

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Anatomie und Experimentelle Morphologie

Prof. Dr. med. Udo Schumacher

Untersuchung zum Schadensbild der EHEC 0104:H4 assoziierten Enterokolitis in der koloskopischen Nachsorge

Dissertation

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

vorgelegt von:

Julia Ites Leuffert
aus Emden

Hamburg 2022

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 08.09.2022**

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

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Holger Rhode

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: PD Dr. Sebastian Ullrich

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1. Publikation | 2 |
| 2. Zusammenfassende Darstellung der Publikation | 10 |
| 2.1. Einleitung | 10 |
| 2.2 Material und Methoden | 11 |
| 2.2.1 Patienten und Nachsorge-Koloskopien..... | 11 |
| 2.2.2 Makroskopische Koloskopiebefunde und mikroskopische Befunde..... | 11 |
| 2.3 Ergebnisse | 12 |
| 2.3.1 Kohorte und Epidemiologie | 12 |
| 2.3.2 Symptome und klinischer Verlauf | 13 |
| 2.3.3 Koloskopische Nachsorge..... | 16 |
| 2.3.4 Mikroskopische Beurteilung | 16 |
| 2.4. Diskussion..... | 17 |
| 3. Zusammenfassung | 18 |
| 4. Summary | 19 |
| 5. Abkürzungsverzeichnis | 21 |
| 6. Literaturverzeichnis..... | 22 |
| 6. Erklärung des Eigenanteils..... | 26 |
| 7. Danksagung..... | 27 |
| 8. Lebenslauf..... | 28 |
| 9. Eidesstattliche Erklärung | 29 |

1. Publikation

Personal pdf file for

Thorben Fründt, Julia Leuffert, Stefan Groth,
Thomas Rösch, Stefan Steurer, Ansgar W. Lohse,
Sebastian Ullrich, Stefan Lüth

With compliments of Georg Thieme Verlag

www.thieme.de

Low incidence of colonic
complications after severe Shiga
toxin-producing *E. coli* O104:H4
infection

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/a-1545-5322>

For personal use only.
No commercial use, no depositing in repositories.

Publisher and Copyright:
© 2021. Thieme. All rights reserved.
Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany
ISSN 0044-2771

Reprint with the
permission by
the publisher only



Low incidence of colonic complications after severe Shiga toxin-producing *E. coli* O104:H4 infection

Niedrige Inzidenz von Langzeitschäden des Kolon nach schwerer Infektion mit Shiga Toxin produzierenden *E.coli* O104: H4

Authors

Thorben Fründt^{1*}, Julia Leuffert^{2*}, Stefan Groth³, Thomas Rösch⁴, Stefan Steurer⁵, Ansgar W. Lohse¹, Sebastian Ullrich^{6#}, Stefan Lüth^{7#}

Affiliations

- 1 I. Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf (37734), Hamburg, Germany
- 2 Department of Anatomy, University Medical Center Hamburg-Eppendorf (37734), Hamburg, Germany
- 3 GastroZentrum Hirslanden, Zürich, Switzerland
- 4 Interdisciplinary Endoscopy, University Hospital Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany
- 5 Institute of Pathology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf (37734 37734), Hamburg, Germany
- 6 Department of Gastroenterology, Städtisches Krankenhaus Kiel (14962), Kiel, Germany
- 7 Zentrum für Innere Medizin II, Städtisches Klinikum Brandenburg GmbH (72208 72208), Brandenburg an der Havel, Germany

Schlüsselwörter

EHEC O104:H4, postinfektiöses Reizdarmsyndrom, Kolonstenose, intestinale Langzeitschäden nach EHEC-Infektion

Key words

EHEC O104:H4, post-inflammatory irritable bowel syndrome, colonic stenosis, intestinal long-term damage

received 21.01.2021

accepted 25.06.2021

published online 24.11.2021

Bibliography

Z Gastroenterol

DOI 10.1055/a-1545-5322

ISSN 0044-2771

© 2021, Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14, 70469 Stuttgart, Germany

Correspondence

Thorben Fründt

University Medical Center Hamburg-Eppendorf

I. Department of Medicine, Martinistraße 52, 20246

Hamburg, Germany

tfruentd@uke.de

ABSTRACT

Background In summer 2011, Shiga toxin producing *Escherichia coli* (EHEC) serotype O104:H4 caused the most severe EHEC outbreak in Germany to date. The case of a previously recovered patient with symptomatic postinflammatory colonic stenosis following EHEC-infection prompted us to conduct a prospective study to assess the macro- and microscopic intestinal long-term damage in a cohort of patients who had suffered from severe EHEC colitis.

Methods Following EHEC infection in 2011, 182 patients were offered to participate in this study between January 2013 and October 2014 as part of the post-inpatient follow-up care at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf and to undergo colonoscopy with stepwise biopsies. Prior to colonoscopy, medical history and persistent post-infectious complaints were assessed.

Results Out of 182 patients, 22 (12%) participated in the study, 18 (82%) were female. All patients had been hospitalized due severe EHEC enterocolitis: 20 patients (90%) had subsequently developed hemolytic uremic syndrome (HUS), 16 patients (72%) had additionally required dialysis. On assessment prior to colonoscopy, all patients denied any abdominal complaints before EHEC-infection but 8 (36%) patients reported persistent post-infectious symptoms. According to the ROME IV criteria, 4 (18%) patients met the definition for post-infectious irritable bowel syndrome (PI-IBS). In all patients with persistent symptoms, colonoscopies and histological examination were unremarkable. Only in one symptom-free patient, biopsy revealed a locally limited cryptitis of the caecum, while all patients without complaints had inconspicuous histological and endoscopical findings.

Conclusion Following infection colonic stenosis is a serious but rare long-term complication in patients who had suffered from severe enterocolitis. However, a significant proportion of these patients develop PI-IBS.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund Im Sommer 2011 verursachten Shiga-Toxin produzierende *Escherichia coli* (EHEC) -Serotyp O104: H4 den bislang schwersten EHEC-Ausbruch in Deutschland und Europa. Der Fall einer zuvor gesunden Patientin mit symptomatischer, postentzündlicher Kolonstenose nach EHEC-Infektion veran-

* These authors contributed equally and share first co-authorship

These authors contributed equally and share senior authorship

lasste uns, die makro- und mikroskopischen Langzeitschäden des Kolons prospektiv in einer Kohorte von Patienten zu untersuchen, die an einer schweren EHEC-Kolitis gelitten hatten.

Methoden Zwischen Januar 2013 und Oktober 2014 wurden 182 Patienten mit nachgewiesener EHEC O104:H4-Infektion im Rahmen der poststationären Nachsorge am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf eine Studienteilnahme einschließlich einer kompletten Ileo-Koloskopie mit Stufenbiopsien angeboten. Der bisherige Krankheitsverlauf sowie postinfektiös anhaltende Beschwerden wurden vor der Koloskopie erfasst.

Ergebnisse Von 182 Patienten nahmen 22 (12%) an der Studie teil, 18 (82%) waren weiblich. Alle Patienten waren aufgrund einer schwerer EHEC-Enterokolitis stationär behandelt worden: 20 Patienten (90%) hatten während der Infektion

ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) entwickelt, 16 Patienten waren intermittierend dialysepflichtig. Alle Patienten verneinten abdominale Beschwerden vor der stattgehabten EHEC-Infektion, aber 8 (36%) Patienten berichteten über anhaltende postinfektiöse Symptome. Gemäß den ROME IV-Kriterien erfüllten 4 (18%) Patienten die Definition für das postinfektiöse Reizdarmsyndrom (PI-IBS). Bei allen Patienten mit persistierenden Beschwerden zeigte sich in der folgenden Koloskopie ein unauffälliger makro- und mikroskopischer Befund. Nur bei einem symptomfreien Patienten ergab die Biopsie eine lokal begrenzte Kryptitis des Coecums.

Fazit Nach einer Infektion ist eine Kolostenose eine schwerwiegende, aber seltene Langzeitkomplikation bei Patienten mit schwerer Enterokolitis. Ein signifikanter Anteil dieser Patienten entwickelt jedoch PI-IBS.

Introduction

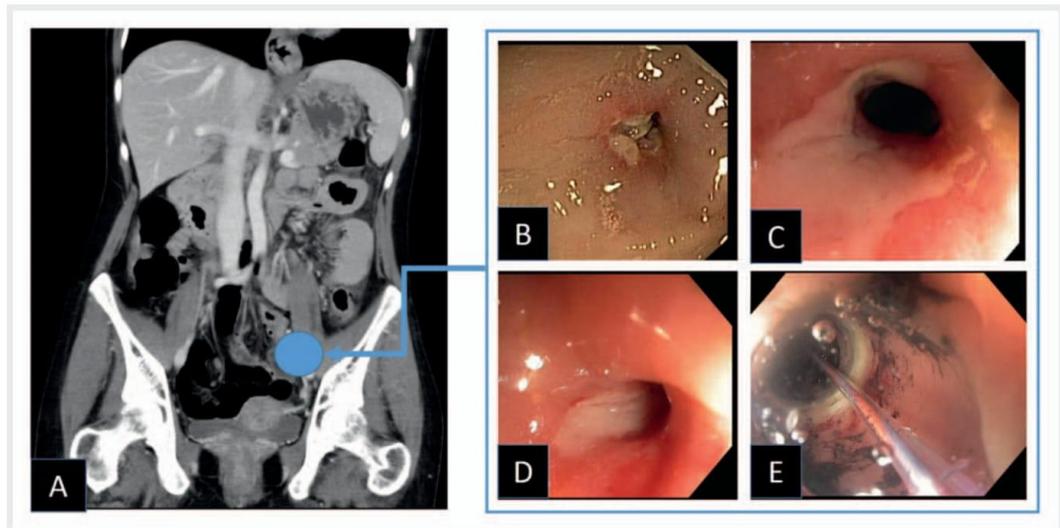
The Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (EHEC) O104:H4 outbreak in 2011 was the largest in Germany to date, affecting over 3800 people who suffered from EHEC-associated enterocolitis [1, 2]. Following oral ingestion, EHEC O104:H4 adheres to epithelial cells of the colon and causes severe mucosal injury, elucidated by the fact that more than 90% of the patients who were infected during the 2011 outbreak developed bloody diarrhea as the first symptom of the infection [3]. Next to the considerable high incidence, the German 2011 outbreak was also characterized by a remarkably high number of patients who developed hemolytic uremic syndrome (HUS) [4, 5]. HUS, first described by Grasser et al. in 1955 and defined by a triad of thrombocytopenia, hemolytic anemia, and acute renal insufficiency, reflects a severe systemic complication following EHEC infection [6]. With more than 850 cases of HUS being reported during the outbreak, the unusual virulence of the causing outbreak strain EHEC O104:H4 is further underlined by the fact that 53 patients died following EHEC-infection [1, 7].

To ensure a routine follow-up for the substantial amount of patients who had suffered from EHEC infection, a structured patient follow-up procedure was established at the outpatient clinic of the University Medical Center of Hamburg-Eppendorf after the outbreak in July 2011. In October 2011, we saw a 42-year-old woman at the outpatient clinic who had suffered from severe EHEC enterocolitis in June 2011. The patient initially presented to the emergency department due to bloody diarrhea and abdominal pain on June 22, 2011. One day before admission, the patient had been tested positive for EHEC O104:H4 infection via stool culture. On admission, she stated that watery diarrhea had started on June 22, 2011, and diarrhea turned bloody during the previous few days. The patient had a previous medical history of migraines, was not taking any medication regularly, and had no abdominal complaints before the onset of EHEC infection. Laboratory results on admission revealed a HUS with severe thrombocytopenia (52 Mrd./l), acute renal insufficiency with a creatinine level of 2.5, and an estimated glomerular filtration rate of 22.4 ml/min as well

as evidence of hemolysis. The patient was subsequently transferred to the department of nephrology where plasmaseparation was initiated on the same day. As the kidney function was further decreasing on the next morning, the patient additionally required hemodialysis. In addition to acute kidney injury, she developed neurologic symptoms (apraxia, organic brain syndrome) 2 days after admission. Because of the overall deteriorated clinical status, treatment with eculizumab, a monoclonal antibody inhibiting the complement component C5, was initiated [4, 8, 9]. While renal function and hemolysis improved gradually within the following days, the patient reported persistent abdominal discomfort. An MRI of the abdomen, conducted 4 days after admission, revealed intraabdominal fluid and a marked thickening of the entire colon. Suspecting the development of a toxic megacolon, antibiotic treatment with meropenem was initiated the same day, leading to a decrease of inflammatory parameters and a stepwise improvement of clinical symptoms. After a total of 37 days, when renal function had gone back to normal and HUS had been resolved, the patient was discharged on July 29, 2011.

Immediately after being discharged, the patient suffered from persistent anemia and abdominal discomfort and reported sporadic bloody bowel movements. On November 3, 145 days after the onset of the EHEC infection, a colonoscopy was performed due to persistent gastrointestinal bleeding. Endoscopic examination revealed a non-passable stenosis with surrounding vulnerable mucous membrane in the descending colon at about 50 cm from the anocutaneous line. Clinical course and endoscopic findings are shown in ► **Fig. 1**. Stool samples revealed no evidence of bacterial or viral gastrointestinal infection, and repeated biopsies of the stenosis provided no evidence of malignancy or chronic inflammatory bowel disease (IBD). The histological findings were consistent with a scarred stenosis, most likely as a result of severe EHEC-associated enterocolitis.

Although EHEC outbreaks are frequent and occur worldwide, little is known about the prevalence of long-term colonic damage following EHEC infection. Therefore, we conducted a prospective study in a cohort of well-characterized patients to determine his-



► **Fig. 1** Abdominal CT-scan of the index patient (A). Colonoscopy revealed an impassable inflammatory stenosis of the sigmoid colon (B) with partially erosive-inflammatory mucosa (C, D). Treatment consisted of repeated dilatation (E). Colonoscopy of the remaining sections of the colon was unremarkable and showed no further source of bleeding.

tological, endoscopic, and clinical complications of the colon after severe EHEC O104:H4 enterocolitis.

Materials and methods

Patients with proven EHEC O104:H4 infection, diagnosed by stool culture or detection of Shiga toxin 2 in stool samples via a polymerase chain reaction, were eligible for this study. From May 2011 on, a total of 182 patients who had suffered from EHEC O104:H4-infection were regularly seen every 3 months at the outpatient department of the University Medical Center Hamburg-Eppendorf and the Asklepios Medical Center Hamburg-Altona. All patients were offered participation in the study between January 2013 and October 2014. Patients were thoroughly informed about the colonoscopy including a step biopsy, and written consent was obtained before the procedure. Pre-existing conditions, abdominal complaints before the onset of EHEC infection, disease progression including relevant laboratory parameters, complications during the clinical course, medication and therapy procedures as well as persistent abdominal symptoms at the time of colonoscopy were assessed. The HUS was defined as hemolytic anemia (hemoglobin < 10 g/dL), thrombocytopenia (thrombocytes < $150 \times 10^9/L$), and acute renal impairment (creatinine above the upper limit of normal range). This study was approved by the Ethics Committee of the Hamburg Medical Association (PV 4251).

Colonoscopy: Endoscopic procedures were conducted at the Department of Endoscopy of the University Hospital Hamburg-Eppendorf and the Department of Gastroenterology, Asklepios Hospital Hamburg-Altona, from January 2013 to December 2015

by experienced physicians. As part of the colonoscopy, biopsies were taken from the cecum, ascending colon, transverse colon, descending colon, sigmoid, and rectum. Conspicuous findings (especially strictures, macroscopic areas, or suspicious space requirements) were recorded separately. Histological examination: The biopsies were assessed by an expert pathologist of gastrointestinal diseases in the Department of Pathology of the University Hospital Hamburg-Eppendorf. Periodic acid-Schiff reaction staining was performed in addition to the hematoxylin-eosin staining. In selected cases, Elastika-van Gieson staining for the specific representation of collagen fibers was added. All biopsies were examined for inflammatory changes (hyperemia, necrosis, lymphocytic and eosinophilic infiltrations). Scarring was assessed by visualization of collagen fibers. Assessment of chronic ischemia was made by evaluating the atrophy of mucous membrane crypts as well as the fibrosis of the stroma. Statistic: Data were analyzed using PRISM (GraphPad, Version 5). Descriptive statistics are presented for categorical variables (patient count and percentage) and for continuous variables (median and range). Fisher's exact test was used to compare categorical data. P-value of < .05 was considered statistically significant.

Results

Twenty-seven of 182 patients with proven EHEC-O104: H4 infection who were monitored at the outpatient department of the 2 study sites participated in the study, of which 5 patients withdrew their consent before colonoscopy. Twenty-two patients underwent colonoscopy with stepwise biopsy. The participating patients suffered from EHEC O104: H4 infection between May 16,

2011, and June 6, 2011. Colonoscopies were performed between January 2013 and December 2015 at a median of 32 months after the infection (range 18–54 months). All patients stated that they had not suffered from any abdominal complaints before the onset of EHEC-infection. Most patients (77%) were female, and the median age was 43 years (range 25–76 years). The majority of the patients (72%) had developed HUS; in 10 (45%) patients, neurological symptoms occurred during EHEC-infection, including seizures (n = 6), delirium (n = 1), concentration disorders (n = 1), acalculia (n = 1), and apraxia (n = 1). Demographic details and clinical course during the acute phase of HUS are depicted in ► **Table 1**. Colonoscopy of the 22 patients showed normal endoscopic findings in 20 (90%) patients. In 2 patients, erosions of the caecum and terminal ileum were detected. Both patients reported persistent abdominal symptoms but had normal histological findings (see below). Structural changes such as stenosis, fistula, or macroscopically visible scarring of the mucosa were excluded in all patients. Coecal biopsy of 1 patient revealed a locally limited cryptitis. This patient was free of any symptoms. The remaining 21 patients showed no histological abnormalities; chronic inflammation or scarification was not detectable. Results are depicted in ► **Fig. 2**. At the time of colonoscopy, 8 patients (36%) reported persistent post-infectious complaints: diffuse abdominal pain (n = 4), diarrhea (n = 2), constipation (n = 1), and meteorism (n = 1). According to the ROME IV criteria, 4 patients fulfilled the diagnosis of post-infectious irritable bowel syndrome (PI-IBS) [10].

Discussion

For the first time, this prospective study evaluated potential structural damage of the colon during long-term follow-up after EHEC O104:H4 infection, combining data on endoscopy, histology, and patient-reported symptoms. The high percentage of women and the median age of patients participating in the study were comparable to demographic characteristics of EHEC patients previously

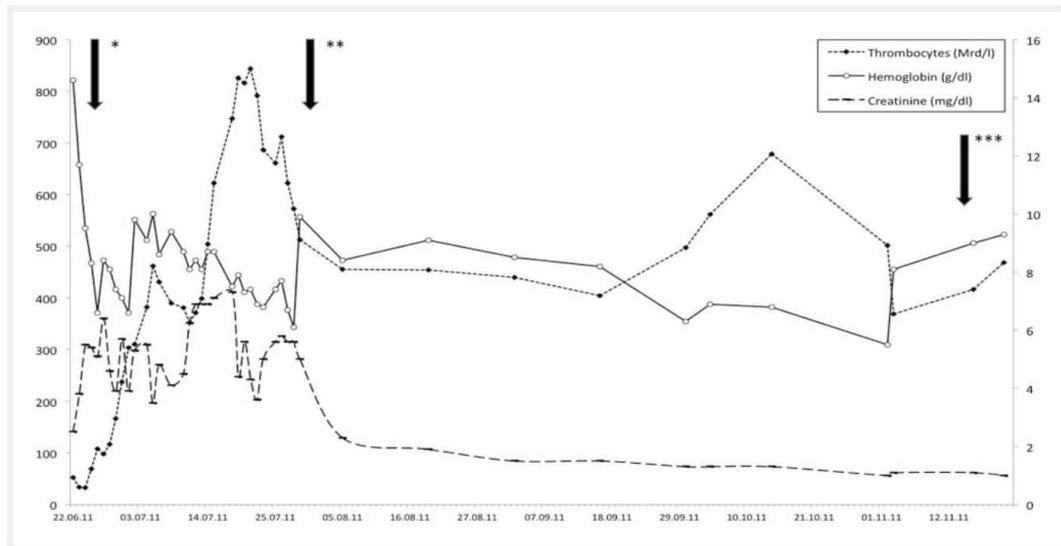
described, indicating that the population in our study can be regarded as a representative sample [11, 12]. On the other hand, although more than 180 patients had been asked to participate, only 22 (12%) patients finally participated, indicating a possible bias toward a subgroup of patients with persistent complaints. Therefore, a preselection of still symptomatic patients as favorable candidates to participate in our volunteer study has to be taken into account.

The genetic analyses of the outbreak strain O104:H4 elucidated a novel combination of different pathogenic factors primarily found in Enteraggregativen *E. coli* (EAEC), reflecting the ability of the bacteria to adhere to mucosal cells and to evoke severe colitis [13, 14, 15, 16]. Hemorrhagic-inflamed mucosal areas and diffuse ischemic bowel segments, as well as necrosis permeating the entire intestine, were found endoscopically and histologically in patients who suffered from severe EHEC O104:H4 enteritis, underlining the severity of mucosal damage caused by the outbreak strain [17, 18]. In contrast, colonic stenosis as a residual after EHEC infection has only been described in a few cases so far [19, 20]. In this study, we demonstrated that even in patients with severe EHEC O104:H4 infection, colonic long-term complications are rare. Apart from the index patient, no macroscopic post-inflammatory changes were found in any of the patients studied. However, since the colonic stenosis of the index patient occurred soon after the infection and colonoscopies in this study were performed more than 1 year (median 32 months) following EHEC-infection, it can be assumed that post-inflammatory changes develop early after EHEC enterocolitis. Consistent with this hypothesis, post-inflammatory colonic stenosis, which have been reported after EHEC O157:H7 or O104:H4 infection, were found within a few weeks after initial onset of symptoms [20, 21].

It has to be noted that the development of toxic megacolon during the EHEC-infection was only found in the index patient. Toxic megacolon, a severe and potentially life-threatening inflammation of the colon, characterized by colonic distension of > 6 cm in diameter, develops in up to 6% of patients with IBD but is also

► **Table 1** Patients' clinical characteristics and the association between clinical course and persistent symptoms. Abbreviations: CI, confidence interval, OR, odds ratio, HUS, hemolytic uremic syndrome. * Fisher's exact test.

| Characteristics | Persistent complaints (PC) (n = 8) | Free of symptoms (FoS) (n = 14) | Odds Ratio (OR) |
|---|---------------------------------------|------------------------------------|--|
| Sex, female (%) | 7 (87,5) | 11 (78,5) | |
| Age, y, median (range) | 45 (26- 56) | 43,5 (25–76) | |
| HUS | 6 | 11 | OR 0.8 (95% CI: 0.1 -6.3), <i>p</i> = 1 |
| Dialysis | 4 | 9 | OR 0.5 (95% CI: 0.1- 3.2), <i>p</i> = 0.6 |
| Duration of Dialysis, d, median (range) | 8 (4–16) | 9,3 (2–32) | |
| Plasmaseparation (PS) | 6 | 11 | OR 0.8 (95% CI: 0.1- 6.3), <i>p</i> = 1 |
| Duration of PS, d, median, (range) | 5,2 (2–10) | 5,6 (3–8) | |
| Ecilizumab | 2 | 7 | OR 0.3 (95% CI: 0.04- 2.2), <i>p</i> = 0.4 |
| Neurological Symptoms | 3 | 7 | OR 0.6 (95% CI: 0.1- 3.5), <i>p</i> = 0.6 |
| Blood transfusion | 3 | 7 | OR 0.6 (95% CI: 0.1- 3.5), <i>p</i> = 0.6 |



► **Fig. 2** Clinical course and hemoglobin-level of the index-patient. The patient was admitted on June 27, 2011, and developed hemolytic uremic syndrome (*) 1 day after admission. She was subsequently treated with plasmapheresis, dialysis, and eculizumab and discharged after 34 days (**). Colonoscopy was performed 145 days after onset of the EHEC-infection (***)

described in patients suffering from infectious colitis, primarily caused by *Clostridium difficile* (CD), *Campylobacter jejuni*, and *Shigella* spp. [22, 23, 24, 25]. While for IBD patients, high-dose steroids are the treatment of choice, antibiotic therapy is recommended in patients suffering from CD-associated toxic megacolon [26]. Data regarding treatment options or long-term outcomes in patients suffering from EHEC-related toxic megacolon are lacking as only a few EHEC O157-related cases have been reported [27], but one can speculate that a pronounced inflammation of the colonic wall facilitates the formation of scar tissue and stenosis.

In our study, histological examination of tissue samples revealed no evidence of either chronic inflammation or ischemia in the vast majority of patients. Only in a clinically symptom-free patient without any pre-existing diseases, a segmental cryptitis was found in the ileum. Cryptitis is described in patients with inflammatory bowel disease or as a result of intestinal ischemia and is also common in patients with infectious colitis as well [28]. Since the patient with histologically described cryptitis denied any abdominal complaints at the time of the examination, acute inflammation or ischemic process seems to be very unlikely and the clinical relevance of this finding is doubtful.

Of note, more than one-third of the patients in our study suffered from persistent abdominal complaints at the time of colonoscopy. According to the ROME IV criteria, the established criteria for the diagnosis of irritable bowel syndrome (IBS), 18% of the patients studied here had PI-IBS. PI-IBS is a frequent complication following bacterial or viral infection of the colon. In patients who had suffered from EHEC O104:H4 infection, PI-IBS is described to develop in up to 16% of patients within 12 months after the onset

of the disease [29]. While the severity of EHEC infection seems neither to affect nor trigger PI-IBS development, treatment with mesalazine appears to be protective. In our study, we identified no significant risk factor for PI-IBS development, but due to the small number of patients, the power of the statistical methods is limited.

Conclusions

In summary, clinically relevant post-inflammatory changes were found in only 1 out of 23 patients examined by colonoscopy. Due to the relatively low participation rate of 12% (22/182), it can be assumed that no considerable complaints were present in the majority of the patients invited, as no further endoscopic follow-up was desired in this group. However, a significant proportion of patients in our study suffered from persistent abdominal complaints more than 12 months after severe EHEC infection. Because the pathogenesis of PI-IBS is complex and poorly understood, including the interaction of the intestinal immune system, alterations of the microbiome, and interference of the enteric nervous system, severe EHEC-infection may lead to disturbance of these components [30, 31]. Further studies are needed to gain insight into these pathophysiological relationships.

Grant support

This study was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (grant LU B62/2-1) and the Federal Ministry of Health (grant 1501/544 01). The sponsors had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and in-

terpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; and decision to submit the manuscript for publication.

Funding

Federal Ministry of Health (1501/544 01) | Deutsche Forschungsgemeinschaft | <http://dx.doi.org/10.13039/501100001659> (LU B62/2-1)

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgement

We thank all the colleagues who have substantially contributed to this study with their effort in conducting endoscopic examinations and assessing and collecting data: Kirsten Aue-Raschka, Dr. Antonio Gallante, Dr. Katharina Fraedrich-Zimmermann, PD Dr. Julian Schulze zur Wiesch, PD Dr. Johannes Kluwe (University Medical Center Hamburg-Eppendorf), PD Dr. Andrea Pace (Friedrich Ebert Hospital, Neumünster), PD Dr. Daniel Benten (Asklepios Westklinikum Hamburg), and Dr. Jan Phillip Bremer (Rheumatologie im Struenseehaus, Hamburg).

References

- Robert Koch Institut. RK change with or without eculizumab in Shiga-toxin-producing E. coli O104:H4 induced haemolytic-uraemic syndrome: an analysis of the German STEC-HUS registry. *Nephrol Dial Transplant Assoc* 2012; 27: 3807–3815
- Kampmeier S, Berger M, Mellmann A, Frankel G, Ron EZ et al. The 2011 German enterohemorrhagic Escherichia coli O104:H4 outbreak—the danger is still out there. In: *Escherichia coli, a Versatile Pathogen*. Cham: Springer International Publishing; 2018: 117–148
- Ullrich S, Bremer P, Neumann-Grutzeck C et al. Symptoms and clinical course of EHEC O104 infection in hospitalized patients: A prospective single center study. *PLOS ONE* 2013; 8: e55278. doi:10.1371/journal.pone.0055278
- Kielstein JT, Beutel G, Fleig S et al. Best supportive care and therapeutic plasma exchange with or without eculizumab in Shiga-toxin-producing E. coli O104:H4 induced haemolytic-uraemic syndrome: an analysis of the German STEC-HUS registry. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 3807–3815. doi:10.1093/ndt/gfs394
- Dammernann W, Mihajlov V, Middendorf B et al. Anti-Shiga toxin 2 antibodies in enterohemorrhagic Escherichia coli O104:H4 infected patients may predict hemolytic uremic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2018; 33: 1353–1356. doi:10.1111/jgh.14082
- Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE et al. Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia. *Schweiz Med Wochenschr* 1955; 85: 905–909
- Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W et al. Characterisation of the Escherichia coli strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 671–676. doi:10.1016/S1473-3099(11)70165-7
- Cody EM, Dixon BP. Hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Clin North Am* 2019; 66: 235–246. doi:10.1016/j.pcl.2018.09.011
- de Ville de Goyet M, Detaille T et al. Typical or atypical hemolytic uremic syndrome and the use of eculizumab: 4 illustrative cases. *J Pediatr Hematol Oncol* 2019. doi:10.1097/MPH.0000000000001449
- Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD et al. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480–1491. doi:10.1053/j.gastro.2005.11.061
- Frank C, Werber D, Cramer JP et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing Escherichia coli O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med* 2011; 365: 1771–1780. doi:10.1056/NEJMoa1106483
- Tahden M, Manitz J, Baumgardt K et al. Epidemiological and ecological characterization of the EHEC O104:H4 outbreak in Hamburg, Germany, 2011. *PLoS ONE* 2016; 11: e0164508. doi:10.1371/journal.pone.0164508
- Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA et al. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic Escherichia coli O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One* 2011; 6: e22751. doi:10.1371/journal.pone.0022751
- Prager R, Lang C, Aurass P et al. Two novel EHEC/EAEC hybrid strains isolated from human infections. *PLoS ONE* 2014; 9: doi:10.1371/journal.pone.0095379
- Karch H, Denamur E, Dobrindt U et al. The enemy within us: lessons from the 2011 European Escherichia coli O104:H4 outbreak. *EMBO Mol Med* 2012; 4: 841–848. doi:10.1002/emmm.201201662
- Lüth S, Fründt TW, Rösch T et al. Prevention of hemolytic uremic syndrome with daily bowel lavage in patients with Shiga toxin-producing enterohemorrhagic Escherichia coli O104:H4 infection. *JAMA Intern Med* 2014; 174: 1003–1005. doi:10.1001/jamainternmed.2014.1175
- Cordesmeier S, Peitz U, Gödde N et al. Colonic ischaemia as a severe Shiga toxin/verotoxin producing Escherichia coli O104:H4 complication in a patient without haemolytic uraemic syndrome, Germany, June 2011. *Eurosurveillance* 2011; 16: 19895
- Neumann H, Hunstiger M, Langner C et al. Bloody diarrhea caused by enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC). *Endoscopy* 2011; 43: E229–230. doi:10.1055/s-0030-1256596
- Sebbag H, Lemelle JL, Moller C et al. Colonic stenosis after hemolytic-uremic syndrome. *Eur J Pediatr Surg* 1999; 9: 119–120. doi:10.1055/s-2008-1072226
- Masumoto K, Nishimoto Y, Taguchi T et al. Colonic stricture secondary to hemolytic uremic syndrome caused by Escherichia coli O-157. *Pediatr Nephrol Berl Ger* 2005; 20: 1496–1499. doi:10.1007/s00467-005-1996-4
- Lipp MJ, Schirmer J, Feyerabend B et al. EHEC-associated colon stenosis after ulcerous-chronic haemorrhagic colitis and consecutive resulting ileus. *Z Gastroenterol* 2012; 50: 453–456. doi:10.1055/s-0031-1299059
- Greenstein AJ, Sachar DB, Gibas A et al. Outcome of toxic dilatation in ulcerative and Crohn's colitis. *J Clin Gastroenterol* 1985; 7: 137–143. doi:10.1097/0004836-198504000-00007
- Tiao MM, Huang HC, Huang CB et al. Toxic megacolon in Salmonella colitis: report of two cases. *Acta Paediatr Taiwanica Taiwan Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi* 2000; 41: 43–46
- Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Increase in adult Clostridium difficile-related hospitalizations and case-fatality rate, United States, 2000–2005. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 929–931. doi:10.3201/eid1406.071447
- Schneider A, Rünzi M, Peitgen K et al. Campylobacter jejuni-induced severe colitis—a rare cause of toxic megacolon. *Z Gastroenterol* 2000; 38: 307–309. doi:10.1055/s-2000-14872
- Leifeld L, Krus W. Management des toxischen Megakolons. *Z Für Gastroenterol* 2012; 50: 316–322
- Nayar DM, Vetrivel S, McElroy J et al. Toxic megacolon complicating Escherichia coli O157 infection. *J Infect* 2006; 52: e103–106. doi:10.1016/j.jinf.2005.07.029
- Greenson JK, Stern RA, Carpenter SL et al. The clinical significance of focal active colitis. *Hum Pathol* 1997; 28: 729–733. doi:10.1016/s0046-8177(97)90183-0

[29] Andresen V, Löwe B, Broicher W et al. Post-infectious irritable bowel syndrome (PI-IBS) after infection with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104:H4: A cohort study with prospective follow-up. *United Eur Gastroenterol J* 2016; 4: 121–131

[30] Ford AC, Lacy BE, Talley NJ. Irritable bowel syndrome. *N Engl J Med* 2017; 376: 2566–2578. doi:10.1056/NEJMra1607547

[31] Chey WD, Kurlander J, Eswaran S. Irritable bowel syndrome: a clinical review. *J Am Med Assoc* 2015; 313: 949–958. doi:10.1001/jama.2015.0954



2. Zusammenfassende Darstellung der Publikation

2.1. Einleitung

Zwischen Mai und Juli 2011 zeigte sich ein epidemisches Auftreten einer EHEC-Enterokolitis in Norddeutschland. Das Robert-Koch-Institut zeichnete bis Beendigung des Ausbruchs am 25.07.2011 knapp 3000 Erkrankungsfälle (RKI 2011) auf. Im Gegenteil zu vorher beschriebenen Erkrankungen an HUS (Hämolytisch urämisches Syndrom), die zumeist Kleinkinder betrafen (Gerber et al. 2002), zeigte sich im Falle der Infektion mit O104:H4 eine überwiegende Erkrankung von Erwachsenen (RKI 2011).

Der identifizierte Serotyp O104:H4 weist Charakteristika der *enteroaggregativen Escherichia coli* (EAEC) und der *enterohämorrhagischen Escherichia coli* (EHEC)-Stämme auf, sodass die Bezeichnung des *entero-aggregativen-hämorrhagischen Escherichia coli* (EAHEC) eingeführt wurde (Brzuszkiewicz et al. 2011). Dieser neue pathogene Hybrid zeigt eine besonders hohe Rate an Komplikationen. So konnten 855 Fälle des Hämolytisch-urämisches Syndroms gezählt werden (RKI 2011). Dieses Syndrom, charakterisiert durch die Trias der hämolytischen Anämie, akuten Niereninsuffizienz und Thrombozytopenie (Gasser et al. 1955) resultiert in thrombotischen Mikroangiopathien (TMA) (Rosove 2014) und führte 2011 bei 54 Patienten zum Tode (Frank et al 2011).

Aufgrund des sporadischen Auftretens von EHEC-Infektionen existiert bis heute nur eine begrenzte Anzahl an Studien über die therapeutischen Möglichkeiten. Die meisten Studien bestanden aus kleinen Gruppen, meist ohne Kontrollgruppen (Tarr et al. 2005). Viele Studien beschreiben retrospektiv Erfahrungen aus pädiatrischen Kohorten, da EHEC assoziierte HUS-Erkrankungen häufig bei Kindern auftreten (Johnson u. Taylor, 2008) und wurden nicht prospektiv kontrolliert.

Während des Ausbruchs von *E. coli* O104:H4 konnten die unterschiedlichen Therapieverfahren wie Antibiotikagabe, Antikörpertherapie und Plasmapherese erstmals an einem großen Kollektiv erwachsener Patienten erfasst und ausgewertet werden. Entgegen der während des Ausbruchs gängigen Praxis und der präexistenten Daten zeigte eine Übersichtsarbeit von Menne et al. (2012) keinen signifikanten Vorteil von Plasmapherese und Plasmapherese mit kombinierter Gabe von Glukokortikoiden vs. keiner Plasmapherese. Der Einsatz von Antibiotika (Meropenem und Ciprofloxacin) korrelierte mit einer niedrigeren Rate an Krampfanfällen. Unter der antibiotischen Therapie mit Azithromycin konnte eine kürzere Dauer des Erregers O104:H4 nachgewiesen werden (Nitschke et al., 2012). Der Einsatz von Eculizumab, einem monoklonalen Antikörper gegen das Komplement C5, fand erstmals Einsatz, zeigte jedoch keinen klinisch signifikanten Vorteil (Menne et al., 2012, Kielstein et al., 2012).

Die an EAHEC O104:H4 erkrankten Patienten präsentierten sich häufig mit Übelkeit und krampfhaften Unterbauchbeschwerden (56%). In 41% der Fälle klagten sie ebenfalls über Erbrechen. Blutige Diarrhöen traten bei 93% innerhalb von drei Tagen nach Erstsymptomen auf (Ullrich et al. 2013). Neben dem HUS wurden verschiedene Komplikationen des Kolons beschrieben. Mittels Endoskopie konnte in drei Fällen eine makroskopisch sichtbare

hochfluoride hämorrhagisch-ödematöse Kolitis mit Spontanblutungen festgestellt werden. Histologisch bestätigte sich die schwere Entzündung mit Infiltration von Lymphozyten und Granulozyten (Ullrich et al. 2013; Bremer et al. 2012). Lipp et al. (2012) berichten in einem Case-Report vom Auftreten einer Kolostenose nach EHEC-assoziiertes hämorrhagischer Kolitis.

Eine möglicherweise neue schwere Komplikation stellt die Kolonischämie dar, die während des O104:H4-Ausbruchs 2011 an einer Patientin beobachtet wurde. Diese präsentierte sich mit zunehmenden abdominellen Beschwerden, Übelkeit und Diarrhöen. In der diagnostischen Endoskopie fand sich eine zirkulär geschwollene, teils blasse, teils blaugrau verfärbte Mukosa des Kolon descendens. Histopathologisch war eine Verdickung der Kolonwand bis zu 1 cm und weitläufige Nekrosen durch die gesamte Darmwand mit eitrig-fibrinösem Exsudat zu beobachten (Cordesmeier et al. 2011).

Andresen et al. (2016) beschreiben in ihrer Arbeit eine Inzidenz des postinfektiösen Reizdarmsyndroms (pi-RDS) von 34,6% 12 Monate nach Infektion mit EAHEC O104:H4.

In Anbetracht des epidemischen Auftretens von EAHEC O104:H4 und der hohen Rate an Komplikationen ist die Aufarbeitung der Folgen einer Infektion unerlässlich. Im Rahmen dieser Arbeit sollen die Langzeitfolgen einer EHEC-Enteritis auf das Kolon mittels makroskopischer Beurteilung im Rahmen einer Koloskopie und mikroskopischer histopathologischer Untersuchung dargestellt werden.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Patienten und Nachsorge-Koloskopien

Das Studienkollektiv setzt sich aus Patienten des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und der Asklepios Klinik Altona in Hamburg zusammen. Schriftlich eingeladen wurden alle Patienten über 18 Jahren aus beiden Kliniken, die sich bei nachgewiesener oder anzunehmender EHEC O104:H4-Infektion von Mai bis Juni 2011 in der Nachbeobachtung befanden. Insgesamt wurden 22 Patienten in die Studie eingeschlossen. Alle Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis. Über die elektronische Krankenakte wurden patientenbezogene Daten und klinische Informationen gesammelt. Der Nachweis einer EHEC O104 Infektion erfolgte mittels mikrobiologischer Diagnostik aus Stuhlproben. Die Diagnose eines HUS ist nach Gassner (1955) definiert durch die Trias einer hämolytischen Anämie, einer Thrombozytopenie und einer Nierenfunktionsstörung. Die Teilnehmer wurden zu einer koloskopischen Kontrolluntersuchung innerhalb von 1-4 Jahren nach Infektion mit *Escherichia coli* 2011 in einem Zeitraum vom 14.01.2013- 11.03.2015 eingeladen. 16 Koloskopien wurden im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt, 6 Koloskopien in der Asklepios Klinik Altona. Die Untersuchungen erfolgten in Hinblick auf postinfektiöse Pathologien. Für die Studie liegt ein positives Votum der Ethikkommission der Hamburger Ärztekammer vor (PV 24251).

2.2.2 Makroskopische Koloskopiebefunde und mikroskopische Befunde

Die makroskopische Beurteilung der Koloskopie oblag den Untersuchern. Zur mikroskopischen Beurteilung erfolgte die Entnahme von mindestens zwei

Stufen-Biopsien. Die Begutachtung erfolgte im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf durch einen Facharzt für Pathologie mit dem Schwerpunkt gastrointestinaler Erkrankungen.

Neben der Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurden die Schnitte mittels PAS-Reaktion (Periodic acid-Schiff reaction) eingefärbt und in einzelnen Fällen erfolgte ebenfalls eine Einfärbung nach Elastika-van-Gieson zur spezifischen Darstellung von Kollagenfasern. Die Untersuchung erfolgte mit der Fragestellung nach postinfektiösen Pathologien. So wurde nach entzündlichen Veränderungen wie Hyperämien, Nekrosen, lymphozytären und eosinophilen Zellansammlungen gesucht und Narbenbildung mittels Darstellung von Kollagenfasern ausgeschlossen. Weiterhin stand die Untersuchung von chronisch ischämischen Prozessen im Fokus, wobei die Rarefizierung und Atrophie der Schleimhautkrypten sowie die Fibrosierung des Stromas als Kriterien galten.

Statistische Auswertung

Mittels deskriptiver Statistik wurden kategoriale Variablen (Geschlecht, Patientenanzahl und prozentualer Anteil) und kontinuierliche Variablen (Mittelwert) in *Microsoft Excel* dargestellt. Die Erstellung der Graphen erfolgte mit dem Programm *IBM SPSS Version 24*.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Kohorte und Epidemiologie

22 Patienten entsprachen den Kriterien und willigten zur Koloskopie ein. Die Koloskopien erfolgten in dem Zeitraum vom 14.05.2012 - 11.03.2015. 6 Patienten stellten sich initial im AKA vor, 16 Patienten im UKE. Die erhobenen Daten der 22 Patienten sind in Tabelle 1 dargestellt. Das Durchschnittsalter betrug 44 Jahre (Min.-Max. 25-66). Die Geschlechtsverteilung zeigte mit 77,3% einen hohen Anteil an Frauen. 22,7% der Kohorte waren männlichen Geschlechts.

Abbildung 1: Boxplot Alter der Studienkohorte

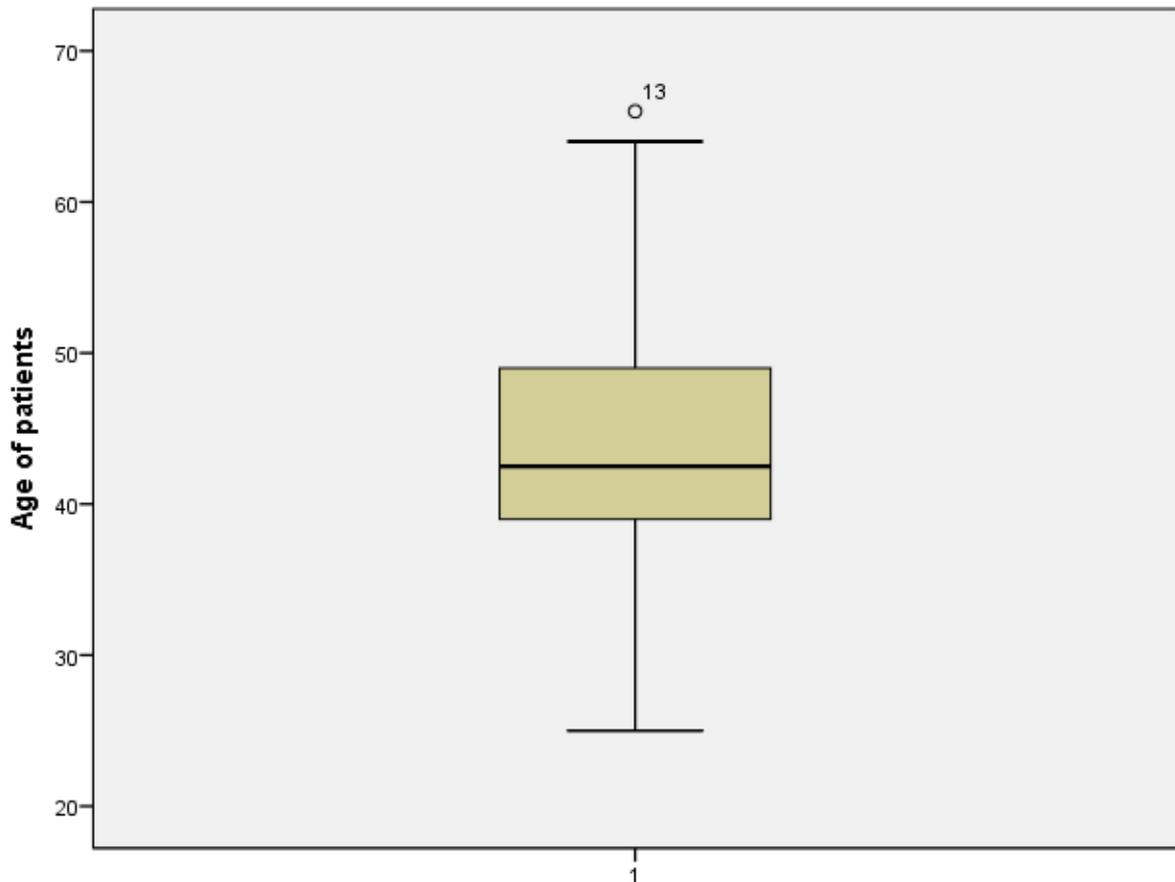


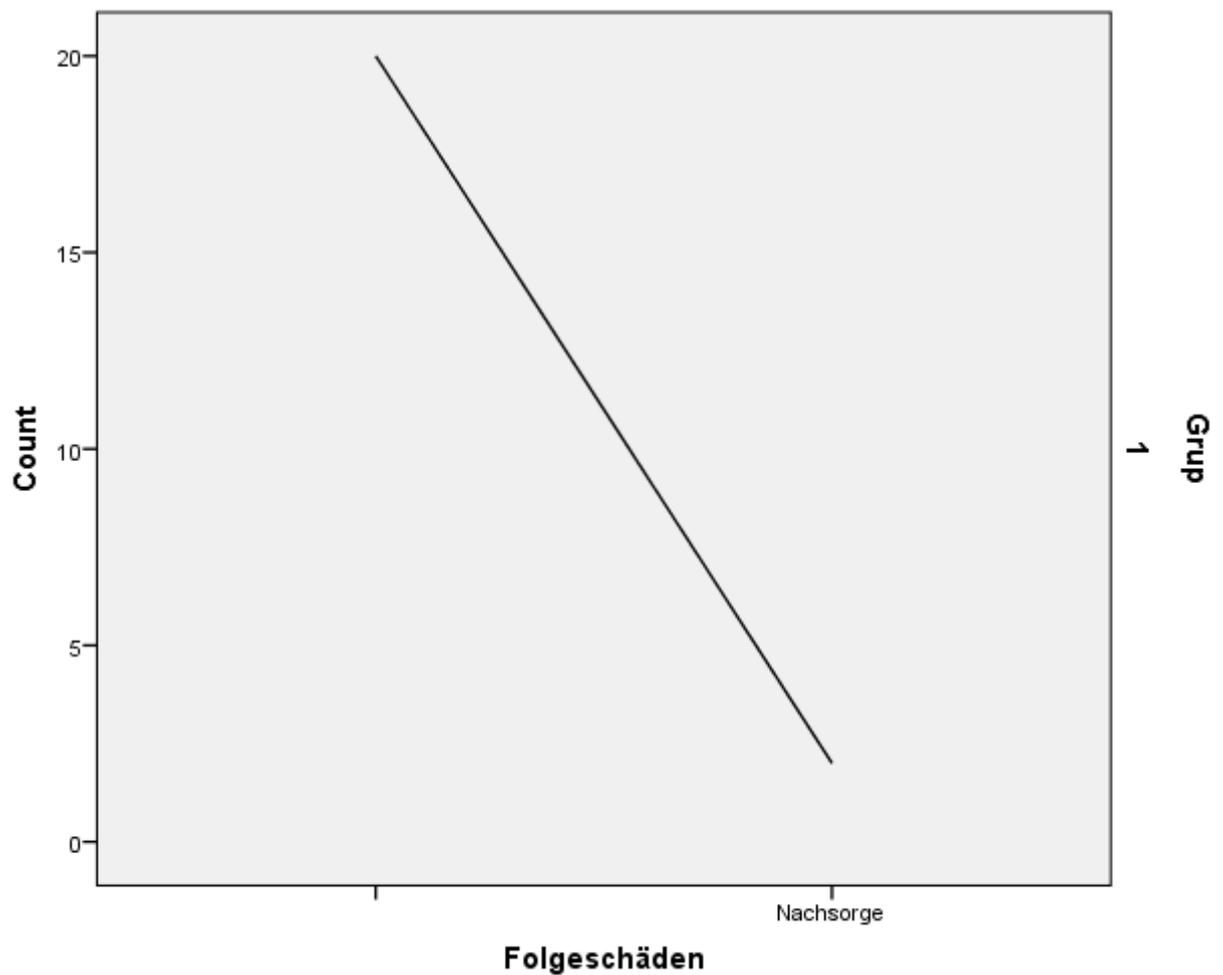
Tabelle 1: Epidemiologische Daten von 22 Patienten bezüglich Geschlechts und Alters

| Epidemiologie | |
|------------------------------------|------------------|
| Weiblich/männlich, (%) | 17/5 (77,3/22,7) |
| Alter, Median (Min.- Max.) [Alter] | 43,9 (25-66) |

2.3.2 Symptome und klinischer Verlauf

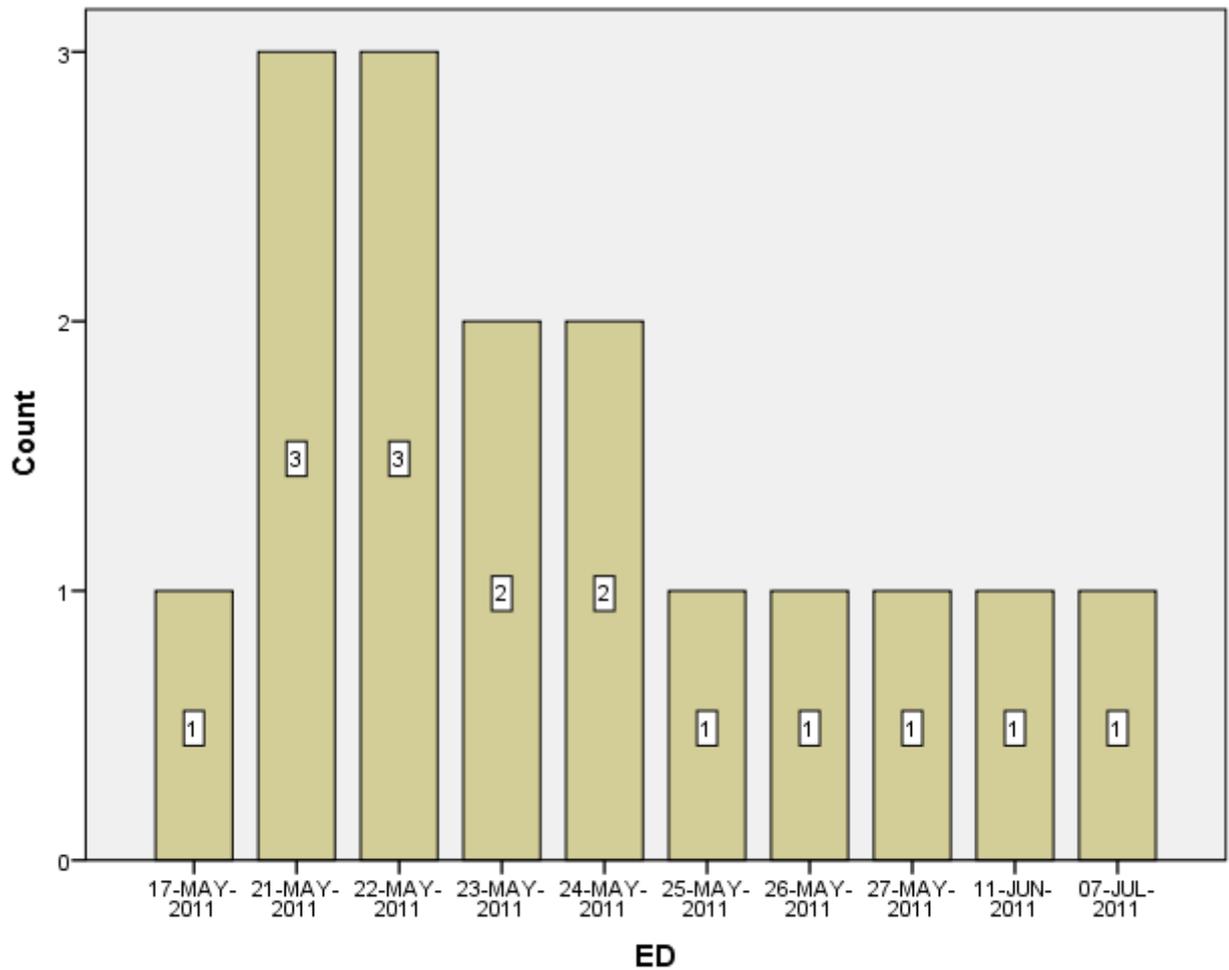
86,3% der Patienten präsentierten sich initial mit blutigen Diarrhöen, 4,5% alleinig mit Diarrhöen. Alle Patienten gaben zum Zeitpunkt der Aufnahme abdominelle Beschwerden an. 2 Patienten (9,1%) gaben weiterhin bestehende abdominelle Beschwerden zum Zeitpunkt der Nachsorge-Koloskopie an. In der Nachsorge klagten weitere 9,1% über rezidivierende Diarrhöen und jeweils ein Patient (4,5%) über intermittierende Obstipationen und postprandialen Meteorismus.

Abbildung 2: Abdominelle Beschwerden zum Zeitpunkt der Nachsorge



Alle Studienteilnehmer wurden auf EHEC getestet. Bei allen positiv getesteten Patienten konnte der Serotyp 0104:H4 nachgewiesen werden. Lediglich in 2 Fällen (13,6%) konnte keine EHEC-Infektion nachgewiesen werden. Klinisch zeigten diese Patienten jedoch typische Beschwerden und entwickelten im Verlauf ein HUS, sodass trotz fehlenden Nachweises von einer Infektion auszugehen ist. Der früheste Nachweis der Infektion gelang am 17.05.2011, der späteste Nachweis erfolgte am 07.07.2011. Im Durchschnitt erfolgte der Nachweis am 27.05.2011.

Abbildung 3: Säulendiagramm/ Zeitlicher Verlauf der Erstdiagnose



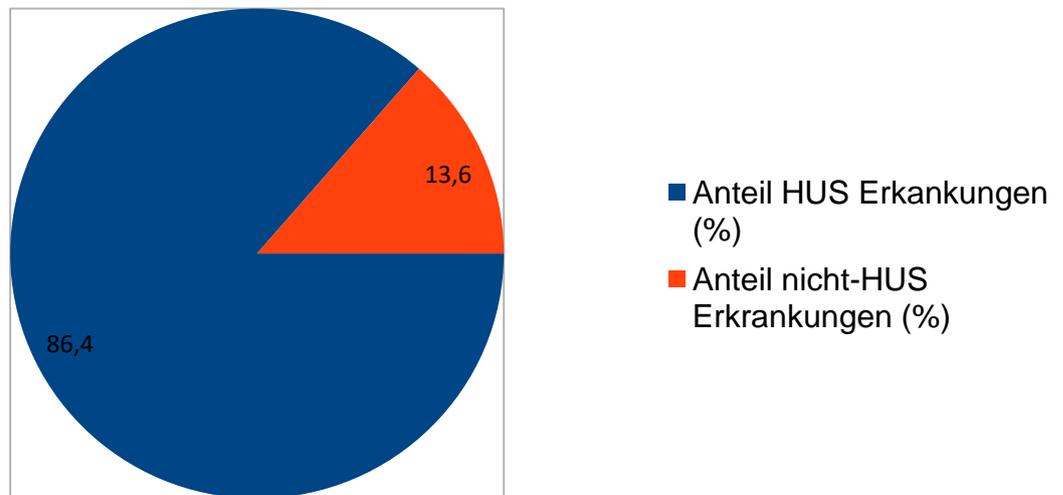
Der PCR-Nachweis des Shiga-Toxins aus Stuhlkulturen gelang in 22,7% der Fälle.

90,9% der Patienten unserer Kohorte wurden stationär aufgenommen, 9,1% verblieben ambulant. Von den 22 Patienten entwickelten 19 Personen (86,4%) ein HUS.

Tabelle 2: Häufigkeit gastrointestinaler Symptome bei 22 Patienten

| Gastrointestinale Symptome | |
|----------------------------|-----------|
| Blutige Diarrhö, n (%) | 19 (86,3) |
| Diarrhö, n (%) | 1 (4,5) |

Abbildung 3: Kreisdiagramm/ Prozentuale Verteilung von HUS-Erkrankungen und Nicht-HUS-Erkrankungen



2.3.3 Koloskopische Nachsorge

In dem Zeitraum vom 14.05.2012 bis zum 11.03.2015 nahmen die Patienten an einer koloskopischen Nachsorge teil. Somit betrug der Zeitraum nach dem Beginn der EHEC-Symptomatik 12-46 Monate. 6 Nachsorgen wurden in der Asklepios Klinik Altona, 16 Nachsorgen im UKE durchgeführt.

Die makroskopische Beurteilung zeigte in 65,4% einen durchgehend unauffälligen Befund. In einem Fall war eine minimale Erosion im Ileum, in einem anderen eine kontaktvulnerable Schleimhaut zu beobachten, ansonsten gab es jedoch keine Auffälligkeiten. Im Sigma eines Patienten fand sich ein Polyp bei sonst unauffälligem Befund. Makroskopisch konnte bei einem Teilnehmer eine prominente Schleimhautfalte im Zökum festgestellt werden und in einem anderen Fall eine erosive Schleimhaut im terminalen Ileum und ein Polyp im Rektum.

2.3.4 Mikroskopische Beurteilung

In der mikroskopischen Beurteilung der Biopsien fand sich in 90,0% der Fälle ein unauffälliger Befund. Die im Zökum eines Patienten beschriebene prominente Schleimhautfalte zeigte mikroskopisch keinen Anhalt für Pathologien. Auch die beiden Befunde einer kontaktvulnerablen Schleimhaut und der minimalen Erosionen zeigten sich mikroskopisch ohne pathologische Befunde.

Lediglich die bei einem Patienten festgestellte auffällige Schleimhaut im Zökum zeigte mikroskopisch eine geringe segmentale chronisch-aktive Kolitis mit fokaler Kryptitis. Bei keinem weiteren Patienten konnten Zeichen einer akuten Entzündung, wie Hyperämie, oder vermehrte Ansammlung von Granulozyten, festgestellt werden. Zeichen einer chronischen Ischämie, wie die Rarefizierung und Atrophie von Schleimhautkrypten oder Fibrosierung des Stromas konnten

in allen Fällen ausgeschlossen werden. Durch Darstellung der Fibroblasten und Kollagenfasern mittels Elastika-van-Gieson-Färbung konnte eine chronische Entzündung ebenfalls ausgeschlossen werden. Auch fehlten Nekrosen und Stenosen als mögliche Folge einer Entzündungsreaktion.

Ein Patient zeigte ein Polyp im Rektum, welcher als serratiertes Adenom beschrieben wurde. In der Untersuchung eines anderen Patienten fand sich makroskopisch ein Polyp, der sich histopathologisch als tubuläres Adenom mit geringgradiger Dysplasie klassifizieren lässt.

2.4. Diskussion

Bisherige Arbeiten zur klinischen Verlaufskontrolle von Patienten mit EHEC 0104:H4 Enterokolitis befassen sich mit dem Auftreten des postinfektiösen Reizdarmsyndroms (pi-RDS). So konnte dargestellt werden, dass 12 Monate nach Infektion 34,6% der Patienten unter pi-RDS litten (Andresen et al. 2016). Dieses Ergebnis befindet sich in der durch andere Studien bereits beschriebenen Prävalenz von RDS nach bakterieller Gastroenteritis, die zwischen 4-36% variiert (Schwille-Kiuntke et al. 2011). Follow-up Untersuchungen an EHEC 0104:H4-erkrankten Patienten zeigte ein Sistieren der abdominalen Beschwerden bis zum Entlassungszeitpunkt und nahezu eine Normalisierung der Nierenfunktionswerte und antihypertensiven Therapie nach bereits 4 Monaten (Albersmeier et al. 2018).

Die Ergebnisse dieser Studie deuten darauf hin, dass es zu keinen endoskopisch, makroskopisch oder histologisch nachweisbaren postinfektiösen Veränderungen des Kolons nach EHEC 0104:H4-Infektion gekommen ist. Nach der Latenz zwischen Ersterkrankung und Koloskopie wären narbige Veränderungen, wie nach Infektion mit *Salmonella typhimurium* (Navaneethan u. Giannella, 2011) oder bei chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (CED) (Gordon et al. 2018) zu erwarten gewesen. Diese konnten jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die beobachteten Patienten präsentierten sich zwischen Mai und Juli 2011 mit meist blutigen Diarrhoen und abdominalen Krämpfen. Ein Vergleich der epidemiologischen Daten unserer Kohorte mit dem des RKI ergab einen ähnlichen Altersmedian (46 Jahre Studienkohorte vs. 44 Jahre (RKI 2011a)). Ebenfalls zeigte sich eine erhöhte Inzidenz der EHEC-Fälle bei Frauen ((58% RKI 2011a), welche sich ebenfalls in unserer Kohorte (77,3%) widerspiegelt. Die ungewöhnlich hohe Rate an HUS variiert je nach Studie zwischen 30% und bis zu 59% (Ullrich et al. 2011) und differiert stark mit der Inzidenz in dem von uns untersuchten Patientenkollektiv (86,4%). Eine mögliche Erklärung besteht in der engeren Nachsorge der an HUS-erkrankten Patienten, sowie dem persönlichen Interesse der Patienten mögliche Folgeschäden zu vermeiden. 9,1% der Patienten klagten in der Verlaufskontrolle über intermittierende abdominale Beschwerden, jedoch fanden sich weder makro- noch mikroskopisch Anhalte für Pathologien. Auch jene Patienten (9,1%), die über rezidivierende Diarrhöen klagten, wiesen keine Auffälligkeiten in der Koloskopie auf.

Bis dato existieren lediglich Fallberichte über Komplikationen einer EHEC-Enteritis, die das Kolon betreffen. Su et al. (1998) konnten einen Zusammenhang zwischen einer stattgehabten Infektion mit *Escherichia coli* 01057:H7 und immunhistologisch nachweisbarer Kolonischämie darstellen. Ischämischen Kolitiden wurden ebenfalls in einzelnen klinischen Fallberichten geschildert (Kravitz et al. 2002). Auch während des 0104:H4-Ausbruchs 2011 wurde eine Kolonischämie in einem Patienten diagnostiziert (Cordesmeier et al. 2011). Eine weitere Komplikation stellt die Kolonstenose nach EHEC-Kolitis dar (Lipp et al. 2012; Masumoto et al. 2005; Sebbag et al. 1999). In diesen Fällen trat die Stenose jedoch nicht in der Akutphase, sondern innerhalb eines Monats nach EHEC-Enteritis auf.

Anders als in den Fallberichten zeigte sich in unseren Kontrolluntersuchungen kein Anhalt für postinfektiösen Komplikationen, wie einer Kolonischämie oder Kolonstenosen. In 90% der Fälle zeigten sich histopathologisch keine Auffälligkeiten. Lediglich in einer Untersuchung fand sich ein tubuläres Adenom mit geringgradiger Dysplasie und in einem weiteren Fall ein serratiertes Adenom im Rektum. Diese Befunde sind aufgrund der Häufigkeit ihres Auftretens in regulären Vorsorgeuntersuchungen als Zufallsbefunde zu werten (Corley et al. 2014). In der Histologie eines Patienten zeigte sich eine geringe segmentale chronisch-aktive Kolitis mit fokaler Kryptitis im Bereich des Ileums. Diese kann im Rahmen von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen oder Darmischämien auftreten (Greenson et al. 1997), korreliert klinisch jedoch am häufigsten mit einer infektiösen Kolitis (Volk et al. 1998). Da es sich bei diesem Fall um einen klinisch unauffälligen Patienten handelt, ist eine Darmischämie als Ursache sehr unwahrscheinlich. Dennoch ist nicht auszuschließen, dass dies eine mögliche Komplikation der EHEC-Enteritis darstellt.

Durch das Patientenkollektiv von n=22 ist die Aussagekraft der Studie eingeschränkt und durch ergänzende Untersuchungen in Folge zu unterstützen. Da die Nachsorgeuntersuchungen ab 12 Monaten nach der Infektion begannen, liegen keine Daten für den Zeitraum <12 Monaten nach Infektion vor. In Fallberichten wurde besonders innerhalb eines Monats nach Infektion von Komplikationen wie Kolonstenosen berichtet (Masumoto et al. 2005; Sebbag et al. 1999), sodass eine Untersuchung innerhalb eines Monats eine sinnvolle Ergänzung zur Nachsorge darstellen könnte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass trotz der hohen Rate an Infektionen und Komplikationen von EAHEC 0104:H4 eine langfristige Auswirkung auf das Kolon ab einem Jahr nach Infektion histopathologisch ausgeschlossen werden konnte. Auch Patienten, die im weiteren Verlauf an abdominalen Beschwerden oder Stuhlunregelmäßigkeiten litten zeigten keine Auffälligkeiten in der koloskopischen Nachsorge.

3. Zusammenfassung

Im Mai und Juli 2011 kam es zu einem endemischen Auftreten einer EHEC-Enterokolitis in Deutschland. Insgesamt zählte das RKI knapp 3000 Erkrankungsfällen. Als schwere Komplikation einer EHEC-Enterokolitis ist das Hämolytisch-urämische Syndrom bekannt, welches in 855 Fällen beobachtet

wurde. Im Gegensatz zu vorbeschriebenen Ausbrüchen, die häufig Kleinkinder betrafen, erkrankten 2011 primär Erwachsene.

Die identifizierte Serotyp präsentierte Charakteristika der *enteroaggregativen E.coli* (EAEC) und der *enterohämorrhagischen E.coli* (EHEC) und erhielt deshalb die Eigenbezeichnung des *enteroaggregativen-hämorrhagischen E.coli* (EAHEC).

Im Rahmen einer EAHEC-Infektion berichteten die Patienten von abdominellen Beschwerden. Einzelfallberichte beschreiben gastroenterologische Akutkomplikationen, wie Kolonstenosen, Kolonperforationen und Kolonischämien. In den Verlaufskontrollen trat in 34,6% der Patientenkohorte ein pi-RDS auf.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen die Langzeitfolgen einer EHEC-Enteritis auf das Kolon mittels makroskopischer Beurteilung im Rahmen einer Koloskopie und mikroskopischer histopathologischer Untersuchung dargestellt werden. Hierzu wurden 22 Patienten, die 2011 an EAHEC erkrankten in einem Zeitraum von 1-4 Jahren nach Infektion einer koloskopischen Nachsorge unterzogen.

Die makroskopischen und mikroskopischen Befunde zeigten keine signifikanten nachweisbaren postinfektiösen Veränderungen des Kolons. Auch bei Patienten, die subjektiv unter gastroenterologischen Beschwerden wie abdominelle Beschwerden oder rezidivierende Diarrhöen litten zeigten sich keine Auffälligkeiten.

Die Studie konnte darstellen, dass trotz einer EAHEC-Infektion mit Komplikation eines HUS kein Risiko für eine längerfristige Schädigung des Kolons besteht.

4. Summary

Between May and July 2001 an endemic appearance of EHEC-associated enterocolitis took place in Northern Germany. The identified serotype 0104:H4 led to an unusual high rate of complications, such as the haemolytic-uremic-syndrome (HUS).

The newly identified serotype 0104:H4 combines different pathogenic factors found in *enteroaggregative E. coli* (EAEC) and *enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) which led to the new term called *entero-aggregative-hemorrhagic Escherichia coli* (EAHEC).

The RKI (Robert-Koch-Institut) recorded 2.987 cases of acute gastroenteritis, along with 855 HUS diseases (RKI, 2011). The outbreak was described as one of the largest ever documented and resulted in the death of 54 patients (Frank et al., 2011).

Case studies have shown acute complications of STEC-enteritis in the colon, such as colonic ischemia (Su et al., 1998; Kravitz et al., 2002; Cordesmeyer et al., 2011) or colonic stenosis (Lipp et al., 2012; Masumoto et al., 2005; Sebbag et al., 1999).

Little is known about the long-term colonic damage following an EHEC infection. This study aimed to detect long term colonic complications of patients who suffered an EAHEC enteritis 2011. We included 22 patients in a follow-up examination 1-4 years after the infection and performed a colonoscopy to detect macroscopical alterations and took biopsies for histological examinations. In summary, no significant post-inflammatory changes were found.

Even though our patients suffered severe EAHEC-infections with HUS-complication we were able to rule out any long-term damage to the colon.

5. Abkürzungsverzeichnis

HUS Hämolytisch-urämisches Syndrom

RKI Robert-Koch-Institut

TMA Thrombotische Mikroangiopathie

Pi-RDS Postinfektiöses Reizdarmsyndrom

EHEC Entero-hämorrhagischer Escherichia coli

EAEC Enteroaggregativer Escherichia coli

EAHEC Enteroaggregativer-hämorrhagischer Escherichia coli

PCR Polymerase-Chain-Reaction

PAS-Reaktion Periodic Acid-Schiff Reaction

6. Literaturverzeichnis

- Albersmeier, J. P.; Bremer, J. P.; Dammermann, W.; Lüth, S.; Hagenmüller, F.; Rüter, C. et al. (2018): Outcome and clinical course of EHEC O104 infection in hospitalized patients. A prospective single center study. In: *PLoS one* 13 (2), e0191544. DOI: 10.1371/journal.pone.0191544.
- Andresen, Viola; Löwe, Bernd; Broicher, Wiebke; Riegel, Björn; Fraedrich, Katharina; Wulffen, Moritz von et al. (2016): Post-infectious irritable bowel syndrome (PI-IBS) after infection with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104. H4: A cohort study with prospective follow-up. In: *United European Gastroenterology Journal* 4 (1), S. 121–131. DOI: 10.1177/2050640615581113.
- Bremer, J. P.; Neumann-Grutzeck, C.; Ullrich, S.; Hagenmüller, F. (2012): EHEC 2011 – aus der Sicht des Klinikers. In: *Gastroenterologe* 7 (3), S. 234–241. DOI: 10.1007/s11377-011-0600-7.
- Brzuszkiewicz, Elzbieta; Thürmer, Andrea; Schuldes, Jörg; Leimbach, Andreas; Liesegang, Heiko; Meyer, Frauke-Dorothee et al. (2011): Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). In: *Archives of microbiology* 193 (12), S. 883–891. DOI: 10.1007/s00203-011-0725-6.
- Cordesmeier S, Peitz U, Gödde N, Kasper HU, Hoffmann MW, Allemeyer E. (2011): Colonic ischaemia as a severe Shiga toxin/verotoxin producing *Escherichia coli* O104:H4 complication in a patient without haemolytic uraemic syndrome, Germany, June 2011. In: *Euro Surveillance* 16 (25).
- Corley, Douglas A.; Jensen, Christopher D.; Marks, Amy R.; Zhao, Wei K.; Lee, Jeffrey K.; Doubeni, Chyke A. et al. (2014): Adenoma detection rate and risk of colorectal cancer and death. In: *The New England Journal of Medicine* 370 (14), S. 1298–1306. DOI: 10.1056/NEJMoa1309086.
- Frank Christina; Werber Dirk; Cramer Jakob P.; Askar Mona; Faber Mirko; an der Heiden Matthias et al. (2011): Epidemic Profile of Shiga-Toxin–Producing *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak in Germany. In: *The New England Journal of Medicine* 365 (19), S. 1771–1780.

- Gasser, C.; Gautier, E.; Steck, A.; Siebenmann, R.; Oechslin, R. (1955): Hemolytic uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia. In: *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 38-39 (20), S. 905-909
- Gerber, Angela; Karch, Helge; Allerberger, Franz; Verweyen, Hege; Zimmerhackl, Lothar (2002): Clinical Course and the Role of Shiga Toxin–Producing Escherichia coli Infection in the Hemolytic-Uremic Syndrome in Pediatric Patients, 1997-2000, in Germany and Austria: A Prospective Study. In: *The Journal of infectious disease* 186 (4), S. 493–500.
- Greenson, Joel K.; Stern, Robert A.; Carpenter, Steven L.; Barnett, Jeffrey L. (1997): The clinical significance of focal active colitis. In: *Human Pathology* 28 (6), S. 729–733. DOI: 10.1016/S0046-8177(97)90183-0.
- Johnson, Sally; Taylor, C. Mark (2008): What's new in haemolytic uraemic syndrome? In: *European Journal of Pediatrics* 167 (9), S. 965–971. DOI: 10.1007/s00431-008-0745-7.
- Kielstein, Jan T.; Beutel, Gernot; Fleig, Susanne; Steinhoff, Jürgen; Meyer, Tobias N.; Hafer, Carsten et al. (2012): Best supportive care and therapeutic plasma exchange with or without eculizumab in Shiga-toxin-producing E. coli O104. H4 induced haemolytic-uraemic syndrome: an analysis of the German STEC-HUS registry. In: *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 27 (10), S. 3807–3815. DOI: 10.1093/ndt/gfs394.
- Kravitz, Gary; Smith, Kirk; Wagstrom, Liz (2002): Colonic necrosis and perforation secondary to Escherichia coli O157:H7 gastroenteritis in an adult patient without hemolytic uremic syndrome. In: *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 35 (9), S. 103–105.
- Lipp, M. J.; Schirmer, J.; Feyerabend, B.; Stavrou, G. A.; Cordruwisch, W.; Faiss, S.; Oldhafer, K. J. (2012): EHEC-assoziierte Kolonstenose nach ulzerös-chronisch hämorrhagischer Kolitis mit konsekutivem Ileus. In:

Zeitschrift für Gastroenterologie 50 (05), S. 453–456. DOI: 10.1055/s-0031-1299059.

Masumoto, Kouji; Nishimoto, Yuko; Taguchi, Tomoaki; Tsutsumi, Yasushi; Kanemitsu, Satomi; Hara, Toshiro; Suita, Sachiyo (2005): Colonic stricture secondary to hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O-157. In: *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 20 (10), S. 1496–1499. DOI: 10.1007/s00467-005-1996-4.

Menne, Jan; Nitschke, Martin; Stingele, Robert; Abu-Tair, Mariam; Beneke, Jan; et al. (2012): Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 345 (e 4565).

Nitschke, Martin; Sayk, Friedhelm; Härtel, Cristoph, Roseland, Tabea; Hauswald, Susanne; Steinhoff, Jürgen; Fellermann, Klaus et al. (2012): Association between Azithromycin Therapy and Duration of Bacterial Shedding among Patients with Shiga Toxin-Producing Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4. In: *JAMA* 307 (10), S. 1046–1052.

Navaneethan, Udayakumar; Giannella, Ralph A. (2011): Infectious colitis. In: *Current Opinion in Gastroenterology* 27 (1), S. 66–71. DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283400755.

RKI, Robert-Koch-Institut (RKI) (2011): Abschlussbericht zum EHEC/HUS-Ausbruchsgeschehen 2011.

Rosove, Michael H. (2014): Thrombotic microangiopathies. In: *Seminars in arthritis and rheumatism* 43 (6), S. 797–805. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2013.11.004.

Su, Chinyu; Brandt, Lawrence J.; Sigal, Samuel H.; Alt, Elaine, Steinberg, J.; Patterson, Kathleen; Tarr, Phillip (1998): The Immunohistological Diagnosis of *E. coli* O157:H7 Colitis: Possible Association with Colonic Ischemia. In: *The American Journal of Gastroenterology* 7 (93), S. 1055–1059.

- Schwille-Kiuntke, J.; Frick, J.-S.; Zanger, P.; Enck, P. (2011): Post-Infectious Irritable Bowel Syndrome - A Review of the Literature. In: *Zeitschrift für Gastroenterologie* 49 (8), S. 997–1003.
- Sebbag, H.; Lemelle, J., L.; Moller, C.; Schmitt, H. (1999): Colonic Stenosis After Hemolytic-Uremic Syndrome. In: *European Journal of Pediatric Surgery: official journal of Austrian Association of Pediatric Surgery* 2 (9), S. 119–120.
- Tarr, Phillip I.; Gordon, Carrie A.; Chandler, Wayne L. (2005): Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. In: *The Lancet* 365 (9464), S. 1073–1086. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71144-2.
- Ullrich, Sebastian; Bremer, Phillip; Neumann-Grutzeck, Christine; Otto, Helge; Rütther, Christoph; Seydewitz, Cay Uwe von et al. (2013): Symptoms and clinical course of EHEC O104 infection in hospitalized patients. A prospective single center study. In: *PloS one* 8 (2), e55278. DOI: 10.1371/journal.pone.0055278.

6. Erklärung des Eigenanteils

Die Arbeit wurde unter der Betreuung von Dr. Stefan Lüth und PD Dr. Sebastian Ullrich durchgeführt.

Die koloskopischen Untersuchungen erfolgten in der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf und der Asklepios Klinik Altona, u.a. durch PD Dr. Lüth, Dr. Stefan Groth und Dr. Thomas Rösch.

Die histopathologische Beurteilung erfolgte in der Klinik für Pathologie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durch Prof. Dr. Stefan Steurer.

Die Erstellung der Datenbank der Nachsorge-Koloskopien und die Auswertung der gesammelten Daten und die Literaturrecherche erfolgte durch mich. Das Schreiben der Publikation erfolgte zusammen mit Dr. Thorben Fründt.

7. Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater PD. Dr. med. Sebastian Ullrich für die engagierte Betreuung und stetige Hilfsbereitschaft danken.

Ein besonderer Dank gilt ebenfalls Professor Dr. med. Stefan Lüth, Dr. Werner Dammermann und PD. Dr. med. Stefan Steurer, sowie Dr. med. Thorben Fründt, die mit ihrer Fachkenntnis und Unterstützung einen wesentlichen Teil zur Erstellung der Arbeit beigetragen haben.

Weiterhin möchte ich mich bei den Studienkoordinatorinnen der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik des UKE Kirsten Aue-Raschka und Nicole Fuge für die freundliche Unterstützung und ermunternde Begleitung während des Prozesses bedanken.

Zuletzt ein großer Dank an Martin Ites für die unermüdliche Motivation über die letzten Jahre und an Sean Milbach für den letzten Feinschliff.

8. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

9. 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: