-	-	ORF:H-
023/07	+	-	-	-	O22:H-
18401/06	+	-	-	-	O115:H10
025/07	+	-	+	+	O111:H-
974/07	+	-	-	-	Ont:H7
1009/07	-	+	-	-	O18:H31
1345/07	+	-	+	+	O103:H2
1524/07	+	-	+	+	O111:H-
1781/07	+	-	+	+	O103:H2
1783/07	+	+	-	+	Ont:H18
1868/07	+	-	+	+	O26:H11
1897/07	-	+	-	-	Ont:H18
2520/07	+	+	-	-	O91:H-
2390/07	-	+	-	-	Ont:H45
2627/07	+	-	-	-	O20:H30
3091/07	-	+	-	-	O74:H6
021B/07	+	-	+	+	n. u.
3877/07	+	+	-	+	n. u.
3948/07	-	+	-	-	n. u.
4131/07	-	+	+	+	O157:H-
4066/07	+	+	n. u.	n. u.	n. u.
3944/07	+	-	n. u.	n. u.	n. u.
4821/07	+	-	+	+	n. u.
4823/07	+	-	+	+	n. u.
4355/07	+	-	+	+	n. u.
4334/07	-	+	-	+	n. u.
4820/07	+	-	+	+	n. u.
G 584	+	+	-	+	Ont:H-
G 586	+	+	-	+	Ont:H-
K 133/3	-	+	-	+	O105:H18
K 69/ 1	+	+	+	-	O174:H8
K 76/ 3	+	-	-	+	O1:Hnt
K 84/ 2	+	-	-	-	O55:H12
K 84/ 3	+	-	-	-	O55:H31
LM 17654	-	+	-	-	Ont:H-
LM 26657	-	+	-	-	Ont:H-
PR 15164	-	+	-	-	Ont:H-
TW 10971	+	-	+	+	O103:H25
TW 11209	-	+	-	+	O2:H27
WA 10779/ 05	-	+	-	-	ORF:H21
WA 10781/ 05	-	+	-	-	Ont:H48
WA 8190	+	+	-	-	ORF:H23
WA 8299	+	+	-	+	ORF:H8
WA 8940	+	-	-	-	ORF:H-
WA 8946	+	-	-	-	ORF:H-

Fortsetzung 8.2.4

Nummer	*stx 1*	*stx2*	*eae*	E-*hly*	Serovar
WA 8947	+	-	-	-	ORF:H23
TW 8021	-	+	-	+	O175:H28
TW 8020	-	+	-	+	O175:H28
TW 5598	+	-	-	-	ORF:H51
WA 11896	+	-	-	-	O154:H31
WA 13194	-	+	-	-	Ont:H-
WA 13905	-	+	-	-	O8:H4
WA 13199	-	+	-	+	O175:H28
WA 13198	-	+	-	+	ORF:H14
WA 13879	-	+	-	+	Ont:H-
6288-4	+	-	-	-	O9:H31
6293/7	-	+	-	-	O146:H21
6334/8	+	+	-	+	Ont:Hnt
6334-10	+	+	-	-	ORF:H-
6334/7A	+	+	-	+	Ont:H25
6334/7AII	+	-	-	+	O88:H25
6334/7B	-	+	-	-	O28:Hnt
6334/9	+	+	-	-	ORF:H-
6292	+	+	-	+	O76:H19
6209	+	+	-	-	O21:H21
945/5A	+	-	-	-	O55:Hnt
945/1II	+	+	-	+	O22:H8
945/10	+	-	-	-	O55:Hnt
3570-4	+	+	-	+	O1:H10
3570-12, 1	-	+	-	-	Ont:H2
3570-12, 2	+	-	-	+	O136:H16
4011/54	+	+	-	+	Ont:H28
4011/31	-	+	-	+	O179:H8
945/4	+	+	-	+	O91:H21
945/7	+	-	-	-	O55:Hnt

+ positiv
- negativ
n. u. nicht untersucht

9 LITERATURVERZEICHNIS

ALTS (2001).
Lebensmittelrechtliche Beurteilung von verotoxinogenen und enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (VTEC/EHEC).
Ergebnisprotokoll 54. Arbeitstagung des Arbeitskreises der auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene und der vom Tier stammenden Lebensmittel tätigen Sachverständigen, Berlin, 19.06.-21.06, Top 23.

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LMBG, L 07-18-1 (2002).
Nachweis, Isolierung und Charakterisierung Verotoxin-bildender *Escherichia coli* (VTEC) in Hackfleisch mittels PCR und DNA-Hybridisierungstechnik.
Beuth Verlag, Berlin.

Anderson RC, Buckley SA, Kubena LF, Stanker LH, Harvey RB, Roger B, Nisbet DJ (2000).
Bactericidal effect of sodium chlorate on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 in rumen contents in vitro.
J. Food Prot. **63**, 1038-1042.

Anderson RC, Callaway TR, Anderson TJ, Kubena LF, Keith NK, Nisbet DJ (2002).
Bactericidal effect of sodium chlorate on *Escherichia coli* concentrations in bovine ruminal and fecal contents in vivo.
Microb. Ecol. Health Dis. **14**, 24-29.

Anderson RC, Harvey RB, Byrd JA, Callaway TR, Genovese KJ, Edrington TS, Jung YS, McReynolds JL, Nisbet DJ (2005).
Novel preharvest strategies involving the use of experimental chlorate preparations and nitro-based compounds to prevent colonization of food-producing animals by foodborne pathogens.
Poult. Sci. **84**, 649-654.

Asakura H, Makino S, Shirahata T, Tsukamoto T, Kurazono H, Ikead T, Takeshi K (1998).
Detection and genetical characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from wild deer.
Microbiol. Immunol. **42**, 815-822.

Bales S, Baumann HG, Schnitzler N (2003).
Infektionsschutzgesetz. Kommentar und Vorschriftensammlung.
W. Kohlhammer Verlag, Stuttgart, 42-45, 64-66, 86-93.

Barlow RS, Gobius KS, Desmarchelier PM (2006).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef and lamb cuts: results of a one-year study.
Int. J. Food Microbiol. **111**, 1-5.

Barth S, Tscholshiew A, Menge C, Weiß R, Baljer G, Bauerfeind R (2007).
Virulence and fitness gene patterns of Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* isolated from pigs with edema disease or diarrhea in Germany.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **120**, 307-316.

Bauer ME, Welch RA (1996).
Characterisation of an RTX toxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7.
Infect. Immun. **64**, 167-175.

Bauerfeind R, Barth S, Abdybek T, Vallejo G, Weiß R (2004).
Nachweis und Charakterisierung von Shigatoxin-bildenden *Escherichia coli* bei Zucht- und Mastschweinen in Deutschland.
Tagungsband EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 22.07-24.07, 39.

Bentacor A, Rumi MV, Gentilini MV, Sardoy C, Irino K, Agostini A, Cataldi A (2007).
Shiga toxin-producing and attaching and effacing *Escherichia coli* in cats and dogs in a high haemolytic uremic syndrome incidence region in Argentina.
FEMS Microbiol. Lett. **267**, 251-256.

Bertin Y, Boukhors K, Livrelli V, Martin C (2004).
Localization of the insertion site and pathotype determination of the locus of enterocyte effacement of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains.
Appl. Environ. Microbiol. **70**, 61-68.

Bettelheim KA (2000, 2003).
The VTEC-Table.
http://www.microbionet.com.au
(Datum des Zugriffs: 01.02.2008)

Bettelheim KA (2007).
The non-O157 Shiga-toxigenic (verocytotoxigenic) *Escherichia coli*; under-rated pathogens.
Crit. Rev. Microbiol. **33**, 67-87.

Beutin L, Montenegro MA, Ørskov I, Ørskov F, Prada J, Zimmermann S, Stephan R (1989).
Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*.
J. Clin. Microbiol. **27**, 2559-2564.

Beutin L, Geier D, Steinrück H, Zimmermann S, Scheutz F (1993).
Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals.
J. Clin. Microbiol. **31**, 2483-2488.

Beutin L (1999).
Escherichia coli as a pathogen in dogs and cats.
Vet. Res. **30**, 285-298.

Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S, Gleier K (2004).
Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period.
J. Clin. Microbiol. **42**, 1099-1108.

Beutin L (2006).
Emerging enterohemorrhagic *Escherichia coli*, causes and effects of the rise of a human pathogen.
J. Vet. Med. B. **53**, 299-305.

Beutin L, Miko A, Krause G, Pries K, Steege K, Haby S, Albrecht N (2007a).
Eigenschaften von Shiga (Vero) Toxin bildenden *E. coli* aus Lebensmitteln in Deutschland, Konsequenzen für den Verbraucherschutz.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 25.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Beutin L, Miko A, Krause G, Pries K, Haby S, Steege K, Albrecht N (2007b).
Identification of human-pathogenic strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from food by a combination of serotyping and molecular typing of Shiga toxin genes.
Appl. Environ. Microbiol. **73**, 4769-4775.

Bielaszewska M, Fell M, Greune L, Prager R, Fruth A, Tschäpe H, Schmidt MA, Karch H (2004).
Characterization of cytolethal distending toxin genes and expression in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains of non-O157 serogroups.
Infect. Immun. **72**, 1812-1816.

Bielaszewska M, Friedrich AW, Aldick T, Schürk-Bulgrin R, Karch H (2006).
Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome.
Clin. Infect. Dis. **43**, 1160-1167.

Bielaszewska M, Zhang W, Mellmann A, Karch H (2007).
Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H-: a human pathogen in emergence.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **120**, 279-287.

Bischoff A (2008).
Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim.
Persönliche Mitteilung (März 2008).

Blanco M, Blanco JE, Mora A, Rey J, Alonso JM, Hermoso M, Hermoso J, Alonso MP, Dahbi G, Gonzalez EA, Bernardez MI, Blanco J (2003).
Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain.
J. Clin. Microbiol. **41**, 1351-1356.

Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, Blanco J (2004a).
Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from human patients: prevalence in Lugo, Spain, from 1992 through 1999.
J. Clin. Microbiol. **42**, 311-319.

Blanco M, Blanco JE, Mora A, Dahbi G, Alonso MP, Gonzalez EA, Bernardez MI, Blanco J (2004b).
Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (*eae*-ξ).
J. Clin. Microbiol. **42**, 645-651.

Blanco M, Schumacher S, Tasara T, Zweifel C, Blanco JE, Dahbi G, Blanco J, Stephan R (2005).
Serotypes, intimin variantes and other virulence factors of *eae* positive *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle in Switzerland. Identification of a new intimin variant gene (*eae*-η2).
BMC Microbiol. **5**:23.

Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Alonso MP, Mora A, Coira MA, Madrid C, Juarez A, Bernardez MI, Gonzalez EA, Blanco J (2006).
Identification of two new intimin types in atypical enteropathogenic *Escherichia coli*.
Int. Microbiol. **9**, 103-110.

Blum G, Marre R, Hacker J (1995).
Properties of *Escherichia coli* strains of serotype O6.
Infection **23**, 234-236.

Bockemühl J, Karch H (1996).
Zur aktuellen Bedeutung der enterohämorrhagischen *Escherichia co*li (EHEC) in Deutschland (1994-1995).
Bundesgesundheitsbl. **8**, 290-296.

Bockemühl J, Karch H, Tschäpe H (1997).
Infektionen des Menschen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland, 1996.
Bundesgesundheitsbl. **6**, 194-197.

Bockemühl J, Karch H, Tschäpe H (1998).
Zur Situation der Infektionen des Menschen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland 1997.
Bundesgresundheitsbl. **SH**, 2-5.

Boukhors K, Pradel N, Girardeau J-P, Livrelli V, Ou Said AM, Contrepois M, Martin C (2002).
Effect of diet on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) growth and survival in rumen and abomasum fluids.
Vet. Res. **33**, 405-412.

Brashears MM, Galyean ML, Loneragan GH, Mann JE, Killinger-Mann K (2003).
Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and performance by beef feedlot cattle given *Lactobacillus* direct-fed microbials.
J. Food Prot. **66**, 748-754.

Brett KN, Ramachandran V, Hornitzky MA, Bettelheim KA, Walker MJ, Djordjevic SP (2003).
Stx 1c is the most common Shiga toxin 1 subtype among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from sheep but not among isolates from cattle.
J. Clin. Microbiol. **41**, 926-936.

Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, Greene KD, Griffin PM, Hoekstra RM, Strockbine NA (2005).
Non-O157-Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002.
J. Infect. Dis. **192**, 1422-1429.

Bülte M (2001).
Nachweis und Charakterisierung von Verotoxin-bildenden *Escherichia coli*-Stämmen (VTEC) aus unterschiedlichen Habitaten.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **114**, 473-477.

Bülte M (2002).
Verterinärmedizinische Aspekte der Infektionen durch enterohämorrhagische *E.-coli*- Stämme (EHEC).
Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz **45**, 484-490.

Bülte M (2004).
Vorkommen von enterohämorrhagischen *E. coli*-Stämmen (EHEC) bei Nutztieren.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **111**, 314-317.

Bürk C, Dietrich G, Acar G, Moravek M, Bülte M, Märtlbauer E (2003).
Identification and characterization of a new variant of Shiga toxin 1 in *Escherichia coli* ONT:H19 of bovine origin.
J. Clin. Microbiol. **41**, 2160-2112.

Burckhardt F, Heißenhuber A, Morlock G, Busch U, Schindler P, Fruth A, Ammon A Wildner M (2005).
Risikofaktoren der Belastung durch Shigatoxin-produzierende *Escherichia coli* (STEC) in Kläranlagen.
Gesundheitswesen **67**, 858-861.

Busch U (2007).
Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim.
Persönliche Mitteilung (März 2008).

Busch U, Hörmannsdorfer S, Schranner S, Huber I, Bogner K-H, Sing A (2007a).
Enterohemorrhagic *Escherichia coli* excretion by child and her cat.
Emerg. Inf. Dis. **13**, 348-349.

Busch U, Huber I, Messelhäusser U, Hörmannsdorfer S, Sing A (2007b).
Nachweis Shigatoxin-bildender/Enterohämorrhagischer *Escherichia coli* (STEC/EHEC) mittels Real-Time PCR.
J. Verbr. Lebensm. **2**, 144-148.

Callaway TR, Anderson RC, Genovese KJ, Poole TL, Anderson TJ, Byrd JA, Kubena LF, Nisbet DJ (2002).
Sodium chlorate supplementation reduces *E. coli* O157:H7 population in cattle.
J. Anim. Sci. **80**, 1683-1689.

Callaway TR, Edrington TS, Anderson RC, Genovese KJ, Poole TL, Elder RO, Byrd JA, Bischoff KM, Nisbet DJ (2003).
Escherichia coli O157:H7 populations in sheep can be reduced by chlorate supplementation.
J. Food Prot. **66**, 194-199.

Callaway TR, Anderson RC, Edrington TS, Genovese KJ, Bischoff KM, Poole TL, Jung YS, Harvey RB, Nisbet DJ (2004).
What are we doing about *Escherichia coli* O157:H7 in cattle?
J. Anim. Sci. **82** (E. Suppl.), E93-E99.

Canadian Paediatric Society (1987).
Escherichia coli gastroenteritis: making sense of the new acronyms.
CMAJ **136**, 241-244.

Caro I, Garcia-Armesto MR (2007).
Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a Spanish raw ewe´s milk cheese.
Int. J. Food Microbiol. **116**, 410-413.

Cebula TA, Payne WL, Feng P (1995).
Simultaneous identification of strains of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and their Shiga-like toxin type by mismatch amplification mutation assay-multiplex PCR.
J. Clin. Microbiol. **33**, 248-250.

Chalmers RM, Salmon RL, Willshaw GA, Cheasty T, Looker N, Davies I, Wray C (1997).
Vero-cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in a farmer handling horses.
Lancet **349**, 1816.

Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin MA (2001).
Escherichia coli O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses, in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK.
Int. J. Food Microbiol. **64**, 139-150.

Cheng D, Sun H, Xu J, Gao S (2006).
PCR detection of virulence factor genes in *Escherichia coli* isolates from weaned piglets with edema disease and/or diarrhea in China.
Vet. Microbiol. **115** , 320-328.

Chern EC, Tsai YL, Olson BH (2004).
Occurence of genes associated with enterotoxigenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* in agricultural waste lagoons.
Appl. Environ. Microbiol. **70**, 473-478.

Cho S, Diez-Gonzalez F, Fossler CP, Wells SJ, Hedberg CW, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Bender JB (2006).
Prevalence of Shiga toxin-encoding bacteria and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from dairy farms and county fairs.
Vet. Microbiol. **118**, 289-298.

Cook SR, Bach SJ, Stevenson SML, DeVinney R, Frohlich AA, Fang L, McAllister TA (2005).
Orally administered anti-*Escherichia coli* O157:H7 chicken egg yolk antibodies reduce fecal shedding of the pathogen by ruminants.
Can. J. Anim. Sci. **85**, 291-299.

Creuzburg K, Schmidt H (2007).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and their bacteriophages as a model for the analysis of virulence and stress response of a food-borne pathogen.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **120**, 288-295.

Dean-Nystrom EA, Bosworth BT, Moon HW, O´Brien AD (1998).
Bovine infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli.*
In: Karper JB, O´Brien AD (1998). *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. ASM Press, Washington D. C., ISBN 1-55581-129-9 (hardcover), 261-267.

DebRoy C, Roberts E (2006).
Screening petting zoo animals for the presence of potentially pathogenic *Escherichia coli*.
J. Vet. Diagn. Invest. **18**, 597-600.

DeGrandis S, Law H, Brunton J, Gyles C, Lingwood CA (1989).
Globotraosylceramide is recognized by the pig edema disease toxin.
J. Biol. Chem. **265**, 12520-12525.

De Jonge R, Takumi K, Ritmeester WS, van Leusden FM (2003).
The adaptive response of *Escherichia coli* O157 in an environment with changing pH.
J. Appl. Microbiol. **94**, 555-560.

Dias da Silveira W, Ferreira A, Brocci M, de Hollanda M, Pestana de Castro AF, Yamada AT, Lancellotti M (2002).
Biological characteristics and pathogenicity of avian *Escherichia coli* strains.
Vet. Microbiol. **85**, 47-53.

Diez-Gonzalez F, Callaway TR, Kizoulis MG, Russel JB (1998).
Grain feeding and the dissemination of acid-resistant *Escherichia coli* from cattle.
Science **281**, 1666-1668.

Dipineto L, Santaniello A, Fontanella M, Lagos K, Fioretti A, Menna LF (2006).
Presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in living layer hens.
Appl. Microbiol. **43**, 293-295.

Donnenberg MS, Tzipori S, McKee ML, O`Brien A, Alroy J, Kaper JB (1993).
The role of the *eae* gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in intimate attachment in vitro and in a porcine model.
J. Clin. Investigation **92**, 1418-1424.

Donnenberg MS, Whittam TS (2001).
Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*.
J. Clin. Ivestigation **107**, 539-548.

Dreesmann J, Röttgers HR, Mellmann A, Pulz M (2007).
Untersuchung eines EHEC-Ausbruchs mit 59 Fällen nach einem Ferienlager mit Rohmilchverzehr durch eine retrospective Kohortenstudie.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 19.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Dziva F, Vlisidou I, Crepin VF, Wallis TS, Frankel G, Stevens MP (2007).
Vaccination of calves with EspA, a key colonisation factor of *Escherichia coli* O157:H7, induces antigen-specific humoral responses but does not confer protection against intestinal colonisation.
Vet. Microbiol. **123**, 254-261.

Edrington TS, Callaway TR, Anderson RC, Genovese KJ, Jung YS, McReynolds JL, Bischoff KM, Nisbet DJ (2003).
Reduction of *E. coli* O157:H7 populations in sheep by supplementation of an experimental sodium chlorate product.
Small Rum. Res. **49**, 173-181.

Elder RO, Keen JE, Wittum TE, Callaway TR, Erdington TS, Anderson RC, Nisbet DJ (2002).
Intervention to reduce fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in naturally infected cattle using neomycin sulfate.
J. Anim. Sci. **80** (Suppl. 1), 15 (Abstr.).

Ethelberg S, Olsen KE, Scheutz F, Jensen C, Schiellerup P, Enberg J, Petersen AM, Olesen B, Gerner-Smidt P, Molbak K (2004).
Virulence factors for haemoytic uremic syndrome, Denmark.
Emerg. Infect. Dis. **10**, 842-847.

Europäische Komission (2007).
The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) annual report 2006, 59.
ISBN 978-92-79-05477-8
http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/report2006en.pdf
(Datum des Zugriffs: 15.01.2008)

Fairbrother JM, Nadeau E. (2006).
Escherichia coli: on-farm contamination of animals.
Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. **25**, 555-569.

FAO, WHO (codex alimentarius commission (2002).
Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on food hygiene. Risk profile for enterohemorrhagic *E. coli* including the identification of the commodities of concern, including sprouts, ground beef and pork.
35th session. Orlando, USA, 27.1.-1.2.2002.
http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/
(Datum des Zugriffs: 01.03.2008)

Fenwick BW, Cowan LA (1998).
Canine model of hemolytic-uremic syndrome.
In: Karper JB, O´Brien AD (1998). *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. ASM Press, Washington D. C., ISBN 1-55581-129-9, 268-277.

Forster JW (2004).
Escherichia coli acid resistance: tales of an amateur acidophile.
Nat. Rev. Microbiol. **2,** 898-907.

Franke S, Harmsen D, Caprioli A, Pierard D, Wieler LH, Karch H (1995a).
Clonal relatedness of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* O101 strains of human and porcine origin.
J. Clin. Microbiol. **33**, 3174-3178.

Franke S, Gunzer F, Wieler LH, Baljer G, Karch H (1995b).
Construction of recombinant Shiga-like toxin-IIv (SLT-IIv) and it´s use in monitoring the SLT-IIv antibody status of pigs.
Vet. Microbiol. **43**, 41-52.

Fratamico PM, Bagi LK, Bush EJ, Solow BT (2004).
Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in swine feces recovered in the National Animal Health Monitoring System´s swine 2000 study.
Appl. Environ. Microbiol. **70**, 7173-7178.

Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang W, Pulz M, Kuczius T, Ammon A, Karch H (2002).
Escherichia coli harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms.
J. Inf. Dis. **185**, 74-84.

Friedrich AW, Borell J, Bielaszewska M, Fruth A, Tschäpe H, Karch H (2003).
Shiga toxin 1c-producing *Escherichia coli* strains: phenotypic and genetic characterization and association with human disease.
J. Clin. Microbiol. **41**, 2448-2453.

Friedrich AW, Lukas R, Mellmann A, Köck R, Zhang W, Mathys W, Bielaszewska M, Karch H (2006).
Urease genes in non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: mostly silent but valuable markers for pathogenicity.
Clin. Microbiol. Infect. **12**, 483-486.

Friedrich AW, Zhang W, Bielaszewska M, Mellmann A, Köck R, Fruth A, Tschäpe H, Karch H (2007).
Prevalence, virulence profiles, and clinical significance of Shiga toxin-negative variants of enterohrmorrhagic *Escherichia coli* O157 infection in humans.
Clin. Infect. Dis. **45**, 39-45.

Fries R, Strauß-Ellermann H, Paulat U, Bräutigam L, Irsigler H, Kobe A, Hallmann C (2005).
Fibrinöse Serositis beim Geflügel – Humanrelevanz von *E. coli*-Isolaten aus der Körperhöhle untauglich beurteilter Puten.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **118**, 386-392.

Fruth A, Prager R, Fiedrich A, Kuczius T, Roggentin P, Karch H, Ammon A, Bockemühl J, Tschäpe H (2002).
Infektionen des Menschen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) in der Bundesrepublik Deutschland von 1998 bis 2001.
Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz **45**, 715-721.

Garcia A, Fox JG (2003).
The rabbit as a new reservoir host of enterohemorrhagic *Escherichia coli*.
Emerg. Inf. Dis. **9**, 1592-1597.

Gareis M, Pichner R, Brey N, Steinrück (2000).
Nachweis Verotoxin-bildender *E-coli* (VTEC) bei gesunden Mitarbeitern eines fleischverarbeitenden Betriebes.
Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz **43**, 781-787.

Garg AX, Clark WF, Salvadori M, Macnab J, Suri RS, Haynes RB, Matsell D, Walkerton Health Study Investigators (2005).
Microalbuminuria three years after recovery from *Escherichia coli* O157 hemolytic uremic syndrome due to municipal water contamination.
Kidney Int. **67**, 1476-1482.

Garrido P, Blanco M, Moreno-Paz M, Briones C, Dahbi G, Blanco J, Blanco J, Parro V (2006).
STEC-EPEC oligonucleotide microarray: a new tool for typing genetic variants of the LEE pathogenicity island of human and animal Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains.
Clin. Chem. **52**, 192-201.

Geue L, Segura-Alvarez M, Conraths FJ, Kuczius T, Bockemühl J, Karch H, Gallien P (2002).
A long-term study on the prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) on four German cattle farms.
Epidemiol. Infect. **129**, 173-185.

Goll M (2005).
Nachweis und DNA-Fingerprinting von *Escherichia coli* O157-Stämmen bei Pferden.
Vet. med. diss., Justus-Liebig-Universität, Gießen.

Gregory NG, Jacobson LH, Nagle TA, Muirhead RW, Leroux GJ (2000).
Effect of preslaughter feeding system on weight loss, gut bacteria, and the physico-chemical properties of digesta in cattle.
N. Z. J. Agric. Res. **43**, 351-361.

Großmann K, Weniger B, Baljer G, Brenig B, Wieler L (2005).
Racing, ornamental and city pigneons carry Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) with different Shiga toxin subtypes, urging further analyses of their epidemiological role in the spread of STEC.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **118**, 456-463.

Gourmelon M, Montet MP, Lozach S, Le Mennec C, Pommepuy M, Beutin L, Vernozy-Rozand C (2006).
First isolation of Shiga toxin 1d producing *Escherichia coli* variant strains in shellfish from coastal areas in France.
J. Appl. Microbiol. **100**, 85-97.

Gyles C, Johnson R, Gao A, Ziebell K, Pierard D, Aleksic S, Boerlin P (1998).
Association of enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin with serotypes of Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* of human and bovine origins.
Appl. Environ. Microbiol. **64**, 4134-4141.

Gyles CL (2007).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview.
J. Anim. Sci. **85** (E. Suppl.), E45-E62.

Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Ebel ED, Herriott DE, Carpenter LV (1998).
Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feedlots and dairy farms in the northwestern USA.
Prev. Vet. Med. **35**, 11-19.

Hazarika RA, Singh DK, Kapoor KN, Agarwal RK, Pandey AB, Purusottam (2007).
Verotoxic *Escherichia coli* (STEC) from beef and it´s products.
Indian J. Exp. Biol. **45**, 207-211.

Heißenhuber A, Hautmann W, Ludwig MS, Busch U, Wildner M (2005).
Leifaden Labordiagnostik von Shigatoxinbildenden und anderen darmpathogenen *Escherichia coli*- Stämmen. Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.
http://www.lgl.bayern.de/publikationen/index.htm.
(Datum des Zugriffs: 01.10.2007)

Helgerson AF, Sharma V, Dow AM, Schroeder R, Post K, Cornick NA (2006).
Edema disease caused by clone of *Escherichia coli* O147.
J. Clin. Microbiol. **44**, 3074-3077.

Herold S, Karch H, Schmidt H (2004).
Shiga toxin-encoding bacteriophages – genomes in motion.
Int. J. Med. Microbiol. **294**, 115-121.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (1994).
Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology.
Williams & Wilkins Verlag, 9. Auflage, 179-180.

Hovde CJ, Austin PR, Cloud KA, Williams CJ, Hunt CW (1999).
Effect of cattle diet on *Escherichia coli* O157:H7 acid resistance.
Appl. Environ. Microbiol. **65**, 3233-3235.

Huber HC, Kugler R, Liebl B (1998).
Infektionen mit enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) – Ergebnisse einer epidemiologischen Erhebung in Bayern für den Zeitraum April 1996 bis März 1997.
Gesundheitswesen **60**, 159-165.

Hurley BP, Thorpe CM, Acheson DWK (2001).
Shiga toxin translocation across intestinal epithelial cells is enhanced by neutrophil transmigration.
Infect. Immun. **69**, 6148-6155.

Hussein HS, Sakuma T (2005).
Invited review: prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products.
J. Dairy Sci. **88**, 450-465.

Hussein HS (2007).
Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products.
J. Anim. Sci. **85** (E. Suppl.), E63-E72.

Ishii S, Meyer KP, Sadowsky MJ (2007).
Relationship between phylogenetic groups, genetic clusters, and virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains from diverse human and animal sources.
Appl. Environ. Microbiol. **73**, 5703-5710.

Itoh Y, Sugita-Konishi Y, Kasuga F, Iwaki M, Hara-Kudo Y, Saito N, Noguchi Y, Konuma H, Kumagai S (1998).
Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 present in radish sprouts.
Appl. Environ. Microbiol. **64**, 1532-1535.

Jelacic JK, Damrow T, Chen GS, Jelacic S, Bielaszewska M, Ciol M, Carvalho HM, Melton-Celsea AR, O`Brien AD, Tarr PI (2003).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Montana: bacterial genotypes and clinical profiles.
J. Infect. Dis. **188**, 719-729.

Jenkins C, Perry NT, Cheasty T, Shaw DJ, Frankel G, Dougan G, Gunn GJ, Smith HR, Paton AW, Paton JC (2003).
Distribution of the *saa* gene in strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of human and bovine origins.
J. Clin. Microbiol. **41**, 1775-1778.

Jensen C, Ethelberg S, Olesen B, Schiellerup P, Olsen KEP, Scheutz F, Nielsen EM, Neimann J, Hogh B, Gerner-Smidt P, Molbak K, Krogfelt KA (2007).
Attaching and effacing *Escherichia coli* isolates from Danish children: clinical significance and microbiological characteristics.
Clin. Microbiol. Infect. **13**, 863-872.

Jeong KC, Kang MY, Heimke C, Shere JA, Erol I, Kaspar CW (2007).
Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from the gall bladder of inoculated and naturally-infected cattle.
Vet. Microbiol. **119**, 339-345.

Jerse AE, Kaper JB (1991).
The *eae* gene of enteropathogenic *Escherichia coli* encodes a 94-kilodalton membrane protein, the expression of which is influenced by the EAF plasmid.
Infect. Immun. **59**, 4302-4309.

Johnson KE, Thorpe CM, Sears CL (2006).
The emerging clinical importance of non-O157-Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.
Clin. Infect. Dis. **43**, 1587-1595.

Jores J, Zehmke K, Eichberg J, Rumer L, Wieler LH (2003).
Description of a novel intimin variant (type ς) in the bovine O84:NM verotoxin-producing *Escherichia coli* strain 537/89 and the diagnostic value of intimin typing.
Experimental Biology and Medicine **228**, 370-376.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT (2004).
Pathogenic *Escherichia coli.*
Nat. Reviews **2**, 123-140.

Karch H, Wiss R, Gloning H, Emmrich P, Aleksic S, Bockemühl J (1990).
Hämolytisch-urämisches Syndrom bei Kleinkindern durch Verotoxin-produzierende *Escherichia coli*.
Dtsch. Med. Wochenschr. **115**, 489-495.

Karch H, Huppertz HI, Bockemühl J, Schmidt H, Schwarzkopf A, Lissner R (1997).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in Germany.
J. Food Prot. **60**, 1454-1457.

Karch H, Bielaszewska M (2001).
Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H- strains: epidemiology, phenotypic and molekular characteristics, and microbiological diagnosis. Minireview.
J. Clin. Microbiol. **39**, 2043-2049.

Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M (2005).
Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine.
Int. J. Med. Microbiol. **295**, 405-418.

Karmali MA (1989).
Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*.
Clin. Microbiol. Rev. **2**, 15-38.

Keene WE, McAnulty JM, Hoesly FC, Williams LP, Hedberg K, Oxman GL, Barrett TJ, Pfaller MA, Fleming DW (1994).
A swimming-assiciated outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella sonnei*.
N. Engl. J. Med. **331**, 164-171.

Kenny B, Lai L-C, Finlay BB, Donnenberg MS (1996).
EspA, a protein secreted by enteropathogenic *Escherichia coli*, is required to induce signals in epithelial cells.
Mol. Microbiol. **20**, 313-323.

Keskimäki M, Eklund M, Pesonen H, Heiskanen T, Siitonen (2001).
EPEC, EAEC and STEC in stool specimens: prevalence and molecular epidemiology of isolates.
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. **40**, 151-156.

Keusch GT, Jacewicz M, Acheson DWK, Donohue-Rolfe A, Kane AV, McCluer RH (1995).
Globotriaosylceramide, Gb3, is an alternative functional receptor for Shiga-like toxin 2e.
Infect.Immun. **63**, 1138-1141.

Khaitan A, Jandhyala DM, Thorpe CM, Ritchie JM, Paton AW (2007).
The operon encoding SubAB, a novel cytotoxin, is present in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from the United States.
J. Clin. Microbiol. **45**, 1374-1375.

Kokai-Kun JF, Melton-Celsa AR, O`Brien AD (2000).
Elastase in intestinal mucus enhances the cytotoxicity of Shiga toxin type 2d.
J. Biol. Chem. **275**, 3713-3721.

Konowalchuk J, Speirs JI, Staveic S (1977).
Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*.
Infect. Immun. **18**, 775-779.

Krämer J (2007).
Veröffentlichte mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln (Stand: November 2007).
http://www.lm-mibi.uni-bonn.de/DGHM.html.
(Datum des Zugriffs: 14.01.2008)

Krämer J (2008).
Mikrobiologische Richt- und Warnwerte der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie zur Beurteilung von Lebensmitteln.
Vortrag im Rahmen des Schleißheimer Forums am 9. Januar 2008.
www.lgl.bayern.de/aktuell/veranstaltungen/doc/2008/vortragsfolien_kraemer.pdf - (Datum des Zugriffs: 14.01.2008).

Krause G, Zimmermann S, Beutin L (2005).
Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin-(*eae*) gene-positive *Escherichia coli* types.
Vet. Microbiol. **106**, 87-95.

Kuczius T, Bielaszewska M, Friedrich AW, Zhang W (2004).
A rapid method for the discrimination of genes encoding classical Shiga toxin (Stx) 1 and its variants, Stx 1c and Stx 1d, in *Escherichia coli*.
Mol. Nutr. Food Res. **48**, 515-521.

Kumar HS, Karunasagar I, Karunasagar I, Teizou T, Shima K, Yamasaki S (2004).
Characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from seafood and beef.
FEMS Microbiol. Lett. **233**, 173-178.

Large TM, Walk ST, Whittam TS (2005).
Variation in acid resistance among Shiga toxin-producing clones of pathogenic *Escherichia coli.*
Appl. Environ. Microbiol. **71**, 2493-2500.

Lehmamnn S, Timm M, Steinrück H, Gallien P (2006).
Nachweis von STEC im Kot von Hochwild und in Wildfleischproben.
Fleischwirtschaft **4**, 93-96.

Leomil L, Aidar-Ugrinovich L, Guth BEC, Irino K, Vettorato MP, Onuma DL, de Castro AFP (2003).
Frequency of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates among diarrheic and non-diarrheic calves in Brazil.
Vet. Microbiol. **97**, 103-109.

Leotta GA, Deza N, Origlia J, Toma C, Chinen I, Miliwebsky E, Sunao I, Sosa-Estani S, Rivas M (2006).
Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in captive non-domestic mammals.
Vet. Microbiol. **118**, 151-157.

Leung PHM, Peiris JSM, Ng WWS, Robins-Browne RM, Bettelheim KA, Yam WC (2003).
A newly discovered verotoxin variant, VT 2g, produced by bovine verocytogenic *Escherichia coli*.
Appl. Environ. Microbiol. **69**, 7549-7553.

Lopez-Vidal Y, Svennerholm A-M (1990).
Monoclonal antibodies against the different subcomponents of colonization factor antigen II of enterotoxigenic *Escherichia coli*.
J. Clin. Microbiol. **28**, 1906-1912.

Louie M, De Azavedo JCS, Handelsman MYC, Clark CG, Ally B, Dytoc M, Shermann P, Brunton J (1993).
Expression and characterisation of the *eaeA* gene produkt of *Escherichia coli* serotype O157:H7.
Infect. Immun. **61**, 4085-4092.

Lyon E (2001).
Mutation detection using fluorescent hybridization probes and melting curve analysis.
Expert Rev. Mol. Diagn. **1**, 92-101.

MacDonald DM, Fyfe M, Paccagnella A, Trinidad A, Louie K, Patrick D (2004).
Escherichia coli O157:H7 outbreak linked to salami, British Columbia, Canada.
Epidemiol. Infect. **132**, 283-289.

Mahon BE, Griffin PM, Mead PS, Tauxe RV (1997).
Hemolytic uremic syndrome surveillance to monitor trends in infection with *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli*.
Emerg. Infect. Dis. **3**, 409-412.

Mainil GJ, Daube G (2005).
Verotoxigenic *Escherichia coli* from animals, humans and foods: who´s who?
J. Appl. Microbiol. **98**, 1332-1344.

Maki DG (2006).
Don´t eat the spinach – controlling foodborne infectious disease.
N. Engl. J. Med. **355**, 1952-1955.

Makino S, Kobori H, Asakura H, Watarai M, Shirahata T, Ikeda T, Takeshi K, Tsukamoto T (2000).
Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from seagulls.
Epidemiol. Infect. **125**, 55-61.

Mayrshofer FX (2005).
Zum Vorkommen von Shiga Toxin 1-Varianten beim Rind in Südbayern.
Vet. med. diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Mellmann A, Bielaszewska M, Borell J, Böhler O, Karch H, Friedrich AW (2004).
Prävalenz und Strukturanalyse von Shiga Toxin 1- und 2-Varianten bei enterohämorrhagischen *Escherichia coli*.
Tagungsband EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 22.-24. Juli 2004, 67.

Meng J, Doyle P (1998).
Microbiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods.
In: Karper JB, O´Brien AD (1998). *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. ASM Press, Washington D. C., ISBN 1-55581-129-9 (hardcover), 92-107.

Mercado EC, Rodriguez SM, Elizondo AM, Marcoppido G, Parreno V (2004).
Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from a South American camelid (*Lama guanicoe*) with diarrhea.
J. Clin. Microbiol. **42**, 4809-4811.

Messelhäußer U (2005).
Nachweis von Shiga Toxin-bildenden *Escherichia coli* und thermophilen *Campylobacter* Spezies bei Almkühen und in auf Almen produzierten Lebensmitteln.
Vet. med. diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Messelhäußer U (2007).
Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim.
Persönliche Mitteilung (Oktober 2007).

Messelhäußer U, Schreiner H, Schulze G, Sing A, Busch U (2007).
Nachweis von STEC/EHEC in Fleisch und Fleischerzeugnissen sowie in Umgebungsproben.
Fleischwirtschaft **11**, 115-118.

Miyamato Y, Iimura M, Kaper JB, Torres AG, Kagnoff MF (2006).
Role of Shiga toxin versus H7 flagellin in enterohemorrhagic *Escherichia coli* signalling of human colon epithelium in vivo.
Cell. Microbiol. **8**, 869-879.

Moon HW, Whipp SC, Argenzio RA, Levine MM, Giannella RA (1983).
Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines.
Infect. Immun. **41**, 1340-1351.

Mora A, Leon SL, Blanco M, Blanco JE, Lopez C, Dahbi G, Echeita A, Gonzalez EA, Blanco J (2007a).
Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru).
Int. J. Food Microbiol. **114**, 204-210.

Mora A, Blanco M, Blanco JE, Dhabi G, Lopez C, Justel P, Alonso MP, Echeita A, Bernardez MI, Gonzalez EA, Blanco J (2007b).
Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verocytotoxon)-producing *Escherichia coli* isolates from minced beef in Lugo (Spain) from 1995 through 2003.
BMC Microbiol. 7:13.

Morinaga N, Yahiro K, Matsuura G, Watanabe M, Nomura F, Moss J, Noda M (2007).
Two distinct cytotoxic activities of subtilase cytotoxin produced by Shiga-toxigenic *Escherichia coli*.
Infect. Immun. **75**, 488-496.

Mühldorfer I, Hacker J (1994).
Genetic aspects of *Escherichia coli* virulence.
Microbial Pathogenesis **16**, 171-181.

Murinda SE, Nguyen LT, Landers TL, Draughon FA, Mathew AG, Hogan JS, Smith KL, Hancock DD, Oliver SP (2004).
Comparison of *Escherichia coli* isolates from humans, food, and farm and companion animals for presence of Shiga toxin-producing *E. coli* virulence markers.
Foodborne Path. and Dis. **1**, 178-183.

Nataro JP, Kaper JB (1998).
Diarrheagenetic *Escherichia coli*.
Clin. Microbiol. Rev. **11**, 142-201.

Nitzsche S, Bielaszewska M, Karch H, Zweifel C, Stephan R (2007).
Shiga toxin $Stx2d_{activatable}$ in STEC strains isolated from cattle and sheep at slaughter.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 61.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Oberparleiter F, Busch U, Sing A (2007).
Langzeitausscheider von EHEC – Probleme und Konsequenzen.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 74.
ISBN 978-3-939652-25-0.

O´Brien AD, LaVeck GD, Thompson MR, Formal SB (1982).
Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*.
J. Infect. Dis. **146**, 763-769.

Orth D, Grif K, Dierich MP, Würzner R (2006).
Cytolethal distending toxins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: alleles, serotype distribution and biological effects.
J. Med. Microbiol. **55**, 1487-1492.

Orth D, Grif K, Khan A-B, Naim A, Dierich MP, Würzner R (2007).
The Shiga toxin genotype rather than the amount of Shiga toxin or the cytotoxicity of Shiga toxin in vitro is the determinant factor in the appearance of the haemolytic uraemic syndrome.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 22.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Osek J (2006).
Identification of the subtilase cytotoxin gene among Shigatoxigenic *Escherichia coli* isolated from different sources.
Bull. Vet. Inst. Pulawy **50**, 29-33.

Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marches O, Caprioli A (2000).
Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropthogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant.
Infect. Immun. **68**, 64-71.

Otieza JM, Chinen J, Miliwebsky E, Rivas M (2006).
Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from precooked sausages (morcillas).
Food Microbiol. **23**, 283-288.

Parreira VR, Gyles CL (2002).
Shiga toxin genes in avian *Escherichia coli*.
Vet. Microbiol. **87**, 341-352.

Paton AW, Beutin L, Paton JC (1995).
Herterogenicity of the aminoacid sequences of *Escherichia coli* Shiga-like toxin type-I operons.
Gene **153**, 71-74.

Paton JC, Paton AW (1998).
Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *E. coli* infections.
Clin. Microbiol. Rev. **11**, 450-479.

Paton AW, Srimanote P, Woodrow MC, Paton JC (2001).
Charakterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesion produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans.
Infect. Immun. **69**, 6999-7009.

Paton AW, Srimanote P, Talbot UM, Wang H, Paton JC (2004).
A new family of potent AB5 cytotoxins produced by Shiga toxigenic *Escherichia coli*.
J. Exp. Med. **200**, 35-46.

Paton AW, Paton JC (2005).
Multiplex PCR for direct detection of Shiga toxigenic *Escherichia coli* strains producing the novel subtilase cytotoxin.
J. Clin. Microbiol. **43**, 2944-2947.

Perelle S, Dilasser F, Grout J, Fach P (2007).
Screening food raw materials fort the presence of the world`s most frequent clinical cases of Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* O26, O103, O111, O145 and O157.
Int. J. Food Microbiol. **113**, 284-288.

Persson S, Olsen KEP, Ethelberg S, Scheutz F (2007).
Subtyping method for *Escherichia coli* Shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations.
J. Clin. Microbiol. **45**, 2020-2024.

Pierard D, Muyldermas G, Moriau L, Stevens D, Lauwers (1998).
Identification of new verocytotoxin type 2 variant B-subunit genes in human and animal *Escherichia coli* isolates.
J. Clin. Microbiol. **36**, 3317-3322.

Pichner R, Sander A, Steinrück H, Gareis M (2005).
Vorkommen von *Salmonella spp*. und Shigatoxin-bildenden *Escherichia coli* (STEC) in Pferdefaeces und Pferdefleischprodukten.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **118**, 321-325.

Pichner R, Hechelmann H, Steinrück H, Gareis M (2006).
STEC in konventionell und ökologisch hergestelltern Salamiprodukten.
Fleischwirtschaft **10**, 112-114.

Potter AA, Klashinsky S, Li Y, Frey E, Townsend H, Rogan D, Erickson G, Hinkley S, Klopfenstein T, Moxley RA, Smith DR, Finlay BB (2004).
Decreased shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins.
Vaccine **22**, 362-369.

Proulx F, Seideman EG, Karpman D (2001).
Pathogenesis of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome.
Pediatr. Res. **50**, 163-168.

Ramachandran V, Hornitzky MA, Bettelheim KA, Walker MJ, Djordjevic SP (2001).
The common ovine Shiga toxin 2-containing *Escherichia coli* serotypes and human isolates of the same serotypes possess a Stx 2d toxin type.
J. Clin. Microbiol. **39**, 1932-1937.

Ramachandran V, Brett K, Hornitzky MA, Dowton M, Bettelheim KA, Walker MJ, Djordevic SP (2003).
Distribution of intimin subtypes among *Escherichia coli* isolates from ruminant and human sources.
J. Clin. Microbiol. **41**, 5022-5032.

Reischl U, Youssef MT, Kilwinski J, Lehn N, Zhang WL, Karch H, Strockbine NA (2002).
Real-time fluorescence PCR assays for detection and characterization of Shiga toxin, intimin, and enterohemolysin genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli.*
J. Clin. Microbiol. **40**, 2555-2565.

Rey J, Sanchez S, Hermonso de Mendoza J, Hermonso de Mendoza M, Garcia A, Gil C, Tejero N, Rubio R, Alonso JM (2006).
Prevalence, serotypes and virulence genes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ovine and caprine milk and other diary products in Spain.
Int. J. Food Microbiol. **107**, 212-217.

Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Herbert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML (1983).
Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype.
N. Engl. J. Med. **308**, 681-685.

Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Roldan CD, Balbi L, Garcia B, Fiorilli G, Sosa-Estani S, Kincaid J, Rangel J, Griffin PM, Case-Control Study Group (2006).
Characterization and epidemiologic subtyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic uremic syndrome and diarrhea cases in Argentina.
Foodborne Path. and Dis. **3**, 88-96.

Robert Koch-Institut (2001).
Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC), Ratgeber Infektionskrankheiten.
http://www.rki.de/cln_049/nn_196658/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblätter/Rat_.
(Datum des Zugriffs: 05.09.2007)

Robert Koch-Institut (RKI) (2005).
Epidemiologisches Bulletin.**1**, 1-3.

Robert Koch-Institut (RKI) (2006).
Epidemiologisches Bulletin. **41**, 353-355.

Robert Koch-Institut (RKI) (2007).
Falldefinitionen des Robert Koch-Instituts zur Übermittlung von Erkrankungs- oder Todesfällen und Nachweisen von Krankheitserregern, Ausgabe 2007.
http://www.rki.de/nn_203792/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Falldefinition/falldefin
(Datum des Zugriffs: 14.01.2008)

Robert-Koch-Institut (RKI) (2008).
Epidemiologisches Bulletin. **2**, 11-15.

Rogers TJ, Paton JC, Wang H, Talbot UM, Paton AW (2006).
Reduced virulence of a *fil*C mutant of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O113:H21.
Infect. Immun. **74**, 1962-1966.

Sancak AA, Rutgers HC, Hart CA, Batt RM (2004).
Prevalence of enteropathic *Escherichia coli* in dogs with acute and chronic diarrhoea.
Vet. Rec. **154,** 101-106.

Savarino SJ, McVeigh A, Watson J, Cravioto A, Molina J, Echeverria P, Bhan MK, Levine MM, Fasano A (1996).
Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin is not restricted to enteroaggregative *E. coli*.
J. Infect. Dis. **173**, 1019-1022.

Schindler PRG, Elmer-Engelhard D, Huber H-C (2003).
Überwachung der Badegewässer in Südbayern unter Berücksichtigung aktueller Krankheitserreger.
Münchn. Beitr. Abw.- Fisch- u. Flussbiol. **55**, 41-60.

Schindler P (2004).
Fäkale Verunreinigungen im Trinkwasser. Wasser- Reservoir des Lebens. Aktuelle Fragen zu Wasserversorgung und -hygiene.
Seminarband FLUSS/GSF-Bericht 01, 17-26.

Schmidt HM, Montag J, Brockemühl J, Heesemann J, Karch H (1993).
Shiga-like toxin II-related cytotoxins in *Citrobacter freundii* strains from human and beef samples.
Infect. Immun. **61**, 534-543.

Schmidt H, Kernbach C, Karch H (1996).
Analysis of the EHEC hly operon and its location in the physical map of the large plasmid of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7.
Microbiology, **142**, 907-914.

Schmidt H, Scheef J, Morabito S, Caprioli A, Wieler LH, Karch H (2000).
A new Shiga toxin 2 variant (Stx 2f) from *Escherichia coli* isolated from pigeons.
Appl. Environ. Microbiol. **66**, 1205-1208.

Schmitt CK, McKee ML, O`Brien AD (1991).
Two copies of Shiga-like toxin II-related genes common in enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains are responsible for the antigenic heterogenicity of the O157:H- strain E32511.
Infect. Immun. **59**, 1065-1073.

Schüller S, Frankel G, Phillips AD (2004).
Interaction of Shiga toxin from *Escherichia coli* with human intestinal epithelial cell lines and explants: Stx 2 induces epithelial damage in organ culture.
Cell. Microbiol. **6**, 289-301.

Schüller S, Heuschkel R, Torrente F, Kaper JB, Phillips AD (2007).
Shiga toxin binding in normal and inflamed human intestinal mucosa.
Microbes Infect. **9**, 35-39.

Shere JA, Bartlett KJ, Kaspar CW (1998).
Longitudinal study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin.
Appl. Environ. Microbiol. **64**, 1390-1399.

Smith MJ, Teel LD, Carvalho HM, Melton-Celsa AR, O`Brien AD (2006).
Development of a hybrid Shiga holotoxoid vaccine to elicit heterologous protection against Shiga toxins types 1 and 2.
Vaccine **24**, 4122-4129.

Solomon EB, Yaron S, Matthews KR (2002).
Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization.
Appl. Environ. Microbiol. **68**, 397-400.

Sonntag A-K, Bielaszewska M, Mellmann A, Dierksen N, Schierack P, Wieler LH, Schmidt MA, Karch H (2005a).
Shiga toxin 2e-producing *Escherichia coli* isolates from humans and pigs differ in their virulence profiles and intreactions with intestinal epithelial cells.
Appl. Environ. Microbiol. **71**, 8855-8863.

Sonntag A-K, Zenner E, Karch H, Bielaszewska M (2005b).
Pigneons as a possible reservoir of Shiga toxin 2f-producing *Escherichia coli* pathogenic to humans.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **118**, 464-470.

Spano G, Beneduce L, Terzi V et al. (2005).
Real-time-PCR for the detection of *E. coli* O157:H7 in diary and cattle wastewater.
Lett. Appl. Microbiol. **40**, 164-171.

Spears KJ, Roe AJ, Gally DL (2006).
A comparison of enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* pathogenesis.
FEMS Microbiol. Lett. **255**, 187-202.

Stark K, Frank C, Kapfhammer S, Werber D, Held L (2007).
Rinderdichte – Ein Risikofaktor für viele, aber nicht alle Serogruppen Shigatoxin produzierender *Escherichia coli* in Deutschland.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 31.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Stephan R, Ragettli S, Untermann F (2000).
Prevalence and characteristics of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in stool samples from asymptomatic human carriers working in the meat processing industry in Switzerland.
J. Appl. Microbiol. **88**, 335-341.

Stephan R, Beutin L, Blanco J, Zweifel C (2007).
Finished pigs – an animal reservoir for O157 and non-O157 STEC.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 29.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Stewart VJ (1988).
Nitrate respiration in relation to facultative metabolism in enterobacteria.
Microbiol. Rev. **52**, 190-232.

Stock I (1999).
Infektionen durch Shigellen und enteroinvasive *Escherichia-coli*-(EIEC)Stämme.
MMP **22**, 102-113.

Strockbine NA, Marques LRM, Newland JM, Smith HW, Holmes RK, O´Brien AD (1986).
Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities.
Infect. Immun. **53**, 135-140.

Tarr PI, Gordon CA, Wayne CL (2005).
Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome.
Lancet **365**, 1073-1086.

Taylor CM, Monnens LAH (1998).
Advances in haemolytic uraemic syndrome.
Arch. Dis. Child. **78**, 190-193.

Te Loo DMWM, Monnens LAH, van der Velden TJAM, Vermeer MA, Preyers F, Demacker PNM, van den Heuvel LPWJ, van Hinsbergh VWM (2000).
Binding and transfer of verocytotoxin by polymorphonuclear leukocytes in hemolytic uremic syndrome.
Blood **95**, 3396-3402.

Te Loo DMWM, van Hinsbergh VWM, van den Heuvel LPWJ, Monnens LAH (2001).
Detection of verocytotoxin bound to circulating polymorphonuclear leukocytes of patients with hemolytic uremic syndrome.
J. Am. Soc. Nephrol. **12**, 800-806.

Thamm B (2000).
Untersuchungen zur Prävalenz und pathogenen Bedeutung enterohämorrhagischer, enteroaggregativer und enteroinvasiver *Escherichia coli* beim Hund.
Vet. med. diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.

Tkalcic S, Zhao T, Harmon BG, Doyle MP, Brown CA, Thao P (2003).
Fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in weaned calves following treatment with probiotic *Escherichia coli.*
J. Food Prot. **66**, 1184-1189.

Tristao LCS, Gonzalez AGM, Coutinho CAS, Cerqueira AMF, Gomes MJP, Irino K, Guth BEC, Andrade JRC (2007).
Virulence markers and genetic relationships of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from serogroup O111 isolated from cattle.
Vet. Microbiol. **119**, 358-365.

Vareille M, de Sablet T, Hindre T, Martin C, Gobert A (2007).
Nitric oxide inhibits Shiga-toxin synthesis by enterohemorrhagic *Escherichia coli*.
PNAS **104**, 10199-10204.

Varela-Hernandez JJ, Cabrera-Diaz E, Cardona-Lopez MA, Ibarra-Velazquez LM, Rangel-Villalobos H, Castillo A, Torres-Vitela MR, Ramirez-Alvarez A (2007).
Isolation and characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico.
Int. J. Food Microbiol. **113**, 237-241.

Vernozy-Rozard C, Montet MP, Lequerrec F, Serillon E, Tilly B, Bavai C, Ray-Gueniot S, Bouvet I, Mazuy-Cruchaudet C, Richard Y (2002).
Prevalence of vertoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in slurry, farmyard manure and sewage sludge in France.
J. Appl. Microbiol. **93**, 473-478.

Wahlström H, Tysen E, Olsson Engvall E, Brändström B, Eriksson E, Mörner T, Vagsholm I (2003).
Survey of *Campylobacter* species, VTEC O157 and *Salmonella* species in Swedish wildlife.
Vet. Rec. **153**, 74-80.

Wang G, Doyle MP (1998).
Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in water.
J. Food Prot. **61**, 662-667.

Wani SA, Samantra I, Munshi ZH, Bhat MA, Nishikawa Y (2006).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *Escherichia coli* in healthy goats in India: occurrence and virulence properties.
J. Appl. Microbiol. **100**, 108-113.

Warburton DW, Austin JW, Harrison BH, Sanders G (1998).
Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated bottled water.
J. Food Prot. **61**, 948-952.

Weinstein DL, Jackson MP, Samuel JE, Holmes RK, O´Brien AD (1988).
Cloning and sequencing of Shiga-like toxin type II variant from an *Escherichia coli* strain responsible for edema disease of swine.
J. Bacteriol. **170**, 4223-4230.

Welinder-Olsson C, Stenqvist K, Badenfors M, Brandberg A, Floren K, Holm M, Holmberg L, Kjellin E, Marild S, Studahl A, Kaijser B (2004).
EHEC outbreak among staff at a children´s hospital – use of PCR for verocytotoxin detection and PFGE for epidemiological investigation.
Epidemiol. Infect. **132**, 43-49.

Werber D, Behnke SC, Fruth A, Merle R, Menzler S, Glaser S, Krelenbrock L, Prager R, Tschäpe H, Roggentin P, Bockmühl J, Ammon A (2006).
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Germany – different risk factors for different age groups.
Am. J. Epidemiol. **165**, 425-434.

Werber D, Mason BW, Evans MR, Salmon RL (2007).
Kohortenstudie zu sekundären Haushaltsübertragungen Shigatoxin produzierender *Escherichia coli* der Serogruppe O157 – eine Möglichkeit zur Intervention?
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 15.
ISBN 978-3-939652-25-0.

WHO (2000).
E. coli O157 in Canada. Disease outbreak reported.
http:// www.who.int/entity/csr/don/2000_05_30/en/
(Datum des Zugriffs: 16.07.2007)

Wieler LH, Sobjinski G, Schlapp T, Failing K, Weiss R, Menge C, Baljer G (2007).
Longitudinal prevalence study of diarrheagenic *Escherichia coli* in dairy calves.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **120**, 296-306.

Younts-Dahl SM, Osborn GD, Galyean ML, Rivera JD, Loneragan GH, Brashears MM (2005).
Reduction of *Escherichia coli* O157 in finishing beef cattle by various doses of *Lactobacillus acidophilus* in direct-fed microbials.
J. Food. Prot. **68**, 6-10.

Zamboni A, Fabbricotti SH, Fagundes-Neto U, Scaletsky ICA (2004).
Enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors are found to be associated with infantile diarrhea in Brazil.
J. Clin. Microbiol. **42**, 1058-1063.

Zhang W, Bielaszewka M, Kuczius T, Karch H. (2002a).
Identification, characterization and distribution of a Shiga toxin 1 gene variant (stx1c) in *Escherichia coli* strains isolated from humans.
J. Clin. Microbiol. **40**, 1441-1446.

Zhang WL, Kohler B, Oswald E, Beutin L, Karch H, Morabito S, Caprioli A, Suerbaum S, Schmidt H (2002b).
Genetic diversity of intimin genes of attaching and effacing *Escherichia coli* strains.
J. Clin. Microbiol. **40**, 4486-4492.

Zhao T, Doyle MP, Harmon BG, Brown CA, Mueller POE, Parks AH (1998).
Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria.
J. Clin. Microbiol. **36**, 641-647.

Zhao T, Tkalcic S, Doyle MP, Harmon BG, Brown CA, Zhao P (2003).
Pathogenicity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in neonatal calves and evaluation of fecal shedding by treatment with probiotic *Escherichia coli*.
J. Food Prot. **66**, 924-930.

Zimmerhackl LB, Verweyen H, Gerber A, Karch H, Brandis M (2002).
Das hämolytisch-urämische Syndrom.
Dtsch. Arztebl. **99** A, 196-203.

Zimmerhackl LB (2007).
Epidemiologie des EHEC assoziierten HUS.
Tagungsband II. EHEC-Workshop, Wildbad Kreuth, 9.-11. Mai 2007, 20.
ISBN 978-3-939652-25-0.

Zweifel C, Schumacher S, Blanco M, Blanco JE, Tasara T, Blanco J, Stephan R. (2005).
Phenotypic and genotypic characteristics of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from Swiss cattle.
Vet. Microbiol. **105** , 37-45.

Zweifel C, Schumacher S, Beutin L, Blanco J, Stephan R (2006).
Virulence profiles of Shiga toxin 2e-producing *Escherichia coli* isolated from healthy pig at slaughter.
Vet. Microbiol. **117**, 328-332.

Gesetze und Verordnungen

Europäische Union

Richtlinie **2006/7/EG** des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Februar 2006 über die Qualität der Badegewässer und deren Bewirtschaftung und zur Aufhebung der Richtlinie 76/160/EWG (2006/7/EG) (ABl. EG Nr. L 64 S. 37).

Verordnung (EG) Nr. **852/2004** des Europäischen Parlaments und des Rates vom vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene (ABl. EG Nr. L 139 S.1, gesamte Vorschrift ber. ABl. EG Nr. L 226 S. 3).

Verordnung (EG) Nr. **854/2004** des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs (ABl. EG Nr. L 139 S. 206, gesamte Vorschrift ber. ABl. EG Nr. L 226 S. 83).

Verordnung (EG) Nr. **178/2002** des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit (ABl. EG Nr. L 31 S.1).

Verordnung (EG) Nr. **2073/2005** der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittelrecht (ABl. EG Nr. L 338 S.1).

Bundesrepublik Deutschland

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (**Infektionsschutzgesetz – IfSG**) in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), geändert durch: Art. 6 Abs. 2 G vom 20. Juli 2007 (BGBl. I S. 1593).

Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (**Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch – LFGB**) in der Fassung der Bekanntmachung vom vom 01. September 2005 (BGBl. I S. 2618, ber. S. 3007), Neubekanntmachung vom 26. April 2006 (BGBl. I S. 945)

Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (**Trinkwasserverordnung – TrinkwV 2001**) in der Fassung der Bekanntmachung vom 21. Mai 2001 (BGBl. I S. 959), geändert durch: Art. 363 VO vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407, 2456).

Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3516).

Veröffentlichungen

Busch U, Schreiber C, Garcia Diez M, Huber I, Hörmansdorfer S, Sing A (2007). Molecular subdifferentiation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolates from Bavaria, 2006.
59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM), 30. September - 4. Oktober 2007, Göttingen.
Int. J. Med. Microbiol. 297S1, 52.

Schreiber C, Wolf S, Meindl K, Schalch B, Sing A, Busch U (2007). Untersuchung von humanen Stuhlproben und Umgebungsproben auf EHEC im Jahr 2006 in Bayern.
2. EHEC-Workshop der Akademien für Gesundheit, Ernährung und Verbraucherschutz in Zusammenarbeit mit den Fachgruppen “Gastrointestinale Infektionen” und “Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene” der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie und “Bakteriologie und Mykologie” der Deutschen Verinärmedizinischen Gesellschaft, 9.-11. Mai 2007, Wildbad Kreuth, Proceed. 55, ISBN 978-3-939652-25-0

Schreiber C, Wolf S, Meindl K, Schalch B, Sing A, Busch U (2007). Amtliche Lebensmittelüberwachung: Untersuchung von Lebensmittel-, Kot-, Stuhl, und Trinkwasserproben aus STEC in Bayern im Jahr 2006.
48. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG), 25.-28. September 2007, Garmisch-Partenkirchen.
Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, Sonderausgabe 25.-28.9.2007, 181, ISSN 0945-3296.

Busch U, Schreiber C, Schuhegger R, Messelhäußer U, Sing A (2008). Molecular characterization and typing of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) isolated from food, feces and stool.
Jahrestagung der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM) und der Gesellschaft für Biochemie und Molekularbiologie (GBM), 9.-11. März 2008, Frankfurt/M.
BIOspektrum, Sonderausgabe 2008 (Tagungsband), 45.

Schreiber C, Garcia Diez M, Schalch B, Sing A, Busch U (2008). Molecular characterization of STEC/EHEC-isolates of human, animal, food, and water origin.
PEN International Conference “*E.coli*: Pathogenicity, Virulence and Emerging Pathogenic Strains”, Instituto Superiore di Sanita, Rome, Italy, 6-7 March 2008, 50.

Schreiber C, Garcia Diez M, Messelhäußer U, Schalch B, Sing A, Busch U (2008). Geno- and phenotypic characterization of Shigatoxin-producing and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (STEC/EHEC) from human, animal, food, and water in Bavaria over a 5-year time period.
In preparation.

DANKSAGUNG

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Stolle als Lehrstuhlinhaber für die Betreuung, sowie Frau PD Dr. Barbara Schalch und Herrn Dr. Ulrich Busch für die Überlassung dieses Themas, die stets freundliche und engagierte Betreuung bei der Anfertigung der Arbeit sowie für wertvolle Korrekturen.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Sachgebiets 7.3 am LGL Oberschleißheim, vor allem Frau Wolf, Frau Meindl und Frau Fräßdorf für eine freundliche, geduldige Einarbeitung in den praktischen Teil dieser Arbeit sowie für ihre stete Hilfsbereitschaft. Des Weiteren Frau Dr. Messelhäußer und Herrn Dr. Schindler für die bereitwillige Beantwortung jeglicher Fragen ihres Fachgebiets, sowie Frau Michahelles für ihre Hilfsbereitschaft.
Bedanken möchte ich mich auch bei Marta Garcia Diez, die mich bereitwilig und immer freundlich als Promotionskollegin aufgenommen hat.

Bei Herrn Prof. Dr. Küchenhoff und Frau Güthlin vom Statistischen Beratungslabor der LMU bedanke ich mich für beratende Gespräche und wertvolle Tipps zur Erstellung von Diagrammen.

Bei Frau Dr. Ute Messelhäußer, Frau Veronika Schlecht und Frau Esther Gruber für bereitwilliges Korrekturlesen, und nicht zuletzt danke ich besonders herzlich meinen Eltern für die Förderung und Ermöglichung meiner Ausbildung.

LEBENSLAUF

Persönliche Daten:

Name:	Carolin Susanne Schreiber
Geburtsdatum:	13. November 1981
Geburtsort:	München
Eltern:	Helmut Schreiber, Beamter, und Edeltraud Schreiber, geb. Lindner, Kinderkrankenschwester
Familienstand:	ledig

Schulbildung:

Sept. 1988 - Juli 1992	Paul-Gerhardt-Volksschule Freising
Sept. 1992 - Juni 2001	Camerloher-Gymnasium Freising

Hochschulstudium:

Okt. 2001 - Jan. 2007	Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der LMU, München Abschluss: Staatsexamen
Feb. 2007	Approbation als Tierärztin
ab März 2007	Promotion am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim