

**ESCHERICHIA COLI O157 INFECTIE NA
CONTACT MET MELKVEE**

A.E. Heuvelink^{1*}
J.P. Arends²
M.A.J. van Keulen³
Y.T.H.P. van Duynhoven⁴

¹ KEURINGSDIENST VAN WAREN OOST, ZUTPHEN

² MEDISCHE MICROBIOLOGIE, ACADEMISCH ZIEKENHUIS GRONINGEN

³ GGD IJSSEL-VECHT, ZWOLLE

⁴ CENTRUM VOOR INFECTIEZIEKTEN EPIDEMIOLOGIE, RIVM, BILTHOVEN

*Keuringsdienst van Waren Oost
Postbus 202
7200 AE Zutphen
tel. 0575 – 588 100
fax. 0575 – 588 200
email OT@kvw.nl

projectnummer: OT 0111
datum: oktober 2001

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING	3
1. MELDING <i>ESCHERICHIA COLI</i> O157 INFECTIE	4
2. BRON- EN CONTACTONDERZOEK.....	4
3. MICROBIOLOGISCH ONDERZOEK	4
4. DISCUSSIE.....	5
5. CONCLUSIES	8
6. DANKBETUIGING.....	8
7. LITERATUUR.....	8

SAMENVATTING

Een 1,5-jarig jongetje werd opgenomen in het ziekenhuis met het hemolytisch-uremisch syndroom veroorzaakt door een infectie met Shiga toxine-producerende *Escherichia coli* O157 (STEC O157). Bij brononderzoek op het melkveebedrijf van zijn grootouders, waar hij regelmatig komt spelen, werden STEC O157 positieve melkkoeien aangetroffen. Enkele dierlijke STEC O157 isolaten bleken bij nadere subtypering niet te verschillen van het humane STEC O157 isolaat. Dit is een zeer sterke aanwijzing dat de infectiebron van het patiëntje gelegen was op het melkveebedrijf en de infectie het gevolg was van direct of indirect contact met melkkoeien en/of mest van deze dieren.

SUMMARY

A 1.5-year old boy was admitted to hospital with the haemolytic-uraemic syndrome caused by an infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 (STEC O157). The boy regularly visits his grandparents who live on a dairy farm. On this farm STEC O157-positive cattle were found. Subtyping could not distinguish between some of the STEC O157 isolates from the animals and the human STEC O157 isolate. This provides very strong evidence that the source of the infection originated from the dairy farm and infection of the boy resulted from direct or indirect contact with cattle or cattle faeces.

TREFWOORDEN: *Escherichia coli* O157, STEC, hemolytisch-uremisch syndroom, HUS, runderen, brononderzoek

1. MELDING *ESCHERICHIA COLI* O157 INFECTIE

Op 1 augustus 2001 werd bij de GGD IJssel-Vecht een *Escherichia coli* O157 infectie gemeld. Het betrof een 1,5-jaar oud jongetje dat 27 juli was opgenomen in het Academisch Ziekenhuis Groningen (AZG) met het hemolytisch-uremisch syndroom (HUS): hemolytische anemie, trombocytopenie en acute nierinsufficiëntie.

Het jongetje was op 24 juli ziek geworden met de volgende klachten: diarree met slijm en bloedbijmenging, koorts (37,5°C of hoger), minder vaak of niet urineren, een bleke gelaatskleur en lusteloosheid/slaapzucht. Op 25 juli werd een eerste bezoek aan de huisarts gebracht. De klachten bleven aanhouden en na een tweede bezoek op 27 juli volgde spoedopname in het Diaconessenhuis Ziekenhuis in Meppel en nog dezelfde dag werd het jongetje opgenomen op de intensive care van het AZG. De nierinsufficiëntie werd 13 dagen behandeld met peritoneaaldialyse. De nierfunctie kwam geleidelijk weer op gang. Twee augustus werd het patiëntje overgeplaatst naar de verpleegafdeling en 17 augustus volgde ontslag naar huis. Het patiëntje is nu, 2 maanden na het ontwikkelen van HUS, nog niet volledig hersteld, maar lijkt zich goed te ontwikkelen. In het bacteriologisch laboratorium was uit de feces van het jongetje *Escherichia coli* O157 geïsoleerd.

2. BRON- EN CONTACTONDERZOEK

Na melding van het *E. coli* O157 isolaat werd door de GGD bron- en contactonderzoek uitgevoerd aan de hand van de vragenlijst uit de actieve surveillance van *E. coli* O157 (7.2). Hieruit kwam naar voren dat het kindje wekelijks op het melkveebedrijf van zijn grootouders speelt. Op 1 augustus heeft de GGD de Keuringsdienst van Waren (Kvw) Oost benaderd en een dag later werd een gezamenlijk bezoek gebracht aan het bedrijf. In overleg met de veehouder werd besloten het bedrijf volledig (melkvee en jongvee) te bemonsteren. Dit vond plaats op 6 augustus. Het melkvee stond in een ligboxenstal. In de andere stal op het erf was het jongvee gehuisvest. Daarin was ook een melkkoe met diarree gestald, apart van het overige melkvee. Verder liep nog een melkkoe buiten in het weiland. Alle dieren werden individueel bemonsterd (rectale swabs). Tevens werden in beide stallen enkele mengmonsters verzameld door verspreid in de stallen verse mest van de grond te rapen. Ook van de hond werden droppings verzameld. Voorts werd het melkfilter meegenomen voor microbiologisch onderzoek.

Niemand in de directe omgeving van het jongetje had in de week voor aanvang van de klachten of nadien dezelfde soort klachten. Ook het fecesonderzoek van gezinsleden en de melkveehouder was negatief gebleken voor *E. coli* O157.

3. MICROBIOLOGISCH ONDERZOEK

De monsters werden dezelfde dag nog in onderzoek genomen. Hiertoe werden de swabs van dieren die in dezelfde ruimte waren gehuisvest per 5 gepoold.

Van de 23 gepoolde swabmonsters van het melkvee waren er 13 positief voor *E. coli* O157. Ook 1 van de 3 mengmonsters verzameld in de ligboxenstal was positief. De melkkoe met diarree en de melkkoe die buiten liep werden negatief bevonden. Van de 13 swabmonsters van het jongvee (9 poolmonsters en 4 individuele monsters) waren er 3 positief voor *E. coli* O157. De 2 mengmonsters verzameld in de jongveeststal waren beide negatief, evenals de droppings van de hond en het melkfilter.

Alle isolaten, inclusief het isolaat van het patiëntje, gaven de volgende PCR resultaten: *stx*₁- (Shiga toxine type 1), *stx*₂+ (Shiga toxine type 2), *eae*+ (*E. coli* attaching-and-effacing gen dat codeert voor intimine, een eiwit dat een belangrijke rol speelt bij het koloniseren van de darm), *hly*_{EHEC}+ (enterohemolysine gen) en *fliC*_{H7}+ (gen voor flagellaire H7 antigen).

Bij nadere subtypering met behulp van Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) konden 5 verschillende DNA restrictiepatronen worden onderscheiden (Tabel 1). Van de 17 dierlijke

isolaten genereerden er 4 een PFGE patroon dat niet kon worden onderscheiden van het patroon van het humane isolaat. Deze stammen waren alle geïsoleerd uit monsters verzameld in de ligboxenstal (3 gepoolde swabmonsters en 1 mengmonster).

Behalve het humane isolaat werd van elke PFGE subgroep 1 stam opgestuurd naar het PHLS (Public Health Laboratory Service) in Londen voor faagtypering. Het humane en het dierlijke isolaat met PFGE patroon B behoorden beide tot faagtype 2. De isolaten die de PFGE subgroepen A, A', C en D vertegenwoordigden werden getypeerd als respectievelijk rdnc-1 (reageert met de set fagen, maar niet volgens een bekend patroon), rdnc-1, 49 en rdnc-2.

Tabel 1. PFGE *E. coli* O157 isolaten

Herkomst	PFGE patroon (aantal isolaten)
HUS-patiëntje	B (n= 1)
Melkveestal	A (n= 8)
	A' (n= 1)
	B (n= 4)
	C (n= 1)
Jongveestal	A (n= 2)
	D (n= 1)

4. DISCUSSIE

Een 1,5-jaar oud kindje dat regelmatig op het melkveebedrijf van zijn grootouders speelt ontwikkelde HUS als gevolg van een infectie met *E. coli* O157. Uit mestmonsters van het melkvee werden *E. coli* O157 stammen geïsoleerd die fenotypisch en genotypisch niet konden worden onderscheiden van het *E. coli* O157 isolaat van het patiëntje. Gegeven het recente directe of indirecte contact met runderen en/of rundermest van dit bedrijf is dit resultaat een sterke aanwijzing dat de humane infectie zijn oorsprong had op het melkveebedrijf. Uit de vragenlijst bleek dat het patiëntje géén ongepasteuriseerde melk had gedronken.

De belangrijkste oorzaak van Shiga toxine-producerende *E. coli* O157 (STEC O157) infecties bij de mens is de consumptie van voedingsmiddelen van bovine oorsprong, zoals onvoldoende verhit rundvlees en ongepasteuriseerde melk. Andere belangrijke transmissieroutes zijn: consumptie van rauwe groenten en fruit, fecaal besmet drink-/zwemwater en overdracht van mens op mens. Tenslotte worden zowel explosies als individuele gevallen van STEC O157 infectie in toenemende mate in verband gebracht met directe transmissie van dier op mens, bijvoorbeeld tijdens het aaien of knuffelen van dieren, het verzorgen van dieren, door contact met mest van dieren die op de vacht van het dier zit of op de grond ligt, enzovoort. In de regel vertonen dieren géén klinische verschijnselen als gevolg van het dragen van STEC O157. De uitscheiding van STEC O157 door herkauwers is intermitterend en van tijdelijke aard. Gewoonlijk zijn individuele dieren circa 2 tot 8 weken uitscheider. Verder blijkt de uitscheiding seizoensgebonden, met een piek in de zomer en het najaar, parallel aan STEC O157 infecties bij de mens.

De incidentie van STEC O157 gastro-enteritis in de Nederlandse bevolking wordt geschat op minder dan 1000 gevallen per jaar en het aantal kinderen dat een HUS doormaakt op circa 20 tot 30 per jaar. Sinds december 1999 zijn STEC O157 isolaties bij de mens aangifteplichtig. Tot dusver zijn explosies van enige omvang uitgebleven. Om meer inzicht te verkrijgen in laboratoriumbevestigde ziektegevallen van STEC O157 infectie en om explosies snel te kunnen signaleren is het RIVM in 1999 gestart met de intensieve laboratoriumsurveillance van STEC O157 (7.2). In de periode januari 1999 tot en met juni 2001 werden 93 patiënten met een STEC O157 infectie gediagnosticeerd, waarvan 25% in de leeftijdsgroep van 0 tot 4 jaar. Voor een 1,5-jaar oud jongetje kon een bezoek aan een kinderboerderij, een week voor aanvang van de klachten, vrijwel zeker als de oorzaak

van het ontstaan van HUS worden aangewezen (7.3). Dit was de eerste keer dat in Nederland zowel uit een patiëntje als uit de vermoedelijke bron van de infectie, de geiten en de schapen op de kinderboerderij, *E. coli* O157 stammen werden geïsoleerd die met behulp van PFGE en andere subtyperingsmethoden onderling niet konden worden onderscheiden.

Uit de hier beschreven studie blijkt dat contact van jonge kinderen met (mest van) dieren niet alleen op kinderboerderijen een ernstig gezondheidsrisico kan vormen, maar ook op melkveebedrijven. Waarschijnlijk hangt dit samen met een lage infectieuze dosis bij overdracht van dier op mens. Contact met landbouwhuisdieren is al verschillende keren in Nederland als mogelijke oorzaak van het ontstaan van een HUS naar voren gekomen. In alle gevallen kon brononderzoek op de verdachte rundveebedrijven echter géén uitsluitend geven (Tabel 2).

Tabel 2. Resultaten brononderzoek op rundveebedrijven naar aanleiding van een HUS-patiëntje

Datum	Bedrijf	Resultaat
Sept-97	Melkveebedrijf	Isolatie STEC O157 uit melkkoeien, maar onderscheid PFGE en faagtype isolaten van dierlijke en humane oorsprong
Juni-98	Vleeskalverenbedrijf	Isolatie STEC O157 uit vleeskalveren, maar onderscheid PFGE en faagtype isolaten van dierlijke en humane oorsprong
Nov-00	Hobby boer	<i>E. coli</i> O157 (<i>stx</i> -, <i>eae</i> +) uit runderen en géén humaan isolaat (wel positieve reactie serologisch onderzoek naar O157 antilichamen)
Aug-01	Vleesstierenbedrijf	Isolatie STEC O157 uit vleesstieren, maar géén humaan isolaat

Vanaf 1 april 1997 vindt een gestructureerde surveillance van zoonoseverwekkers bij landbouwhuisdieren plaats. De voorlopige resultaten van *E. coli* O157 bij melkkoeien en vleeskalveren laten zien dat deze bacteriën veelvuldig op melk- en vleesveebedrijven worden aangetroffen (Tabel 3). Het spelen van met name jonge kinderen op rundveebedrijven brengt daarom een zeker gezondheidsrisico met zich mee. Op dit moment zijn géén preventieve maatregelen beschikbaar die elke kans op infectie met STEC O157 volledig uitbannen. Ook hier geldt, net als voor kinderboerderijen, dat het risico kan worden gereduceerd door eenvoudige, algemene hygiënische maatregelen. Het veelvuldig voorkomen van STEC O157 op rundveebedrijven, de lage infectieuze dosis en de reële kans op blijvend orgaanletsel (nierfalen) en zelfs kans op sterfte rechtvaardigen een aanpak gelijk aan die bij kinderboerderijen, waarbij voorlichting richting veehouders en bezoekers de belangrijkste peiler is (7.1).

Tabel 3. Voorlopige resultaten monitoring van *E. coli* O157 bij runderen 1997-2000 (resultaten op koppelniveau)

Jaar	Melkkoeien	Vleeskalveren
1997	0/84	3/114 (2,6)
1998	7/263 (2,7)	1/148 (0,7)
1999	12/159 (7,5)	8/60 (13,3)
2000	14/158 (8,9)	22/133 (16,5)

Naast aandacht voor het bewust maken van mensen van het risico verbonden aan contact met dieren en dierlijke mest en het belang van het in acht nemen van meestal eenvoudige hygiënemaatregelen om infectie te voorkomen, dient het consumeren van ongepasteuriseerde zuivelproducten ten eerste te worden ontmoedigd. Tijdens de melkwinning op de boerderij kan namelijk niet worden uitgesloten dat fecale besmetting van melk plaatsvindt. In principe zijn STEC O157 stammen niet invasief en daarom zullen de bacteriën niet rechtstreeks via de melk worden uitgescheiden.

De resultaten van de monitoring op rundveebedrijven (Tabel 3) en onderzoek dat in het verleden op slachthuizen is gedaan (Tabel 4) onderstrepen bovendien het belang van het

strikt handhaven van de wettelijk verplichte nul-tolerantie zichtbare fecale bezoedeling runderkarkassen. Besmetting van vlees treedt op als een karkas tijdens het slachtproces met maagdarminhoud van positieve dieren wordt bezoedeld. Tenslotte geldt dat schoon slachten begint met de aanvoer van schone dieren op het slachthuis.

Tabel 4. Isolatie *E. coli* O157 uit runderen aan de slachtlijn

Jaar	Slachtrunderen*	Vleeskalveren
1995	30 / 270 (11,1)	1 / 183 (0,5)
1996	27 / 270 (10,0)	1 / 214 (0,5)

* voornamelijk melkkoeien

5. CONCLUSIES

De resultaten van het in dit artikel beschreven brononderzoek maken het zeer aannemelijk dat wederom een 1,5-jaar oud kindje HUS heeft ontwikkeld als gevolg van een bezoek aan een boerderij, ditmaal een melkveebedrijf. Op dit moment is het niet mogelijk elke kans op infectie met STEC O157 volledig uit te bannen. Preventieve maatregelen dienen in eerste instantie gericht te zijn op het onder de aandacht brengen bij veehouders en bezoekers van rundveebedrijven van de risico's van het contact van, met name jonge kinderen, met landbouwhuisdieren en dierlijke mest. De resultaten ondersteunen eerdere aanwijzingen dat direct of indirect contact met landbouwhuisdieren een belangrijke risicofactor is voor de individuele STEC O157 infecties in Nederland.

6. DANKBETUIGING

Dit onderzoek heeft opnieuw aangetoond dat bronopsporing in geval van een STEC O157 infectie lonend is. De actieve surveillance geeft meer inzicht in de epidemiologie van STEC O157 infecties en levert een belangrijke bijdrage aan het opstellen van maatregelen om HUS te voorkomen. Het succes is te danken aan de snelle coördinatie tussen de betrokken partijen. Een speciaal woord van dank is verschuldigd aan Carolien de Jager (CIE, RIVM) die de vragenlijsten van de actieve surveillance verwerkt en Caroliene van Heerwaarden, Reinder Hoenderken, Jan Naber, Jeroen Tilburg en Ans Zwartkruis (KvW Oost) die de bemonstering en/of het microbiologisch onderzoek hebben uitgevoerd.

7. LITERATUUR

- 7.1 Boer, E. de, Heuvelink, A.E., Hoenderken, R., Valkenburgh, S., Vecht, U., Visser, G. 2001. Kinderboerderijen en het risico op zoonosen. Keuringsdienst van Waren Oost, Intern memo.
- 7.2 Duynhoven, Y.T.H.P. van, Jager, C.M. de, Heuvelink, A.E., Zwaluw, W.K. van der, Maas, H.M.E., Pelt, W. van & Wannet, W.J.B. 2001. Enhanced laboratory-based surveillance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in the Netherlands. Submitted.
- 7.3 Heuvelink, A.E., Heerwaarden, C. van, Zwartkruis-Nahuis, J.T.M, Oosterom, R. van, Edink, K. & Duynhoven, Y.T.H.P. van. 2001. *Escherichia coli* O157 infection associated with a petting zoo. Submitted.

