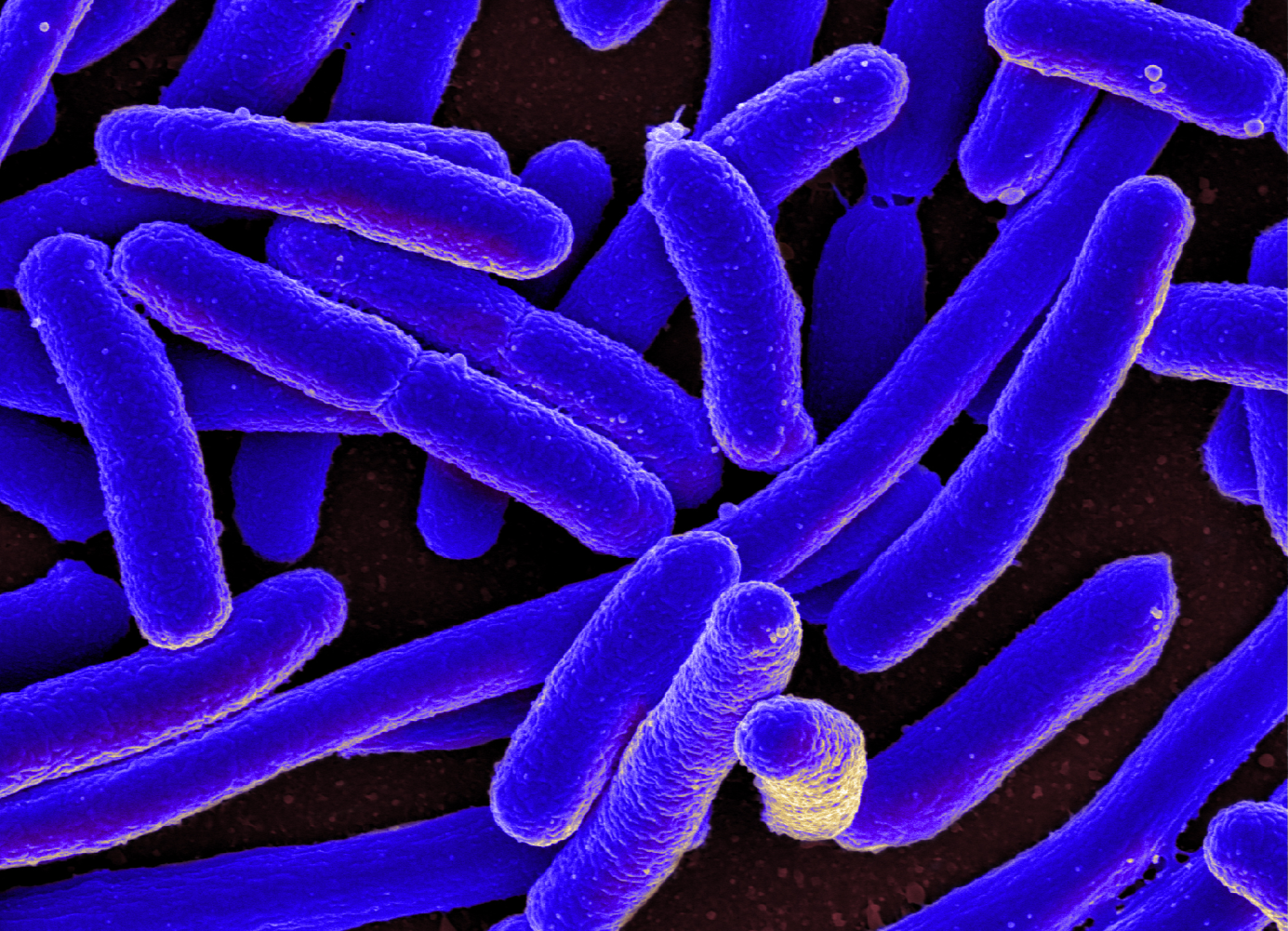
***Escherichia coli***

******

Źródło: National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) (https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=18160)

**Streszczenie**

Bakterie *E. coli* to pałeczki Gram-ujemne, względnie beztlenowe. Rosną na podłożach w zakresie 20-40 °C, z optimum 37 °C. Średnica 0,5 µm i długość 1,0-3,0 µm. Posiadają zdolność ruchu, urzęsienie peritrichalne. *E. coli* jest bakterią komensalną, naturalnie występującą w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt stałocieplnych. *E.coli*, jako składniki mikrobiomu układu pokarmowego, biorą udział w rozkładzie substancji pokarmowych, syntetyzują witaminy z grupy B, K oraz wpływają na utrzymanie równowagi wśród bakterii jelitowych. Istnieją jednak szczepy *E. coli*, które są patogenami. Wyróżniono dziewięć grup chorobotwórczych *E. coli*: 6 wywołujących biegunki oraz 3 grupy, do których należą *E*. *coli* wywołujące zakażenia dróg moczowych, bakteriemię czy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych.

**1.Wstęp**

Pałeczki *Escherichia coli*, nazywane niegdyś *Bacterium coli*, zostały wyizolowane po raz pierwszy z kału, przez austriackiego pediatrę Theodora Escherichia (Escherich, 1885).

Bakterie *E. coli* to pałeczki Gram-ujemne, względnie beztlenowe. Rosną na podłożach w zakresie 20-40 °C, z optimum 37 °C. Średnica 0,5 µm i długość 1,0-3,0 µm. Posiadają zdolność ruchu, urzęsienie peritrichalne.

**2. Występowanie**

*E. coli* jest bakterią komensalną, naturalnie występującą w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt stałocieplnych. Pałeczki *E.coli* wraz z odchodami mogą rozprzestrzeniać się w środowisku, m.in. zanieczyszczając żywność i środowisko produkcji. Są one bakteriami wskaźnikowymi – ich obecność nie musi stanowić zagrożenia, ale wskazuje na zanieczyszczenie i możliwość występowania innych bakterii chorobotwórczych np. *Salmonella*, czy chorobotwórczych *E.coli*. Jako składniki mikrobiomu układu pokarmowego biorą udział w rozkładzie substancji pokarmowych, syntetyzują witaminy z grupy B, K oraz wpływają na utrzymanie równowagi wśród bakterii jelitowych.

**3.Chorobotwórczość**

Wyróżniono dziewięć grup chorobotwórczych *E. coli*: 6 wywołujących biegunki oraz 3 grupy, do których należą *E*. *coli* wywołujące zakażenia dróg moczowych, bakteriemię czy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (Garrity i wsp., 2005; Januszkiewicz, 2011). Do pałeczek *E. coli* wywołujących biegunki należą: enteropatogenne (EPEC), enterotoksyczne (ETEC), enteroinwazyjne (EIEC), enteroadhezyjne charakteryzujące się rozsianym typem adhezji (DAEC), enteroagregacyjne (EAEC) oraz werotoksyczne (VTEC) znane także jako *E. coli* produkujące toksynę Shiga (STEC).

**EPEC**

EPEC są ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za wywoływanie biegunek u dzieci. W wysokich dawkach wywołują zachorowania także u dorosłych. Głównymi czynnikami wirulencji są wyspy patogenności LEE (ang. locus of enterocyte effacement), intymina oraz fimbrie BFP (bundle-forming pilus) (Ochoa i Contreras, 2011; Yang i wsp., 2017). EPEC niszczą mikrokosmki jelitowe wywołując obfite, wodniste biegunki. Ponadto mogą wystąpić bóle brzucha, nudności, wymioty, gorączka. Dawkę infekcyjną dla zdrowych dorosłych ludzi oszacowano na 108 komórek bakteryjnych (Yang i wsp., 2017).

**ETEC**

ETEC są przyczyną biegunek głównie u dzieci, w krajach rozwijających się, uznawane za przyczynę tzw. biegunki podróżniczej. W krajach rozwiniętych biegunka wywołana ETEC jest rzadko odnotowywana. Za główne czynniki wirulencji uznaje się fimbrie CFs (colonisation factors - czynniki kolonizacji), które odpowiadają za adhezję do komórek nabłonka jelit. W kolejnym etapie ETEC wytwarzają enterotoksyny: ciepłochwiejną LT (heat-**l**abile **t**oxin) i/lub ciepłostabilną ST (heat-**s**tabile **t**oxin) (Jobling i Holmes, 2012). Typowymi objawami klinicznymi zatrucia ETEC bardzo często jest wodnista biegunka, bóle brzucha nudności, wymioty i gorączka (Harada i wsp., 2013). Objawy trwają 3-5 dni. Do zachorowania dochodzi po spożyciu zanieczyszczonej komórkami ETEC żywności lub wody. Dawka infekcyjna dla dorosłych określana jest na poziomie 108 komórek bakteryjnych. Dawki te są niższe dla dzieci i osób starszych (Taneja i wsp., 2011; Yang i wsp., 2017).

**EIEC**

Badania filogenetyczne wskazują, że EIEC wykazują wysokie podobieństwo do *Shigella* spp. Uważa się, że *Shigella* wyewoluowała z EIEC (Peng et al. 2009; van den Beld and Reubsaet 2012, Yang i wsp., 2017). Dawka infekcyjna EIEC jest szacowana na 106-1010 (Hsia i wsp., 1993; Hsu i wsp., 2010, Yang i wsp., 2017). Głównymi czynnikami wirulencji są geny *ipaA*, *ipaB*, *ipaC*, *ipaD*, *ipaH*. Typowym objawem klinicznym jest biegunka z krwią. Jednak zachorowania mogą przyjmować formy od łagodniejszej, wodnistej biegunki do skurczów brzucha, gorączki, dreszczy, biegunki z krwią i śluzem (Yang i wsp., 2017).

**EAEC (EAggEC)**

Szczepy EAEC wywołują biegunkę dziecięcą, są także ważnym czynnikiem wywołującym biegunkę podróżnych (Yang i wsp., 2017). Zostały wyodrębnione w oparciu o fenotyp adherentno-agregacyjny (AA) zależny od plazmidu wirulencji AA, na którym kodowane są m.in. następujące czynniki wirulencji: adherentno-agregacyjne fimbrie I – V (AAF/I – AAF/V), toksyny kodowane plazmidowo (Pet), enteroagregacyjne ciepłostabilna toksyna 1 (EAST1), dyspersyna (Aap) – umożliwiająca rozproszenie EAEC na błonie śluzowej jelita człowieka (França i wsp., 2013; Baldy-Chudzik i wsp., 2015; Yang i wsp., 2017). Symptomy zakażenia to najczęściej wodnista biegunka ze śluzem, którym towarzyszą gorączka, wymioty i bóle brzucha. Dawka infekcyjna wynosi 1010 (Yang i wsp., 2017).

**DAEC**

DAEC mogą wywoływać biegunkę u dzieci. Jako główne czynniki wirulencji wymienia się fimbrie F1845 oraz adhezynę AIDA-I.

**VTEC (STEC)**

Z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności największą uwagę skupia się na werotoksycznych *E. coli* (VTEC) nazywanych także *E. coli* produkującymi toksynę Shiga (STEC). Głównym źródłem VTEC jest bydło i pochodzące z niego produkty. Szczególnie w USA stosunkowo często odnotowywane są przypadki zachorowań w okresie grillowania, po spożyciu niedopieczonych hamburgerów czy też niedogotowanego mielonego mięsa wołowego.

Innymi źródłami jest mleko, szczególnie niepasteryzowane, warzywa, soki ze świeżych warzyw i owoców, kiełki. Właśnie kiełki zanieczyszczone werotoksycznymi pałeczkami *Escherichia coli* O104:H4 były przyczyną zachorowań, którym uległo ponad 4000 osób w obrębie 14 państw Europy, w tym w Polsce. W wyniku zakażenia zmarło 51 osób (Januszkiewicz i wsp 2011). VTEC mogą rosnąć poza szerokim zakresem temperatur, a także w warunkach kwaśnych, co ułatwia im pokonywanie bariery jaką są soki żołądkowe. Dlatego też, spożycie żywności zanieczyszczonej mniej niż 1000 komórek VTEC może wywołać objawy chorobowe (Ahn i wsp, 2008; Karmali, 2009). Głównymi czynnikami chorobotwórczości VTEC są werotoksyna I i werotoksyna II kodowane przez geny *stx1* i *stx2*. Nazwa toksyn wywodzi się od ich cytopatycznego wpływu na linię komórek Vero. Ze względu na podobieństwo strukturalne i funkcjonalne toksyny Shiga wytwarzanej przez *Shigella dysenteriae*, werotoksyny nazywa się również toksynami Shiga (Stx) lub Shiga-like (Slt) (Donnenberg, 2002; Januszkiewicz, 2011). Geny kodujące werotoksyny mogą różnić się sekwencją nukleotydową a białka werotoksyn wykazywać różną aktywność biologiczną (Garrity i wsp. 2005; Januszkiewicz, 2011). Najczęściej identyfikowane podtypy werotoksyny 1 to Vtx1a, Vtx1c, Vtx1d, natomiast werotoksyny 2: Vtx2a, Vtx2b, Vtx2c, Vtx2d, Vtx2e, Vtx2f, Vtx2g. U werotoksycznych *E.coli*, podobnie jak u EPEC, występuje wyspa patogenności LEE (Locus of Enterocyte Effacement), w obrębie której znajdują się genetyczne determinanty umożliwiające wystąpienie efektu A/E: geny kodujące T3SS (ang. type 3 secretion system - system sekrecji typu III), eae – gen kodujący intyminę oraz tir – gen kodujący receptor intyminy (Donnenberg, 2002; Januszkiewicz, 2011). Intymina jest białkiem umożliwiającym ścisły kontakt komórki bakteryjnej z komórką gospodarza. Aby doszło do ścisłego kontaktu niezbędny jest Tir (Translocated intymine receptor) – recepotor intyminy, który za pośrednictwem systemu sekrecji typu III ulega translokacji do błony komórkowej gospodarza (Donnenberg, 2002, Saitoh i wsp., 2008). Ponadto, wiele VTEC posiada plazmid pO157, w obrębie którego znajdują się geny kodujące takie czynniki wirulencji jak hemolizyna, adhezyna (ToxB), katalaza-peroksyzadaza (KatP), EspP do sekrecji proteazy serynowej oraz system sekrecyjny typu II (Lim i wsp., 2010; Rump i wsp., 2012). Objawami zakażenia jest wodnisto-krwawa biegunka i skurczowe bóle brzucha. Zwłaszcza u dzieci i osób starszych mogą rozwinąć się powikłania – zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS – ang. haemolytic uremic syndrome) czy małopłytkowa plamica zakrzepowa (TTP – ang. thrombotic thrombocytopenic purpura – TTP) (Szewczyk EM, 2013).

**ExPEC** – *E. coli* wywołujące zakażenia pozajelitowe (ang. extraintestinal pathogenic *E. coli*). Wśród nich wyróżnia się UPEC (ang. uropathogenic *E. coli* - uropatogenne *E. coli*), NMEC (ang. neonatal meningitis-associated *E. coli* – *E. coli* związane z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków) oraz SEPEC ( ang. sepsis-causing *E.coli* - *E. coli* związane z sepsą) (Köhler i Dobrindt, 2011). Czynnikami ich chorobotwórczości są fimbrie P i S, siderofory, otocznki, lipopolisacharyd, α-hemolizyna.

**4. Metody izolacji i identyfikacji**

Wśród izolatów *E.coli* istnieje duże zróżnicowanie pod względem antygenów somatycznych „O”, otoczkowych „K” rzęskowych „H”. Dla *E. coli* zidentyfikowano ponad 400 typów serologicznych (Garrity i wsp., 2005).

Metodą referencyjną, zalecaną do identyfikacji werotoksycznych *E. coli* w żywności, jest ISO 13136 – „Horyzontalna metoda wykrywania *E.coli* produkujących toksyny Shiga (STEC) i określenie serogrup O157, O11, O26, O104, O145 oraz O104:H4”. W metodyce tej uwzględniana jest zarówno identyfikacja genów związanych z chorobotwórczością,   
z zastosowaniem metody biologii molekularnej jak i hodowanie na podłożach. Dodatkowo oznaczane są typy serologiczne, które najczęściej identyfikowane były z zachorowaniami   
u ludzi.

Ponadto w mikrobiologii żywności do wykrywania *E. coli* wykorzystywane są również inne metody znormalizowane:

PN-ISO 16649-1:2004 „Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli* -- Część 1: Metoda płytkowa w temperaturze 44 stopni C z zastosowaniem membran i 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D-glukuronidu.”

PN-ISO 16649-2:2004 „Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli* -- Część 2: Metoda płytkowa w temperaturze 44 stopni C z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D-glukuronidu.”

PN-EN ISO 16649-3:2015-07 „Mikrobiologia łańcucha żywnościowego -- Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli* -- Część 3: Wykrywanie i oznaczanie techniką najbardziej prawdopodobnej liczby   
z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo-β-D-glukuronidu.”

PN-ISO 4831:2007 „Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby bakterii z grupy coli -- Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby”

PN-ISO 4832:2007 „Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii z grupy coli -- Metoda płytkowa”

PN-ISO 7251:2006 „Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby przypuszczalnych *Escherichia coli* -- Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby”

PN-EN ISO 16654:2002/A1:2017-06Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda wykrywania *Escherichia coli* 0157

**5. Legislacja**

Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, (Dz. Urz. UE  
L 338 z 22.12.2005, str. 1) z późniejszymi zmianami:

* Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych
* Rozporządzenie Komisji (UE) nr 365/2010 z dnia 28 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych odnośnie do pałeczek jelitowych w mleku pasteryzowanym i innych pasteryzowanych płynnych produktach mlecznych oraz Listeria monocytogenes w soli spożywczej
* Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1086/2011 z dnia 27 października 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz załącznik I do rozporządzenia Komisji (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do salmonelli w świeżym mięsie drobiowym
* Rozporządzenie Komisji (UE) nr 209/2013 z dnia 11 marca 2013 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do kryteriów mikrobiologicznych dotyczących kiełków i zasad pobierania próbek z tusz drobiowych i świeżego mięsa drobiowego
* Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/2285 z dnia 8 grudnia 2015 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiającego szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi, w odniesieniu do określonych wymogów w odniesieniu do żywych małży, szkarłupni, osłonic i ślimaków morskich oraz załącznik I do rozporządzenia (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych
* Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/1495 z dnia 23 sierpnia 2017 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do Campylobacter w tuszach brojlerów
* Rozporządzenie Komisji (UE) 2019/229z dnia 7 lutego 2019 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych w odniesieniu do niektórych metod, kryterium bezpieczeństwa żywności dla Listeria monocytogenes w skiełkowanych nasionach oraz kryterium higieny procesu i kryterium bezpieczeństwa żywności dla soków owocowych i warzywnych niepasteryzowanych (gotowych do spożycia)

- Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2010 r. Nr 136 poz. 914)

- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia

28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności, Artykuł 14. pkt. 1 (Dz.Urz. UE L 31/1 z 1.2.2002, str. 1)

- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 marca 2017 r. w sprawie kontroli urzędowych i innych czynności urzędowych przeprowadzanych w celu zapewnienia stosowania prawa żywnościowego i paszowego oraz zasad dotyczących zdrowia i dobrostanu zwierząt, zdrowia roślin i środków ochrony roślin, zmieniające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001, (WE) nr 396/2005, (WE) nr 1069/2009, (WE) nr 1107/2009, (UE) nr 1151/2012, (UE) nr 652/2014, (UE) 2016/429 i (UE) 2016/2031, rozporządzenia Rady (WE) nr 1/2005 i (WE) nr 1099/2009 oraz dyrektywy Rady 98/58/WE, 1999/74/WE, 2007/43/WE, 2008/119/WE i 2008/120/WE, oraz uchylające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 854/2004 i (WE) nr 882/2004, dyrektywy Rady 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EWG, 96/23/WE, 96/93/WE i 97/78/WE oraz decyzję Rady 92/438/EWG (rozporządzenie w sprawie kontroli urzędowych).

**6. Piśmiennictwo**

Ahn CK, Klein E, Tarr PI (2008) Isolation of patients acutely infected with *Escherichia coli* O157:H7: low-tech, highly effective prevention of hemolytic uremic syndrome. Clin Infect Dis 46:1197–1199

Baldy-Chudzik K, Bok E, Mazurek J. Well-known and new variants of pathogenic Escherichia coli as a consequence of the plastic genome.Postepy Hig Dosw (online) 2015;69:345-361

Donnenberg MS „Escherichia coli virulence mechanisms of a versatile pathogen” Academic Press. USA 2002

Escherich, T. 1885. Die Darmbakterien des Neugeboren und Sauglings. Fortschr. Med. 3:515–522 and 547–554.

França F.L., Wells T.J., Browning D.F., Nogueira R.T., Sarges F.S., Pereira A.C., Cunningham A.F., Lucheze K., Rosa A.C., Henderson I.R., das Graças de Luna M.: Genotypic and phenotypic characterisation of enteroaggregative *Escherichia coli* from Children in Rio de Janeiro, Brazil. PLoS One, 2013; 8: e69971

Garrity G, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn. Vol. 2, Springer, 2005, NY

Harada T, Itoh K, Yamaguchi Y, Hirai Y, Kanki M, Kawatsu K, Seto K, Taguchi M, Kumeda Y (2013) A foodborne outbreak of gastrointestinal illness caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* serotype O169:H41 in Osaka, Japan. Jpn J Infect Dis 66:530–533

Januszkiewicz A. Rozprawa doktorska: Analiza zróżnicowania chorobotwórczego potencjału, profili lekooporności oraz polimorfizmu genetycznego werotoksycznych pałeczek *Escherichia coli* izolowanych na terenie Polski. NIZP-PZH, Warszawa, 2011.

Jobling MG, Holmes RK (2012) Type II heat-labile enterotoxins from 50 diverse *Escherichia coli* isolates belong almost exclusively to the LT-IIc family and may be prophage encoded.

PLoS ONE 7:e29898

Karmali MA (2009) Host and pathogen determinants of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome. Kidney Int 112:S4–S7

Köhler CD & Dobrindt U. (2011) What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? Internationa Journal of Medical Microbiology 301:642-647

Lim JY, La HJ, Sheng H, Forney LJ, Hovde CJ (2010) Influence of plasmid pO157 on *Escherichia coli* O157:H7 Sakai biofilm formation. Appl Environ Microbiol 76:963–966

Ochoa TJ and. Contreras Ca. Enteropathogenic E. coli (EPEC) infection in children. Curr Opin Infect Dis. 2011 October ; 24(5): 478–483

Peng J, Yang J, Jin Q (2009) The molecular evolutionary history of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. Infect Genet Evol 9:147–152

Rump LV, Meng J, Strain EA, Cao G, Allard MW, Gonzalez-Escalona N (2012) Complete DNA sequence analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* plasmid pO157\_2 in beta-glucuronidase-positive *E. coli* O157:H7 reveals a novel evolutionary path. J Bacteriol 194:3457–3463

Saitoh T, Iyoda S, Yamamoto S, Lu Y, Shimuta K, Ohnishi M, Terajima J, Watanabe H (2008) Transcription of the ehx enterohemolysin gene is positively regulated by GrlA, a global regulator encoded within the locus of enterocyte effacement in enterohemorrhagic

*Escherichia coli*. J Bacteriol 190:4822–4830

Szewczyk EM. Diagnostyka Bakteriologiczna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2013.

Taneja N, Singh M, Rao P, Biswal M, Priya S, Chander R, Sharma M (2011) Fecal contamination of drinking water supplies in and around Chandigarh and correlation with acute gastroenteritis. J Commun Dis 43:193–199

van den Beld MJ, Reubsaet FA (2012) Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 31:899–904

Whitfield, C., and M. A. Valvano. 1993. Biosynthesis and expression of cell-surface polysaccharides in Gramnegative bacteria. Adv. Microb. Physiol. 35:135–246.

Yang S-C, Lin C-H, Aljuffali IA, Fang J-Y. Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. Arch Microbiol 2017, 1-15.

*Opracował zespół: Łukasz Mąka, Elżbieta Maćkiw, Monika Stasiak, Joanna Kowalska, Katarzyna Kucharek*