Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und

Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 87 (1996)

Heft: 1

Artikel: Bedeutung von Escherichia coli O157 und anderen Verotoxin bildenden

E. coli = Impact of escherichia coli O157 and other verotoxin producing

E. coli

Autor: Burnens, André P.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982070

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Bedeutung von Escherichia coli O157 und anderen Verotoxin bildenden E. coli*

Impact of Escherichia coli O157 and other Verotoxin Producing E. coli

Key words: Escherichia coli infections, Hemolytic-uremic syndrome, Epidemiology, Food microbiology, Toxins

André P. Burnens Institut für Veterinärbakteriologie, Universität Bern, Bern

Einleitung

Im Frühjahr 1982 wurden in den USA in den Staaten Oregon und Michigan zwei Ausbrüche einer ungewöhnlichen Krankheit beobachtet, welche mit profuser blutiger Diarrhoe einhergingen und deswegen als haemorrhagische Colitis bezeichnet wurden (1). Aus den Stuhlproben der Patienten konnten keine der damals bekannten Durchfallerreger isoliert werden, hingegen wurden bei neun von zwölf Patienten Escherichia coli des Serotyps O157:H7 in den Stuhlkulturen nachgewiesen. Obwohl E. coli ein ständiger Bewohner der normalen Darmflora ist, waren gewisse Serotypen dieses Keimes schon 1945 mit Durchfallerkrankungen in Verbindung gebracht worden (2, 3). Die 1982 bekannten Typen von durchfallerzeugenden E. coli umfassten enterotoxigene (ETEC), enteropathogene («säuglingspathogene» EPEC) und enteroinvasive (EIEC) Stämme. Die während der Ausbrüche von haemorrhagischer Colitis isolierten E. colivom Serotyp O157:H7 gehörten aber nicht zu den damals bekannten Serotypen darmpathogener E. coli und waren zudem vor diesen zwei Epidemien ausserordentlich selten beobachtet worden (1). Daher wurden E. coli O157:H7 als neuartiger Serotyp von darmpathogenen E. coli bezeichnet und wegen der auffälligen Symptome der dadurch verursachten Infektionen (haemorrhagische Colitis) mit der Kennzeichnung EHEC (für «enterohaemorrhagische E. coli») umschrieben.

^{*} Vortrag gehalten an der 28. Arbeitstagung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Zürich, 23. November 1995

Mikrobiologie

Schon 1977 hatten Konowalchuk et al. Stämme von E. coli beschrieben, welche ein potentes Zytotoxin produzierten. Das Toxin wurde durch seine Wirkung auf die Vero-Zellinie (Zellen aus Affennieren) nachgewiesen und daher als Verotoxin bezeichnet (4). Diese Entdeckung war kaum beachtet worden, bis erkannt wurde, dass E. coli O157:H7 genau dieses Toxin in grossen Mengen produzieren (5). Dank den rasch fortschreitenden Erkenntnissen der Molekularbiologie wurde auch sehr schnell erkannt, dass es nicht nur ein Verotoxin gibt, sondern dass es sich dabei um eine ganze Familie von verwandten Toxinen handelt, welche in ihrer Struktur dem Toxin von Shigella dysenteriae Typ 1 verwandt sind (6, 7). Die Verotoxine werden daher auch als Shiga-like-Toxine bezeichnet. Schliesslich haben sich infolge dieser Erkenntnisse die Begriffe VTEC («Verotoxin bildende E. coli») und SLTEC («Shiga-like toxinbildende E. coli») als alternative Bezeichnungen für die EHEC durchgesetzt.

Die genetische Information für die Produktion von Verotoxinen wird durch Bakteriophagen auf *E. coli* übertragen (8–10). Daher ist es grundsätzlich denkbar, dass fast jeder Stamm von *E. coli* durch Infektion mit diesen Phagen zur Bildung von Verotoxin befähigt werden könnte. Tatsächlich hat man bisher auch weit über 100 verschiedene Serotypen von *E. coli* gefunden, welche Verotoxin bilden können (5, 11–13). *Escherichia coli* der Serogruppe O157 nehmen unter den VTEC aus verschiedenen Gründen eine gewisse Sonderstellung ein. VTEC, welche nicht zur Serogruppe O157 gehören, werden deswegen oft unter der Bezeichnung

«non-O157 VTEC» zusammengefasst.

Neben der Fähigkeit, Verotoxin zu bilden, besitzen viele VTEC noch weitere Virulenzfaktoren. Eine Gruppe von Virulenzgenen, welche auf einer grösseren Region des Bakterienchromosomes (ein sogenanntes «pathogenicity island» von 35 kbp) sitzen, werden sowohl bei VTEC als auch bei EPEC gefunden (14). Nur ein kleiner Teil dieser Gene wurde bisher weiter untersucht; Stämme, welche diese Virulenzgene besitzen, können durch den Nachweis des eaeA-Genes erkannt werden (15–19). Neben chromosomalen Virulenzgenen besitzen viele VTEC-Stämme auch ein Virulenzplasmid, welches die Stämme unter anderem zur Bildung eines Hämolysins befähigen (20–22). Der Beitrag dieser Virulenzgene zur Pathogenese der VTEC-Infektionen ist nicht restlos geklärt; jedenfalls genügt in gewissen Fällen offenbar das Vorhandensein der Verotoxine allein, um klinische Erscheinungen hervorzurufen (23–26).

Klinik

Das Spektrum klinischer Erscheinungen bei VTEC-Infektionen ist breit und reicht von banalen wässerigen Durchfällen ohne Blutbeimengungen bis zu schweren haemorrhagischen Colitiden (27). Die Infektionsdosis wurde wegen der gefährlichen Komplikationen der Erkrankung bisher nicht experimentell bestimmt, ist

aber vermutlich gering, was sich durch das Auftreten von Fällen direkter Übertragung (28), Laborinfektionen (29) und Übertragung durch Wasser manifestiert (30, 31). Typische Fälle von haemorrhagischer Colitis haben eine Inkubationszeit von etwa vier Tagen und sind gekennzeichnet durch profuse, blutige Diarrhoe und Abdominalkrämpfe ohne Fieber (1, 27–29). Es ist umstritten, ob eine asymptomatische Kolonisierung mit VTEC möglich ist (32). Eine langdauernde Ausscheidung

von VTEC während der Rekonvaleszenz ist dokumentiert (33).

Eine ganz besonders wichtige Entdeckung war die Beobachtung einer Assoziation zwischen VTEC-Infektionen und der nachfolgenden Entwicklung eines hämolytisch-urämischen Syndroms (34). Das hämolytisch-urämische Syndrom war 1955 in der Schweiz von Gasser et al. (35) beschrieben worden; die zumeist jungen Patienten leiden an einer schweren hämolytischen Anämie und einer akuten Niereninsuffizienz, welche trotz moderner intensivmedizinischer Betreuung im Spital nicht selten zum Tode führen (27, 36). Die Niereninsuffizienz kann über die akute Phase hinaus bestehen bleiben, und es ist denkbar, dass ein signifikanter Anteil der Niereninsuffizienzen im Erwachsenenalter auf die Nachwirkungen solcher Infektionen im Kindesalter zurückzuführen ist. In den Industrieländern können VTEC-Infektionen ohne Zweifel als die tödlichsten Darminfektionen bezeichnet werden; betroffen sind dabei vorwiegend ganz junge und ältere Patienten (27).

Epidemiologie

Unter den VTEC nehmen die *E. coli* der Serogruppe O157 eine gewisse Sonderstellung ein. Die ganz überwiegende Zahl der bisher beschriebenen, VTEC-bedingten Krankheitsausbrüche wurden durch *E. coli* O157:H7 verursacht (28, 31, 37–41). Es ist gegenwärtig noch nicht erwiesen, ob dies die Folge davon ist, dass für diese Serogruppe bessere Nachweisverfahren bestehen, *E. coli* O157 sich durch eine besondere Virulenz auszeichnen, oder noch unerkannte epidemiologische Umstände zu

der beobachteten Verteilung führen.

Nicht nur die Zahl der beobachteten Epidemien, sondern auch die Zahl der gemeldeten sporadischen Fälle von Infektionen mit *E. coli* O157 nehmen in allen Ländern zu, in denen diese Infektionen systematisch untersucht werden. In der Schweiz sind weder VTEC-Isolationen aus klinischen Proben noch Fälle von HUS meldepflichtig. Epidemien mit *E. coli* O157 sind in der ganz überwiegenden Zahl der Fälle mit Lebensmitteln assoziiert, wobei Rindfleisch (28) und Milch (42) besonders häufige Vehikel waren. Mit Rinderkot beschmutzte Äpfel, welche zu unpasteurisiertem Most verarbeitet wurden, haben ebenfalls eine Epidemie verursacht (41). Die geringe Infektionsdosis für *E. coli* O157 führt auch dazu, dass Wasser (43, 44) und direkte Ansteckung von Person zu Person für die Übertragung von Bedeutung sind (39). Die direkte Ansteckung des Menschen durch Rindvieh, welches *E. coli* O157 ausscheidet, ist ebenfalls beschrieben (45). Über die Epidemiologie sporadischer Infektionsfälle gibt es nur wenige Untersuchungen, aber alles spricht

dafür, dass auch sporadische Infektionen mit E. coli O157 mit den gleichen, oben

genannten Übertragungswegen assoziiert sind (46).

Trotz der Sonderstellung der *E. coli* O157 ist zu betonen, dass grundsätzlich alle VTEC humanpathogen sein können und dass auch das haemolytisch-uraemische Syndrom von non-O157 VTEC ausgelöst werden kann. In Ländern, wo auch non-O157 systematisch gesucht wurden, ist die Verteilung zwischen *E. coli* O157 und non-O157 VTEC sehr unterschiedlich. Trotzdem spricht alles dafür, dass die epidemiologischen Beobachtungen, welche für *E. coli* O157 gemacht wurden, auch für andere VTEC zutreffen. Insbesondere ist nicht daran zu zweifeln, dass die Inzidenz auch für non-O157 VTEC im Steigen begriffen ist, dass Rindvieh ein Hauptreservoir darstellt und dass eine Übertragung der Infektion mit Lebensmitteln erfolgt (47).

VTEC, sowohl *E. coli* O157 als auch non-O157 VTEC wurden in vielen Tieren nachgewiesen (5). Rindvieh ist wahrscheinlich dabei das Hauptreservoir für menschliche Infekte. Obwohl dazu in der Literatur widersprüchliche Angaben zu finden sind (48–51), ist davon auszugehen, dass die Tiere dabei gesund sind (47).

Für das Verständnis der Epidemiologie ist eine Typisierung der VTEC-Isolate unerlässlich. Für non-O157 VTEC ist dabei die Serotypisierung sicher die empfehlenswerteste Methode, allerdings gibt es weltweit nur noch wenige Laboratorien, welche die dazu nötigen Seren und Reagenzien besitzen. Für *E. coli* O157 wurde eine Phagentypisierungsmethode entwickelt (52, 53). Zudem wurden *E. coli* O157 von verschiedenen Autoren erfolgreich mit molekularbiologischen Methoden typisiert (29, 53–56).

Diagnostik

Die wohl erheblichsten Unterschiede zwischen E. coli O157 und non-O157 VTEC betreffen die Diagnostik dieser Erreger. Die ganz überwiegende Mehrzahl der verotoxinbildenden E. coli-Isolate der Serogruppe O157 weisen zwei sehr charakteristische biochemische Marker auf: verspätete Sorbitolfermentation und fehlende Bildung von ß-Glucuronidase (57, 58). Diese bilden die Basis des kulturellen Nachweises dieser Stämme aus Patientenproben. Es wurden verschiedene Indikatornährböden unter Einschluss von Sorbitol anstelle von Lactose entwikkelt - mit oder ohne Zusatz von Methyl-Umbilliferyl-Glucuronid (MUG, ein fluoreszierendes Substrat für die ß-Glucuronidase). Verdächtige Isolate erscheinen auf diesen Medien sorbitol- und MUG-negativ, während die Mehrzahl der «normalen» E. coli-Isolatesorbitol-undMUG-positivsind. Verdächtige Isolatesind biochemisch als E. coli zu identifizieren, weil andere Enterobacteriaceen (u. a. Escherichia hermannii) ebenfalls sorbitol- und MUG-negativ sein können (59). Bei der biochemischen Bestätigung kann die Sorbitolfermentation in der bunten Reihe gelegentlich auch bei E. coli O157 positiv ausfallen, allerdings immer verspätet. Die serologische Bestätigung der Serogruppe O157 und des Geisselantigens H7 erfolgt mittels käuflicher Antiseren oder eines käuflichen Latextests (60). Auch Kreuzreaktionen mit gewissen nicht-E. coli-Isolaten können gelegentlich beobachtet werden (61). Unbewegliche (H-) Stämme von *E. coli* O157 sind nicht selten, hingegen sind bewegliche *E. coli* O157, welche zu anderen H-Serogruppen als H7 gehören, zumeist keine Verotoxinbildner. Ganz ausnahmsweise wurden auch schon sorbitolpositive *E. coli* O157:H7 beschrieben (62). Verschiedene alternative Testverfahren für *E. coli* O157 wurden ebenfalls entwickelt und zum Teil auch kommerzialisiert (63, 64).

Ein gewichtiges Problem der oben beschriebenen Verfahren ist der fehlende Nachweis von VTEC, welche nicht zur Serogruppe O157 gehören. In der Schweiz waren im Zeitraum 1992–1995 E. coli O157 nur gerade für etwa einen Drittel aller VTEC-Infektionen verantwortlich (A. Burnens, unveröffentlicht). Dabei ist zu beachten, dass non-O157-VTEC in der Regel sowohl sorbitol- als auch MUGpositiv sind. Daher sind die Verfahren, welche E. coli O157 nachweisen, für non-O157-VTEC zumeist ungeeignet. Für den Nachweis aller VTEC gibt es nur wenige Verfahren. Gegenwärtig sind dies zumeist genetische Nachweismethoden (DNA-Hybridisierung und PCR), welche von verschiedenen Gruppen entwickelt wurden, aber nicht kommerziell erhältlich und für viele Laboratorien auch nicht sehr einfach einzuführen sind (65, 66). Seit kurzer Zeit ist nun ein einfacher ELISA-Test für den Nachweis aller VTEC kommerziell erhältlich (Premier EHEC, Meridian, Cincinnati, Ohio).

Ein weiteres entscheidendes Problem ist dabei, dass alle diese Methoden für den Nachweis von VTEC in Patientenproben entwickelt wurden. Für den Nachweis von VTEC in Lebensmitteln ergeben sich zusätzliche Probleme, weil der Einfluss der üblichen Kulturverfahren auf die VTEC und die «fäkalen» E. coli, welche sich in der gleichen Probe befinden, noch kaum untersucht ist. Es gibt Hinweise dafür, dass übliche Kulturverfahren für «fäkale» E. coli gewisse VTEC hemmen können (67). Eine beschränkte Anzahl von Untersuchungen über mögliche Nachweisverfahren für E. coli O157 in Lebensmitteln wurde zwar durchgeführt, hingegen gibt es kaum vergleichende Untersuchungen (68–70). Zudem wurde das Problem der non-O157-VTEC bisher noch weitgehend von der Untersuchung ausgeklammert. Für die Zukunft wird hier noch viel Arbeit zu leisten sein.

Schlussfolgerungen

Infektionen mit verotoxinbildenden E. coli (VTEC) sind – unabhängig von der Zugehörigkeit der Isolate zur Serogruppe O157 – von grosser klinischer Bedeutung. Die Epidemiologie dieser Erreger ist charakteristisch für ein zoonotisches Reservoir mit lebensmittelbedingter Übertragung auf den Menschen. Für die Lebensmittelhygiene ist daher der Nachweis von VTEC aus Lebensmitteln tierischen Ursprungs sehr bedeutsam. Nachweisverfahren, welche für den Nachweis von VTEC aus klinischem Probenmaterial von Patienten entwickelt wurden, sind für den VTEC-Nachweis aus Lebensmitteln nur bedingt geeignet. Die Entwicklung und Evaluation von VTEC-Nachweisverfahren für die Lebensmittelhygiene sollte in den kommenden Jahren mit hoher Priorität vorangetrieben werden.

Wegen der hohen Infektiosität der VTEC sollten zudem Anstrengungen erbracht werden, um diese Keime schon auf der Stufe Tierproduktion aus den Betrieben zu eliminieren.

Zusammenfassung

Im Anschluss an zwei Epidemien von haemorrhagischer Colitis in den USA im Jahre 1982 wurde die Serogruppe O157 von E. coli als neuartiger darmpathogener Erreger beschrieben. Die Virulenz von E. coli O157 beruht auf der Produktion von einem oder mehreren Toxinen aus einer Gruppe potenten Zytotoxinen, welche durch ihre Wirkungen auf die Vero-Zellinie nachgewiesen und deshalb Verotoxine genannt werden. Inzwischen ist erwiesen, dass eine Reihe von anderen Serotypen von E. coli ebenfalls Verotoxine bilden können; diese Erreger werden unter dem Begriff VTEC zusammengefasst. Es scheint, dass alle VTEC-Typen beim Menschen Darminfektionen mit zum Teil lebensgefährlichen Komplikationen verursachen können. Die Mehrzahl der VTEC-Infektionen ist auf eine Übertragung über Lebensmittel tierischen Ursprungs zurückzuführen, und die Inzidenz dieser Erkrankungen ist weltweit steigend. Der Nachweis von VTEC in Lebensmitteln ist daher für die Prävention dieser Erkrankungen von entscheidender Bedeutung. Der Nachweis von VTEC ist technisch aufwendig und die für den Nachweis von E. coli in Lebensmitteln gebräuchlichen Kulturverfahren können gewisse VTEC-Typen hemmen. Die Entwicklung von zuverlässigen Methoden für den Nachweis von VTEC aus Lebensmitteln ist eine Forschungspriorität in der Lebensmittelhygiene.

Résumé

Suite à deux épidémies de colite hémorragique en 1982, le sérogroupe O157 de *E. coli* a été reconnu comme nouvel agent bactérien de gastro-entérite humaine. La virulence des *E. coli* O157 est due à la production de toxines appartenant à une famille de cytotoxines agissant sur la lignée de cellules Véro. Ces Véro-toxines ont ensuite été mises en évidence auprès d'un grand nombre d'autres sérovars de *E. coli* qu'on a appelés VTEC en conséquence. La majorité des VTEC couramment reconnus sont capables de provoquer des infections humaines, y compris les complications létales survenant dans une partie des malades. Les VTEC sont pour la plupart transmis par des aliments d'origine animale (bovine) et l'incidence des ces infections augmente mondialement. La mise en évidence des VTEC dans les aliments est impérative pour la prévention des cas d'infections humaines. Les méthodes courantes de recherche de *E. coli* dans les aliments sont inadaptées pour la recherche des VTEC. Le développement et l'évaluation de méthodes de mise en évidence des VTEC dans les aliments est une priorité dans le domaine de l'hygiène alimentaire.

Summary

After two outbreaks of hemorrhagic colitis in 1982, *E. coli* belonging to the serogroup O157 were recognized as a new agent of gastroenteritis in humans. Their virulence is due to the production of one or several toxins belonging to a family of potent cytotoxins called Vero toxins because of their effect on Vero cells. A large number of *E. coli* strains belonging to

serogroups other than O157 have since been shown to produce verotoxins as well, and have therefore been termed VTEC. Most VTEC isolates seem to be pathogenic for humans, causing serious, sometimes fatal infections. VTEC are transmitted by food of animal (bovine) origin, and the incidence of human cases of disease due to VTEC is increasing in many countries worldwide. Microbiological analysis of food for the presence of VTEC is therefore vital for the prevention of human disease. The limitations of available methods for the detection of VTEC in foods are discussed. The establishment of simple and reliable methods for the laboratory diagnosis of VTEC in food should be a research priority in food hygiene in forthcoming years.

Literatur

- 1. Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A. and Cohen, M.L.: Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. N. Engl. J. Med. 308, 681–685 (1983).
- 2. Orskov, F. and Orskov, I.: Serotyping of Escherichia coli. Meth. Microbiol. 14, 43-112 (1984).
- 3. Levine, M.M.: Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J. Infect. Dis. 155, 377–389 (1987).
- 4. Konowalchuk, J., Speirs, J.I. and Stavric, S.: Vero response to a cytotoxin of Escherichia coli. Infect. Immun. 18, 775–779 (1977).
- 5. Karmali, M.A.: Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli. Clin. Microbiol. Rev. 2, 15–38 (1989).
- 6. Strockbine, N.A., Jackson, M.P., Sung, L.M., Holmes, R.K. and O'Brien, A.D.: Cloning and sequencing of the genes for Shiga toxin from Shigella dysenteriae type 1. J. Bacteriol. 170, 1116–1122 (1988).
- 7. Calderwood, S.B., Auclair, F., Donohue Rolfe, A., Keusch, G.T. and Mekalanos, J.J.: Nucleotide sequence of the Shiga-like toxin genes of Escherichia coli. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 4364–4368 (1987).
- 8. Strockbine, N.A., Marques, L.R., Newland, J.W., Smith, H.W., Holmes, R.K. and O'Brien, A.D.: Two toxin-converting phages from Escherichia coli O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. Infect. Immun. 53, 135–140 (1986).
- 9. Huang, A., Friesen, J. and Brunton, J.L.: Characterization of a bacteriophage that carries the genes for production of Shiga-like toxin 1 in Escherichia coli. J. Bacteriol. 169, 4308–4312 (1987).
- 10. Newland, J.W. and Neill, R.J.: DNA probes for Shiga-like toxins I and II and for toxin-converting bacteriophages. J. Clin. Microbiol. 26, 1292–1297 (1988).
- 11. Bopp, C.A., Greene, K.D., Downes, F.P., Sowers, E.G., Wells, J.G. and Wachsmuth, I.: Unusual verotoxin-producing Escherichia coli associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 25, 1486–1489 (1987).
- 12. Wilson, J.B., McEwen, S.A., Clarke, R.C., Leslie, K.E., Wilson, R.A., Waltner, T.D. and Gyles, C.L.: Distribution and characteristics of verocytotoxigenic Escherichia coli isolated from Ontario dairy cattle. Epidemiol. Infect. 108, 423–439 (1992).

- 13. Bohnert, M.G., d'Hauteville, H.M. and Sansonetti, P.J.: Detection of enteric pathotypes of Escherichia coli by hybridization using six DNA probes. Ann. Inst. Pasteur 139, 189–202 (1988).
- 14. McDaniel, T.K., Jarvis, K.G., Donnenberg, M.S. and Kaper, J.B.: A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 1664–1668 (1995).
- 15. Schmidt, H., Plaschke, B., Franke, S., Rüssmann, H., Schwarzkopf, A., Heesemann, J. and Karch, H.: Differentiation in virulence patterns of Escherichia coli possessing eae genes. Med. Microbiol. Immunol. 183, 23–31 (1994).
- 16. Gannon, V.P.J., Rashed, M., King, R.K. and Thomas, E.J.G.: Detection and characterization of the eae gene of Shiga-like toxin-producing Escherichia coli using polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 31, 1268–1274 (1993).
- 17. Beebakhee, G., Louie, M., De Azavedo, J. and Brunton, J.: Cloning and nucleotide sequence of the eae gene homologue from enterohemorrhagic Escherichia coli serotype O157:H7. FEMS Microbiol. Lett. 70, 63–68 (1992).
- 18. Yu, J. and Kaper, J.B.: Cloning and characterization of the eae gene of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7. Mol. Microbiol. 6, 411–417 (1992).
- 19. Jerse, A.E. and Kaper, J.B.: The eae gene of enteropathogenic Escherichia coli encodes a 94-kilodalton membrane protein, the expression of which is influenced by the EAF plasmid. Infect. Immun. 59, 4302–4309 (1991).
- 20. Schmidt, H., Beutin, L. and Karch, H.: Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of Escherichia coli O157:H7 strain EDL 933. Infect. Immun. 63, 1055–1061 (1995).
- 21. Tzipori, S., Karch, H., Wachsmuth, K.I., Robins Browne, R.M., O'Brien, A.D., Lior, H., Cohen, M.L., Smithers, J. and Levine, M.M.: Role of a 60-megadalton plasmid and Shiga-like toxins in the pathogenesis of infection caused by enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in gnotobiotic piglets. Infect. Immun. 55, 3117–3125 (1987).
- 22. Beutin, L., Montenegro, M.A., Orskov, I., Orskov, F., Prada, J., Zimmermann, S. and Stephan, R.: Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of Escherichia coli. J. Clin. Microbiol. 27, 2559–2564 (1989).
- 23. Reymond, D., Bianchetti, M.B., Burnens, A. and Lior, H.: Haemolytic-uraemic syndrome. Lancet 343, 1042–1043 (1994).
- 24. Paton, A.W., Bourne, A.J., Manning, P.A. and Paton, J.C.: Comparative toxicity and virulence of Escherichia coli clones expressing variant and chimeric Shiga-like toxin type II operons. Infect. Immun. 63, 2450–2458 (1995).
- 25. Rüssmann, H., Kothe, E., Schmidt, H., Franke, S., Harmsen, D., Caprioli, A. and Karch, H.: Genotyping of Shiga-like toxin genes in non-O157 Escherichia coli strains associated with haemolytic uraemic syndrome. J. Med. Microbiol. 42, 404–410 (1995).
- 26. Burnens, A.P., Boss, P., Orskov, F., Orskov, I., Schaad, U.B., Mueller, F., Heinzle, R. and Nicolet, J.: Occurrence and phenotypic properties of verotoxin producing Escherichia coli in sporadic cases of gastroenteritis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 11, 631–634 (1992).
- 27. Griffin, P.M., Ostroff, S.M., Tauxe, R.V., Greene, K.D., Wells, J.G., Lewis, J.H. and Blake, P.A.: Illnesses associated with Escherichia coli O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. Ann. Intern. Med. 109, 705–712 (1988).
- 28. Bell, B.P., Goldoft, M., Griffin, P.M., Davis, M.A., Gordon, D.C., Tarr, P.I., Bartleson, C.A., Lewis, J.H., Barrett, T.J., Wells, J.G., Baron, R. and Kobayashi, J.: A multistate outbreak of Escherichia coli O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers The Washington experience. JAMA 272, 1349–1353 (1994).

- 29. Burnens, A.P., Zbinden, R., Kaempf, L., Heinzer, I. and Nicolet, J.: A case of laboratory acquired infection with Escherichia coli O157:H7. Int. J. Med. Microbiol. 279, 512–517 (1993).
- 30. Swerdlow, D.L., Woodruff, B.A., Brady, R.C., Griffin, P.M., Tippen, S., Donnell, H.D., Geldreich, E., Payne, B.J., Meyer, A., Wells, J.G., Greene, K. D., Bright, M., Bean, N.H. and Blake, P.A.: A waterborne outbreak in Missouri of Escherichia coli O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. Ann. Intern. Med. 117, 812–819 (1992).
- 31. Keene, W.E., McAnulty, J.M., Hoesly, F.C., Williams, L.P., Hedberg, K., Oxman, G.L., Barrett, T.J., Pfaller, M.A. and Fleming, D.W.: A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by Escherichia coli O157:H7 and Shigella sonnei. N. Engl. J. Med. 331, 579–584 (1994).
- 32. Tschape, H., Prager, R., Streckel, W., Fruth, A., Tietze, E. and Bohme, G.: Verotoxinogenic Citrobacter freundii associated with severe gastroenteritis and cases of haemolytic uraemic syndrome in a nursery school: Green butter as the infection source. Epidemiol. Infect. 114, 441–450 (1995).
- 33. Karch, H., Rüssmann, H., Schmidt, H., Schwarzkopf, A. and Heesemann, J.: Long-term shedding and clonal turnover of enterohemorrhagic Escherichia coli O157 in diarrheal diseases. J. Clin. Microbiol. 33, 1602–1605 (1995).
- 34. Karmali, M.A., Steele, B.T., Petric, M. and Lim, C.: Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing Escherichia coli in stools. Lancet 1, 619–620 (1983).
- 35. Gasser, C., Gautier, E., Steck, A., Siebenmann, R.E. and Oechslin, R.: Hämolytisch-urämische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. Schweiz. Med. Wochenschr. 85, 905–909 (1955).
- 36. Martin, D.L., MacDonald, K.L., White, K.E., Soler, J.T. and Osterholm, M.T.: The epidemiology and clinical aspects of the hemolytic uremic syndrome in Minnesota. N. Engl. J. Med. 323, 1161–1167 (1990).
- 37. Brewster, D.H., Brown, M.I., Robertson, D., Houghton, G.L., Bimson, J. and Sharp, J.C.M.: An outbreak of Escherichia coli O157 associated with a children's paddling pool. Epidemiol. Infect. 112, 441–447 (1994).
- 38. Orr, P., Lorencz, B., Brown, R., Kielly, R., Tan, B., Holton, D., Clugstone, H., Lugtig, L., Pim, C., Macdonald, S., Hammond, G., Moffatt, M., Spika, J., Manuel, D., Winther, W., Milley, D., Lior, H. and Sinuff, N.: An outbreak of diarrhea due to verotoxin-producing Escherichia coli in the Canadian Northwest Territories. Scand. J. Infect. Dis. 26, 675–684 (1994).
- 39. Reida, P., Wolff, M., Pohls, H.W., Kuhlmann, W., Lehmacher, A., Aleksic, S., Karch, H. and Bockemühl, J.: An outbreak due to enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in a children day care centre characterized by person-to-person transmission and environmental contamination. Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis. 281, 534–543 (1994).
- 40. Morgan, D., Newman, C.P., Hutchinson, D.N., Walker, A.M., Rowe, B. and Majid, F.: Verotoxin producing Escherichia coli O157 infections associated with the consumption of yoghurt. Epidemiol. Infect. 111, 181–187 (1993).
- 41. Besser, R.E., Lett, S.M., Weber, J.T., Doyle, M.P., Barrett, T.J., Wells, J.G. and Griffin, P.M.: An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from Escherichia coli O157:H7 in fresh-pressed apple cider. JAMA 269, 2217–2220 (1993).
- 42. Upton, P. and Coia, J.E.: Outbreak of Escherichia coli O157 infection associated with pasteurised milk supply. Lancet 344, 1015 (1994).

- 43. Brewster, D.H., Brown, M.I., Robertson, D., Houghton, G.L., Bimson, J. and Sharp, J. C.: An outbreak of Escherichia coli O157 associated with a children's paddling pool. Epidemiol. Infect. 112, 441–447 (1994).
- 44. Keene, W.E., McAnulty, J.M., Hoesly, F.C., Williams, L.P., Jr., Hedberg, K., Oxman, G.L., Barrett, T.J., Pfaller, M.A. and Fleming, D.W.: A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by Escherichia coli O157:H7 and Shigella sonnei. N. Engl. J. Med. 331, 579–584 (1994).
- 45. Shukla, R., Slack, R., George, A., Cheasty, T., Rowe, B. and Scutter, J.: Escherichia coli O157 infection associated with a farm visitor centre. Commun. Dis. Rep. CDR. Rev. 5, R86–R90 (1995).
- 46. Bryant, H.E., Athar, M.A. and Pai, C.H.: Risk factors for Escherichia coli O157:H7 infection in an urban community. J. Infect. Dis. 160, 858–864 (1989).
- 47. Burnens, A.P., Frey, A., Lior, H. and Nicolet, J.: Prevalence and clinical significance of vero-cytotoxin-producing Escherichia coli (VTEC) isolated from cattle in herds with and without calf diarrhoea. J. Vet. Med. B 42, 311–318 (1995).
- 48. Wieler, L.H., Bauerfeind, R. and Baljer, G.: Characterization of Shiga-like toxin producing Escherichia coli (SLTEC) isolated from calves with and without diarrhoea. Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis. 276, 243–253 (1992).
- 49. Smith, H.R., Scotland, S.M., Willshaw, G.A., Wray, C., McLaren, I.M., Cheasty, T. and Rowe, B.: Vero cytotoxin production and presence of VT genes in Escherichia coli strains of animal origin. J. Gen. Microbiol. 134, 829–834 (1988).
- 50. Mohammad, A., Peiris, J.S.M., Wijewanta, E.A., Mahalingam, S. and Gunasekara, G.: Role of verocytotoxigenic Escherichia coli in cattle and buffalo calf diarrhoea. FEMS Microbiol. Lett. 26, 281–283 (1985).
- 51. Montenegro, M.A., Bulte, M., Trumpf, T., Aleksic, S., Reuter, G., Bulling, E. and Helmuth, R.: Detection and characterization of fecal verotoxin-producing Escherichia coli from healthy cattle. J. Clin. Microbiol. 28, 1417–1421 (1990).
- 52. Frost, J.A., Cheasty, T., Thomas, A. and Rowe, B.: Phage typing of Vero cytotoxin-producing Escherichia coli O157 isolated in the United Kingdom 1989–91. Epidemiol. Infect. 110, 469–475 (1993).
- 53. Barrett, T.J., Lior, H., Green, J.H., Khakhria, R., Wells, J.G., Bell, B.P., Greene, K.D., Lewis, J. and Griffin, P.M.: Laboratory investigation of a multistate food-borne outbreak of Escherichia coli O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. J. Clin. Microbiol. 32, 3013–3017 (1994).
- 54. Samadpour, M., Grimm, L.M., Desai, B., Alfi, D., Ongerth, J.E. and Tarr, P.I.: Molecular epidemiology of Escherichia coli O157:H7 strains by bacteriophage lambda restriction fragment length polymorphism analysis application to a multistate foodborne outbreak and a day-care center cluster. J. Clin. Microbiol. 31, 3179–3183 (1993).
- 55. Paros, M., Tarr, P.I., Kim, H., Besser, T.E. and Hancock, D.D.: A comparison of human and bovine Escherichia coli O157:H7 isolates by toxin genotype, plasmid profile, and bacteriophage lambda-restriction fragment length polymorphism profile. J. Infect. Dis. 168, 1300–1303 (1993).
- 56. Wachsmuth, I.K., Kiehlbauch, J.A., Bopp, C.A., Cameron, D.N., Strockbine, N.A., Wells, J.G. and Blake, P.A.: The use of plasmid profiles and nucleic acid probes in epidemiologic investigations of foodborne, diarrheal diseases. Int. J. Food Microbiol. 12, 77–89 (1991).
- 57. Thompson, J.S., Hodge, D.S. and Borczyk, A.A.: Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of Escherichia coli serotype O157. J. Clin. Microbiol. 28, 2165–2168 (1990).

- 58. Kleanthous, H., Fry, N.K., Smith, H.R., Gross, R.J. and Rowe, B.: The use of sorbitol-MacConkey agar in conjunction with a specific antiserum for the detection of Vero cytotoxin-producing strains of Escherichia coli O157. Epidemiol. Infect. 101, 327-335 (1988).
- 59. Rice, E.W., Sowers, E.G., Johnson, C.H., Dunnigan, M.E., Strockbine, N.A. and Edberg, S.C.: Serological cross-reactions between Escherichia coli O157 and other species of the genus Escherichia. J. Clin. Microbiol. 30, 1315-1316 (1992).

60. March, S.B. and Ratnam, S.: Latex agglutination test for detection of Escherichia coli

serotype O157. J. Clin. Microbiol. 27, 1675–1677 (1989).

61. Aleksic, S., Karch, H. and Bockemühl, J.: A biotyping scheme for Shiga-like (Vero) toxin-producing Escherichia coli O157 and a list of serological cross-reactions between O157 and other gram-negative bacteria. Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis. 276, 221-230 (1992).

62. Karch, H., Böhm, H., Schmidt, H., Gunzer, F., Aleksic, S. and Heesemann, J.: Clonal structure and pathogenicity of Shiga-like toxin-producing, sorbitol-fermenting Escheri-

chia coli O157:H-. J. Clin. Microbiol. 31, 1200–1205 (1993).

63. Toth, I., Barrett, T.J., Cohen, M.L., Rumschlag, H.S., Green, J.H. and Wachsmuth, I. K.: Enzyme-linked immunosorbent assay for products of the 60-megadalton plasmid of Escherichia coli serotype O157:H7. J. Clin. Microbiol. 29, 1016–1019 (1991).

64. Chapman, P.A., Wright, D.J. and Siddons, C.A.: A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing Escherichia coli

O157 from bovine faeces. J. Med. Microbiol. 40, 424-427 (1994).

65. Scotland, S.M., Rowe, B., Smith, H.R., Willshaw, G.A. and Gross, R.J.: Vero cytotoxinproducing strains of Escherichia coli from children with haemolytic uraemic syndrome and their detection by specific DNA probes. J. Med. Microbiol. 25, 237–243 (1988).

- 66. Ramotar, K., Waldhart, B., Church, D., Szumski, R. and Louie, T.J.: Direct detection of verotoxin-producing Escherichia coli in stool samples by PCR. J. Clin. Microbiol. 33, 519-524 (1995).
- 67. Raghubeer, E.V. and Matches, J.R.: Temperature range for growth of Escherichia coli serotype O157:H7 and selected coliforms in E. coli medium. J. Clin. Microbiol. 28, 803-805 (1990).
- 68. Willshaw, G.A., Smith, H.R., Roberts, D., Thirlwell, J., Cheasty, T. and Rowe, B.: Examination of raw beef products for the presence of Vero cytotoxin producing Escherichia coli, particularly those of serogroup O157. J. Appl. Bacteriol. 75, 420-426 (1993).

69. Bennett, A.R., MacPhee, S. and Betts, R.P.: Evaluation of methods for the isolation and detection of Escherichia coli O157 in minced beef. Lett. Appl. Microbiol. 20, 375-379

(1995).

70. Wright, D.J., Chapman, P.A. and Siddons, C.A.: Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating Escherichia coli O157 from food samples. Epidemiol. Infect. 113, 31-39 (1994).

> Dr. André P. Burnens Universität Bern Institut für Veterinärbakteriologie Nationales Zentrum für Lebensmittelvergiftungen Länggassstrasse 122 CH-3012 Bern