

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Innere Medizin
I. Medizinische Klinik und Poliklinik
des Universitätsklinikums Hamburg - Eppendorf

Direktor
Prof. Dr. med. A.W. Lohse

Über den Effekt repetitiver Darmspülung mit Polyethylenglycol- Lösung bei EHEC- assoziierter Enterokolitis zur Vermeidung des hämolytisch- urämischen Syndroms während des EHEC O104:H4- Ausbruchs in Hamburg 2011

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Christoph Schlee
aus Bad Hersfeld

Hamburg 2015

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 17.06.2016**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Stefan Lüth

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Peter Layer

Inhaltsverzeichnis

I. Inhaltverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Escherichia coli	1
1.2. Enterovirulente Escherichia coli	3
1.2.1 Enteropathogene Escherichia coli (EPEC)	3
1.2.2 Enterotoxische Escherichia coli (ETEC)	3
1.2.3 Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)	3
1.2.4 Diffus adhärente Escherichia coli (DAEC)	4
1.2.5 Enteroaggregative Escherichia coli (EAggEC)	4
1.3 Enterohämorrhagische Escherichia coli (EHEC)	5
1.3.1 Shiga-Toxin	5
1.3.2 Virulenzfaktoren	6
1.3.3 Seropathotypen	6
1.3.4 Epidemiologie	7
1.4 EHEC assoziierte Krankheitsbilder	8
1.4.1 Das hämolytisch-urämische Syndrom	8
1.4.2 Therapie eines EHEC assoziierten HUS	9
1.5 Der EHEC Ausbruch in Hamburg	11
1.5.1 Der Ausbruchstamm O104:H4	12
2. Material und Methoden	13
2.1 Patientenkollektiv	13
2.2 Einschlusskriterien in die Studie	13
2.3 Definition von Endpunkten	15
2.4 Stationäre Behandlung	15
2.4.1 Flüssigkeitstherapie	16
2.4.2 Spasmolytika	16
2.4.3 Analgesie	16
2.4.4 Antiemetika	17
2.4.5 Polyethylenglycol-Lösung (PEG-Lösung)	17
2.5 Datenerhebung	18
2.6 Komorbiditäten	19
2.7 EHEC Nachweis	19

2.8	Entlassungskriterien	19
2.9	Statistische Auswertung	20
2.10	Anhang Material und Methoden	21
	Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der	
2.10.1	Interventionsgruppe bezüglich demographischer Daten und klinischer Charakteristika	21
	Tabelle 4: Tabellarische Darstellung der	
2.10.2	Kontrollgruppe bezüglich demographischer Daten und klinischer Charakteristika	22
	Tabelle 5: Tabellarische Darstellung der	
2.10.3	Interventionsgruppe bezüglich Laborparameter bei stationärer Aufnahme	23
	Tabelle 6: Tabellarische Darstellung der	
2.10.4	Kontrollgruppe bezüglich Laborparameter bei stationärer Aufnahme	24
	Tabelle 7: Tabellarische Darstellung der stationären	
2.10.5	Therapie und des stationären Verlaufs in der Interventionsgruppe	25
	Tabelle 8: Tabellarische Darstellung der stationären	
2.10.6	Therapie und des stationären Verlaufs in der Kontrollgruppe	26
	Tabelle 9: Tabellarische Darstellung der	
2.10.7	verabreichten Bedarfsmedikation in der Interventionsgruppe	27
	Tabelle 10: Tabellarische Darstellung der	
2.10.8	verabreichten Bedarfsmedikation in der Kontrollgruppe	28
3.	Ergebnisse	29
3.1	Studienpopulation	29
3.2	Fallbericht Patient 13	31
3.3	Demographische Charakteristika	33
3.4	Klinische Charakteristika	34
3.5	Laborchemische Parameter bei stationärer Aufnahme	35
3.6	Komorbiditäten	36

3.7	Stationärer Verlauf	36
3.8	Bedarfsmedikation	38
3.8.1	Analgetika	38
3.8.2	Antiemetika	39
3.8.3	Spasmolytika	40
3.9	stationäre Entlassung	40
4.	Diskussion	42
5.	Zusammenfassung	55
II.	Abkürzungsverzeichnis	56
III.	Literaturverzeichnis	58
IV.	Danksagung	80
V.	Lebenslauf	81
VI.	Eidesstattliche Erklärung	82

Teile dieser Dissertation wurden bereits in einem Research Letter im Jahr 2014 veröffentlicht

Journal of American Medical Association (JAMA) Internal Medicine

Prevention of hemolytic uremic syndrome with daily bowel lavage in patients with Shiga toxin-producing enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 infection.

Stefan Lüth, MD¹; Thorben W. Fründt, MD¹; Thomas Rösch, MD²;
Christoph Schlee, MS¹; Ansgar W. Lohse, MD¹

¹Department of Medicine I, University Hospital Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

²Department of Interdisciplinary Endoscopy, University Hospital Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

JAMA Intern Med. 2014;174(6):1003-1005. doi:10.1001/jamainternmed.2014.1175

1. Einleitung

1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) wird zur Gruppe der Enterobacteriaceae gezählt und ist ein sporenloses, anaerobes, gram-negatives, Oxidase negatives, Katalase positives Bakterium. Zur Fortbewegung besitzt es eine peritriche Begeißelung. Die Spezies *E. coli* setzt sich aus apathogenen, fakultativ pathogenen und obligat pathogenen Stämmen zusammen. Während der Großteil der Stämme symbiotisch als Teil der Mikrobiota im Intestinaltrakt von Menschen und Tieren lebt, verursachen einige pathogene Stämme ein breites Spektrum an Krankheiten. Diese umfassen selbst limitierenden bis hin zu lebensbedrohlichen, intestinalen sowie extraintestinalen Erkrankungen (Kaper et al. 2004).

Fakultativ und obligat pathogene *E. coli* Stämme unterscheiden sich durch Virulenzfaktoren von den apathogenen Stämmen. Voraussetzung für die Identifizierung der verschiedenen *E. coli* Stämme ist die Serotypisierung. Der dänische Bakteriologe Fritz Kaufmann beschrieb 1944 als Erster das heute gebräuchliche Schema zur serologischen Klassifikation von *Escherichia coli*. Nach dem modifizierten Kaufmann- White- Schema werden die Bakterien nach ihren Oberflächen (O)-, Kapsel (K)-, Geißel (H)- Fimbrien (F) Antigenen bezeichnet (Knipschildt 1950). Mit diesen Oberflächenantigenen, insbesondere der O- und H-Antigene, wurde eine Subklassifizierung erstellt. Heutzutage stehen die O- und H-Antigene im Vordergrund, da diese eine derartige biologische Vielfalt besitzen, dass durch sie eine ausreichende Klassifikation erreicht wird. Die individuelle Kombination von O- und H-Antigen definiert so den jeweiligen Serotyp eines jeden pathogenen *E. coli* Stammes.

Als Virulenzfaktoren besitzen die meisten pathogenen *E. coli* Stämme, aber auch apathogene Stämme, auf ihrer Zelloberfläche kleine fadenförmige Fortsätze, die als Fimbrien bezeichnet werden. Für die pathogenen *E. coli* spielen Fimbrien eine wichtige Rolle bei der Adhäsion an Epithelzellen des Darms und des Urogenitaltraktes (Johnson 1991).

Zu den häufigsten Krankheitsbildern, die durch pathogene *E. coli* verursacht werden, zählen Durchfallerkrankungen, Harnwegsinfektionen sowie Meningitiden. Innerhalb der enterovirulenten *E. coli* Stämme unterscheidet man sechs gut beschriebene Gruppen: enterpathogene *E. coli* (EPEC), enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC),

enterotoxische *E. coli* (ETEC), enteroaggregative *E. coli* (EAggEC/EAEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) und diffus-adhärenzte *E. coli* (DAEC) (Kaper et al. 2004). Die häufigsten Serovare der jeweiligen Gruppen sowie die korrespondierenden Krankheitsbilder sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Charakteristika pathogener *E. coli*

	häufige Serogruppe	Erkrankung	Virulenzfaktoren	Reservoir/Ursprung
ETEC	O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O85, O115, O128ac, O148, O159, O167 (1)	kindliche Diarrhoen Reisediarrohen in Entwicklungsländer Diarrhoen in sehr jungen Tieren (1, 2)	LT, ST (3, 4). adhäsive Fimbrien (5)	Mensch Schweine Wiederkäuer (1,2)
EPEC	O55, O86, O111ab, O119, O125ac, O126, O127, O128ab, O142 (1)	kindliche Diarrhoen in Entwicklungsländern (1, 6)	A/E Läsionen (1,6)	Mensch (1,6)
EAEC	O3, O15, O44, O77, O86, O92, O111, O127 (1)	persistierende Diarrhoen in Kindern und Erwachsenen weltweit (7,8,9)	AA (10,11,12)	Ausbrüche werden mit Nahrungsmitteln assoziiert (1,2)
EIEC	O28ac, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167 (1)	Diarrhoen, Ruhr (1,2)	Invasion und Multiplikation von Enterozyten (13,14).	Ausbrüche werden mit Wasser- und Nahrungsmittelverunreinigungen assoziiert (15).
DAEC	O1, O2, O21, and O75 (1)	Diarrhoen (1,16)	Diffuse Adhärenz (17)	Mensch (2)
EHEC	O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28, O157: H-, O157:H7 (18)	hämorrhagische Kolitis HUS (18)	Shiga Toxin A/E Läsionen Plasmide (2)	Wiederkäuer (19)

(1) Doyle et al. 2001) (2) Nataro und Kaper 1998 (3) Sack et al. 1971 (4) Smith und Gyles 1970 (5) Cassels und Wolf 1995 (6) Levine 1984 (7) Dutta S et al. 1999, (8) Piva et al. 2003, (9) Sarantuya et al. 2004 (10) Nataro et al. 1992 (11) Nataro et al. 1987 (12) Scaletsky et al. 1984 (13) Parsot 2005, (14) Robins-Browne und Hartland 2002 (15) Tulloch et al. 1973 (16) Levine et al. 1993 (17) Dulguer et al. 2003 (18) Mora et al. 2007 (19) Blanco et al. 2004

Eine wichtige Eigenschaft Durchfall verursachender *E. coli* Stämme ist ihre Fähigkeit, die Darmoberfläche trotz Peristaltik, mucosaler Abwehrmechanismen und Rivalität um Nährstoffe mit der ansässigen Darmflora zu besiedeln. Zusätzlich nutzen die Stämme Fimbrien auf ihrer Zelloberfläche zum effizienteren Adhäreren an der normalerweise unbesiedelten Dünndarmmukosa (Levine et al. 1984). Für das weitere Interaktionsmuster sind drei verschiedene Strategien bekannt, die sich je nach Stamm in ihrem Muster unterscheiden: Produktion von Enterotoxin (ETEC und EAggEC), Invasion der Darmschleimhaut (EIEC) sowie Anheftung an Enterozyten und Ausbilden eines Bakterienfilms (EPEC und EHEC) (Kaper et al. 2004).

1.2. Enterovirulente Escherichia coli

1.2.1 Enteropathogene Escherichia coli (EPEC)

Während heutzutage Infektionen mit EPEC in entwickelten Industrieländern selten geworden sind, spielen diese in Entwicklungsländern weiterhin eine große Rolle bei Durchfallerkrankungen von Neugeborenen und Säuglingen (Abba et al. 2009). Bei EPEC assoziierten Diarrhöen besteht auf Grund der hohen Flüssigkeitsverluste eine Mortalitätsrate von bis zu 30% (Senerwa et al. 1989). EPEC bilden charakteristische „attaching and effacing (A/E) Lesions“ auf Darmepithelzellen in Menschen und Tieren (Wiederkäuern) (Mundy et al. 2005). EPEC tragen eine chromosomale Pathogenitätsinsel, genannt „Locus of Enterocyte Effacement (LEE)“, die Gene des Adhärenzproteins Intimin (kodiert durch das Gen *eae*) und des Typ-III-Sekretionssystems kodiert (Dean et al. 2005). Nach der Adhärenz des Bakteriums an das Darmepithel wird das Typ-III-Sekretionssystem aktiviert, welches die Erreger befähigt Effektorproteine in die Epithelzellen zu schleusen (Ochoa und Contreras 2011).

1.2.2 Enterotoxische Escherichia coli (ETEC)

ETEC gelten als Verursacher von Reisediarrhöen sowie Diarrhöen bei Kindern in Entwicklungsländern (Hill und Beeching 2010, Qadri et al 2005). Der Mensch gilt als Hauptreservoir für pathogene ETEC-Bakterien (Doyle et al, 2001). ETEC kolonisieren die Dünndarmmukosa mit adhäsiven Fimbrien und sind in der Lage, zwei verschiedene Gruppen von Enterotoxinen auszubilden: hitzestabiles (ST- heat stabile toxine) und hitzelabiles Toxin (LT- heat labile toxine) (Sack et al. 1971, Smith und Gyles 1970). Diese vermitteln eine Aktivierung der in den Enterozyten lokalisierten Adenylatzyklase und Patienten entwickeln eine sekretorische Diarrhöe mit konsekutiv hohem Wasser – und Elektrolytverlust.

1.2.3 Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)

Die Infektion mit EIEC ähnelt der Pathogenese und dem klinischen Bild einer Shigellose (Parsot 2005). Krankheitsausbrüche sind überwiegend auf Nahrungsmittel- und Wasserverunreinigungen zurückzuführen (Nataro und Kaper 1998, Tulloch et al. 1973). EIEC heften sich vorzugsweise an die Dickdarmmukosa und werden durch Endozytose in die Zellen aufgenommen. Der Erreger vermehrt

sich intrazellulär, befällt anschließend benachbarte Zellen und verursacht Entzündung, Darmulzerationen und Nekrosen, die blutig-schleimigen Stuhl zur Folge haben (Robins-Browne und Hartland 2002).

1.2.4 Diffus adhärente Escherichia coli (DAEC)

DAEC verursachen Diarrhoen in Kindern im Alter von ein bis fünf Jahre, wobei nur wenig über den Pathomechanismus der DAEC induzierten Diarrhoe bekannt ist (Doyle et al. 2001, Levine et al. 1993). DAEC- Bakterien produzieren keine Toxine und besitzen ebenfalls kein Adhärenzplasmid wie EPEC, außerdem dringen die Bakterien nicht invasiv in Epithelzellen ein (Dulguer et al. 2003). Die Bakterien zeigen in vitro ein typisches diffuses adhärentes Muster auf kultivierten Zellen, welches sich aber von EAEC gebildeten Adhärenzmuster unterscheiden lässt (Doyle et al. 2001, Dulguer et al. 2003).

1.2.5 Enteroaggregative Escherichia coli (EAggEC)

EAggEC gelten nach ETEC als zweithäufigster Erreger von Reisediarrhoen (Shah et al. 2009). Auffällig ist hierbei die lange Persistenz (>14 Tage) der Durchfälle bei Säuglingen und Kleinkindern (Dutta et al. 1999, Piva et al. 2003, Sarantuya et al. 2004). Ebenfalls sind in der Literatur Ausbrüche von EAggEC Infektionen in Ländern mit hohen Hygienestandards beschrieben, die hier auch Erwachsene betreffen können (Itoh et al. 1997).

Eine EAggEC Infektion imponiert vor allem durch wässrige Durchfälle mit oder ohne Blut- und Schleimbeimengungen, abdominale Schmerzen, Übelkeit, Erbrechen und leichtes Fieber (Adachi et al. 2002). Zusätzlich spielen EAggEC eine wichtige Rolle als Durchfallerreger bei AIDS Patienten (Wanke et al. 1998). Krankheitsausbrüche sind möglicherweise mit kontaminierten Nahrungsmitteln assoziiert, allerdings konnte noch keine alleinige Infektionsquelle ausgemacht werden (Doyle et al. 2001). Die Bakterien zeichnen sich durch ihre hohe Adhärenz an HEp-2 Zellen in der Zellkultur aus, genannt aggregative Adherence (AA), die als Backstein ähnliche Konfiguration beschrieben wird (Nataro et al. 1992, Nataro et al. 1987, Scaletsky et al. 1984, Harrington et al. 2006). Einige EAEC Stämme sind neben ihrer ausgeprägten Adhärenz in der Lage, zusätzlich bestimmte Enterotoxine wie EAST1 und ShET1 zu bilden (Harrington et al. 2006). Diese Toxine verursachen über die Interaktion mit der

membranständigen Guanylatzyklase der Enterozyten u.a. einen Wasser- und Elektrolytverlust der Zellen.

1.3 Enterohämorrhagische Escherichia coli (EHEC)

EHEC gelten als pathogenetische Untergruppe der STEC, werden mit Darminfektionen weltweit in Verbindung gebracht und gelten als ernstzunehmendes Gesundheitsproblem. STEC, die in der Lage sind, eine hämorrhagische Kolitis (HC) oder ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) zu verursachen, werden als EHEC bezeichnet. Eine EHEC Infektion geht mit abdominellen Schmerzen und Krämpfen oftmals ohne Fieber, sowie blutigen Diarrhöen und der lebensbedrohlichen Komplikation eines hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS) einher (Griffin und Tauxe 1991, Karmali et al. 1983, Karmali 1989, Tarr et al. 2005). 1977 gelang Konowalchuk et al. die Isolation von E. coli aus verschiedenen Probenmaterialien, die ein bis zu diesem Zeitpunkt unbekanntes Zytotoxin produzierten (Konowalchuk et al. 1977). Riley et al. beschrieben 1983 mehrere schwere gastrointestinale Infektionen, die mit hämorrhagischen Diarrhöen und Kolitiden einhergingen (Riley et al. 1983). Aus Stuhlproben der betroffenen Patienten konnte der E. coli Serotyp O157:H7 isoliert werden. Kurze Zeit später gelang es Karmali et al. für diesen Serotyp die Produktion eines Zytotoxins nachzuweisen, das mit der Ausbildung eines hämolytisch-urämischen Syndrom in Verbindung gebracht wurde (Karmali et al. 1983). Weitere Untersuchungen des Toxins zeigten eine strukturelle und antigene Ähnlichkeit mit dem Shiga-Toxin (Stx) des Shigella dysenteriae Typ I, weshalb das Toxin auch als Shiga-like-Toxin bezeichnet wird (O'Brien und LaVeck 1983).

1.3.1 Shiga-Toxin (Stx)

Aufgrund seiner potenten Zytotoxizität ist das Stx für schwere Krankheitsverläufe verantwortlich und gilt als Hauptvirulenzfaktor von STEC. Jedes Stx besteht aus einer enzymatisch aktiven Untereinheiten A 32 Kilodalton (kDa) und fünf B-Untereinheiten à 7,7 kDa (O'Brien et al. 1992, Paton J. und Paton A. 1998). Die pentamere B-Untereinheit des Stx bindet hochspezifisch an einen Glykolipidrezeptor, Globotriaosylceramid-Rezeptor (Gb3), wodurch es zur Clathrin-vermittelten Endozytose kommt (O'Loughlin und Robins-Browne 2001, Sandvig und van Deurs 1996,). Die A-Untereinheit wird proteolytisch durch das Enzym Furin in mehrere Untereinheiten gespalten. Das A1-Fragment der Untereinheit fungiert als N-

Glykosidase und spaltet an der zellulären ribosomalen Ribonukleinsäure (rRNA) einen Adeninrest ab (Endo et al. 1988, Schüller et al. 2004). Diese Änderung der 28S rRNA verhindert die Bindung von Elongationsfaktoren an die Ribosomen, unterbindet die Proteinsynthese und führt somit zur frühzeitigen Apoptose (Obrig 1997, Sandvig 2001). Im Menschen kolonisiert EHEC den Dickdarm (Phillips et al. 2000). Von EHEC gebildetes Stx bindet an Endothelzellen die Gb3 exprimieren und erlaubt dadurch die Absorption in die Blutbahn und die Verbreitung des Toxins in andere Organe (Sandvig 2001).

1.3.2 Virulenzfaktoren

Im weiteren Interaktionsmuster ähnelt EHEC dem oben beschriebenen EPEC, indem es über das Adhäsionsprotein Intimin an die Darmepithelzellen bindet und anschließend Effektorproteine über das Typ-III-Sekretionssystem in die Zielzellen schleust (Deng et al. 2004). Zusätzlich hierzu bilden EHEC-Bakterien A/E- Läsionen auf Enterozyten, die eine Kolonisierung des Darms erlauben (Francis et al. 1986). A/E Läsionen verursachen ultrastrukturelle Veränderungen einschließlich des Verlustes der enterozytären Mikrovilli und erlauben die enge Bindung des Bakteriums an die Darmepitheloberfläche (Nataro und Kaper, 1998). Diese Virulenzfaktoren sind auf der chromosomal kodierten Pathogenitätsinsel „LEE“ lokalisiert, die zwischen Bakterien mittels Phagen ausgetauscht bzw. weitergegeben werden kann (McDaniel et al. 1995).

Neben Stx als bedeutendsten Virulenzfaktor besitzen EHEC weitere Pathogenitätsfaktoren. Einer dieser Pathogenitätsfaktoren ist das cytolethal distending toxin (CDT). Es zählt zu den Zyklomodulinen, wird von der Wirtszelle aufgenommen und unterbricht dann den Proliferationszyklus der Zelle, was die Zell-Apoptose zur Folge hat (Bielaszewska et al. 2005, Oswald et al. 2005). Zusätzlich findet sich in vielen EHEC-Stämmen ein Plasmid, welches für weitere Pathogenitätsfaktoren wie z.B. das EHEC-Hämolyisin (EHEC-Hly) und die Serinprotease EspP, kodiert (Schmidt et al. 1994, Brunder et al. 1997).

1.3.3 Seropathotypen

Karmali et al. unterteilten 2003 die für den Menschen pathogenen EHEC Stämme anhand des modifizierten Kaufmann-White-Schemas nach der Häufigkeit ihres Auftretens in fünf Gruppen (A- E) (Karmali et al. 2003). Der Serotyp O157:H7 wurde

aufgrund seines häufigen Nachweises und vermehrtem Einhergehen mit einem HUS und der HC der Gruppe A zugeordnet. Das Schema nach Karmali mit den häufigsten Serotypen ist in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: pathogene EHEC Stämme

Sero-pathotyp	Serotyp	Häufigkeit einer Krankheitsassoziation	Beteiligung an Ausbrüchen	Verbindung mit HUS und HC
A	O157:H7, O157:NM	Hoch	Häufig	Ja
B	O26:H11, O103:H2, O111:NM, O121:H19, O145:NM	Mäßig	Nicht häufig	Ja
C	O5:NM, O91:H21, O104:H21, O113:H21, O121:NM, O165:H25 und weitere	Niedrig	Selten	Ja
D	O7:H4, O69:H11, O103:H25, O117:H7, O132:NM, O146:H21, O171:NM, O174:H8 und weitere	Niedrig	selten	Nein
E	O6:H3, O8:H19, O39:H49, O46:H38, O76:H7, O84:NM, O88:H25, O98:H25, O113:NM, O136:NM, O143:H31, O156:NM, O163:NM und weitere	Kein Zusammenhang	Kein Zusammenhang	nein

EHEC Infektionen werden nicht aufgrund der Infektionshäufigkeit sondern des Schweregrades der Erkrankung gefürchtet. Neben O157- Stämmen werden mittlerweile immer häufiger non- O157 Serotypen mit weitreichenden Ausbrüchen von Lebensmittelverunreinigungen und HUS in Verbindung gebracht. Hierzu zählen insbesondere die Serogruppen O26:H11, O103:H2, O111:H- und O145:H- (Nataro und Kaper 1998).

1.3.4 Epidemiologie

Wiederkäuer gelten als Hauptreservoir von EHEC- Bakterien, allerdings verläuft eine bakterielle Kolonisierung bei ausgewachsenen Wiederkäuern asymptomatisch (Wray et al. 2000). Zu den wesentlichen Übertragungswegen von EHEC- Bakterien auf den Menschen zählen kontaminierte Lebensmittel und Trinkwasser sowie Kontaktinfektionen von Mensch zu Mensch und Tierkontakt. Die Mehrzahl der Lebensmittelinfektionen wird durch den Verzehr von tierischen Produkten verursacht, insbesondere nicht ausreichend gegartes Rindfleisch oder Rinderhackfleisch gilt als Risikofaktor (Bell et al. 1994, Rangel et al. 2002). EHEC- Bakterien sind überaus umweltresistent und können mehrere Wochen in Fäkalien überleben. Es ist somit möglich, dass Obst und Gemüse, welches während des Anbaus mit Fäkalien in Berührung kommt, durch EHEC- Bakterien kontaminiert und in den Handel gelangt (Wang et al. 1996). In der Vergangenheit wurden größere EHEC- Ausbrüche z.B.

nach dem Verzehr von unpasteurisiertem Apfelsaft oder Apfelwein (Besser et al. 1993, Cody et al. 1999), Rettichsprossen (Michino et al. 1999), Sprossen (Breuer et al. 2001, Ferguson et al. 2005) oder Blattsalat (Ackers et al. 1998; Hilborn et al. 1999) beschrieben.

1.4. EHEC assoziierte Krankheitsbilder

Für die Manifestation eines EHEC- bedingten Krankheitsbildes wird laut Literatur die Infektionsdosis von 100 bis 200 Bakterien benötigt (Nataro und Kaper 1998). Nach einer Inkubationszeit von drei bis vier Tagen leiden erkrankte Patienten typischerweise an nicht-blutigen Durchfällen (< 3 Tage) mit krampfartigen abdominalen Schmerzen (Tarr et al. 2005). Im weiteren Verlauf kommen bei 90% der infizierten Patienten blutige Durchfälle hinzu (Ostroff et al. 1989). Zwischen fünf und 15% der mit E. coli O157:H7 infizierten Patienten, besonders Kinder unter 10 Jahren, entwickeln innerhalb von zwei Wochen nach Krankheitsbeginn ein HUS (Chandler et al. 2002, Wong et al. 2000).

1.4.1 Das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS)

Das Krankheitsbild des HUS wurde von dem Schweizer Hämatologen Conrad von Gasser erstmals 1955 beschrieben (Gasser et al. 1955). Charakteristisch für das Krankheitsbild ist die Trias bestehend aus mikroangiopathischer hämolytischer Anämie, Thrombozytopenie und akutem Nierenversagen. In verschiedenen Angaben in der Literatur wird HUS durch einen Hämatokrit < 30%, Thrombozyten < $150 \times 10^9/L$ und ein Serumkreatinin über dem Altersnormwert bei Patienten ohne vorbestehende Koagulopathie definiert (Chandler et al. 2002, Wong et al. 2000). Der Verlauf eines HUS kann von einer milden Klinik bis zu schweren Verläufen mit komplizierter Beteiligung verschiedener Organsystem wie z.B. Darm, Herz, Lunge und zentralem Nervensystem (ZNS) variieren.

HUS wird in D⁺ HUS (HUS, das nach einer vorausgehenden Episode von Diarrhoen entsteht) und D⁻ HUS (HUS, das nicht mit Diarrhoen assoziiert ist) unterschieden (Amirlak I und Amirlak B 2006).

Die Pathophysiologie des von EHEC- Bakterien ausgelösten D⁺ HUS ist noch nicht vollständig verstanden, verschiedenen Mechanismen sind beschrieben:

Das von EHEC produzierte Stx bindet an dem Gb3-reichen tubulären Epithel sowie an glomerulären Endothelzellen und verursacht eine zelluläre Apoptose, Nekrose

und thrombozytische Mikroangiopathie (Karpmann et al. 1998). Hieraus resultiert eine kortikale Nekrose der Niere sowie glomeruläre Thrombosen mit Verschlüssen der Blutgefäße. Im Weiteren kommt es zum Anschwellen und Ablösen der Endothelzellen von der Basalmembran, der Einwanderung von neutrophilen Granulozyten und dem Untergang bzw. Verlust von Mesangiumzellen. (Inward et al. 1997, Chaisri et al. 2001). Durch die Gefäßläsionen werden sowohl Thrombozyten als auch die Gerinnungskaskade aktiviert und es kommt zu einer weiteren Bildung von Mikrothromben, die zu einer zusätzlichen Störung der terminalen Strombahn der Niere, aber auch weitere Organe, führen (Zoja et al. 2010). Sekundär kommt es durch den Verbrauch von Thrombozyten zu einer Thrombozytopenie (Zimmerhackl 2000).

Gb3-Rezeptoren, zu welchen das EHEC produzierte Stx eine hohe Bindungsaffinität zeigt, finden sich beim Menschen neben Enterozyten und den renalen Epithelzellen auch im zentralen Nervensystem (Karpman et al. 1998, Ergonul et al. 2003, Hughes et al. 2002). Hierdurch wird teilweise die Neurotoxizität des Stx erklärt, die sich durch das Auftreten von schweren neurologischen Komplikationen, wie z.B. Krampfanfälle bis hin zum Status epilepticus äußert. Weiterhin finden sich Gb3-Rezeptoren auf Makrophagen und Monozyten, die durch die Interaktion mit Stx zur Ausbildung proinflammatorischer Zytokine und Chemokinen wie IL- 1beta, IL- 6, IL- 8 und TNF-alpha angeregt werden (Van Setten et al. 1996).

1.4.1 Therapie eines EHEC assoziierten HUS

Ein Evidenz basiertes Therapieschema für die EHEC Enterokolitis und das HUS ist nur eingeschränkt vorhanden (Bitzan 2009). Eine intravenöse Rehydratation und Aufrechterhaltung des Flüssigkeitshaushaltes während der Durchfallphase wird als nephroprotektiv beschrieben (Tarr et al. 2005). Ake et al beschreiben ebenfalls den positiven Effekt einer frühen intravenösen Volumengabe zur Prävention eines Nierenversagens (Ake et al. 2005).

Die Therapie mit Medikamenten, die die Darmmotilität hemmen, sowie Narkotika, sollte bei Patienten mit blutigen Diarrhoen oder nachgewiesener STEC- Infektion vermieden werden. Diese Substanzen werden mit einem erhöhten Risiko ein HUS oder neurologische Komplikationen zu entwickeln assoziiert (Bell et al. 1997). Da die Nieren aufgrund ihrer hohen Gb3- Rezeptordichte besonders durch im Blut zirkulierendes Stx gefährdet ist, sollte auf eine Schmerztherapie mit nicht-steroidalen

Antirheumatika (NSAR) aufgrund der zusätzlichen vasokonstriktorischen Wirkung auf das Vas afferens der Glomeruli und der damit einhergehenden Nephrotoxizität, verzichtet werden (John und Herzenberg 2009). Eine antimikrobielle Therapie wird kontrovers diskutiert (Panos et al. 2006, Nitschke et al. 2012, Safdar et al. 2002, Wong et al. 2000, Proulx et al. 1992):

Einerseits konnten Wong et al. im Jahr 2000 zeigen, dass Kindern, die unter EHEC-assoziierten Diarrhoen litten, ein deutlich erhöhtes Risiko hatten ein HUS zu entwickeln, wenn mit Antibiotika therapiert wurde (Wong et al. 2000).

Jedoch wurde bei einem EHEC O157:H7 Ausbruch 1996 in Japan ein positiver Effekt auf den Krankheitsverlauf der Patienten beobachtet, wenn innerhalb der ersten zwei Tage nach Ausbruch der Symptome eine Therapie mit Fosfomycin eingeleitet wurde (Ikeda et al. 1999).

Die Mechanismen, durch die Antibiotika ein HUS bei EHEC- infizierten Patienten verursachen oder begünstigen können, sind bis dato unklar. Eine Möglichkeit ist die vermehrte Antibiotika induzierte Freisetzung von Stx durch bakterielle Lyse (Grif et al. 1998). Ein weiterer Mechanismus ist die Aktivierung Stx- produzierender Bakteriophagen, ausgelöst durch Schädigung bakterieller Desoxyribonukleinsäure (DNA) (Kimmit et al. 2000).

Zusammenfassend besteht zum Zeitpunkt der Anfertigung dieser Arbeit weiterhin keine Empfehlung zur antibiotischen Therapie von EHEC- Patienten.

Als therapeutische Option für Patienten, die im Rahmen der EHEC- Infektion ein HUS entwickelten, wird die Plasmapherese von der deutschen Gesellschaft für Nephrologie (DGfN) empfohlen (DGfN).

Bei einem EHEC O157- Ausbruch in Schottland 1996 konnte für Patienten mit HUS, die eine Plasmaseparation erhielten, eine signifikant höhere Überlebensrate ermittelt werden (Dundas et al. 1999). Colic et al. berichten über fünf O104:H4 positive Patienten, die mit einer Kombination aus früher Plasmaseparation und Dialyse erfolgreich behandelt werden konnten (Colic et al. 2011).

Neue Therapieansätze beruhen auf der Inaktivierung des Shiga- Toxins. Auf der einen Seite macht man sich hierbei die synthetische Toxinbindung zu eigen, auf der anderen Seite werden probiotische, rekombinante Bakterien zur Toxinbindung genutzt (MacConnachie und Todd, 2004). Der monoklonale Antikörper Eculizumab, der die Aktivierung von Protein C5 in der Komplementkaskade blockiert, wurde bereits einige Monate vor dem Hamburger EHEC- Ausbruch in der Behandlung von

HUS bei Kindern erfolgreich eingesetzt: Lapeyraque et al. beschrieben drei Säuglinge mit nachgewiesener STEC- Infektion und HUS, die erfolgreich mit Eculizumab behandelt werden konnten (Lapeyraque et al., 2011). Diesem Bericht war eine positive Eculizumab- Therapie eines 18 Monate alten Kleinkinds vorausgegangen, welches unter einem rezidivierenden kongenitalen atypischen HUS (aHUS) litt und nicht auf eine therapeutische Plasmaseparation ansprach (Gruppo und Rother, 2009).

1.5. Der EHEC Ausbruch in Hamburg

Zwischen Mai und Juli 2011 kam es zu einem Ausbruch des EHEC O104:H4 Serotyps in Deutschland mit Schwerpunkt im norddeutschen Raum. Die ersten Erkrankungsfälle wurden Anfang Mai im Raum Hamburg registriert, die Epidemie breitete sich innerhalb kürzester Zeit über Schleswig-Holstein, Bremen, Mecklenburg-Vorpommern und Niedersachsen nach Mittel- und Süddeutschland aus. Dem Robert Koch-Institut wurden zwischen dem 01.05.2011 und 04.07.2011 insgesamt 3842 Erkrankungsfälle gemeldet. 2987 Patienten zeigten Symptome einer Gastroenteritis ohne HUS, in dieser Patientengruppe kam es zu 18 Todesfällen. Bei 845 Patienten (22%) führte die EHEC Infektion zu einem HUS. Ein tödlicher Verlauf zeigte sich in 36 Fällen (Robert-Koch-Institut, Abschlussbericht).

Am 26.7.2011 wurde der bis dato größte EHEC Ausbruch in Deutschland durch das Robert-Koch-Institut (RKI) für beendet erklärt. Als Infektionsquelle wurden EHEC-kontaminierte Sprossen aus Ägypten ermittelt (http://edoc.rki.de/documents/rki_ab/reeFNxULvsdZo/PDF/262b4Pk2TGGs.pdf)

Die Dimensionen des EHEC- Ausbruches im Jahr 2011 verdeutlicht ein Vergleich mit den Fallzahlen von 2010: Für 2010 registrierte das RKI insgesamt 918 EHEC-Erkrankungen mit der Komplikation eines HUS in 65 Fällen (7%). Hiervon waren überwiegend Kinder unter fünf Jahren betroffen. Der Serotyp O157 war mit einem Anteil von 65% der Erkrankungsfälle der häufigste Erreger.

1.5.1 Der Ausbruchstamm O104:H4

Die genetische Analyse aus Isolaten des Ausbruchstamms O104:H4 vom Sommer 2011 zeigte einen neuen Phänotyp, welcher die Charakteristika von EHEC- und EAggEC-Bakterien kombiniert (Chattaway et al. 2011). Mit Hilfe von DNA-Sequenzanalysen konnte gezeigt werden, dass der Ausbruchsstamm mehr Gemeinsamkeiten mit EAggEC als mit EHEC aufweist. Einerseits zeigten die O104:H4-Bakterien das EHEC- spezifische Charakteristikum, Shigatoxine mittels Bakteriophagen- codiertem stx2-Gen bilden zu können, andererseits fehlte ihnen das für EHEC- typische A/E-Läsionen notwendige Gen (Bielaszewska et al. 2011). Zusätzlich war der Ausbruchstamm O104:H4 in der Lage, eine extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) zu bilden und zeigte sich dadurch resistent sowohl gegenüber Beta-Laktam-Antibiotika der Gruppen der Acylaminopenicilline und Cephalosporine, als auch gegenüber Tetracyclin, Nalidixinsäure, Streptomycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol (Aurass et al. 2011, Bielaszewska et al. 2011). Brzuszkiewicz et al. suggerieren die Beschreibung des neuen Phenotyp als entero aggregativer hämorrhagischer *Escherichia coli* (EAggHEC) (Brzuszkiewicz et al. 2011).

In der Literatur sind bis dato nur wenige Fälle des *E. coli* O104:H4 Serotyps beschrieben. 2005 konnte bei einer 29-jährigen koreanischen Patientin der Serotyp O104:H4 isoliert werden (Bae et al. 2006). Ein weiterer Fall wurde 2004 in Frankreich beschrieben (Monecke et al. 2011). Mellmann et al. berichteten 2001 von zwei HUS-Erkrankungen in Verbindung mit dem Serotyp O104:H4 in Deutschland (Mellmann et al. 2008). Bei keinem der bisher beschriebenen Fälle konnte die gleiche Kombination an Pathogenitätsfaktoren wie beim Ausbruchstamm O104:H4 vom Sommer 2011, nachgewiesen werden.

2. Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden retrospektiv die Daten von 146 Patienten, die sich im Sommer 2011 während des definierten Untersuchungszeitraums ambulant im Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf vorstellten oder hier stationär behandelt worden, anhand digitaler Krankenakten ausgewertet.

2.1 Patientenkollektiv

Während des EHEC- Ausbruchs im Sommer 2011 stellten sich in dem Zeitraum zwischen dem 13.05.2011 und 06.06.2011 insgesamt 146 Patienten mit Durchfällen oder blutigen Diarrhoen im Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf vor. Bei 122 Patienten konnte eine Infektion mit dem Erregerstamm EHEC Serotyp O104:H4 mittels Stuhlkultur nachgewiesen werden. Jeder Patient erhielt bei ambulanter Vorstellung eine klinische und laborchemische Untersuchung.

2.2 Einschlusskriterien

Zu Beginn des Ausbruchs wurde Ende Mai durch ein Gremium, bestehend aus Ärzten der Klinik für Nephrologie (III. Medizinische Klinik des UKE), der Klinik für Gastroenterologie und Infektiologie (I. Medizinische Klinik des UKE) sowie der Klinik für Neurologie, Risikofaktoren für die Entwicklung eines HUS bei Patienten mit EHEC O104:H4-Infektion definiert. Die Kriterien basierten auf Daten aus der Literatur und der Erfahrung der beteiligten Ärzte.

Blutige Diarrhoen wurden als das klinische Hauptkriterium gewertet. Die zusätzlich festgelegten serologischen Kriterien umfassten folgende Parameter:

1. Thrombozytenanzahl unter $150 \times 10^3/\mu\text{l}$ aber oberhalb $100 \times 10^3/\mu\text{l}$
2. Serum-Kreatinin über der Altersnorm ($> 1,1\text{--}1,2\text{mg/dl}$) aber keine akute Nierenschädigung Stufe 1 entsprechend des Acute Kidney Injury Network (AKIN) Einteilung (Mehta et al. 2007)
3. Laktat-Dehydrogenase (LDH) $> 300\text{ IE/l}$
4. Leukozytose ($> 12 \times 10^3/\mu\text{l}$)
5. Erhöhtes C-reaktives Protein (CRP) ($> 5\text{mg/l}$)
6. Hämoglobin $< 13\text{g/dl}$ bei Männern beziehungsweise $< 12\text{g/dl}$ bei Frauen

Die Indikation zur stationären Aufnahme wurde bei Patienten mit blutigen Diarrhoen gestellt, welche zusätzlich mindestens ein oder mehrere der oben angeführten laborchemischen Risikokriterien für die Entwicklung eines HUS erfüllten.

Von den 122 Patienten mit EHEC assoziierter Gastroenteritis, die sich im Beobachtungszeitraum ambulant vorstellten, wurde bei 13 Patienten bereits bei Erstvorstellung ein HUS diagnostiziert, 76 Patienten erfüllten weder die klinischen noch laborchemischen Risiko- und Aufnahmekriterien und stellten sich damit ambulant zu Kontrolluntersuchungen vor.

Die definierten Aufnahmekriterien waren bei 33 Patienten erfüllt, diese Patienten wurden stationär in der I. Medizinischen Klinik behandelt.

Nach stationärer Aufnahme erhielten alle Patienten intravenöse Flüssigkeit (Kristalloide Lösungen: Ringer- oder 0,9% NaCl- Lösung) sowie bedarfsgerechte analgetische Therapie. Diese Therapie wird im Weiteren als „symptomatische Therapie“ bezeichnet. Keiner der Patienten erhielt eine antibiotische Therapie oder motilitätshemmende Medikamente. Bei allen Patienten erfolgte eine routinemässige Laborkontrolle, welche eine Kontrolle des Blutbildes, der Serumelektrolyte und Retentionsparameter sowie der Infekt- und Hämolyseparameter umfasste.

Basierend auf einer erfolgreichen Behandlung einer 23 jährigen Patientin (Patient 13), die zusätzlich zur symptomatischen Therapie eine Polyethylenglycol-Lösung (PEG- Lösung, siehe Resultate) erhielt, wurden alle anschließend aufgenommen Patienten (n= 20) ab dem Aufnahmetag täglich mit PEG- Lösung begleitend zur symptomatischen Therapie behandelt.

Retrospektiv erfolgte die Einteilung des Patientenkollektivs (n=33) in zwei Gruppen: Die erste Gruppe umfasst alle Patienten, die während des stationären Aufenthalts ausschließlich eine symptomatische Therapie erhielten. Dieses Patientenkollektiv wird als „Kontrollgruppe“ (n=12) bezeichnet.

Die zweite Gruppe umfasst die Patienten, die zusätzlich zu einer symptomatischen Therapie eine tägliche Darmspülung mit einer PEG-Lösung erhielten (Interventionsgruppe, n=21).

Das gesamte Patientenkollektiv (n= 33) wird als „Gesamtgruppe“ beschrieben.

2.3 Definition von Endpunkten

Als primärer Endpunkt wurde das Auftreten eines HUS oder eines schweren HUS gewertet.

Das Vollbild eines HUS wurde wie folgt definiert: Thrombozytopenie ($<150 \times 10^3 / \mu\text{l}$), hämolytische Anämie (Hämoglobin $< 13\text{g/dl}$ bei Männern bzw. $< 12\text{g/dl}$ bei Frauen, LDH-Anstieg, Abfallen des Haptoglobins) und akutes Nierenversagen definiert als 1,5- bis 2-facher Anstieg des Serum-Kreatinins innerhalb von 48 Stunden und verminderter Urinausscheidung (AKIN I) oder/ und neurologische Beteiligung (Mehta et al. 2007).

Patienten mit oder ohne laborchemischen Kriterien für ein HUS, die während ihres stationären Verlaufs neurologische Symptome entwickelten sowie Patienten mit HUS, die auf Grund einer gestörten Nierenfunktion eine Dialyse benötigten, wurden als schweres HUS klassifiziert. Sobald ein Patient ein HUS entwickelte, erfolgte die Verlegung in die Klinik für Nephrologie zur weiteren Therapie. In diesen Fällen wurde sowohl die rein symptomatische, als auch die Therapie mit einer zusätzlichen PEG-Lösung beendet.

Als sekundärer Endpunkt wurde die Anzahl der Krankenhaustage zwischen den beiden Gruppen verglichen. Zur Berechnung der Krankenhausverweildauer wurden der Aufnahmetag als erster Tag des Klinikaufenthaltes gewertet. Als zweiter sekundärer Endpunkt wurde ein Wiederauftreten von EHEC-assoziierten Symptomen oder erneutem Auftreten von blutigen Diarrhöen nach stationärer Entlassung gewertet.

2.4 Stationäre Behandlung

Während des stationären Aufenthalts erhielten alle Patienten eine analgetische, spasmolytische und antiemetische Bedarfsmedikation. Die Gabe dieser Medikamente erfolgte jeweils bedarfsorientiert individuell und nicht nach einem fest verordneten Schema. Begleitend erhielten alle Patienten eine intravenöse Flüssigkeitssubstitution mit kristalloiden Lösungen. Hierbei wurden zwischen zwei und drei Liter Flüssigkeit pro Patient täglich verabreicht. Die jeweiligen Präparate und Zusammensetzungen der Medikamente sind in Tabelle 3, 4 und 5 zusammengefasst.

2.4.1 Flüssigkeitstherapie

1000ml Natriumchlorid (NaCl) 0,9%:

Hersteller: „Baxter“ Viaflo–Infusionslösung (Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland)

Zusammensetzung: 9,0 g/l Natriumchlorid, Natrium 154mmol/l, Chlorid 154 mmol/l.

2.4.2 Spasmolytika

Butylscopolaminbromid (Buscopan) 20mg

Hersteller: Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein, Deutschland

2.4.3 Analgesie

Paracetamol oral 500mg

Hersteller: ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland

Paracetamol parenteral 1000mg

Hersteller: ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland

Novaminsulfon-ratiopharm 500mg/ Tropfen

Hersteller: ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland

Novaminsulfon-ratiopharm 1000mg/ 2ml

Hersteller: ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland

Piritramid-hameln 7,5mg/ml parenteral

Hersteller: hameln pharmaceuticals gmbh, Hameln, Deutschland

2.4.4 Antiemetika

Metoclopramid (MCP) 10mg/2ml parenteral

Hersteller: (HEXAL AG, Holzkirchen, Deutschland)

Dimenhydrinate (Vomex A) 62mg parenteral

Hersteller: (Astellas Pharma GmbH, München, Deutschland)

Eine Übersicht der individuellen Bedarfsmedikation jedes Patienten, einschließlich verabreichter Dosismengen, findet sich in den Tabellen 9 und 10 im Anhang.

2.4.5 Polyethylenglycol-Lösung (PEG-Lösung)

Für die Anwendung der PEG-Lösung wurde das als Pulver verfügbare Macrogol (Norgine GmbH, Marburg, Deutschland) in einem Liter Wasser gelöst und oral verabreicht. Macrogol hat ein durchschnittliches Molekulargewicht von 3350 kd. Ein Liter der PEG-Lösung enthält 59g Macrogol 3350, 5,685g Natriumsulfat, 1,685g Natriumhydrogenkarbonat, 1,465g Natriumchlorid und 0,742g Kaliumchlorid. Pro Liter stellt die PEG-Lösung folgende Elektrolyt-Ionen Konzentrationen bereit: Natrium 125 mmol/L, Kalium 10mmol/L, Sulfat 40mmol/L, Chlorid 35mmol/L, Hydrogenkarbonat 20mmol/L, Macrogol 17,6mmol/L.

2.5 Datenerhebung

Für die Erfassung der klinischen und laborchemischen Daten wurde auf das elektronische Krankenaktensystem (Soarian, Soarian Clinicals, Siemens Medical Solutions USA) zurückgegriffen. Daten von Patienten, die initial in anderen Krankenhäusern stationär behandelt worden waren, wurden nach Rücksprache und mit dem Einverständnis der externen Kliniken angefordert. Relevante Daten wurden zusätzlich aus diesen Dokumenten entnommen.

Anhand der Krankenakten erfolgte die Erfassung folgender Daten für alle in die Studie eingeschlossenen Patienten:

- Alter und Geschlecht
- Aufnahme- und Entlassdatum
- Anzahl erfüllter serologischer Aufnahmekriterien
- Anzahl und Art vorbestehender Komorbiditäten/ Begleiterkrankungen
- Anzahl an Patienten, die ein HUS entwickelten
- Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und stationärer Aufnahme
- Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und Erreichen eines HUS oder schweren HUS
- Tage zwischen stationärer Aufnahme und Erreichen eines HUS oder schweren HUS
- Krankenhausaufenthalt in Tagen

Zusätzlich wurden für die Patienten der Interventionsgruppe folgende Daten erfasst:

- Tage zwischen erstmaliger Gabe von PEG-Lösung und Erreichen eines HUS oder schweren HUS

Folgende serologischen Parameter wurden bei stationärer Aufnahme für alle Patienten erfasst:

- Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$)
- Leukozyten ($10^3/\mu\text{l}$)
- Hämoglobin (g/dl)
- Serum-Kreatinin (mg/dl)
- LDH (IU/l)

- CRP (mg/l)
- ALT U/l und AST U/l
- Bilirubin mg/dl
- Körpertemperatur

2.6 Komorbiditäten

Anhand der elektronischen Krankenakten wurden vorbestehende Begleiterkrankungen erfasst und in einem binären System bewertet. Jede erfasste Begleitkrankheit wurde mit einem Punkt bewertet. Hierbei wurde keine gewichtende Wertung hinsichtlich des betroffenen Organsystems vorgenommen. Zu den erfassten Begleiterkrankungen zählten:

- Arterieller Hypertonus
- Koronare Herzkrankheit mit oder ohne Intervention
- Insulin oder nicht Insulin abhängiger Diabetes mellitus
- Chronische Niereninsuffizienz
- Hyper- oder Hypothyreose
- Asthma bronchiale/ chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)
- Divertikulose

2.7 EHEC Nachweis

Der Nachweis einer EHEC O104:H4 Infektion erfolgte mittels Stuhlkultur. Der kulturelle Nachweis galt als positiv, wenn die einzelnen Kolonien der Kultur positiv auf ESBL produzierende E. coli getestet wurden, die sich wiederum mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) oder Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) positiv für Stx 2 und negativ für Stx 1 zeigten.

2.8 Entlassungskriterien

Die stationäre Entlassung erfolgte bei klinisch beschwerdefreien Patienten mit normalisierten Thrombozytenzahlen und fallendem CRP und Leukozyten.

Alle Patienten wurden nach ihrer stationären Entlassung angehalten, sich initial täglich und im weiteren Verlauf alle drei Monate zu Verlaufskontrollen ambulant in der I. Medizinischen Klinik vorzustellen. Bei jeder Verlaufskontrolle erfolgt routinemässig eine klinische und laborchemische Untersuchung.

2.9 Statistische Auswertung

Sowohl die Erfassung als auch die weitere Bearbeitung in tabellarischer Form der erhobenen Daten erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm MS Excel (Microsoft Excel für Mac 2011 Version 14.2.2). Mit diesem Programm wurden auch die im folgenden Ergebnisteil gezeigten Diagramme und Schaubilder angefertigt.

Die Berechnung statistischer Signifikanz wurde mit Hilfe des Programms R excel durchgeführt. Für die Berechnung signifikanter Unterschiede in beiden Gruppen wurden für folgende Daten Fisher's exact Test herangezogen: Altersverteilung, Geschlechterverteilung, Laborparameter am Aufnahmetag (Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$), Leukozyten ($10^3/\mu\text{l}$), Hämoglobin (g/dl), Serum-Kreatinin (mg/dl), LDH (IU/l), CRP (mg/l)) und Patienten, die Plasmapherese erhielten.

Der „unpaired Student's t-test“ wurde bei folgenden Daten durchgeführt: Tage vom ersten Symptom bis zur Aufnahme, Anzahl erfüllter Aufnahmekriterien, vorbestehende Krankheiten, Tage vom ersten Symptom bis zur Plasmapherese und die Bedarfsmedikation.

Bei der Berechnung des Signifikanzniveaus werden Werte mit $p > 0,05$ als nicht signifikant, Werte mit $p < 0,05$ als signifikant bezeichnet.

Der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung und Prozentrechnung wurde in beiden Gruppen mit der Formelfunktion des Programms MS Excel (Microsoft Excel für Mac 2011 Version 14.2.2) berechnet.

2.10 Anhang Material und Methoden

2.10.1 Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der Interventionsgruppe bezüglich demographischer Daten und klinischer Charakteristika

Patient	Alter	Geschlecht	Symptom- beginn	stationäre Aufnahme	EHEC pos.	Aufnahme- kriterien	Komorbiditäten
1.	45	männlich	27.05.11	30.05.11	ja	1	0
2.	54	männlich	24.05.11	27.05.11	ja	1	0
3.	77	männlich	24.05.11	26.05.11	ja	1	2
4.	68	männlich	18.05.11	21.05.11	ja	1	0
5.	41	weiblich	23.05.11	01.06.11	ja	1	0
6.	27	weiblich	23.05.11	26.05.11	ja	2	0
7.	43	weiblich	23.05.11	26.05.11	ja	2	0
8.	29	weiblich	20.05.11	28.05.11	ja	2	0
9.	24	weiblich	23.05.11	30.05.11	ja	2	0
10.	18	männlich	28.05.11	31.05.11	ja	2	0
11.	38	weiblich	25.05.11	28.05.11	ja	2	0
12.	85	weiblich	25.05.11	30.05.11	ja	2	2
13.	22	weiblich	30.05.11	01.06.11	ja	2	0
14.	23	weiblich	22.05.11	24.05.11	ja	2	0
15.	40	männlich	22.05.11	28.05.11	ja	2	0
16.	47	weiblich	22.05.11	01.06.11	ja	2	1
17.	71	männlich	26.05.11	27.05.11	ja	2	0
18.	74	männlich	28.05.11	29.05.11	ja	2	1
19.	45	weiblich	20.05.11	25.05.11	ja	2	0
20.	73	weiblich	26.05.11	02.06.11	ja	2	1
21.	32	weiblich	03.06.11	07.06.11	ja	1	1

2.10.2 Tabelle 4: Tabellarische Darstellung der Kontrollgruppe bezüglich demographischer Daten und klinischer Charakteristika

Patient	Alter	Geschlecht	Symptom- beginn	stationäre Aufnahme	EHEC pos.	Aufnahme- kriterien	Komorbiditäten
22.	49	weiblich	24.05.11	27.05.11	ja	1	0
23.	27	weiblich	31.05.11	03.06.11	ja	1	1
24.	32	weiblich	23.05.11	25.05.11	ja	1	1
25.	45	männlich	17.05.11	18.05.11	ja	1	0
26.	47	weiblich	24.05.11	27.05.11	ja	2	0
27.	42	weiblich	21.05.11	28.05.11	ja	2	0
28.	33	männlich	18.05.11	19.05.11	ja	2	0
29.	32	weiblich	18.05.11	20.05.11	ja	2	0
30.	34	weiblich	27.05.11	28.05.11	ja	2	0
31.	64	männlich	21.05.11	23.05.11	ja	2	0
32.	82	weiblich	14.05.11	28.05.11	ja	2	2
33.	29	weiblich	06.05.11	15.05.11	ja	1	2

2.10.3 Tabelle 5: Tabellarische Darstellung der Interventionsgruppe bezüglich Laborparameter bei stationärer Aufnahme

Patient	Thro	Leuk	Hb	Bili	Serum-Krea	AST	ALT	CRP	LDH
1.	216	12,5	15,3	1,1	1	13	7	5	151
2.	306	16,9	14,8	1,1	0,9	19	16	5	156
3.	137	7,7	14,3	0,9	0,74	39	41	1	232
4.	231	13	15,1	0,93	1,04	21	13		199
5.	164	3,8	13,2	0,5	0,8	14	1	8	169
6.	251	14,5	14,7	0,7	0,86	23	13	27	135
7.	213	16,6	12,8	1,2	0,84	14	7	150	145
8.	216	18,6	12,1	0,6	0,7	12	10	36	158
9.	230	12,2	14	0,5	0,72	21	16	11	156
10.	258	16,1	14,9		1,06	33	28	49	270
11.	285	12,5	14,4	0,7	0,96	17	15	91	148
12.	164	11,4	14	0,9	1,07	32	15	25	
13.	312	15,1	15,2	0,4		28	0,74	7	236
14.	231	12,3	13,4	2,4	0,86	22	10	16	154
15.	145	22,7	14,9	0,9	0,67	10	15	151	112
16.	102	8,8	11,7	1,5	1,06	32	25	1	336
17.	285	20,9	18	2,2	1,1	33	41	159	219
18.	114	15,9	10,8	0,8	0,89	35	23	110	342
19.	142	12,6	8,6	0,5	1,23	46	28	26	640
20.	190	5,5	11	0,5	1,14	20	13	5	226
21.	217	15,3	14,4	0,6	0,52	19	17	5	182

2.10.4 Tabelle 6: Tabellarische Darstellung der Kontrollgruppe bezüglich Laborparameter bei stationärer Aufnahme

Patient	Throm	Leukos	Hb	Bilirubin	Serum-Krea	AST	ALT	CRP	LDH
22.	225	14,3	13,8	1,2	0,63	19	13	1	236
23.	252	10,2	13,3	0,6	0,83	16	11	6	124
24.	178	9,8	11,6		0,64				164
25.	345	13,5	14,4	0,5	0,84			1	
26.	265	14,6	14,6		0,6	27	14	33	230
27.	229	20,4	14,2	0,5	0,8	11	1	121	182
28.	172	20	15,6	0,6	0,75			60	
29.	360	20,8	14,8	0,7	0,74			7	
30.	287	11,2	11,9	0,4	0,75	23	17	1	116
31.	230	19,2	17,3	1,5	1,23	19	14	147	233
32.	204	11,6	11,4	1,2	1,7	26	13	7	427
33.	294	8,7	12	0,2	0,57			8	

Abkürzungen und Einheiten: Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$), Leukozyten ($10^3/\mu\text{l}$), Hämoglobin (g/dl), Bilirubin (mg/dl), Serum-Kreatinin (mg/dl), C- reaktives Protein (mg/l), Lactat- Dehydrogenase (IU/l)

2.10.5 Tabelle 7: Tabellarische Darstellung der stationären Therapie und des stationären Verlaufs in der Interventionsgruppe

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
PEG-Lösung erhalten	ja	ja	ja	ja	ja	Ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
Erreichen eines HUS oder schweren HUS	nein	nein	ja	nein	nein	Nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein	ja	nein	ja	nein	ja	nein	nein	nein	nein
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und stationärer Aufnahme	3	3	2	3	9	3	3	8	7	3	3	5	2	2	6	10	1	1	5	7	4
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und erstmaliger Gabe von PEG-Lösung	4	6	6	14	9	6	6	9	8	5	6	7	2	6	8	10	1	3	11	8	4
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und Erreichen eines HUS oder schweren HUS			7										7		9		7				
Tage zwischen erstmaliger Gabe von PEG-Lösung und Erreichen eines HUS oder schweren HUS			1										5		1		6				

2.10.6 Tabelle 8: Tabellarische Darstellung der stationären Therapie und des stationären Verlaufs in der Kontrollgruppe

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Supportive Therapie	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
Erreichen eines HUS oder schweren HUS	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	ja	ja	ja	nein
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und stationärer Aufnahme	3	3	2	1	3	7	1	2	1	2	14	9
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und Erreichen eines HUS oder schweren HUS	7	6	4		6	9			6	4	16	
Tage zwischen Beginn supportiver Therapie und Erreichen eines HUS oder schweren HUS	4	3	2		3	2			5	2	2	

2.10.7 Tabelle 9: Tabellarische Darstellung der verabreichten Bedarfsmedikation in der Interventionsgruppe

Patient	Buscopan 20mg i.v.	Paracetamol 500 mg oral	Paracetamol 1000mg i.v.	MCP 10 mg i.v.	Metamizol 1000mg i.v.	Diphenhydramin 62 mg i.v.	Piritramid 15mg i.v.
1.	2	0	0	0	3	0	0
2.	1	2	0	0	1	0	0
3.	1	0	0	0	1	0	0
4.	0	0	0	0	0	0	0
5.	0	0	0	0	0	0	0
6.	4	0	0	11	6	5	0
7.	0	0	0	0	0	0	0
8.	4	0	1	0	2	0	0
9.	2	0	2	1	3	0	0
10.	0	0	9	0	11	0	0
11.	0	3	0	1	1	0	0
12.	0	0	0	0	0	0	0
13.	6	0	1	4	0	0	0
14.	10	0	6	10	9	0	0,5
15.	1	0	0	0	1	0	0
16.	0	0	0	0	0	0	0
17.	2	0	1	6	2	0	0
18.	1	5	0	0	1	0	0
19.	0	3	3	0	2	0	0
20.	0		0	1	1	0	0
21.	2	0	0	3	2	0	0

2.10.8 Tabelle 10: Tabellarische Darstellung der verabreichten Bedarfsmedikation in der Kontrollgruppe

Patient	Buscopan 20mg i.v.	Paracetamol 500 mg oral	Paracetamol 1000mg i.v.	MCP 10 mg i.v.	Metamizol 1000mg i.v.	Diphenhydramin 62 mg i.v.	Piritramid 15mg i.v.
22.	8	0	0	1	8	0	0
23.	1	5	1	1	6	2	0
24.	0	0	0	0	0	0	0
25.	5	0	2	0	1	0	0
26.	3	0	0	2	3	1	0
27.	5	0	1	0	2	0	0
28.	7	0	1	0	4	0	0
29.	2	0	0	0	0	0	0
30.	9	1	0	6	12	0	6
31.	0	0	0	0	0	0	0
32.	3	0	0	1	0	1	0
33.	0	1	0	0	11	0	3x0,5

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

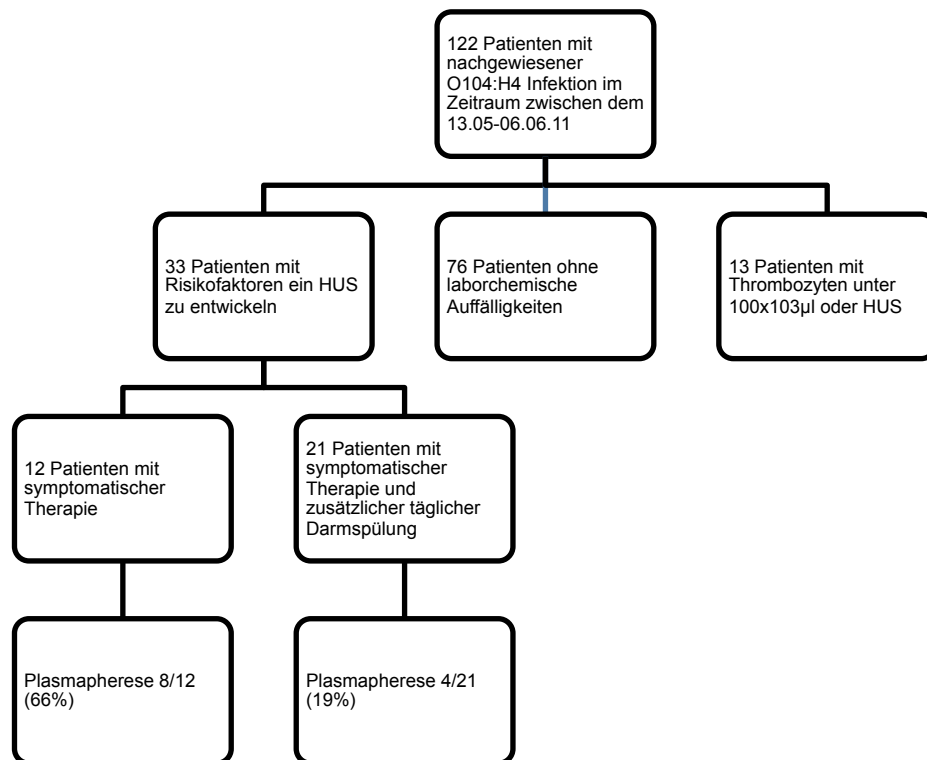
Von den 122 positiv auf den Erregerstamm EHEC O104:H4 getesteten Patienten zeigten 13 Patienten schon bei erstmaliger ambulanter Vorstellung eine Thrombozytopenie mit einer Thrombozytenzahl unterhalb $100 \times 10^3/\mu\text{l}$ oder die Ausprägung anderer HUS- Kriterien bzw. Kriterien eines schweren HUS. Dies führte zu einer direkten stationären Aufnahme in der Klinik für Nephrologie mit folgender Plasmapherese bzw. Nierenersatzverfahren. Die Daten dieser 13 Patienten, die bereits bei Erstvorstellung den Endpunkt der Untersuchung erreicht hatten, wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen (die genaue Definition von HUS und schwerem HUS in dieser Studie werden in Bereich Material und Methoden unter dem Punkt 2.3 beschrieben).

76 Patienten mit nachgewiesener EHEC-Infektion erfüllten keine der definierten klinischen oder laborchemischen Risikofaktoren bei Erstvorstellung und wurden angehalten, sich ambulant weiteren Verlaufskontrollen zu unterziehen. Bei einer Verschlechterung der Symptomatik war eine Wiedervorstellung jeder Zeit möglich.

Bei 33 Patienten mit blutigen Diarrhoen und laborchemischen Risikofaktoren für die Entwicklung eines HUS erfolgte die stationäre Aufnahme zur weiteren Therapie.

Alle 33 Patienten erhielten eine analgetische und antiemetische Therapie bei Bedarf sowie intravenöse Flüssigkeitssubstitution mit bis zu drei Litern täglich. Dies war die einzige Therapie der zwölf initial aufgenommenen Patienten (Kontrollgruppe n= 12).

Abbildung 1: Die Grafik zeigt die Patientenführung und Aufnahmeabläufe zwischen dem 13.05.- 06.06.2011. Insgesamt stellten sich innerhalb des beobachteten Zeitraums 122 Patienten mit nachgewiesener O104:H4 Infektion in der Ambulanz des UKE vor.



3.2 Fallbericht Patient 13

Patientin Nr. 13, eine 23 Jahre alte Frau, wurde aufgrund von blutigen Diarrhoen und einer Leukozytose ($13,6 \times 10^3/\mu\text{l}$) stationär aufgenommen. Zum Zeitpunkt der Aufnahme wurde der Verdacht auf eine mögliche EHEC-Infektion gestellt. Die EHEC- Infektion sollte aber erst im nachhinein nachgewiesen werden.

Der klinische Zustand der Patientin verschlechterte sich rasch im Laufe des zweiten stationären Tages, begleitend kam es zu einem Anstieg der Leukozyten ($20 \times 10^3/\mu\text{l}$). Drei Tage nach stationärer Aufnahme entwickelte die Patientin Symptome eines paralytischen Ileus. Zeitgleich kam es zu einem konstantem Abfall der Thrombozyten sowie einem Anstieg der Lactatdehydrogenase (LDH). Eine durchgeführte Computertomographie des Abdomens zeigte ein toxisches Megakolon mit einer massiven Dilatation des transversen Kolons (Abbildung 2). Die Behandlung des paralytischen Ileus mittels prokinetischer Massnahmen zeigte sich ineffektiv. Daraufhin wurde als letzter Versuch, eine chirurgische Intervention zu umgehen, PEG- Lösung in Form von Macrogol verabreicht. In den ersten 24 Stunden wurden zwei Liter der Lösung verabreicht, gefolgt von einem Liter täglich während des weiteren Krankenhausaufenthaltes. Die Therapie mit intravenöser Flüssigkeitssubstitution (zwei bis drei Liter täglich) wurde begleitend fortgesetzt. Die Darmfunktion und der klinische Zustand der Patientin verbesserte sich bereits schrittweise nach dem ersten Tag der PEG-Behandlung. Zwei Tage nach Beginn mit der zusätzlichen PEG-Therapie zeigten die Thrombozyten einen Anstieg von $190 \times 10^3/\mu\text{l}$ auf $220 \times 10^3/\mu\text{l}$. Die Leukozytenwerte normalisierten sich drei Tage nach erstmaliger PEG- Anwendung. Auf Grund der Durchfälle erfolgte die Entnahme von Stuhlkulturen, schlussendlich mit Nachweis des Erregerstamms EHEC O104:H4.

Aufgrund des positiven klinischen Verlaufs bei Patientin 13 nach oraler Gabe von PEG- Lösung in Verbindung mit einer EHEC- Infektion erfolgte die weitere Therapie aller 20 im weiteren Verlauf aufgenommenen Patienten ergänzend zur symptomatischen Therapie täglich zusätzlich mit PEG-Lösung (Interventionsgruppe, n= 21).

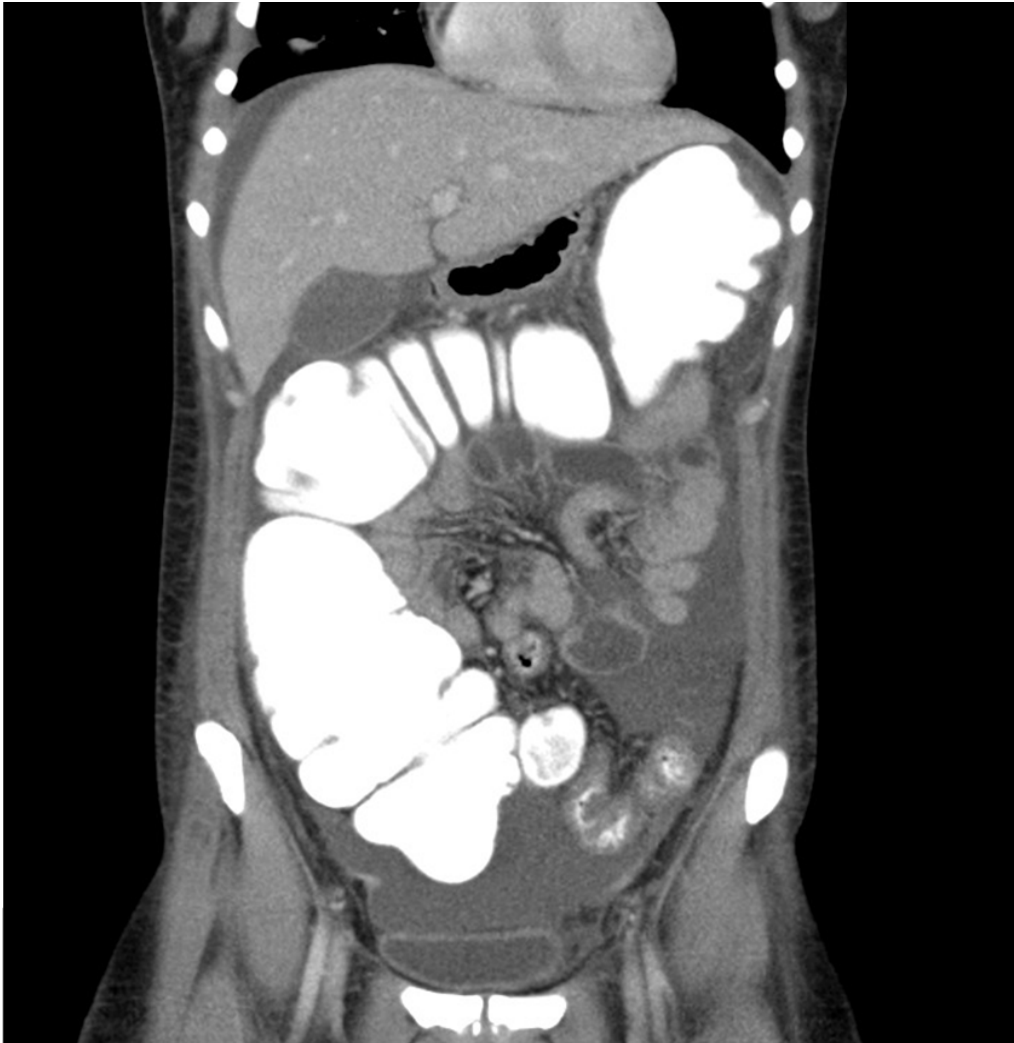


Abbildung 2: Kontrastmittelunterstützte Computertomographie des Abdomens. Das Bild zeigt das Toxische Megakolon; Kolon ascendens und Kolon transversum sind deutlich distendiert. Es zeigt sich kein Nachweis eines mechanischen Ileus

3.3 Demographische Charakteristika

Tabelle 15 zeigt die demographischen Charakteristika der 33 in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten. Hinsichtlich ihrer demographischen Charakteristika konnte zwischen der Interventions- und Kontrollgruppe keine statistische Signifikanz ermittelt werden (Alter $p = 0,626$; Geschlecht $p = 0,701$).

Tabelle 11: demographische Charakteristika

	Patienten gesamt (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p-Wert
Alter:				
Durchschnitt $\pm$ Standarddeviation (SD)	44.6 $\pm$ 18.9	45.9 $\pm$ 20.6	42.4 $\pm$ 16.3	0,626
Minimum (min.)/Maximum (max.)	17.3 / 84.2	17.3 / 84.2	26.4 / 81.4	
Geschlecht:				
Männlich	11 (33.3%)	8 (38.1%)	3 (25.0%)	0.701
Weiblich	22 (66.7%)	13 (61.9%)	9 (75.0%)	

3.4 Klinische Charakteristika

Die Tabelle 16 zeigt die klinischen Charakteristika des gesamten Patientenkollektivs bezüglich Tage zwischen dem Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und stationärer Aufnahme sowie die Anzahl erfüllter serologischer Risikokriterien für die Entwicklung eines HUS, die zur stationären Aufnahme führten. Statistisch konnten zwischen Interventionsgruppe und Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede gefunden werden ($p = 0,805$; $p = 0,458$).

Tabelle 12: klinische Charakteristika

	Patienten gesamt (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p-Wert
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und stationärer Aufnahme				
Durchschnitt $\pm$ SD	4.2 $\pm$ 3.1	4.3 $\pm$ 2.6	4 $\pm$ 4	0,805
min/max	1 / 14	1 / 10	1 / 14	
Laborchemische Aufnahmekriterien erfüllt:				
Durchschnitt $\pm$ SD	1.7 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.5	0,458
Min/Max	1 / 2	1 / 2	1 / 2	

3.5 Laborchemische Parameter bei stationärer Aufnahme

Tabelle 17 zeigt die laborchemischen Parameter aller untersuchten Patienten am Tag der stationären Aufnahme. Als Risikokriterien ein HUS zu entwickeln galten pathologische Laborwerte von Thrombozyten, Leukozyten, Hämoglobin, Serumkreatinin, LDH, und CRP. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Interventions- und Kontrollgruppe konnte nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 13: Laborchemische Parameter bei stationärer Aufnahme

	Patienten gesamt (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p-Wert
Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$)				
Durchschnitt $\pm$ SD	226 $\pm$ 63	210 $\pm$ 60	254 $\pm$ 53	0.29
Leukozyten ($10^3/\mu\text{l}$)				
Durchschnitt $\pm$ SD	13.9 $\pm$ 4	13.6 $\pm$ 5	14.5 $\pm$ 4	0.28
Hämoglobin (g/dl)				
Durchschnitt $\pm$ SD	13,7 $\pm$ 2	13.7 $\pm$ 2	13.4 $\pm$ 2	0.47
Serum-Kreatinin (mg/dl)				
Durchschnitt $\pm$ SD	0.9 $\pm$ 0,1	0.9 $\pm$ 0,2	0.8 $\pm$ 0.32	0.23
LDH (IU/U)				
Durchschnitt $\pm$ SD	217 $\pm$ 119	218 $\pm$ 115	214 $\pm$ 92	0.46
CRP (mg/l)				
Durchschnitt $\pm$ SD	41.3 $\pm$ 53	44.4 $\pm$ 50	35.6 $\pm$ 54	0.33

3.6 Komorbiditäten:

Die Tabelle 18 zeigt die Verteilung der Begleiterkrankungen des Gesamtkollektivs der Patienten. Insgesamt zeigte sich, dass Patienten sowohl der Interventionsgruppe als auch der Kontrollgruppe ähnlich häufig Begleiterkrankungen aufwiesen ($p = 0,65$).

Tabelle 14: Komorbiditäten

	Gesamte Patienten (n=33)	Interventionsgruppe (n=21)	Kontrollgruppe (n=12)
Arterieller Hypertonus	5	4	1
KHK	2	1	1
Diabetes mellitus	2	1	1
Asthma/ COPD	1	1	0
Chronisches Nierenversagen	1	0	1
Hypo/Hyperthyreose	3	1	2
Durchschnitt $\pm$ SD	0.4 ± 0.7	0.4 ± 0.7	0.5 ± 0.8
Min/Max	0 / 2	0 / 2	0 / 2
		p- Wert 0,65	

3.7 Stationärer Verlauf

Die Tabelle 19 zeigt den stationären Verlauf der beiden Patientengruppen hinsichtlich dem Erreichen von Endpunkten. Hier fällt besonders die statistische Signifikanz hinsichtlich der Anzahl der Patienten, die im stationären Verlauf in der Interventions- und Kontrollgruppe ein HUS oder schweres HUS erreichten. Lediglich vier der 21 Patienten der Interventionsgruppe, aber acht der 12 Patienten der Kontrollgruppe entwickelten ein HUS oder schweres HUS ($p = 0,010$). Der Vergleich der Interventions- und Kontrollgruppe bezüglich der Tage, die zwischen erstem Auftreten EHEC assoziierter Symptome und dem Erreichen eines HUS oder schweren HUS lag, zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied. Patienten

beider Gruppen erreichten, sofern sie ein HUS oder schweres HUS entwickelten, dies in vergleichbarer gleicher Zeit ($p= 0,904$).

Betrachtet man die Anzahl an stationären Tagen, die Patienten durchschnittlich auf Grund ihrer EHEC- Infektion stationär behandelt werden mussten, so zeigt sich eine deutliche statistische Signifikanz ($p= 0,001$). Patienten der Interventionsgruppe hatten verglichen mit der Kontrollgruppe eine im Schnitt sieben Tage kürzere stationäre Verweildauer.

Tabelle 15: stationärer Verlauf

	Patienten gesamt (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p- Wert
Patienten, die ein HUS oder schweres HUS erreichten	12 (36.4%)	4 (19.0%)	8 (66.7%)	0.010
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und Erreichen eines HUS oder schweren HUS				
Durchschnitt $\pm$ SD	7.3 $\pm$ 3.1	7.5 $\pm$ 1	7.3 $\pm$ 3.9	0.904
Min/Max	4 / 16	7 / 9	4 / 16	
Tage zwischen Auftreten erster EHEC assoziierter Symptome und erstmaliger Gabe von PEG-Lösung				
Durchschnitt $\pm$ SD		6.6 $\pm$ 3.1		
Min/Max		1 / 14		
stationärer Aufenthalt in Tagen:				
Durchschnitt $\pm$ SD	14.5 $\pm$ 14.6	10.3 $\pm$ 5.5	17.5 $\pm$ 18.3	< 0.001
Min/Max	3 / 58	4 / 26	3 / 58	

3.8 Bedarfsmedikation

3.8.1 Analgetika:

Die Tabelle 20 zeigt die verabreichten Analgetika hinsichtlich der Einzeldosierungen und durchschnittlicher Dosis pro Patient unter allen Patienten, in der Interventionsgruppe und in der Kontrollgruppe. Signifikante Unterschiede ($p=0,0002$) zwischen den beiden Gruppen gibt es bei der Verabreichung von Paracetamol 1000mg i.v.. Hier wurde den Patienten der Interventionsgruppe (23 Einzeldosierungen) ca. vier mal so viele Einzeldosierungen verabreicht als Patienten der Kontrollgruppe (fünf Einzeldosierungen). Die Dosis pro Patient lag bei der Interventionsgruppe bei 1,1 Dosiseinheiten pro Patient, verglichen mit der Kontrollgruppe bei 0,42 pro Patient.

Signifikante Unterschiede ($p=1,03 \times 10^{-18}$) gab es bei der Verabreichung von Piritramid 15mg parenteral. In der Interventionsgruppe erhielt ein Patient einmalig eine halbe Einzeldosis (7,5 mg) Piritramid, die weiteren Einzeldosierungen verteilten sich auf Patienten der Kontrollgruppe.

Tabelle 16: analgetische Bedarfsmedikation

	Alle Patienten (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p-Wert
Paracetamol (500mg oral):				
Einzeldosis	20	13	7	0.92
Dosis pro Patient	0.61	0.62	0.42	
Paracetamol (1000mg parenteral)				
Einzeldosis	28	23	5	0.0002
Dosis pro Patient	0.85	1.1	0.42	
Metamizol (1000mg parenteral):				
Einzeldosis	93	46	47	0.13
Dosis pro Patient	2.82	2.19	3.92	

Piritramid (15mg parenteral):				
Einzeldosis	8	0.5	7.5	1.03
Dosis pro Patient	0.24	0.24	0.63	$\times 10^{-18}$

3.8.2 Antiemetika:

Die Tabelle 21 zeigt die antiemetische Therapie, die sich aus Metoclopramid 10mg i.v. und Diphenhydramin 62mg i.v. zusammensetzte. Einen signifikanten Unterschied ($p= 0,03$) zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe im Verbrauch zeigte sich bei der Gabe von Metoclopramid 10mg parenteral. Hier hatte die Interventionsgruppe einen deutlich höheren Bedarf als die Patienten der Kontrollgruppe.

Tabelle 17: antiemetische Bedarfsmedikation

	Alle Patienten (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p-Wert
Metoclopramid (10mg i.v.)				
Einzeldosis	48	37	11	0.03
Dosis pro Patient	1.45	1.76	0.92	
Diphenhydramin (62mg i.v.)				
Einzeldosis	9	5	4	0.08
Dosis pro Patient	0.27	0.24	0.33	

3.8.3 Spasmolytika:

Tabelle 22 zeigt die Anzahl verabreichter Einzeldosierungen und Dosierungen pro Patient, die bei der spasmolytischen Therapie zum Einsatz kamen. Als Spasmolytikum wurde Buscopan 20mg i.v. eingesetzt. Hier gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der benötigten Medikation zwischen den beiden Gruppen.

Tabelle 18: spasmolytische Bedarfsmedikation

	Alle Patienten (n=33)	Interventions- gruppe (n=21)	Kontroll- gruppe (n=12)	p-Wert
Buscopan 20mg i.v.				
Einzeldosis	79	36	43	0.33
Dosis pro Patient	2.39	1.71	3.58	

3.9 Stationäre Entlassung

Die Entlassung eines Patienten erfolgte bei normalisierten Werten für Thrombozyten ($> 150.000 /\mu\text{l}$), stabilen Nierenretentionsparametern und niedrigen bzw. normalisierten Entzündungszeichen sowie klinischer Beschwerdefreiheit mit Rückbildung der EHEC-assoziierten Symptome.

Zwei Patienten des Gesamtkollektivs verstarben während ihres Krankenhausaufenthalts, jeweils ein Patient aus der Interventions- und einer der Kontrollgruppe. Beide Patienten entwickelten vor ihrem Tod ein HUS bzw. schweres HUS und wurden anschließend nicht weiter in der I. Medizinischen Klinik behandelt.

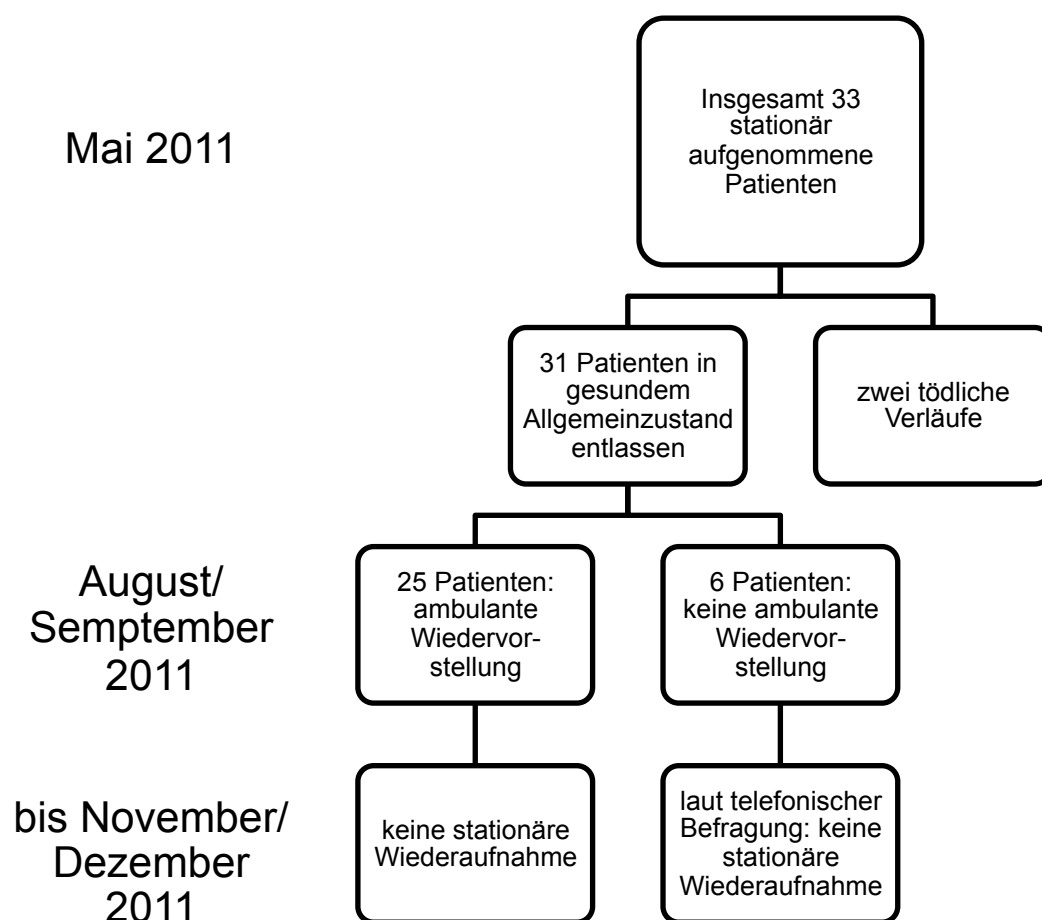
Innerhalb des Nachbeobachtungszeitraums von insgesamt 18 Monaten wurde ein Patient der Interventionsgruppe sechs Tage nach Entlassung wieder stationär aufgenommen. Dieser Patient berichtete über persistierende Cephalgien. Bei unauffälligen Laborparametern wurde eine Sinusvenenthrombose (SVT) mittels MRT-Untersuchung ausgeschlossen, nach insgesamt fünf Tagen konnte der Patient bei rückläufigen Symptomen entlassen werden.

Somit wurden 31 der 33 hier untersuchten Patienten über insgesamt 18 Monate verlaufskontrolliert

Die Langzeitweiterverfolgung beinhaltete eine ambulante klinische und laborchemische Untersuchung nach drei und sechs Monaten. Hierfür stellten sich

insgesamt 25 Patienten drei bzw. sechs Monate nach ihrer stationären Entlassung wieder ambulant vor, sechs Patienten kamen dem ambulanten Kontrolltermin nicht nach. Alle 31 Patienten wurden nach 18 Monaten telefonisch kontaktiert und über persistierende Beschwerdesymptomatik und etwaige Krankenhausaufenthalte, die im Zusammenhang mit EHEC-assoziierten Symptomen stand, befragt.

Abbildung 3 zeigt den Verlauf der untersuchten Patienten von der stationären Aufnahme bis zur Entlassung sowie die ambulanten Nachbetreuung der Patienten.



4 Diskussion

Zwischen Mai und Juli 2011 kam es in Deutschland zu der bis heute größten EHEC-Epidemie durch den E. coli Serotyp O104:H4 (Frank et al. 2011b). Die Mehrzahl der Patienten erkrankte im Norden Deutschlands, vornehmlich in Niedersachsen, Mecklenburg-Vorpommern, Schleswig-Holstein, Bremen und Hamburg. Zusätzlich wurden während des Ausbruchs HUS- Patienten, ebenfalls ausgelöst durch den Serotyp O104:H4, sowohl aus dem europäischen als auch aus nordamerikanischen Ausland gemeldet (Robert-Koch-Institut, Abschlussbericht).

Der Erregerstamm E.coli O104:H4 wurde zuvor nur selten als HUS- Erreger beschrieben: 2006 berichtete Bae et al den Fall einer 29 jährigen Patientin bei der E. coli O104:H4 als Erreger des HUS identifiziert werden konnte (Bae et al. 2006). In den vergangenen 15 Jahren sind von insgesamt vier erfassten O104:H4 Infektionen lediglich zwei Fälle mit einem HUS assoziiert worden (Mellmann et al. 2008).

Während des Ausbruchs konnte durch eine Serie von epidemiologischen Studien der Verzehr von Sprossen in Restaurants als Vehikel für eine Infektion identifiziert werden (Buchholz et al. 2011). Sprossen spielten schon in vergangenen großen Ausbrüchen, z.B. Rettichsprossen in Japan, eine ursächliche Rolle (Michino et al. 1999).

Ein möglicher Grund für die hohe Anzahl an Patienten mit einem HUS bei diesem EHEC-Ausbruch wird in dem ungewöhnlichen genetischen Hintergrund des O104:H4 Serotyp gesehen: Der Ausbruchsstamm kombinierte Virulenzfaktoren von enteroaggregativen und Shiga-Toxin produzierenden E. coli.

Die genetischen Untersuchungen zeigten, dass EHEC O104:H4 die chromosomale Grundstruktur eines typischen enteroaggregativen E. coli in Verbindung mit einem Stx2 kodierenden Bakteriophagen besitzt (Mellmann et al 2011, Rasko et al., 2011, Rohde et al., 2011). Zu seinen pathogenen EAggEC-Charakteristika gehören unter anderem das Virulenz-Plasminid paa, die Produktion von enteroaggregativen Adhärenz-Fimbrien (AAF) I und das „stacked brick“- Muster an Darmepithelzellen (Bielazewska et al. 2011). Bakterien des Ausbruchsstamm EHEC O104:H4 trugen zusätzlich ein Antibiotikaresistenzplasmid gegen Penicillin-Antibiotika, Cephalosporine und Cotrimoxazol (Bielazewska et al. 2011).

In den vergangenen zehn Jahren wurden bis zur O104:H4 Epidemie vom Sommer 2011 nur sporadische Fälle von Stx2 produzierenden E. coli O104:H4 Stämmen

erfasst (Scheutz et al. 2011). In weiteren Untersuchungen verglichen Chad R et al. die Stx2 Bakteriophagen klassischer E. coli Serotypen mit denen des Ausbruchsstamms EHEC O104:H4. Es zeigte sich, dass dieser Stamm in Kultur mit Mitomycin C deutlich höhere Level an Stx2 produziert als E. coli O157:H7 (Denamur 2011, Laing et al. 2012).

Eine der gefürchtetsten Komplikationen, die mit einer EHEC- Infektion einhergehen kann, ist die Entwicklung eines HUS. Als Risikofaktoren für das Auftreten eines HUS bei einer Infektion mit Stx produzierenden EHEC gelten sehr junge oder sehr alte Patienten, erhöhte Leukozytenzahl, die Behandlung mit Antibiotika und die Gabe von Motilitätshemmern (Ikeda et al. 2000, Wong et al. 2000, Bell et al. 1997, Cimolai et al. 1990, Cimolai et al. 1994).

Strenge serologische Kriterien zur Definition des HUS sind bisher in der Literatur nicht beschrieben. Bennish et al. definieren ein HUS wenn drei der folgenden Kriterien erfüllt sind: Hämatokritabfall $> 10\%$ in den letzten 24 Stunden, $> 0,5\%$ Schistozyten im peripheren Blutaussstrich, Thrombozyten $< 100000 /\text{mm}^3$ und ein Serumkreatinin $> 180 \text{ mmol}/\text{mm}^3$. (Bennish et al. 2006). Cornick et al. beschreiben das Vorliegen eines HUS als Hämatokrit $< 30\%$ mit dem Beweis geschädigter Erythrozyten im peripheren Blutaussstrich, ein Abfall des Thrombozytenwerts $< 150000/\text{mm}^3$ und den Anstieg von Nierenretentionsparametern wie dem Serumkreatinin über den Altersnormwert (Cornick et al. 2002). Zusätzlich ist der Nachweis einer Leukozytose mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit ein HUS bei bestehender EHEC- Infektion zu entwickeln, beschrieben (Dundas et al. 2001). Eindeutige, laborchemisch prädiktive Marker für die Entwicklung eines HUS bei EHEC- Infektionen sind nicht beschrieben.

Zu Beginn des Ausbruchs im Sommer 2011 wurden durch ein interdisziplinäres Gremium aus Nephrologen, Gastroenterologen, Infektiologen und Neurologen des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf Risikokriterien definiert, die eine drohende HUS- Entwicklung bei EHEC- infizierten Patienten reflektieren sollten. Diese Kriterien setzen sich aus einer Kombination von laborchemischen Parametern und klinischen Symptomen zusammen, welche die Pathophysiologie des HUS widerspiegeln. Hierzu zählen der Nachweis einer Hämolyse, eine Thrombozytopenie, eine Leukozytose, die Beurteilung der Nierenfunktion sowie als klinisches Kriterium blutige Diarrhoen.

Diese Promotionsarbeit untersucht ein Patientenkollektiv bestehend aus 33 Personen, die sich im Zuge des Ausbruchs mit dem E. coli Serotyp O104:H4 infiziert hatten und aufgrund der im Methodenteil dieser Arbeit beschriebenen Risikokriterien für die Entwicklung eines hämolytisch-urämisches Syndroms zwischen dem 13.05.2011 und 05.06.2011 stationär aufgenommen wurden. Die Gesamtgruppe (n=33) setzt sich aus der Interventionsgruppe (n=21) und der Kontrollgruppe (n=12) zusammen. In der Interventionsgruppe wurde zusätzlich zur symptomatischen Therapie eine PEG Lösung oral verabreicht. Die Therapie der Kontrollgruppe bestand ausschließlich aus einer symptomatischen Therapie, beide Gruppen erhielten eine identische intravenöse Volumensubstitution.

Die Auswertung der Aufnahmekriterien, der demographischen Charakteristika sowie der bestehenden Vorerkrankungen in beiden Patientengruppen zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied, so dass trotz der geringen Größe der Gruppen von einer ähnlichen Verteilung der jeweiligen Variablen ausgegangen werden kann.

Gemäß dem Abschlussbericht des Robert Koch-Instituts über die O104:H4 Epidemie 2011 waren 58% der betroffenen Patienten weiblich. Dies entspricht ungefähr den in den Vorjahren ermitteltem Anteil erkrankter Frauen (61%), die im gesamten Bundesgebiet zwischen 2001 und 2010 an einer EHEC-Infektion erkrankten (vgl. RKI 2011). Der Anteil an Frauen in dem hier untersuchten Patientenkollektiv lag im Vergleich zu den deutschlandweit registrierten Fällen etwas höher (66,7%). In der Kontrollgruppe machte der Frauenanteil 75% und in der Interventionsgruppe 61,9% aus, jedoch ist dieser Unterschied nicht signifikant. Die Geschlechterverteilung des hier untersuchten Patientenkollektivs entspricht somit sowohl allen bundesweit zwischen 2001 bis 2010 registrierten EHEC-Fälle, als auch dem O104:H4 Ausbruch 2011.

Der Altersmedian aller EHEC- Ausbruchsfälle während der Epidemie im Sommer 2011 lag bei 46 Jahren mit einer Spanne von 0 bis 100 Jahren (RKI 2011). In dem vorliegenden Patientenkollektiv lag der Median bei 44,6 Jahren mit einer Altersspanne von 17,3 bis 84,2 Jahren. Kontrollgruppe (42,4) und Interventionsgruppe (45,9) zeigten somit ähnliche Altersdurchschnitte, die ebenfalls mit der Gesamtzahl aller gemeldeten EHEC- Fälle vergleichbar sind.

Deutschlandweit erkrankten während des Ausbruchs 855 Patienten an einem HUS und 2987 Patienten an einer EHEC-Gastroenteritis, in diesem Falle ohne HUS-Erkrankung. Somit ergab sich eine Gesamtanzahl von 3842 EHEC- Patienten,

welches einer HUS-Rate von 22% (Buchholz et al. 2011, Frank et al. 2011, RKI 2011) entspricht. Ein Vergleich mit dem RKI- Abschlußbericht des Jahres 2010, in dem von 918 gemeldeten EHEC Infektionen 65 Patienten ein HUS entwickelten (7%), verdeutlicht die ungewöhnlich hohe HUS- Rate während des Ausbruchs im Sommer 2011 (Robert- Koch- Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2010, Berlin, 2011). In der untersuchten Patientengruppe, eine Risikogruppe für HUS, dieser Arbeit führte die O104:H4 Infektion insgesamt in 12 von 33 Fällen (36,4%) zu einem HUS. Hierbei kam es in der Kontrollgruppe in acht von 12 Fällen (66,7%) zu einem HUS, in der Interventionsgruppe lag die HUS-Rate bei 19% (4 von 21 Patienten).

Hinsichtlich der Anzahl von vorbestehenden Komorbiditäten und der Anzahl erfüllter serologischer Aufnahmekriterien zeigen sich bei beiden Patientengruppen nahezu identische Zahlen. Bezüglich der Anzahl an Komorbiditäten lag das Minimum an Erkrankungen sowohl in der Interventionsgruppe als auch der Kontrollgruppe bei keiner und maximal zwei vorbestehenden Erkrankungen. Betrachtet man die HUS-Patienten der beiden Gruppen zeigen sich auch dort ähnliche Zahlen. Ohne eine vorbestehende Komorbidität stellte sich ein Patient der Interventionsgruppe vor, alle weiteren Patienten präsentierten zumindest eine vorbestehende Erkrankung, maximal zwei. Damit handelt es sich um ansonsten mehrheitlich gesunde Patienten, die eher selten Arztkontakte haben.

Ähnlich verhält es sich bei den Zahlen erfüllter Aufnahmekriterien. In der Interventionsgruppe und Kontrollgruppe wurde jeweils mindestens ein und maximal zwei Aufnahmekriterien erfüllt. Auch unter den HUS- Patienten zeigten sich keine relevanten Unterschiede bzgl. der Komorbiditäten.

In der Kontrollgruppe lag die Altersverteilung von HUS-Patienten zwischen 27 und 82 Jahren und durchschnittlich bei 47 Jahren. Die Altersverteilung der betroffenen HUS- Patienten in der Interventionsgruppe lag zwischen 22 und 77 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 52,5 Jahren und war somit durchschnittlich etwas Älter als der, der HUS-Patienten der Kontrollgruppe (46 Jahre).

Zusammengefasst zeigen sich in der Kontrollgruppe und Interventionsgruppe weder hinsichtlich der Vorerkrankungen, der Altersverteilung noch der Anzahl vorgegebener Aufnahmekriterien ein statistisch signifikanter Unterschied. Dies gilt auch, betrachtet man ausschließlich die Patienten mit HUS- Erkrankung.

Der Anteil der weiblichen betroffenen Patienten lag in der Interventionsgruppe bei einer Frau (25%), in der Kontrollgruppe bei sieben (87,5%). Inwieweit sich die Verteilung der betroffenen Geschlechter so unterschiedlich darstellt, konnte nicht abschließend erklärt werden.

In dem untersuchten Patientenkollektiv zeigt sich in beiden Patientengruppen eine große Spanne hinsichtlich der Altersverteilung mit sowohl jungen als auch älteren Patienten. Inwieweit die Therapie mit zusätzlicher PEG- Lösung einen Einfluss auf die Entwicklung eines HUS hat im Bezug auf das Alter, ist nicht sicher zu beurteilen. Hier fehlt eine ausreichende Anzahl an Patienten, insbesondere in der Kontrollgruppe.

Für die Entwicklung eines HUS als Folge einer Infektion mit Shiga-Toxin produzierenden E.coli Bakterien sind unterschiedliche Zeiträume beschrieben. Amirlak et al geben eine Zeitspanne für Patienten mit einer O157:H7 Infektion von 5-10 Tagen nach erstmaligem Auftreten infektionsbedingter Symptome bis zum Vollbild des HUS an (Amirlak et al 2006).

Menne et al. beschreiben in einer Fall-Kontroll-Studie bezüglich des Ausbruchsstamms O104:H4 aus dem Jahr 2011 eine Zeitspanne zwischen erstmaligen Auftreten von Diarrhoen und Eintreten des HUS von durchschnittlich sechs Tagen (Abweichung 4-8 Tage).

In der vorliegenden Arbeit beträgt die durchschnittliche Dauer bis zur Entwicklung eines HUS in der Gesamtgruppe 7,3 Tagen, in der Kontrollgruppe 7,3 Tagen (Abweichung 4- 16 Tage) und 7,5 Tagen (Abweichung 7- 9 Tage) in der Interventionsgruppe. Insgesamt ereignen sich im Gesamtkollektiv neun von 12 HUS-Fällen vor Erreichen von 7,3 Tagen nach den ersten mit der Infektion assoziierten Symptomen. Dieses Zeitintervall scheint als Hoch-Risiko-Zeitraum zu gelten. Im Umkehrschluss bedeutet dies: Entwickelt ein Patient aus unserem Patientenkollektiv 7,3 Tage nach Beginn infektionsbedingter Symptome kein HUS, sinkt rasch das Risiko im weiteren Verlauf ein HUS zu entwickeln.

Patienten der Interventionsgruppe entwickelten ein HUS durchschnittlich nach 7,5 Tagen. Die Therapie mit PEG- Lösung wurde bei den Patienten dieser Gruppe durchschnittlich nach 6,6 Tagen begonnen. Die schnellste Gabe erfolgte innerhalb

eines Tages nach Symptombeginn und spätestens 14 Tage nach Auftreten von Symptomen.

Werden ausschließlich Patienten des Hoch-Risiko-Zeitraums (Beginn erster EHEC assoziierter Symptome bis Tag 7,5 nach Krankheitsbeginn) in die Auswertung einbezogen, können in der Interventionsgruppe insgesamt 13 der 21 Patienten gewertet werden (62%). Im Hoch-Risiko-Zeitraum traten HUS- Fälle dann im Schnitt nach sieben Tagen auf, die PEG-Behandlung begann durchschnittlich am fünften Tag nach Erkrankungsbeginn. Insgesamt konnten zehn Patienten (77%) aus dem Hoch- Risiko- Zeitraum durch die Kombination aus symptomatischer Therapie und PEG-Lösung vor einem HUS geschützt werden. Trotz der Therapie mit PEG-Lösung erkrankten drei der 13 Patienten an einem HUS (23%).

Patienten der Kontrollgruppe entwickelten (ähnlich der Interventionsgruppe) ein HUS im Median nach 7,3 Tagen nach Auftreten erster Symptome. Dass das Risiko innerhalb der ersten Woche nach Symptombeginn an einem HUS zu erkranken am höchsten ist, zeigt die zeitliche Verteilung von HUS-Fällen innerhalb der Kontrollgruppe: Sechs der insgesamt acht HUS-Fälle (75%) traten zwischen dem vierten und siebten Tag auf.

Obwohl trotz zusätzlicher PEG-Lösung drei Patienten der Hoch-Risiko-Gruppe innerhalb der Interventionsgruppe ein HUS entwickelten, zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied in den HUS- Raten der untersuchten Patientenkollektive, Insgesamt erkrankten deutlich weniger Patienten an einem HUS.

Spezifische Therapieoptionen für Patienten, die an einer EHEC- Infektion leiden sind in der Literatur nicht beschrieben. Supportive Maßnahmen und die symptomatische Behandlung sind bei der kausalen Therapie von EHEC- Infektionen und besonders des HUS entscheidend (Michael et al. 2009). Zu den supportiven Maßnahmen zählt vor allem die adäquate Flüssigkeitssubstitution, da eine suffiziente Hydrierung als nephroprotektiv beschrieben wird (Tarr et al. 2005). Alle in dieser Arbeit untersuchten Patienten erhielten täglich zwei bis drei Liter Flüssigkeit intravenös in Kombination mit einer bedarfsadaptierten Schmerz- und Spasmolytikamedikation. Die Interventionsgruppe forderte verglichen mit der Kontrollgruppe ca. viermal so viel Paracetamol i.v. ab. Ein Grund für diesen signifikant unterschiedlichen Bedarf an Schmerzmedikation könnte in der durch die PEG- Einnahme gesteigerten Darmmortalität begründet liegen.

Eine Schmerzmedikation mit Morphinderivaten ist auf Grund der Darmmotilität-hemmenden Wirkung mit einem erhöhten Risiko ein HUS oder eine neurologische Komplikation zu entwickeln assoziiert (Bell et al. 1997). Trotzdem erhielten laut Aktenlage angesichts einer fortbestehenden Schmerzsymptomatik insgesamt drei Patienten Piritramid intravenös. In der Interventionsgruppe wurde ein Patient einmalig mit 7,5mg Piritramid i.v. behandelt, entwickelte aber trotz dieser Therapie kein HUS. Zwei weitere Patienten wurden in der Kontrollgruppe mit Piritramid behandelt. Ein Patient aus dieser Gruppe erhielt kumulativ 22,5mg intravenös, ohne dass dieser Patient im weiteren Verlauf an einem HUS erkrankte. Der zweite Patient aus der Kontrollgruppe erhielt während seines stationären Aufenthalts insgesamt sechs mal 15mg Piritramid i.v. (90mg) und entwickelte ein HUS.

In wieweit die Therapie mit Piritramid den klinischen Verlauf des Patienten beeinflusst hat, ist retrospektiv auf Grund der kleinen Fallzahl nicht eindeutig ermittelbar. Auffällig ist, dass bei einer deutlich niedrigeren Dosierung des Schmerzmedikaments ein HUS bei den beiden anderen Patienten ausblieb. In welchem Maße die durch die PEG- Lösung gesteigerte Darmtätigkeit einen positiven Einfluss auf die Behandlung mit Piritramid bei dem Patienten der Interventionsgruppe hatte, kann retrospektiv nicht ermittelt werden. Vor allem da ein Patient aus der Kontrollgruppe trotz höherer Dosis von Piritramid kein HUS entwickelte.

Eine Therapieoption bei Patienten, die das Vollbild eines HUS entwickelt haben, ist die Plasmapherese. Zu Beginn des Ausbruchs empfahl die deutsche Gesellschaft für Nephrologie (DGfN) den Einsatz der Plasmapherese besonders in Fällen von EHEC assoziiertem HUS mit neurologischer oder schweren renalen Beteiligung.

Es wird vermutet, dass die Plasmapherese zirkulierendes Shiga Toxin oder Faktoren, die Endothel schädigen eliminiert. Bei der Plasmapherese erfolgt die Blutzufuhr zum Plasmapheresegerät über die Punktion einer peripheren Vene. Im Plasmapheresegerät wird patienteneigenes Plasma abzentrifugiert und anschließend abgefiltert. Der Vorgang erfordert einen gleichzeitigen Ausgleich des Plasmaverlusts mittels kolloidaler Plasmaexpander und nach Beendigung der Therapie die Gabe von Frischplasmakonzentraten. Die Studienlage zur Therapie eines HUS mittels Plasmapherese ist divergent. Dundas et al. führten bei 16 EHEC O157:H7 infizierten Patienten mit dem Vollbild eines HUS eine therapeutische

Plasmapherese durch. In dieser Arbeit profitierten 69% der infizierten Patienten von dieser Therapieoption (Dundas et al. 1999). Colic et al. beschreiben fünf Patienten mit einem durch E. coli O104:H4 verursachten HUS, die alle erfolgreich mit Hilfe einer frühen therapeutischen Plasmaseparation behandelt werden konnten (Colic et al. 2011). Alle Patienten die in diese Arbeit eingeschlossen wurden und während des stationären Aufenthaltes ein HUS entwickelten, erhielten eine therapeutische Plasmapherese.

Obwohl EHEC sensibel gegenüber einer Antibiotikatherapie ist, wird diese nicht empfohlen. Wong et al beschreiben eine erhöhte HUS-Rate bei Kindern mit einer O157:H7-Infektion nach Antibiotikatherapie (Wong et al. 2000). Die negativen Auswirkungen einer Antibiotikatherapie werden mit einer durch bakterielle Lyse vermehrten Shiga-Toxin-Freisetzung und Induktion Toxin- produzierender Bakteriophagen assoziiert (Grif et al. 1998, Kimmitt et al. 2000). In vitro konnte eine erhöhte Toxinproduktion gemessen werden, wenn mit EHEC O157:H7 infizierte Darmzellen Fluorchinolonen ausgesetzt wurden (Ohara et al. 2002). Allerdings wird mit der frühen Therapie durch Fosfomycin eine deutliche Reduzierung von HUS-Fällen assoziiert. Dies zeigt ein EHEC O157:H7 Ausbruch in Japan (Ikeda et al. 1999). Aufgrund der mehrdeutigen Studienlage entschied man sich gegen eine Antibiotikatherapie der in dieser Arbeit eingeschlossenen Patienten. Retrospektive Daten zur antibiotischen Behandlung O104:H4 infizierter Patienten vom Sommer 2011 zeigen einen positiven Effekt dieser Therapie (Menne et al. 2012).

Neue Therapieverfahren und Ansätze mit Shigatoxin bindenden Dialysern und Shigatoxin neutralisierenden Antikörpern sind noch nicht in randomisierten klinischen Studien untersucht worden (Miyagawa et al. 2006, Smith et al, 2006). Trachtman et al. konnten keine Verbesserung der Erkrankung bei Kindern mit einer EHEC-Infektion durch die Therapie mit oralen Stx bindenden Verbindungen nachweisen (Trachtman et al. 2003).

Die in dieser Arbeit untersuchte Interventionsgruppe wurde aufgrund eines positiven Therapieansprechens einer Patientin mit PEG- Lösung zur täglichen Darmspülung behandelt. PEG wird für die Darmspülung als Elektrolyt- balancierte PEG- Lösung verwendet und gilt als sichere Vorbereitung auf diagnostische Koloskopien, Barium-Röntgen- Untersuchungen und darmchirurgische Eingriffe (Bass und Dennis 1981, DiPalma 2004). Durch die Elektrolytbalance wird das Auftreten unerwünschter

Nebenwirkungen, wie Dehydrierung und Elektrolytentgleisungen reduziert. Da das untersuchte Patientenkollektive durch die anhaltenden Diarrhoen volumendepoliert war, wurde eine derartige PEG-Lösung verwendet.

Weiterhin gilt PEG als sichere und effektive Therapie chronischer Obstipation bei Kindern, Erwachsenen und alten Menschen (Ramkumar und Rao 2005, Arora und Srinivasan 2005). In zahlreichen klinischen Studien konnte eine hohe Anwendungssicherheit gezeigt werden und PEG wurde darüberhinaus besser toleriert als andere verfügbare Lösungen (Vieira et al. 2012, McKenna et al. 2012, Quitadamo et al. 2012). Polyethylenglycol 3350 wurde vom American College of Gastroenterology Task Force on Chronic Constipation mit einer Klasse A Empfehlung für die Verbesserung der Stuhlfrequenz und Konsistenz bewertet (Zurad und Johanson 2011).

Bezüglich darminfektöser Erkrankungen finden sich in der Literatur Hinweise, dass PEG- Lösung bei einer antibakteriellen Therapie hilfreich sein kann. In einer Arbeit von Wentao et al. konnte anhand von *Citrobacter rodentium* (ein Bakterium, welches zur gleichen Gruppe der EPEC und EHEC gezählt wird) im Mausmodell gezeigt werden, dass durch die Gabe von PEG- Lösung eine verminderte bakterielle Zell-Anhaftung erreicht werden kann. PEG- Lösung reduziert beta1-Integrin, den Oberflächenrezeptor für EPEC und EHEC intestinaler Zellen. Weiterhin kann eine verminderte Darminflammation nachgewiesen werden sowie die reduzierte Ausschwemmung von Bakterien im Körper (Wentao et al. 2011).

Liacouras und Piccoli beschreiben zwei Kinder mit chronisch rezidivierender *Clostridium difficile*- Infektion und (chronischen) Diarrhoen, die erfolgreich mit einer zusätzlichen PEG-Lösung behandelt wurden (Liacouras und Piccoli 1996).

Der Vergleich zwischen den unterschiedlichen Therapieansätzen der Interventions- und Kontrollgruppe zeigt einen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Auftretens von HUS- Fällen. Die ergänzende Therapie mit PEG- Lösung der Patienten in der Interventionsgruppe zur täglichen Darmspülung führt zu einer signifikanten Senkung der HUS-Rate bei Patienten mit einer fortgeschrittenen EHEC O104:H4- Infektion. Dies Ergebnis führt zur Annahme, dass die repetitive Darmspülung mit einer PEG- Lösung in Kombination mit der symptomatischen Therapie einen positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf bei Patienten mit EHEC assoziierten Diarrhoen hat.

Ursächlich hierfür könnte wie bei Wentao beschrieben die reduzierte Anzahl von Oberflächenrezeptoren für den Erreger, eine verminderte Inflammation des Darms sowie die reduzierte Ausschwemmung von Bakterien innerhalb des Körpers sein. Durch die durch PEG- Lösung gewollt herbeigeführten Diarrhoen kommt es möglicherweise zu einer schnelleren Toxinelimination aus dem Körper. Der Beweis einer zügigeren Toxin- oder Erregerelimination aus dem Körper kann mit diesem Patientenkollektiv nicht bewiesen werden. Trotz Versuch einer engmaschigen Nachsorge aller eingeschlossenen Patienten, konnte nicht von allen Patienten Stuhlproben analysiert werden. Allerdings konnten Patienten mit regelmäßiger Nachsorge inklusive Stuhlproben stets negativ auf Erregertoxine getestet werden. Auch ein Verdünnungseffekt kann ursächlich für die positive Wirkung der PEG- Lösung sein. Die Eigenschaft der PEG- Lösung große Mengen von Flüssigkeit nach intraluminal zu ziehen führt möglicherweise zu einem Verdünnungseffekt.

Vier Patienten der Interventionsgruppe entwickelten trotz Gabe von PEG- Lösung ein HUS und erhielten anschließend therapeutische Plasmaseparationen. Zwei dieser vier Patienten entwickelten im Laufe der Erkrankung ein schweres HUS, definiert durch das zusätzliche Auftreten eines dialysepflichtigem Nierenversagen und/ oder eine neurologische Beteiligung.

Ein Patient mit schwerem HUS wurde im Rahmen der akuten Niereninsuffizienz dialysepflichtig. Der zweite Patient mit schwerem HUS entwickelte neurologische Symptome. Von diesen vier Patienten entwickelten zwei Patienten bereits 24 Stunden nach der erstmaligen Gabe von PEG- Lösung ein HUS. Diese beiden Patienten erhielten die PEG- Lösung sechs bzw. acht Tage nach dem ersten Auftreten von EHEC assoziierten Symptomen.

Weshalb bei diesen beiden Patienten ein HUS innerhalb von 24 Stunden nach erstmaliger PEG- Administration auftrat und inwieweit eine zügigere Therapie mit PEG-Lösung ein HUS verhindert hätte, ist nicht endgültig nachvollziehbar, da Patienten mit deutlich längerer Latenz vom ersten beschriebenen Symptom der Erkrankung bis zur ersten Gabe der PEG- Lösung erfasst wurden (längste Latenz zwischen erstem Symptom bis zur ersten Behandlung mit PEG-Lösung lag bei 14 Tagen).

Ein optimaler Zeitpunkt bezüglich des Therapiebeginns mit PEG- Lösung kann aus dem untersuchten Patientenkollektiv nicht eindeutig ermittelt werden. Allerdings

entwickelte kein Patient der Interventionsgruppe, der länger als 48 Stunden therapiert wurde eine HUS.

Bei den beiden anderen Patienten musste die weitere Therapie mit der PEG- Lösung vorzeitig beendet werden. Hierbei wurde bei einem Patienten die PEG- Behandlung und intravenöse Flüssigkeitsgabe aufgrund einer symptomatischen Herzinsuffizienz und eingeschränkter Trinkfähigkeit der PEG- Lösung beendet.

Bei dem vierten Patient wurde die PEG- Gabe bereits nach einem Tag verfrüht beendet. Zwar kam es bereits nach der einmaligen Einnahme der PEG- Lösung zu einer klinischen Besserung, weshalb die Therapie abgebrochen wurde, jedoch kam es am Folgetag zu einer rapiden Verschlechterung des Gesundheitszustands des Patienten mit Ausbildung eines HUS. Inwieweit eine kontinuierlichere Gabe der PEG- Lösung in diesen beiden Fällen zu einer Vermeidung des HUS beigetragen hätte, kann rückblickend nicht gesagt werden.

Die HUS- Rate unter den Patienten, die eine Kombination aus suffizienter intravenösen Rehydrierung und zusätzlichen PEG-Behandlung über einen Zeitraum länger als 24 Stunden erhielten war sehr gering.

Die genomische Untersuchung des Erregerstammes zeigt das Vorliegen eines Plasmids, welches für ein aggregative adherent fimbriae-Protein (AAF) kodiert und vormals in EAggEC gefunden wurde (Rasko et al. 2011, Bielazewska et al. 2011). Ein durch AAF bewirktes Haften an Darmzellen ist entscheidend für die Erkrankung an EAggEC (Smith et al. 2006). Dieser Mechanismus beinhaltet höchstwahrscheinlich eine Protein-Glykokalyx-Interaktion, welche charakteristisch für bakterielle Dr-Type-Fimbrien ist. Möglicherweise inhibieren Macrogol- Moleküle die Bindung der bakteriellen Fimbrien an die Wirtszelle kompetitiv, destabilisieren dadurch die bakterielle Zellformierung und führen somit zu einer verbesserten Entfernung der Erreger aus dem Darmlumen.

Inwieweit durch die Therapie mit PEG-Lösung eine Reduktion des Stx im Darmlumen erreicht werden konnte ist retrospektiv nicht nachvollziehbar. Hierfür fehlt in der Interventionsgruppe sowohl der quantitative Nachweis von Stx in Stuhlproben bei stationärer Aufnahme als auch vor erstmaliger Therapie mit PEG- Lösung und im weiteren Verlauf. Auch bei Patienten der Kontrollgruppe wurde nur der Erregernachweis im Stuhl im Rahmen der stationären Aufnahme durchgeführt. Eine Erregerreduktion durch PEG- Lösung liegt anhand der zugrunde liegenden

Daten nahe, lässt sich allerdings aufgrund der zu geringen Fallzahlen nicht endgültig beweisen.

Während des stationären Verlaufs und zusätzlich in der Nachverfolgung des Patientenkollektivs wurden die Stuhlproben der Patienten daraufhin untersucht, zu welchem Zeitpunkt der Erreger nicht mehr nachweisbar war. Patienten galten als EHEC negativ wenn drei aufeinander folgende Stuhlproben im Abstand von mindestens zwei Tagen keinen Erregernachweis lieferten. Inwieweit die Therapie mit PEG- Lösung einen Einfluss auf die Dauer der Erregerausscheidung hat ist aufgrund der nicht vollständig und routinemässig abgenommen Stuhlkulturen nicht beurteilbar. Die Zeitpunkte zwischen den Stuhltestungen war in beiden Gruppen uneinheitlich, zusätzlich fehlen teilweise Proben der ambulanten Verlaufsvorstellungen. Somit ist eine Auswertung der verbliebenden vorliegenden Stuhlproben ohne Aussagekraft.

Wertet man die Anzahl stationärer Krankenhaustage aus, zeigt sich als weiterer positiver Effekte der repetitiven Darmspülung unter Anwendung von PEG- Lösung ein deutlich verkürzter stationärer Aufenthalt der Patienten der Interventionsgruppe (10,3 Tage) im Vergleich zur Kontrollgruppe (17,5 Tage). Der signifikante Unterschied in der Krankenhausverweildauer in beiden Patientenkollektiven ist dadurch erklärbar, dass Patienten der Interventionsgruppe im Gegensatz zu Patienten der Kontrollgruppe eine niedrigere HUS- Rate aufweisen. HUS ist die schwere Komplikation einer EHEC Infektion und bedarf einer intensiven Therapie. Die Therapie bei HUS wurde in der Klinik für Nephrologie weitergeführt und beinhaltete die therapeutische Plasmaseparation welche eine verlängerte stationäre Behandlung notwendig machte.

Die stationäre Entlassung erfolgte nach Stabilisierung der mit EHEC assoziierten Symptome und der Normalisierung der laborchemischen Parameter. Insgesamt wurden 31 der 33 Patienten des Gesamtkollektivs ambulant weiter betreut. Von diesen Patienten waren 25 (80,6%) alle drei Monate zur klinischen und laborchemischen ambulanten Kontrolle vorstellig. Keiner der Patienten musste aufgrund klinischer Symptome oder Beschwerden, die im Zusammenhang mit einer EHEC-Infektion standen, während des Nachbeobachtungszeitraum 12 Monaten von erneut stationär aufgenommen werden. Sechs Patienten stellten sich nicht erneut ambulant vor und wurden nach zwölf Monaten telefonisch kontaktiert. Insgesamt

zeigte sich, dass in der Nachverfolgung der Patienten keine wesentlichen infektionsassoziierten Symptome mehr auftraten.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine repetitive Darmspülung mit PEG- Lösung ein erfolgversprechender Therapieansatz bei Patienten mit EHEC- assoziierten Diarrhöen zur Vermeidung des hämolytisch-urämischen Syndroms sein kann.

Bei dem untersuchten Patientenkollektiv handelt es sich jedoch um eine geringe Fallzahl mit einer kleinen Interventions- und Kontrollgruppe. Weitere prospektive Studien mit größeren Fallzahlen sind notwendig um die positiven Effekte der wiederholten Darmspülung mit PEG bei EHEC assoziierten blutigen Diarrhoen zu bestätigen. Auch gilt es in Zukunft, die genauen Mechanismen zu erklären, die den positiven Effekt der zusätzlichen Behandlung mit der PEG-Lösung beschreibt.

Ein großer Vorteil der PEG- Therapie besteht in einer hohen Anwendungssicherheit und geringen Kosten bezüglich der verabreichten PEG-Lösung.

Ingesamt konnte gezeigt werden, dass eine täglich durchgeführte Darmspülung mit PEG in Kombination mit einer ausreichenden intravenösen Flüssigkeitstherapie bei Patienten mit EHEC assoziierten hämorrhagischen Diarrhöen scheinbar die Entwicklung eines HUS verhindern kann.

5. Zusammenfassung

Das hämolytisch-urämische Syndrom ist charakterisiert als Anstieg der Retentionsparameter mit konsekutiver Einschränkung der Nierenfunktion, Thrombozytopenie sowie einer hämolytischen Anämie und ist eine gefürchtete Komplikation der Infektion mit enterohämorrhagischen *Escherichia coli*.

EHEC- Epidemien, die weltweit hauptsächlich durch den Stamm O157 hervorgerufen werden, betreffen häufig primär Kinder, jedoch wurde im Zuge der in den letzten Jahren gehäuft aufgetretenen Ausbrüchen auch vermehrt erwachsene Personen infiziert.

Während des Ausbruchs der EHEC- Epidemie im Großraum Hamburg im Sommer 2011, ausgelöst durch den EHEC-Stamm O104:H4, kam es zu einer ungewöhnlich hohen Anzahl von EHEC- assoziierten HUS-Fällen. Die Therapie von EHEC-infizierten Patienten, die unter blutigen Diarrhoen leiden und ein HUS entwickeln können, ist schwierig,

Da der präventive Einsatz von Antibiotika aufgrund berichteter erhöhten HUS- Raten umstritten ist, besteht die lediglich die Empfehlung zur suffizienten Volumentherapie in EHEC-infizierten Patienten. Eine wirksame Behandlung zur Vermeidung des HUS ist nicht beschrieben.

In der Ausbruchsperiode von Mai bis Juni 2011 wurden Patienten, die unter blutigen Diarrhoen litten und als Risikopatient für die Entwicklung eines HUS angesehen wurden, stationär aufgenommen. Nach dem positiven klinischen und laborchemischen Verlauf einer EHEC- Patientin, die bei progredienter Ileus-Symptomatik eine PEG- Lösung zur Darmspülung erhielt, wurden alle folgenden EHEC-Patienten täglich mit zwei Litern PEG-Lösung zur repetitiven Darmspülung behandelt. Unter dieser Therapie kam es im Vergleich zu konservativ behandelten Patienten zu einer statistisch signifikant geringeren HUS- Rate.

Obwohl ein gut belegter Wirkmechanismus bezüglich der PEG- Applikation und der geringeren HUS-Rate nicht besteht, konnte gezeigt werden, dass die einfache und kostengünstige repetitive Darmspülung mit PEG- Lösung bei EHEC- Infektion als eine mögliche Therapie erscheinen lässt.

II. Abkürzungsverzeichnis

A/E	attaching and effacing (engl); anheftend und beseitigend (dt)
aHUS	atypisches HUS
AKIN	Acute Kidney Injury Network
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
Bili	Bilirubin
Bzw.	beziehungsweise
CRP	C- reaktives Protein
d	day (engl); Tag (dt)
DAEC	diffus-adhärente E. coli
dl	Deziliter
DNA	deoxyribonucleic acid (engl); Desoxyribonukleinsäure (dt)
E. coli	Escherichia coli
EAggEC, EAEC	enteroaggregative E. coli
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EHEC	enterohämorrhagische E. coli
EIEC	enteroinvasive E. coli
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EPEC	enterpathogene E. coli
ETEC	enterotoxische E. coli
ESBL	Extended– Spectrum Beta- Laktamase
Gb3	Globotriaosylceramide Rezeptor
H	Geißel
Hb	Hämoglobin
HC	hämorrhagische Kolitis
HlyA	alpha-Hämolysin
HUS	hämolytisch-urämisches Syndrom
i.v.	intravenös
IE/l	Internationale Einheit pro Liter
JAMA	Journal of American Medical Association
K	Kapsel
kDa	Kilodalton

Krea	Kreatinin
LDH	Lactatdehydrogenase
Leuk	Leukozyten
LPS	Lipopolysaccharide
LT	heat labile toxine (engl); hitzelabiles Toxin (dt)
MCP	Metoclopramid
mg	Milligramm
NaCl	Natriumchlorid
NSAR	nicht- steroidale Antirheumatika
O	Oberfläche
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PNH	paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
RKI	Robert-Koch-Institut
rRNA	ribosomal ribonucleic acid (engl); ribosomale Ribonukleinsäure (dt)
ST	heat stabile toxine (engl); hitzestabiles Toxin (dt)
STEC	Shigatoxin-produzierende E. coli
Stx	Shiga-Toxin
Thro	Thrombozyten
UKE	Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf
VTEC	Verotoxin-produzierende E. coli
Vtx	Vero-Toxin
ZNS	zentrales Nervensystem
µl	Mikroliter

III. Literaturverzeichnis

Abba K, Sinfield R, Hart CA, Garner P. Pathogens associated with persistent diarrhoea in children in low and middle income countries: systematic review. BMC Infect Dis. 2009 Jun 10;9:88. doi: 10.1186/1471-2334-9-88.

Ackers ML, Mahon BE, Leahy E, Goode B, Damrow T, Hayes PS, Bibb WF, Rice DH, Barrett TJ, Hutwagner L, Griffin PM, Slutsker L, An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption, J Infect Dis. 1998 Jun;177(6):1588-93.

Adachi JA, Ericsson CD, Jiang ZD, DuPont MW, Pallegar SR, DuPont HL, Natural history of enteroaggregative and enterotoxigenic *Escherichia coli* infection among US travelers to Guadalajara, Mexico, J Infect Dis. 2002 Jun 1;185(11):1681-3. Epub 2002 May 17.

Ake JA, Jelacic S, Ciol MA, Watkins SL, Murray KF, Christie DL, Klein EJ, Tarr PI. Relative nephroprotection during *Escherichia coli* O157:H7 infections: association with intravenous volume expansion. Pediatrics. 2005 Jun;115(6):e673-80.

Amirlak I, Amirlak B, Haemolytic uraemic syndrome: an overview, Nephrology (Carlton). 2006 Jun;11(3):213-8.

Arora R, Srinivasan R. Is polyethylene glycol safe and effective for chronic constipation in children? Arch Dis Child. 2005 Jun;90(6):643-6.

Aurass P, Prager R, Flieger A, EHEC/EAEC O104:H4 strain linked with the 2011 German outbreak of haemolytic uremic syndrome enters into the viable but non-culturable state in response to various stresses and resuscitates upon stress relief. Environ Microbiol (2011) 13: 3139–3148.

Bae WK, Lee YK, Cho MS, Ma SK, Kim SW, Kim NH, Choi KC. A case of hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O104:H4. Yonsei Med J. 2006 Jun 30;47(3):437-9.

Bass P, Dennis S. The laxative effects of lactulose in normal and constipated subjects. *J Clin Gastroenterol*. 1981;3(Suppl 1):23–28.

Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, Davis MA, Gordon DC, Tarr PI, Bartleson CA, Lewis JH, Barrett TJ, Wells JG. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience. *JAMA*. 1994 Nov 2;272(17):1349-53.

Bell BP, Griffin PM, Lozano P, Christie DL, Kobayashi JM, Tarr PI. Predictors of hemolytic uremic syndrome in children during a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections, *Pediatrics*. 1997 Jul;100(1):E12.

Bennish ML, Khan WA, Begum M, Bridges EA, Ahmed S, Saha D, Salam MA, Acheson D, Ryan ET. Low risk of hemolytic uremic syndrome after early effective antimicrobial therapy for *Shigella dysenteriae* type 1 infection in Bangladesh. *Clin Infect Dis*. 2006 Feb 1;42(3):356-62. Epub 2005 Dec 21.

Besser RE, Lett SM, Weber JT, Doyle MP, Barrett TJ, Wells JG, Griffin PM. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA*. 1993 May 5;269(17):2217-20.

Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, Peters G, Karch H. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis*. 2011 Sep;11(9):671-6. Epub 2011 Jun 22.

Bielaszewska M, Sinha B, Kuczius T, Karch H. Cytolethal distending toxin from Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 causes irreversible G2/M arrest, inhibition of proliferation, and death of human endothelial cells. *Infect Immun*. 2005 Jan;73(1):552-62.

Bitzan M (2009) Treatment options for HUS secondary to *Escherichia coli* O157:H7. *Kidney Int.Suppl* S62–S66.

Blanco M, Podola NL, Krüger A, Sanz ME, Blanco JE, González EA, Dahbi G, Mora A, Bernárdez MI, Etcheverria AL, Arroyo GH, Lucchesi PMA, Parma AE, Blanco J. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. *Int Microbiol.* 2004;7:269–276.

Breuer T, Benkel DH, Shapiro RL, Hall WN, Winnett MM, Linn MJ, Neimann J, Barrett TJ, Dietrich S, Downes FP, Toney DM, Pearson JL, Rolka H, Slutsker L, Griffin PM; Investigation Team. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *Emerg Infect Dis.* 2001 Nov-Dec;7(6):977-82.

Brunder W, Schmidt H, Karch H. EspP, a novel extracellular serine protease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 cleaves human coagulation factor V. *Mol Microbiol.* 1997;24:767–778.

Brzuszkiewicz E, Thurmer A, Schuldes J, Leimbach A, Liesegang H, et al. (2011) Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Enter-Aggregative-Haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Arch Microbiol* 193: 883–891.

Buchholz U, Bernard H, Werber D, Böhmer MM, Remschmidt C, Wilking H, Deleré Y, an der Heiden M, Adlhoch C, Dreesman J, Ehlers J, Ethelberg S, Faber M, Frank C, Fricke G, Greiner M, Höhle M, Ivarsson S, Jark U, Kirchner M, Koch J, Krause G, Lubert P, Rosner B, Stark K, Kühne M. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N Engl J Med*. 2011 Nov 10;365(19):1763-70. Epub 2011 Oct 26.

Cassels FJ, Wolf MK. Colonization factors of diarrheagenic *E. coli* and their intestinal receptors. *J Ind Microbiol*. 1995 Sep;15(3):214-26.

Chaisri U, Nagata M, Kurazono H, Horie H, Tongtawe P, Hayashi H, Watanabe T, Tapchaisri P, Chongsa-nguan M, Chaicumpa W. Localization of Shiga toxins of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in kidneys of paediatric and geriatric patients with fatal haemolytic uraemic syndrome. *Microb Pathog*. 2001 Aug;31(2):59-67.

Chandler WL, Jelacic S, Boster DR, Ciol MA, Williams GD, Watkins SL, Igarashi T, Tarr PI, Prothrombotic coagulation abnormalities preceding the hemolytic-uremic syndrome, *N Engl J Med*. 2002 Jan 3;346(1):23-32.

Chattaway MA, Dallman T, Okeke IN, Wain J (2011) Enterohemorrhagic *E. coli* O104 from an outbreak of HUS in Germany 2011, could it happen again? *J Infect Dev Ctries* 5: 425–436.

Cimolai N, Basalyga S, Mah DG A continuing assessment of risk factors for the development of *Escherichia coli* O157:H7-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin Nephrol*. 1994;42:85–9.

Cimolai N, Carter JE, Morrison BJ, Anderson JD Risk factors for the progression of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis to hemolytic-uremic syndrome. J Pediatr. 1990;116:589–92. doi: 10.1016/S0022-3476(05)81609-9.

Cody SH, Glynn MK, Farrar JA, Cairns KL, Griffin PM, Kobayashi J, Fyfe M, Hoffman R, King AS, Lewis JH, Swaminathan B, Bryant RG, Vugia DJ. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. Ann Intern Med. 1999 Feb 2;130(3):202-9.

Colic E, Dieperink H, Titlestad K, Tepel M. Management of an acute outbreak of diarrhoea-associated haemolytic uraemic syndrome with early plasma exchange in adults from southern Denmark: an observational study. Lancet. 2011 Sep 17;378(9796):1089-93. Epub 2011 Aug 24.

Cornick NA, Jelacic S, Ciol MA, Tarr PI. *Escherichia coli* O157:H7 infections: discordance between filterable fecal shiga toxin and disease outcome. J Infect Dis. 2002 Jul 1;186(1):57-63. Epub 2002 Jun 10.

Dean P., Maresca M., Kenny B. EPEC's weapons of mass subversion. Curr Opin Microbiol. 2005;8:28–34.

Denamur E. The 2011 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak: a lesson in genomic plasticity. Clin Microbiol Infect. 2011 Aug;17(8):1124-5. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03620.x.

Deng W, Puente JL, Gruenheid S, Li Y, Vallance BA, Vázquez A, Barba J, Ibarra JA, O'Donnell P, Metalnikov P, Ashman K, Lee S, Goode D, Pawson T, Finlay BB. Dissecting virulence: systematic and functional analyses of a pathogenicity island, Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Mar 9;101(10):3597-602. Epub 2004 Feb 26.

DiPalma J A. Current treatment options for chronic constipation. Rev Gastroenterol Disord. 2004;4(Suppl 2):S34–S42.

Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2001. pp. 171–191.

Dulguer MV, Fabbriotti SH, Bando SY, Moreira-Filho CA, Fagundes-Neto U, Scaletsky IC. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains: phenotypic and genetic profiling reveals a strong association between enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin and diarrhea. J Infect Dis. 2003;188:1685–1694.

Dundas S, Murphy J, Soutar RL, Jones GA, Hutchinson SJ, Todd WT. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. Lancet. 1999 Oct 16;354(9187):1327-30.

Dundas S, Todd WT, Stewart AI, Murdoch PS, Chaudhuri AK, Hutchinson SJ. The central Scotland *Escherichia coli* O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients. Clin Infect Dis. 2001 Oct 1;33(7):923-31. Epub 2001 Sep 5.

Dutta S, Pal S, Chakrabarti S, Dutta P, Manna B. Use of PCR to identify enteroaggregative *Escherichia coli* as an important cause of acute diarrhoea among children living in Calcutta, India. J Med Microbiol. 1999;48:1011–6. doi: 10.1099/00222615-48-11-1011.

Endo Y., Tsurugi K., Yutsudo T., Takeda Y., Ogasawara T., Igarashi K. (1988). Site of action of a Vero toxin (VT2) from *Escherichia coli* O157, H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosidase activity of the toxins. Eur. J. Biochem. 171, 45–50. doi: 10.1111/j.1432-1033.1988.tb13756.x.

Ergonul Z, Hughes AK, Kohan DE. Induction of apoptosis of human brain microvascular endothelial cells by shiga toxin 1. J Infect Dis. 2003;187:154–8.

Ferguson DD, Scheftel J, Cronquist A, Smith K, Woo-Ming A, Anderson E, Knutsen J, De AK, Gershman K. Temporally distinct *Escherichia coli* O157 outbreaks associated with alfalfa sprouts linked to a common seed source--Colorado and Minnesota, 2003. Epidemiol Infect. 2005 Jun;133(3):439-47.

Francis DH, Collins JE, Duimstra JR. Infection of gnotobiotic pigs with an *Escherichia coli* O157:H7 strain associated with an outbreak of hemorrhagic colitis, Infect Immun. 1986 Mar;51(3):953-6.

Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, Bernard H, Fruth A, Prager R, Spode A, Wadl M, Zoufaly A, Jordan S, Kemper MJ, Follin P, Müller L, King LA, Rosner B, Buchholz U, Stark K, Krause G; HUS Investigation Team. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 2011 Nov 10;365(19):1771-80. Epub 2011 Jun 22.

Fukushima H, Hashizume T, Morita Y, Tanaka J, Azuma K, Mizumoto Y, Kaneno M, Matsuura M, Konma K, Kitani T. Clinical experiences in Sakai City Hospital during the massive outbreak of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infections in Sakai City, 1996. *Pediatr Int*. 1999 Apr;41(2):213-7.

Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebmann RE, Oechslin R (1955) Hämolytisch-urämische Syndrome: Bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 85, pp. 905-909.

Gianviti A, Rosmini F, Caprioli A Hemolytic uremic syndrome in childhood: surveillance and case control studies in Italy. Italian HUS Study Group. *Pediatr Nephrol*. 1994;8:705–9. doi: 10.1007/BF00869095.

Gould LH, Bopp C, Strockbine N, Atkinson R, Baselski V, Body B, Carey R, Crandall C, Hurd S, Kaplan R, Neill M, Shea S, Somsel P, Tobin-D'Angelo M, Griffin PM, Gerner-Smidt P; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for diagnosis of shiga toxin--producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *MMWR Recomm Rep*. 2009 Oct 16;58(RR-12):1-14.

Grif K, Dierich MP, Karch H, Allerberger F, Strain-specific differences in the amount of Shiga toxin released from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 following exposure to subinhibitory concentrations of antimicrobial agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998 Nov;17(11):761-6.

Guh A, Phan Q, Nelson R, Purviance K, Milardo E, Kinney S, Mshar P, Kasacek W, Cartter M. Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clin Infect Dis*. 2010 Dec 15;51(12):1411-7. Epub 2010 Nov 8.

Gyles CL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci*. 2007 Mar;85(13 Suppl):E45-62. Epub 2006 Nov 3.

Harrington SM, Dudley EG, Nataro JP. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *FEMS Microbiol Lett*. 2006 Jan;254(1):12-8.

Hilborn ED, Mermin JH, Mshar PA, Hadler JL, Voetsch A, Wojtkunski C, Swartz M, Mshar R, Lambert-Fair MA, Farrar JA, Glynn MK, Slutsker L. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Arch Intern Med*. 1999 Aug 9-23;159(15):1758-64.

Hill DR, Beeching NJ, Travelers' diarrhea, *Curr Opin Infect Dis*. 2010 Oct;23(5):481-7

<http://www.dgfn.eu/aktuell/ehec-informationen/fuer-das-fachpublikum/therapeutische-apheresebehandlung-bei-ehec-assoziertem-hus.html>.

<http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/E/EHEC/EHEC-Abschlussbericht.html>

Hughes AK, Ergonul Z, Stricklett PK, Kohan DE. Molecular basis for high renal cell sensitivity to the cytotoxic effects of shigatoxin-1: upregulation of globotriaosylceramide expression. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:2239–45.

Ikeda K, Ida O, Kimoto K, Takatorige T, Nakanishi N, Tatara K Predictors for the development of haemolytic uremic syndrome with *Escherichia coli* O157:H7 infections: with focus on the day of illness. *Epidemiol Infect*. 2000;124:343–9. doi: 10.1017/S0950268899003945.

Ikeda K, Ida O, Kimoto K, Takatorige T, Nakanishi N, Tatara K. Effect of early fosfomycin treatment on prevention of hemolytic uremic syndrome accompanying *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Clin Nephrol*. 1999 Dec;52(6):357-62.

Inward CD, Howie AJ, Fitzpatrick MM, Rafaat F, Milford DV, Taylor CM. Renal histopathology in fatal cases of diarrhoea-associated haemolytic uraemic syndrome. *British Association for Paediatric Nephrology. Pediatr Nephrol*. 1997 Oct;11(5):556-9.

Itoh Y, Nagano I, Kunishima M, Ezaki T. Laboratory investigation of enteroaggregative *Escherichia coli* O untypeable:H10 associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness. *J Clin Microbiol*. 1997 Oct;35(10):2546-50.

John R, Herzenberg AM. Renal toxicity of therapeutic drugs. *J Clin Pathol*. 2009 Jun;62(6):505-15. doi: 10.1136/jcp.2008.058271.

Johnson JR, *Clin Microbiol Rev*. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. 1991 Jan;4(1):80-128.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL, Pathogenic *Escherichia coli*, *Nat Rev Microbiol*. 2004 Feb;2(2):123-40.

Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C, Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools, *Lancet*. 1983 Mar 19;1(8325):619-20.

Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1989 Jan;2(1):15-38.

Karpac CA, Li X, Terrell DR, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Vesely SK, George JN, Sporadic bloody diarrhoea-associated thrombotic thrombocytopenic purpura-haemolytic uraemic syndrome: an adult and paediatric comparison. *Br J Haematol*. 2008 May;141(5):696-707. Epub 2008 Apr 15.

Karpman D, Håkansson A, Perez MT, Isaksson C, Carlemalm E, Caprioli A, Svanborg C. Apoptosis of renal cortical cells in the hemolytic-uremic syndrome: in vivo and in vitro studies. *Infect Immun*. 1998 Feb;66(2):636-44.

Kimmitt PT, Harwood CR, Barer MR, Toxin gene expression by shiga toxin-producing *Escherichia coli*: the role of antibiotics and the bacterial SOS response. *Emerg Infect Dis*. 2000 Sep-Oct;6(5):458-65.

Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S, Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*, *Infect Immun*. 1977 Dec;18(3):775-9.

Laing CR, Zhang Y, Gilmour MW, Allen V, Johnson R, Thomas JE, Gannon VP. Source A comparison of Shiga-toxin 2 bacteriophage from classical enterohemorrhagic *Escherichia coli* serotypes and the German *E. coli* O104:H4 outbreak strain. *PLoS One*. 2012;7(5):e37362. Epub 2012 May 23.

Lapeyraque AL, Malina M, Fremeaux-Bacchi V, Boppel T, Kirschfink M, Oualha M, Proulx F, Clermont MJ, Le Deist F, Niaudet P, Schaefer F. Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *N Engl J Med*. 2011 Jun 30;364(26):2561-3. doi: 10.1056/NEJMc1100859. Epub 2011 May 25.

Levine MM, Edelman R, Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis, *Epidemiol Rev*. 1984;6:31-51.

Levine MM, Ferreccio C, Prado V, Cayazzo M, Abrego P, Martinez J, Maggi L, Baldini MM, Martin W, Maneval D, Kay B, Guers L, Lior H, Wasserman SS, Nataro JP. Epidemiologic studies of *Escherichia coli* diarrheal infections in a low socioeconomic level peri-urban community in Santiago, Chile. *Am J Epidemiol*. 1993;138:849–869.

Levine, M. M., P. Ristaino, G. Marley, C. Smyth, S. Knutton, E. Boedeker, R. Black, C. Young, M. L. Clements, C. Cheney, and R. Patnaik. 1984. Coli surface antigens 1 and 3 of colonization factor antigen II-positive enterotoxigenic *Escherichia coli*: morphology, purification, and immune responses in humans. *Infect. Immun*. 44:409–420.

Liacouras CA, Piccoli DA. Whole-bowel irrigation as an adjunct to the treatment of chronic, relapsing *Clostridium difficile* colitis. *J Clin Gastroenterol*. 1996 Apr;22(3):186-9.

MacConnachie AA, Todd WT. Potential therapeutic agents for the prevention and treatment of haemolytic uraemic syndrome in shiga toxin producing *Escherichia coli* infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2004 Oct;17(5):479-82.

Matsell DG, White CT. An outbreak of diarrhea-associated childhood hemolytic uremic syndrome: the Walkerton epidemic. *Kidney Int Suppl*. 2009 Feb;(112):S35-7.

McDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS, Kaper JB. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Feb 28;92(5):1664-8.

McKenna T, Macgill A, Porat G, Friedenber FK. Colonoscopy preparation: polyethylene glycol with Gatorade is as safe and efficacious as four liters of polyethylene glycol with balanced electrolytes. *Dig Dis Sci*. 2012 Dec;57(12):3098-105. doi: 10.1007/s10620-012-2266-5. Epub 2012 Jun 19.

Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A; Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31.

Mellmann A, Bielaszewska M, Köck R, Friedrich AW, Fruth A, Middendorf B, Harmsen D, Schmidt MA, Karch H. Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis*. 2008 Aug;14(8):1287-90.

Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, Prior K, Szczepanowski R, Ji Y, Zhang W, McLaughlin SF, Henkhaus JK, Leopold B, Bielaszewska M, Prager R, Brzoska PM, Moore RL, Guenther S, Rothberg JM, Karch H. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One*. 2011;6(7):e22751. Epub 2011 Jul 20.

Menne J, Nitschke M, Stingle R, Abu-Tair M, Beneke J, Bramstedt J, Bremer JP, Brunkhorst R, Busch V, Dengler R, Deuschl G, Fellermann K, Fickenscher H, Gerigk C, Goettsche A, Greeve J, Hafer C, Hagenmüller F, Haller H, Herget-Rosenthal S, Hertenstein B, Hofmann C, Lang M, Kielstein JT, Klostermeier UC, Knobloch J, Kuehbacher M, Kunzendorf U, Lehnert H, Manns MP, Menne TF, Meyer TN, Michael C, Münte T, Neumann-Grutzeck C, Nuernberger J, Pavenstaedt H, Ramazan L, Renders L, Repenthin J, Ries W, Rohr A, Rump LC, Samuelsson O, Sayk F, Schmidt BM, Schnatter S, Schöcklmann H, Schreiber S, von Seydewitz CU, Steinhoff J, Stracke S, Suerbaum S, van de Loo A, Vischedyk M, Weissenborn K, Wellhöner P, Wiesner M, Zeissig S, Büning J, Schiffer M, Kuehbacher T; EHEC-HUS consortium. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ*. 2012 Jul 19;345:e4565. doi: 10.1136/bmj.e4565.

Michael M, Elliott EJ, Craig JC, Ridley G, Hodson EM. Interventions for hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis*. 2009 Feb;53(2):259-72. Epub 2008 Oct 31.

Michino H, Araki K, Minami S, Takaya S, Sakai N, Miyazaki M, Ono A, Yanagawa H, Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts, *Am J Epidemiol*. 1999 Oct 15;150(8):787-96.

Miyagawa A, Watanabe M, Igai K, Kasuya MC, Natori Y, Nishikawa K, Hatanaka K. Development of dialyzer with immobilized glycoconjugate polymers for removal of Shiga-toxin. *Biomaterials*. 2006 Jun;27(17):3304-11. Epub 2006 Feb 24.

Mora A, Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, López C, Justel P, Alonso MP, Echeita A, Bernárdez MI, González EA, Blanco J. Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from minced beef in Lugo (Spain) from 1995 through 2003. *BMC Microbiol*. 2007;7:13.
Nataro JP, Deng Y, Maneval DR, German AL, Martin WC, Levine MM. Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *Escherichia coli* mediate adherence to HEp-2 cells and hemagglutination of human erythrocytes. *Infect Immun*. 1992;60:2297–2304.

Nataro JP, Kaper JB, Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998 Jan;11(1):142-201.

Nitschke M, Sayk F, Härtel C, Roseland RT, Hauswaldt S, Steinhoff J, Fellermann K, Derad I, Wellhöner P, Büning J, Tiemer B, Katalinic A, Rupp J, Lehnert H, Solbach W, Knobloch JK. Association between azithromycin therapy and duration of bacterial shedding among patients with Shiga toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4. *JAMA*. 2012 Mar 14;307(10):1046-52. doi: 10.1001/jama.2012.264.

O'Brien AD, LaVeck GD. Purification and characterization of a *Shigella dysenteriae* 1-like toxin produced by *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 1983 May;40(2):675-83.

O'Brien AD, Tesh VL, Donohue-Rolfe A, Jackson MP, Olsnes S, Sandvig K, Lindberg AA, Keusch GT. Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis, *Curr Top Microbiol Immunol*. 1992;180:65-94.

O'Loughlin EV, Robins-Browne RM. Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells, *Microbes Infect*. 2001 May;3(6):493-507.

Obrig TG. Shiga toxin mode of action in *E. coli* O157:H7 disease, *Front Biosci*. 1997 Dec 15;2:d635-42.

Ochoa TJ, Contreras CA. Enteropathogenic *Escherichia coli* infection in children. *Curr Opin Infect Dis*. 2011 Oct;24(5):478-83. doi: 10.1097/QCO.0b013e32834a8b8b.

Ohara T, Kojio S, Taneike I, Nakagawa S, Gondaira F, Tamura Y, Gejyo F, Zhang HM, Yamamoto T. Effects of azithromycin on shiga toxin production by *Escherichia coli* and subsequent host inflammatory response. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Nov;46(11):3478-83.

Ostroff SM, Kobayashi JM, Lewis JH. Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. The first year of statewide disease surveillance. *JAMA*. 1989 Jul 21;262(3):355-9.

Oswald E, Nougayrède JP, Taieb F, Sugai M. Bacterial toxins that modulate host cell-cycle progression. *Curr Opin Microbiol*. 2005 Feb;8(1):83-91.

Panos GZ, Betsi GI, Falagas ME. Systematic review: are antibiotics detrimental or beneficial for the treatment of patients with *Escherichia coli* O157:H7 infection? *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Sep 1;24(5):731-42.

Parsot C, Shigella spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* pathogenicity factors, *FEMS Microbiol Lett*. 2005 Nov 1;252(1):11-8. Epub 2005 Sep 15.

Paton J. C., Paton A. W. (1998). Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 450–479.

Nataro JP, Kaper JB, Robins-Browne R, Prado V, Vial P, Levine MM. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *Pediatr Infect Dis J*. 1987 Sep;6(9):829-31.

Peter Hillmen, M.B., Ch.B., Ph.D., Neal S. Young, M.D., Jörg Schubert, M.D., Robert A. Brodsky, M.D., Gerard Socié, M.D., Ph.D., Petra Muus, M.D., Ph.D., Alexander Röth, M.D., Jeffrey Szer, M.B., B.S., Modupe O. Elebute, M.D., Ryotaro Nakamura, M.D., Paul Browne, M.B., Antonio M. Risitano, M.D., Ph.D., Anita Hill, M.B., Ch.B., Hubert Schrezenmeier, M.D., Chieh-Lin Fu, M.D., Jaroslaw Maciejewski, M.D., Ph.D., Scott A. Rollins, Ph.D., Christopher F. Mojcik, M.D., Ph.D., Russell P. Rother, Ph.D., and Lucio Luzzatto, M.D. The Complement Inhibitor Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria *N Engl J Med* 2006; 355:1233-1243 September 21, 2006 DOI: 10.1056/NEJMoa061648.

Phillips A. D., Navabpour S., Hicks S., Dougan G., Wallis T., Frankel G. (2000). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157, H7 target Peyer's patches in humans and cause attaching/effacing lesions in both human and bovine intestine. *Gut* 47, 377–381. doi: 10.1136/gut.47.3.377.

Piva IC, Pereira AL, Ferraz LR, Silva RS, Vieira AC, Blanco JE, Blanco M, Blanco J, Giugliano LG. Virulence markers of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from children and adults with diarrhea in Brasília, Brazil. *Clin Microbiol.* 2003 May;41(5):1827-32.

Proulx F, Turgeon JP, Delage G, Lafleur L, Chicoine L. Randomized, controlled trial of antibiotic therapy for *Escherichia coli* O157:H7 enteritis. *J Pediatr.* 1992 Aug;121(2):299-303.

Qadri F, Svennerholm AM, Faruque AS, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:465–83. doi: 10.1128/CMR.18.3.465-483.2005.

Quitadamo P, Coccorullo P, Giannetti E, Romano C, Chiaro A, Campanozzi A, Poli E, Cucchiara S, Di Nardo G, Staiano A. A randomized, prospective, comparison study of a mixture of acacia fiber, psyllium fiber, and fructose vs polyethylene glycol 3350 with electrolytes for the treatment of chronic functional constipation in childhood. *J Pediatr*. 2012 Oct;161(4):710-5.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.04.043. Epub 2012 Jun 5.

Ramkumar D, Rao SS. Efficacy and safety of traditional medical therapies for chronic constipation: systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2005 Apr;100(4):936-71.

Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis*. 2005 Apr;11(4):603-9.

Rasko DA, Webster DR, Sahl JW, Bashir A, Boisen N, Scheutz F, Paxinos EE, Sebra R, Chin CS, Iliopoulos D, Klammer A, Peluso P, Lee L, Kislyuk AO, Bullard J, Kasarskis A, Wang S, Eid J, Rank D, Redman JC, Steyert SR, Frimodt-Møller J, Struve C, Petersen AM, Krogfelt KA, Nataro JP, Schadt EE, Waldor MK. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. *N Engl J Med*. 2011 Aug 25;365(8):709-17. Epub 2011 Jul 27.

Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML, Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype, *N Engl J Med*. 1983 Mar 24;308(12):681-5.

Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2010, Berlin, 2011

Robert Koch-Institut. Bericht: Abschliessende Darstellung und Bewertung der epidemiologischen Erkenntnisse im EHEC O104:H4 Ausbruch, Deutschland 2011. Berlin 2011.

Robins-Browne RM, Hartland EL, Escherichia coli as a cause of diarrhea, J Gastroenterol Hepatol. 2002 Apr;17(4):467-75.

Rohde H, Qin J, Cui Y, Li D, Loman NJ, Hentschke M, Chen W, Pu F, Peng Y, Li J, Xi F, Li S, Li Y, Zhang Z, Yang X, Zhao M, Wang P, Guan Y, Cen Z, Zhao X, Christner M, Kobbe R, Loos S, Oh J, Yang L, Danchin A, Gao GF, Song Y, Li Y, Yang H, Wang J, Xu J, Pallen MJ, Wang J, Aepfelbacher M, Yang R; E. coli O104:H4 Genome Analysis Crowd-Sourcing Consortium. Open-source genomic analysis of Shiga-toxin-producing E. coli O104:H4. N Engl J Med. 2011 Aug 25;365(8):718-24. Epub 2011 Jul 27.

Sack R.B., Gorbach S.L., Banwell J.G., Jacobs B., Chatterjee B.D., Mitra R.C. (1971) Enterotoxigenic Escherichia coli isolated from patients with severe cholera-like disease. J. Infect. Dis. 123, 378–385.

Safdar N, Said A, Gangnon RE, Maki DG. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7 enteritis: a meta-analysis. JAMA. 2002 Aug 28;288(8):996-1001.

Sandvig K, van Deurs B, Endocytosis, intracellular transport, and cytotoxic action of Shiga toxin and ricin, Physiol Rev. 1996 Oct;76(4):949-66.

Sandvig K. (2001). Shiga toxins. Toxicon 39, 1629–1635. doi: 10.1016/S0041-0101(01)00150-7.

Sarantuya J, Nishi J, Wakimoto N, Erdene S, Nataro JP, Sheikh J, et al. Typical enteroaggregative *Escherichia coli* is the most prevalent pathotype among *E. coli* strains causing diarrhea in Mongolian children. *J Clin Microbiol.* 2004;42:133–9. doi: 10.1128/JCM.42.1.133-139.2004.

Scaletsky IC, Silva ML, Trabulsi LR. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infect Immun.* 1984;45:534–536.

Scheutz F, Nielsen EM, Frimodt-Møller J, Boisen N, Morabito S, Tozzoli R, Nataro JP, Caprioli A. Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill.* 2011 Jun 16;16(24). pii: 19889.

Schmidt H, Karch H, Beutin L. The large-sized plasmids of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains encode hemolysins which are presumably members of the *E. coli* alpha-hemolysin family. *FEMS Microbiol Lett.* 1994;117:189–196.

Schüller S, Frankel G, Phillips AD. Interaction of Shiga toxin from *Escherichia coli* with human intestinal epithelial cell lines and explants: Stx2 induces epithelial damage in organ culture. *Cell Microbiol.* 2004 Mar;6(3):289-301.

Senerwa D, Olsvik O, Mutanda LN, Lindqvist KJ, Gathuma JM, Fossum K, Wachsmuth K. Enteropathogenic *Escherichia coli* serotype O111:HNT isolated from preterm neonates in Nairobi, Kenya. *J Clin Microbiol.* 1989 Jun;27(6):1307-11.

Shah N, DuPont HL, Ramsey DJ. Global etiology of travelers' diarrhea: systematic review from 1973 to the present. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;80:609–14.

Smith H.W., Gyles C.L. (1970) The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin. *J. Med. Microbiol.* 3, 387–401.

Smith MJ, Carvalho HM, Melton-Celsa AR, O'Brien AD, The 13C4 monoclonal antibody that neutralizes Shiga toxin Type 1 (Stx1) recognizes three regions on the Stx1 B subunit and prevents Stx1 from binding to its eukaryotic receptor globotriaosylceramide, *Infect Immun*. 2006 Dec;74(12):6992-8. Epub 2006 Oct 9.

Smith MJ, Carvalho HM, Melton-Celsa AR, O'Brien AD. The 13C4 monoclonal antibody that neutralizes Shiga toxin Type 1 (Stx1) recognizes three regions on the Stx1 B subunit and prevents Stx1 from binding to its eukaryotic receptor globotriaosylceramide. *Infect Immun*. 2006 Dec;74(12):6992-8. Epub 2006 Oct 9.

Söderström A, Osterberg P, Lindqvist A, Jönsson B, Lindberg A, Blide Ulander S, Welinder-Olsson C, Löfdahl S, Kaijser B, De Jong B, Kühlmann-Berenzon S, Boqvist S, Eriksson E, Szanto E, Andersson S, Allestam G, Hedenström I, Ledet Muller L, Andersson Y. A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. *Foodborne Pathog Dis*. 2008 Jun;5(3):339-49.

Study of intestinal bacterial flora during the first year of life. III. Classification of coliform bacteria according to the Kauffmann-Knipschildt-Vahlne scheme. *Rev Inst Salubr Enferm Trop*. 1950 Mar;11(1):41-52.

Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. 2005 Mar 19-25;365(9464):1073-86.

Tarr PI, Neill MA, Clausen CR, Watkins SL, Christie DL, Hickman RO *E. coli* O157:H7 and the hemolytic uremic syndrome: importance of early cultures in establishing the etiology. *J Infect Dis*. 1990;162:553-6.

Trachtman H, Cnaan A, Christen E, Gibbs K, Zhao S, Acheson DW, Weiss R, Kaskel FJ, Spitzer A, Hirschman GH; Investigators of the HUS-SYNSORB Pk Multicenter Clinical Trial. Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003 Sep 10;290(10):1337-44.

Tulloch EF, Jr, Ryan KJ, Formal SB, Franklin FA. Invasive enteropathic *Escherichia coli* dysentery. An outbreak in 28 adults. *Ann Intern Med*. 1973;79:13–17.

Van Setten P.A., Monnens L.A., Verstraten R.G., van den Heuvel L.P., van Hinsbergh V.W. Effects of verocytotoxin-1 on nonadherent human monocytes: Binding characteristics, protein synthesis, and induction of cytokine release. *Blood*. 1996;88:174–183.

Verweyen HM, Karch H, Allerberger F, Zimmerhackl LB. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) in pediatric hemolytic-uremic syndrome: a prospective study in Germany and Austria. *Infection*. 1999 Nov-Dec;27(6):341-7.

Vieira MC, Hashimoto CL, Carrilho FJ. Bowel preparation for performing a colonoscopy: prospective randomized comparison study between a low-volume solution of polyethylene glycol and bisacodyl versus bisacodyl and a mannitol solution. *Arq Gastroenterol*. 2012 Apr-Jun;49(2):162-8.

Wanke CA, Mayer H, Weber R, Zbinden R, Watson DA, Acheson D. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* as a potential cause of diarrheal disease in adults infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis*. 1998;178:185–90. doi: 10.1086/314443.

Wendel AM, Johnson DH, Sharapov U, Grant J, Archer JR, Monson T, Koschmann C, Davis JP. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with consumption of packaged spinach, August-September 2006: the Wisconsin investigation. *Clin Infect Dis*. 2009 Apr 15;48(8):1079-86.

Wentao Qi,¹ Suhasini Joshi,¹ Christopher R Weber,² Ramesh K Wali,¹ Hemant K Roy,¹ and Suzana D Savkovic¹ Polyethylene glycol diminishes pathological effects of *Citrobacter rodentium* infection by blocking bacterial attachment to the colonic epithelia. *Gut Microbes*. 2011 Sep-Oct; 2(5): 267–273. Published online Sep 1, 2011. doi: 10.4161/gmic.2.5.18256 PMID: PMC3242793

Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med*. 2000 Jun 29;342(26):1930-6.

Wray C, McLaren IM, Randall LP, Pearson GR. Natural and experimental infection of normal cattle with *Escherichia coli* O157. *Vet Rec*. 2000 Jul 15;147(3):65-8.

Zimmerhackl LB (2000) *E. coli*, antibiotics, and the hemolytic uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 342, pp. 1990-1991.

Zoja C, Buelli S, Morigi M, Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: pathophysiology of endothelial dysfunction, *Pediatr Nephrol*. 2010 Nov;25(11):2231-40. Epub 2010 Apr 28.

Zurad EG, Johanson JF. Over-the-counter laxative polyethylene glycol 3350: an evidence-based appraisal. *Curr Med Res Opin*. 2011 Jul;27(7):1439-52. Epub 2011 May 23.

IV. Danksagung

Mein Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Stefan Lüth für die Aufnahme in die EHEC- Arbeitsgruppe und Überlassung des Dissertationsthemas.

Ein weiteres Dankeschön an meinen Betreuer Herrn Dr. med. Thorben Fründt für die Beratung und Unterstützung sowie die kritischen Korrekturlesungen.

V. Lebenslauf

VI. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: