

Pałeczka *Escherichia coli* wytwarzająca toksynę Shiga (STEC): występowanie, chorobotwórczość, oporność termiczna

© ANNA RUDAŚ, © HENRYK KRUKOWSKI

Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Otrzymano 11.09.2024

Zaakceptowano 22.10.2024

Rudaś A., Krukowski H.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): occurrence, pathogenicity, thermal resistance

Summary

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* is a zoonotic pathogen that poses a serious threat to public health. It is proven that 2.8 million acute infections occur annually, with a higher incidence in children. The infection occurs through the consumption of contaminated food of animal origin, e.g. raw or improperly heat-treated meat, milk and also through food of plant origin, e.g. vegetables, fruits and sprouts, as through the consumption of contaminated water or unpasteurized juices. Other routes of infection are human-to-human contact and human-to-animal reservoir contact. Due to the low infectious dose of STEC of only 1-100 cells, it is very important to eliminate this pathogen from food, among other things. The most commonly used method of destroying the bacteria in food processing is thermal destruction.

Keywords: *E. coli*, VTEC, STEC

Escherichia coli wytwarzająca toksynę Shiga (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC) jest patogenem odzwierzęcym, stanowiącym poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Dowiedziono, że rocznie dochodzi do 2,8 miliona ostrych zakażeń, przy czym częstość zakażeń u dzieci jest większa. Do zakażenia dochodzi na skutek spożycia zanieczyszczonej żywności pochodzenia zwierzęcego, np. surowego bądź poddanego niewłaściwej obróbce termicznej mięsa czy mleka, a także przez żywność pochodzenia roślinnego (m.in. warzywa, owoce i kiełki, niepasteryzowane soki) i skażoną wodę. Inną drogą zakażenia jest kontakt człowieka z człowiekiem oraz człowiekiem z rezerwuarem zwierzęcym (10, 22, 26, 29, 34). Ze względu na niską dawkę zakaźną STEC, wynoszącą zaledwie 1-100 komórek, bardzo ważne jest wyeliminowanie tego patogenu między innymi z żywności. Najczęściej stosowaną metodą niszczenia bakterii w przetwórstwie jest obróbka cieplna (33). Temperatura jest kluczowym czynnikiem wpływającym na przeżywalność oraz aktywność mikroorganizmów, w tym shigatoksynicznych pałeczek jelitowych *E. coli* – STEC. *E. coli* uznawana jest za wskaźnik czystości żywności pochodzenia zwierzęcego, informujący o stanie higieny w procesie pozyskiwania i przetwórstwa. Wiele poważnych zach-

rowań u ludzi zostało wywołanych przez obecność shigatoksynicznych szczepów w produktach spożywczych, zwłaszcza w mięsie, mleku i warzywach (19, 33). Szczepy *E. coli* STEC wyróżniają się zdolnością do wywoływania ciężkich, zagrażających życiu powikłań, takich jak: zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS), zakrzepowa płamica małopłytkowa (TTP), wodnista biegunka, krwawa biegunka i krwotoczne zapalenie jelita grubego (HC) (40, 41).

Charakterystyka *E. coli*

Escherichia coli jest Gram-ujemną, względnie beztlenową pałeczką. Pod względem filogenetycznym *Escherichia coli* zaliczana jest do rodziny Enterobacteriaceae, rzędu Enterobacteriales, klasy Gammaproteobacteria, typu Proteobacteria, królestwa Eubacteria i domeny Bacteria. Bakteria została nazwana na cześć niemieckiego pediatry Theodora Eschericha, który w 1885 r. po raz pierwszy ją wyizolował i scharakteryzował. *Escherichia coli* jest uważana za jeden z najlepiej poznanych i scharakteryzowanych gatunków bakterii. Pod względem morfologicznym charakteryzuje się kształtem pałeczkowatym o długości 1-3 μm i średnicy 0,4-0,8 μm . Zaliczana jest do bakterii Gram-ujemnych ze względu na obecność

jednowarstwowej ściany komórkowej i dwuwarstwowej błony zewnętrznej połączonej z warstwą mureiny. Niektóre szczepy gatunku mogą wykazywać ruchliwość, a inne jej brak. Jest to bakteria katalazo-dodatnia, oksydazo-ujemna, zdolna do przemiany tryptofanu w indol oraz redukcji azotanów. Mikroorganizm wykorzystuje energię na drodze fermentacji węglowodanów, syntetyzując przy tym produkty kwasowe, a czasami również gazowe. Przeżywalność *E. coli*, w zależności od temperatury, uzależniona jest od podłoża, na którym rośnie. Najlepszy rozwój osiąga w pH neutralnym. Genom bakterii w zależności od szczepu składa się z około 4000-5500 genów i charakteryzuje się dużą plastycznością, która sprzyja szybkiej ewolucji nowych szczepów bakterii. Gatunek jest komensalem występującym naturalnie w mikroflorze przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt stałocieplnych. Kolonizacja i zasiedlenie przewodu pokarmowego odbywa się kilka godzin po urodzeniu. Komensalne *E. coli* zamieszkujące ludzki przewód pokarmowy koegzystują z organizmem człowieka, z reguły nie wywołując chorób u osobników zdrowych. Relacja ta zazwyczaj przynosi obu gatunkom korzyści, ponieważ bakterie mogą wytwarzać witaminy K i B12 oraz chronić układ pokarmowy gospodarza przed mikroorganizmami chorobotwórczymi. Poza komensalami w obrębie gatunku spotyka się również patogeny. Szczepy patogene mają zdolność do wywoływania chorób układu pokarmowego oraz zakażeń pozajelitowych u ludzi i zwierząt na całym świecie. *E. coli* opowiadają zarówno za łagodne biegunki, jak i ciężkie zapalenia jelita grubego. Schorzenia pozajelitowe dotyczą w większości krwi i moczu, wywołując takie choroby, jak posocznica i zakażenie układu moczowego. Okazuje się, że komensale również mogą powodować choroby u gospodarzy z obniżoną odpornością lub naruszoną barierą przewodu pokarmowego. Bakteria zajmuje szczególne miejsce w świecie mikrobiologii, ponieważ jest przenoszona licznymi drogami między ludźmi i zwierzętami poprzez kontakt bezpośredni, kontakt z wydalninami zwierząt lub łańcuch pokarmowy (1, 7, 13, 14, 26, 27).

Mikroorganizm uznawany jest za wskaźnik czystości żywności pochodzenia zwierzęcego, informujący o stanie higieny w procesie pozyskiwania i przetworstwa (19). Zagrożenia epidemiologiczne występujące w Polsce, wywoływane występowaniem w żywności *E. coli* są opracowywane przez Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny. Instytucją odpowiedzialną za wydawanie norm mikrobiologicznych określających metody wykrywania i oznaczeń ilościowych bakterii w produktach spożywczych jest Polski Komitet Normalizacyjny. Normy wykorzystywane do oznaczania mikroorganizmów w żywności to np. PN-ISO 16649 i PN-ISO 7251. Pierwsza norma opisuje metody znormalizowane dotyczące oznaczania β -glukuronidazo-dodatnich *Escherichia*

coli w ramach urzędowej kontroli żywności, natomiast druga norma opisuje metodę NPL (Najbardziej Prawdopodobnej Liczby), która służy do wykrywania obecności i oznaczania liczby *E. coli*. Przeznaczona do spożycia przez ludzi woda również podlega kontroli urzędowej, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z 7 grudnia 2017 r., a badanie na obecność tejże bakterii prowadzone jest według metod wyszczególnionych w PN-EN ISO 9308. Wyróżnia trzy główne typy sposobów detekcji *E. coli* w badanym materiale: immunodetekcję, metody biologii molekularnej i metody oparte na obserwacji hodowli. Wśród metod wykrywania szczepów patogennych bakterii wymieniane są również: określanie cytotoksyczności zawiesinowej kultury bakteryjnej w odniesieniu do komórek eukariotycznych, zastosowanie sond DNA, technika multipleks PCR, testy aglutynacji, metodę ELISA, metody immunofluorescencyjne, immunoblotting, testy biochemiczne i testy radioimmunologiczne. Problemy z wykrywaniem w żywności *Escherichia coli* wynikają głównie ze złożoności środowiska mikrobiologicznego, które charakteryzuje produkty spożywcze. W obecnych czasach główną metodą redukcji patogenów występujących w żywności jest obróbka termiczna, jednak nie zawsze jest ona wystarczająca ze względu na odmienną przeżywalność cieplną poszczególnych szczepów *E. coli* (7).

Chorobotwórczość i czynniki zjadliwości

Szczepy *Escherichia coli* produkujące toksynę Shiga są odpowiedzialne za występowanie groźnych chorób u ludzi. Zakażenia jelitowe wiążą się z krwawą biegunką będącą objawem krwotocznego zapalenia jelita grubego, którego konsekwencjami mogą być zespół hemolityczno-mocznicowy (haemolytic-uraemic syndrome, HUS) i zakrzepowa plamica małopłytkowa (thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP). Dodatkowo stwierdzono, że zakażenie shigatoksyczną *E. coli* może prowadzić do martwiczego zapalenia okrężnicy oraz brać udział w patogenezie cukrzycy (25, 40).

Nazwa STEC pochodzi od wytwarzanych przez bakterie cytotoksyn, zwanych toksyną Shiga1 (Stx1) i toksyną Shiga2 (Stx2). Stx znane jest także jako werotoksyna, a STEC jako werotoksyczne *Escherichia coli* VTEC. *Escherichia coli* wytwarzające toksynę Shiga (STEC) to patogeny odzwierzęce, które po raz pierwszy zostały zidentyfikowane na początku lat 80., jako jedna z głównych przyczyn chorób przenoszonych przez zanieczyszczoną żywność na całym świecie (3, 32). Wybuch pierwszej epidemii nastąpił w 1982 r. w Oregonie i Michigan w Stanach Zjednoczonych. Choroba ta charakteryzowała się silnym, kurczowym bólem brzucha, początkowo wodnistą, a następnie bardzo krwawą biegunką i umiarkowaną gorączką. Objawy nastąpiły na skutek spożycia w restauracjach zanieczyszczonych bakterią kanapek zawierających

mięso wołowe. Chorym wykonano posiewy, z których wyizolowano rzadki wówczas serotyp *Escherichia coli* O157:H7. Jedyna znana wcześniej izolacja tego szczepu pochodziła z przypadku krwotocznego zapalenia jelita grubego, co miało miejsce w 1975 r. Do zakażenia doszło na skutek spożycia niedogotowanego mięsa (31). *Escherichia coli* O157:H7 ze względu na wywoływanie krwotocznego zapalenia okrężnicy u ludzi określono mianem szczepów enterokrwotocznych (EHEC, enterohemorrhagic *Escherichia coli*), a w późniejszych latach określenie rozszerzone zostało o wszystkie STEC posiadające odcinek DNA o nazwie LEE (locus of enterocyte effacement) i plazmid pO157. Szczep *E. coli* O157:H7 posiadał właściwości cytotoksyczne w stosunku do komórek linii Vero. W 1983 r. wykazano, iż przyczyną zespołu hemolityczno-mocznicowego u pacjenta hospitalizowanego w Kanadzie była toksyna produkowana przez *E. coli*. Toksynę tę nazwano werotoksyną, a grupę drobnoustrojów, które ją wytwarzają, werotoksyczną *E. coli* VTEC. Okazało się, że werotoksyna jest ściśle homologiczna do toksyny Shiga z *Shigella dysenteriae* typu I i od tego czasu czynnik zaczęto nazywać również toksyną Shiga, a szczepy je wytwarzające shigatoksycznymi *E. coli*. Od tej pory określenia STEC i VTEC dla bakterii posiadają charakter synonimiczny (5, 16, 21, 35, 40). Od 1982 r. odnotowywano coraz większą liczbę ognisk i pojedynczych przypadków zakażeń u ludzi, wywołanych przez bakterie produkujące toksynę Shiga, a serogrupa O157:H7 najczęściej występowała u chorych w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Wielkiej Brytanii i Japonii (9). W badaniach ognisk STEC – innych niż O157 – zgłaszanych w światowej literaturze, najczęstszą przyczyną choroby była serogrupa O26, a następnie O111 i O103. Badania wskazywały, że szczepy STEC – inne niż O157 – stanowiły dużą część STEC izolowanych od pacjentów w krajach rozwiniętych. Ciekawym wyjątkiem była Japonia, gdzie O157 był dominującym serotypem (32). Serotyp O26:H11 po raz pierwszy został zidentyfikowany w 1983 r. jako przyczyna zespołu hemolityczno-mocznicowego i jest drugim najczęściej wykrywanym serotypem w krajach Europy i Stanach Zjednoczonych (2, 9).

Najistotniejszym czynnikiem patogennym *Escherichia coli* STEC jest toksyna Shiga występująca w postaci Stx1 i Stx2. STEC mogą wytwarzać Stx1 lub Stx2, lub obie toksyny jednocześnie. Stx1 i Stx2 można dalej podzielić na kilka podtypów ze względu na różnice występujące w sekwencji aminokwasów. W Stx1 wyróżnia się trzy podtypy (Stx1a, Stx1c, Stx1d), natomiast Stx2 posiada co najmniej siedem podtypów (Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f i Stx2g) (30, 40). Różnią się one aktywnością biologiczną, dlatego też Stx2 częściej wiąże się z ciężkimi chorobami aniżeli Stx1. Cechami różnicującymi te dwie odmiany jest aktywność biologiczna, struktura antygenowa oraz skład aminokwasowy. Toksyna Stx1

wykazuje 99% podobieństwa do toksyny produkowanej przez *Shigella dysenteriae* 1, natomiast Stx2 zaledwie 55% (40). Toksyna Shiga należy do toksyn grupy AB5. Składa się z jednej podjednostki A o masie 32 kDa i z pięciu podjednostek B o masie 7,7 kDa. Toksyna Shiga ma zdolność wiązania się z limfocytami B, monocytami i lipoproteinami, i może być przenoszona z jelit do innych tkanek i narządów. W komórce toksyna rozdziela się na podjednostki A i B, a następnie podjednostka A rozpada się na fragmenty A1 i A2. A1 łączy się z podjednostką rybosomu 60S, co skutkuje blokadą syntezy białka, a to prowadzi do zaburzeń funkcji komórki oraz całkowitego jej zniszczenia (apoptotyczna śmierć komórki) (22, 40). Czynnikiem chorobotwórczości są także markery zlokalizowane na odcinku DNA zwanym „locus of enterocyte effacement” (LEE). Markerami wyspy LEE są geny *eaeA*, oraz odcinki DNA kodujące białka regulatorowe. Najważniejszym białkiem (adhezyną) jest intymina, determinowana przez gen *eaeA* oraz jej receptor *Tir*. Produkt tego genu warunkuje przyczepność *E. coli* do nabłonka jelitowego oraz odpowiada za zmiany określane terminami „attaching-effacing”. Do tych zmian zalicza się m.in. zanik rąbka szczoteczki enterocytów (22, 40). Produktem genu *rfbO157* jest lipopolisacharyd O157, świadczący o przynależności bakterii *E. coli* do serogrupy O157. Lipopolisacharydy zwiększają efekt cytoplazmatyczny Stx w odniesieniu do komórek śródbłonki naczyń krwionośnych i mogą być czynnikami regulującymi proces zapalny w procesie zakażenia ludzi STEC. Opisane zostały również przypuszczalne czynniki wirulencji kodowane przez plazmidy, ale ich rola w patogenezie nie jest ustalona. Plazmid pO157 o masie 60 MDa stwierdzony został u wszystkich bakterii serotypu O157:H7 oraz wielu innych grup STEC. Zawiera on geny takie, jak: *katP*, *ehlyA*, *toxB* oraz wiele innych. Gen *katP* o wielkości 2,2 kb determinuje wytwarzanie przez *E. coli* O157 enzymu o podwójnej aktywności, peroksydazy i katalazy oraz posiada zdolność przemieszczania się przez błony komórkowe. Gen *ehlyA* o wielkości 3,4 kb odpowiada za ekspresję enterohemolizyny. Marker *ehlyA* zaobserwowano u wielu szczepów STEC izolowanych od ludzi chorych. Badania molekularne stwierdziły, iż składa się on z czterech ramek odczytu, wykazujących wysoką homologię nukleotydową z operonem hemolizyny alfa *E. coli* oraz operonami cytolizyn grupy RTX odpowiedzialnymi za zakażenia pozajelitowe, między innymi zakażenia układu moczowego. Produktem genu *toxB* jest białko ToxB, które bierze udział w kolonizacji nabłonka jelitowego gospodarza, wpływa na system wydzielniczy typu III oraz hamuje odpowiedź immunologiczną typu komórkowego (10, 22, 29, 34, 40).

E. coli wytwarzająca toksynę Shiga jest patogenem odzwierzęcym, przenoszonym przez żywność. STEC stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publiczne-

go, co wynika z występowania zagrażających życiu powikłań. Występuje ponad 400 serotypów STEC różniących się znacznie, zarówno pod względem cech fizjologicznych, jak i chorobotwórczości. Spośród nich około 100 uważanych jest za chorobotwórcze dla ludzi. Większość ognisk choroby w Ameryce Północnej, Japonii i Europie była wywołana przez serotyp O157:H7. Poza *Escherichia coli* O157 inne serogrupy STEC również stanowią poważne zagrożenie dla życia i zdrowia. Głównymi serogrupami budzącymi obawy, są: O26, O45, O91, O103, O111, O121, O145 oraz O104 (10, 22, 26, 29, 34). Patogenne bakterie inne niż O157 mogą być odpowiedzialne za 20-70% ogółu zakażeń wywoływanych przez STEC w różnych krajach. STEC inne niż O157 różnią się od bakterii serotypu O157:H7 tym, że zazwyczaj fermentują sorbitol. W rezultacie trudniej jest je odróżnić od komensalnej *E. coli* i dlatego też częstość występowania chorób wywoływanych przez szczepy STEC inne niż O157 jest trudniejsza do określenia (36). Pałeczki *Escherichia coli* produkujące toksynę Shiga posiadają większość cech jednakowych dla wszystkich szczepów tej bakterii. Występuje u nich zaledwie kilka odmiennych cech, które umożliwiają ich różnicowanie O157:H7 od innych pałeczek okrężnicy. Należą do nich: brak zdolności fermentacji D-sorbitolu w czasie 24 h, brak β -glukuronidazy oraz zdolność wytwarzania enterohemolizyny. Te cechy umożliwiają prawidłową identyfikację szczepów shigatoksynicznych przy zastosowaniu selektywnych pożywek mikrobiologicznych. Najbardziej znana jest pożywka MacConkeya z 1% D-sorbitolem (40). Zdaniem Jenkins i wsp. (15), CHROMagar STEC to użyteczne, selektywne podłoże do szybkiego wykrywania z posiewu kału bakterii STEC, które mogą wywoływać zespół hemolityczno-mocznicowy HUS.

Szczególną chorobotwórczością dla ludzi charakteryzuje się podgrupa STEC zwana EHEC. Enterokrwotoczne szczepy *E. coli* mogą powodować u człowieka chorobę o różnym przebiegu, od łagodnych objawów biegunkowych, poprzez biegunki krwotoczne, kończąc na silnych dysfunkcjach nerek, które określane są mianem zespołu hemolityczno-mocznicowego (HUS). Inkubacja choroby waha się od 3 do 8 dni. Choroba wywoływana przez EHEC charakteryzuje się zapaleniem żołądka i jelit bądź wyłącznie okrężnicy. Towarzyszącymi objawami: niska gorączka oraz wymioty. W łagodnym przebiegu choroby po upływie 7 dni następuje powrót do zdrowia. U około 15% dzieci, u których zidentyfikowano szczepy STEC serogrupy O157 jako przyczynę choroby, pojawia się zespół hemolityczno-mocznicowy – HUS. Ponadto obraz chorobowy charakteryzuje się niedokrwistością hemolityczną i trombocytopenią. Na ciężki przebieg choroby narażone są bardziej dzieci poniżej 5. roku życia, natomiast odsetek zachorowań z objawami tego zespołu jest o wiele niższy u osób dorosłych (25, 37).

Argentyna ma najwyższy na świecie wskaźnik występowania tego zespołu, który jest główną przyczyną ostrej niewydolności nerek u dzieci. *E. coli* O157:H7 jest najczęstszą przyczyną HUS, ale znaczny i coraz większy odsetek tej choroby jest spowodowany zakażeniem szczepami innymi niż O157 (4).

Rezerwuaz zarazka

Głównym rezerwuarem STEC są przeżuwacze, przede wszystkim bydło, sporadycznie owce, kozy. Przez długi czas uważano, że bydło należy do bezobjawowych nosicieli STEC, ponieważ po internalizacji w komórkach nabłonka bydlęcego, toksyna Shiga jest usuwana z retikulum endoplazmatycznego i lokalizuje się w lizosomach, gdzie jej cytotoksyczność zostaje zneutralizowana, jednak prace różnych autorów dostarczyły istotnych dowodów na to, że u bydła występują różne typy komórek docelowych dla toksyn Shiga (cyt za poz. 23). STEC O157:H7 został również wyizolowany od innych zwierząt i owadów, u: m.in. świń, koni, królików, psów, kotów, drobiu, gryzoni, a także zwierząt dzikich, takich jak jelenie, dziki, ptaki, co może prognozować dalsze rozprzestrzenianie się STEC na inne zwierzęta. W wielu krajach odnotowano zakażenia u ludzi *Escherichia coli* produkującą toksynę Shiga (STEC) po spożyciu mięsa jeleniowatych. Nie tylko spożycie zanieczyszczonego mięsa jeleniowatych stanowi ryzyko, ale należy również wziąć pod uwagę transmisję STEC między jeleniami a zwierzętami domowymi (12). Przeniesienie patogenów na ludzi następuje różnymi drogami: drogą pokarmową, poprzez spożycie niedogotowanego mięsa i produktów mlecznych, zanieczyszczonych produktów roślinnych, surowych lub niedogotowanych warzyw, wody pitnej. Do zakażenia może dojść także na skutek przeniesienia patogenów z człowieka na człowieka z powodu bardzo niskiej dawki zakaźnej, a także – co się zdarza rzadziej – poprzez bezpośredni kontakt ludzi ze zwierzętami nosicielami. Odnotowano również drogę aerogenną jako źródło skażenia STEC. *E. coli* STEC jest patogenem, który potrafi przetrwać w środowisku dłużej niż 10 miesięcy, w związku z czym okres podatności na zakażenie może utrzymywać się dość długo po pierwotnym wykryciu bakterii w środowisku (6, 12, 16, 23, 30, 30, 38, 40, 41).

Szczepy STEC dostają się do łańcucha pokarmowego ludzi po spożyciu surowego bądź nieodpowiednio przetworzonego termicznie mięsa wołowego. Mięso może zostać zanieczyszczone poprzez kontakt z odchodami zwierzęcymi podczas uboju i obróbki poubojowej tuszy (40, 41). Zaobserwowano również infekcje po spożyciu odpowiednio poddanej obróbce termicznej wołowiny, co wiązało się z wtórnym zanieczyszczeniem produktów spożywczych szczepami STEC (40).

Ważnym źródłem zakażeń szczepami STEC, wywołującym krwotoczne zapalenie okrężnicy i zespół hemolityczno-mocznicowy jest woda. Zakażenie

następuje poprzez spożycie zanieczyszczonej patogenami wody spożywczej, kontakt z wodą basenową czy jeziorną. Co więcej, bakterie mogą przeżywać i namnażać się w wodzie i ściekach przez co najmniej 4 miesiące, co powoduje, że jest to istotne źródło zakażeń (5, 39). Ponad 4 miliony ludzi w Kanadzie korzysta z prywatnych systemów wód gruntowych jako źródła wody pitnej; wiele z tych systemów nie spełnia norm jakości wody. Oszacowano, że w tym kraju około 650/rok objawowych przypadków zakażeń bakterią *E. coli* O157 wiąże się ze spożyciem wody pitnej z prywatnych studni (30).

Surowe mleko krowie i kozie, spożycie zanieczyszczonych miękkich i półmiękkich serów – zwłaszcza tych wyprodukowanych z mleka niepasteryzowanego – a także jogurty, lody i koktajle mleczne zostały uznane za źródło zakażeń STEC u ludzi w Europie, USA i Kanadzie, przyczyniając się do licznych epidemii (10). Zdaniem Murinda i wsp. (24) częstość występowania STEC w zapaleniu gruczołu mlekowego pozostaje z reguły niezdiagnozowana, bowiem większość autorów prac o *mastitis* nie prowadzi badań w kierunku wykrywania STEC, skupiając się tylko na wykrywaniu *E. coli*.

Spożywanie zielonych warzyw liściastych zostało opisane jako drugie po wołowinie najczęstsze źródło ognisk chorób przenoszonych przez żywność w latach 2003-2012. Wynikało to z konsumpcji większej ilości świeżych warzyw i owoców na całym świecie, ze względu na chęć prowadzenia zdrowszego trybu życia. Wieloletnie analizy wykazały, że szczepy STEC były bardzo często izolowane zwłaszcza ze szpinaku, sałaty i kolendry. Zanieczyszczenia produktów roślinnych mogą nastąpić na każdym etapie produkcji, rozpoczynając od wykorzystania obornika jako nawozu i nawadniania skażoną wodą środowiskową, aż po obróbkę przez konsumenta w domu. Dowiedziono, iż ważnym determinantem w zakażeniach drobnoustrojami są czynniki środowiskowe. Istotną rolę przypisuje się kontaktowi z wodą rekreacyjną – głównie jeziorami – a także kontaktowi ze zwierzętami i ich odchodami. Odchody zanieczyszczone patogenami STEC mogą być wypłukiwane do źródeł wody po obfitych opadach deszczu. Przebywanie na wsi, odwiedzanie farm oraz ogrodów zoologicznych stało się coraz bardziej niepokojącym czynnikiem ryzyka zakażenia STEC. Co więcej, okazuje się, że skażenia środowiska mogą dalej wzrastać na skutek intensywnego rolnictwa i hodowli bydła (11, 18).

Przeprowadzona analiza 350 ognisk infekcji w Stanach Zjednoczonych w latach 1982-2002 wykazała, że 52% ognisk było wywołanych przez bakterie przenoszone drogą pokarmową, w tym 21% stanowiła mielona wołowina, 14% było wynikiem przenoszenia patogenów z człowieka na człowieka, 6% z wody rekreacyjnej, a reszta ognisk pozostała nieznana. Obecnie naukowcy informują, że rola mielonej wołowiny jako

nośnika patogenów *Escherichia coli* produkującego toksynę Shiga wydaje się maleć, a ostatnie ogniska chorób związane były z surowymi produktami mlecznymi, miejską wodą pitną, szpinakiem i kozieradką (16). Istnieją także wtórne zakażenia, które miały miejsce w różnych środowiskach, między innymi w szpitalach, gospodarstwach domowych, domach opieki osób starszych oraz placówkach szkolnych – głównie przedszkolach (5). Źródła odzwierzcęce nie odnoszą się do STEC O104:H4, ponieważ zwierzęta i żywność pochodzenia zwierzęcego nie są źródłem szczepów tego serotypu, a wyłącznie żywność pochodzenia roślinnego, zanieczyszczona z rezerwuaru ludzkiego. W tym przypadku zakażenie jest możliwe także bezpośrednio z człowieka na człowieka. Szczególne zagrożenie jest powiązane z występowaniem dużych skupisk ludzi. Przeprowadzone badania wykazały, że materiałem, za pośrednictwem którego dochodziło do zakażenia człowieka szczepami O104:H4 były surowe pomidory, ogórki i sałata. Wykazano również, że nasiona kozieradki importowane z Niemiec i Egiptu były pierwotnym źródłem tego drobnoustroju (37).

Niszczanie termiczne STEC

Najczęściej stosowaną metodą niszczenia bakterii w przetwórstwie żywności jest obróbka cieplna (17, 20, 28, 33, 39). Pałeczki *Escherichia coli* nie są wysoce odporne na temperaturę, giną w wodzie w temperaturze 60-70°C po upływie kilku minut, natomiast w temperaturze wrzenia prawie natychmiast. Zdarza się jednak, że w sprzyjających warunkach mogą przetrwać krótkie gotowanie. Na przykład czajniki elektryczne wyłączają się już po kilku sekundach od osiągnięcia temperatury wrzenia wody, chociaż powinno się utrzymywać tę temperaturę minimum przez pół minuty. Jak się okazuje, ma to istotne znaczenie w przypadku korzystania z wody pochodzącej z płytkich studni, zlokalizowanych w pobliżu gospodarczych gnojowisk czy szamb. Zdecydowanie mniejsze znaczenie ma to w przypadku wody wodociągowej uzdatnianej przez ozonowanie czy chlorowanie, jednak mimo to w 1993 r. w Nowym Jorku stwierdzono obecność bakterii *E. coli* O157 w sieci wodociągowej (34). W celu przetrwania w środowiskach przetwórstwa żywności *Escherichia coli* STEC osiągnęła zdolność do tworzenia biofilmu na powierzchniach. Zbadano potencjał tworzenia biofilmu szczepów STEC z 10 klinicznie istotnych serogrup na stali nierdzewnej w temperaturach 13°C i 22°C po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji. Wyniki pozwoliły na zidentyfikowanie izolatów z serogrup O113, O145, O91, O157 i O121. Każdy z nich był zdolny do wytworzenia mocnego bądź umiarkowanego biofilmu na stali nierdzewnej w temperaturze 22°C, jednak siła jego tworzenia zmniejszała się w miarę upływu czasu inkubacji. W temperaturze 13°C zaobserwowano zmniejszenie tworzenia się biofilmu, które wzrastało wraz z upływem czasu. Wyniki tego badania wskazują,

że najbardziej sprzyjające warunki środowiskowe do tworzenia biofilmu w miejscach przetwórstwa spożywczego to temperatura 22°C do 24 godzin (20).

Większość *Escherichia coli* rośnie w temperaturze od 10°C do 46°C, natomiast niektóre serotypy STEC mogą rosnać w mleku w niższej temperaturze, wynoszącej 6,5°C. *E. coli* STEC podobnie jak inne Gram-ujemne bakterie nie wykazuje dużej odporności na ciepło. Niezwykle skutecznym sposobem inaktywacji patogenów STEC jest pasteryzacja mleka. Udowodniono, że pasteryzacja w temperaturze 72°C przez zaledwie 16 sekund skutecznie inaktywuje *E. coli* O157:H7 (10).

Pokharel i współautorzy (28) ocenili podatność na gotowanie siedmiu grup serologicznych *Escherichia coli* STEC w stekach z polędwicy wołowej inokulowanych powierzchniowo i marynowanych próżniowo w bębnie przez 30 lub 60 minut. Po upływie 14 dni w temperaturze od 0°C do 2°C płyty gotowano do różnych temperatur końcowych i oceniano przeżycie patogenów poprzez bezpośrednie ich wysianie lub szybką detekcję w oparciu o PCR. Temperatury te wynosiły, odpowiednio, 55, 60, 65 i 71°C. Bezpośrednie posiewy gotowanych próbek nie dały żadnych przeliczalnych wyników. Dzięki zastosowaniu metody szybkiego wykrywania opartej na PCR po ugotowaniu w temperaturach 55°C i 60°C, wykryto serogrupy O26, O103 i O111. Wykryto również serotyp O157:H7, który przetrwał gotowanie w temperaturach 60°C i 65°C. Jediną serogrupą, która przetrwała gotowania we wszystkich wymienionych temperaturach, był STEC O145. Serogrupą, której nie wykryto metodą posiewu ani metodą PCR w żadnej z temperatur, była O121. Dowiedziono również, że serogrupy STEC mogą zostać internalizowane podczas marynowania, a te różnią się pod względem wrażliwości termicznej.

Ze względu na ciągły wzrost liczby zachorowań wywołanych patogenami obecnymi w żywności niezbędne jest opracowywanie nowych metod pozwalających na szybkie wykrywanie patogenów chorobotwórczych w produktach spożywczych. Mimo że poczyniono ogromne postępy, STEC nadal pozostaje poważnym problemem odzwierzęcym. Znaczne zmniejszenie obciążeń zdrowia publicznego spowodowanych tą infekcją będzie wymagało wielotorowego podejścia. Istnieje pilna potrzeba opracowania odpowiednich i uzupełniających interwencji, w celu kontrolowania kolonizacji STEC u zwierząt gospodarskich i zapobiegania skażeniu środowiska.

Piśmiennictwo

- Allocati N., Masulli M., Alexeyev M. F., Di Ilio C.: *Escherichia coli* in Europe: An Overview. Int. J. Environ. Res. Public Health 2013, 10, 6235-6254, doi: 10.3390/ijerph10126235.
- Bonanno L., Loukiadis E., Mariani-Kurkdjian P., Oswald E., Garnier L., Michel V., Auvray F.: Diversity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26:H11: characterization of stx subtypes and insertion sites of Stx and EspK bacteriophages. Appl. Environ. Microbiol. 2015, 81 (11), 3712-3721, doi: 10.1128/AEM.00077-15.
- Bugarel M., Beutin L., Martin A., Gill A., Fach P.: Micro-array for the identification of toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) seropathotypes associated with hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome in humans. Int. J. Food Microbiol. 2010, 142, 318-329, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.010.
- Bustamante A. V., Sanso A. M., Parma A. E., Lucchesi P. M.: Subtyping of STEC by MLVA in Argentina. Front. Cell Infect. Microbiol. 2012, 22, 111, doi: 10.3389/fcimb.2012.00111.
- Coia J. E.: Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1998, 20, 1-9, doi: 10.1111/j.1574-695X.1998.tb01105.x.
- Croxen M. A., Law R. J., Scholz R., Keeney K. M., Włodarska M., Finlay B.: Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 2013, 26 (4), 822-880, doi: 10.1128/CMR.00022-13.
- Dąbrowska K., Matejczyk M.: Patogenne szczepy *Escherichia coli* i zagrożenia z nimi związane. Postępy Nauki Technol. Prz. Rol.-Spoż. 2019, 74 (1), 45-59.
- Delannoy S., Mariani-Kurkdjian P., Bonacorsi S., Liguori S., Fach P.: Characteristics of emerging human-pathogenic *Escherichia coli* O26:H11 strains isolated in France between 2010 and 2013 and carrying the stx_{2a} gene only. J. Clin. Microbiol. 2015, 53 (2), 486-492, doi: 10.1128/JCM.02290-14.
- Erickson M. C., Doyle M. P.: Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J. Food Prot. 2007, 70 (10), 2426-2449, doi: 10.4315/0362-028x-70.10.2426.
- Farrokh C., Jordan K., Auvray F., Glass K., Oppegaard H., Raynaud S., Thevenot D., Condron R., De Reu K., Govaris A., Heggum K., Heyndrickx M., Hummerjohann J., Lindsay D., Miszczycha S., Moussiégt S., Verstraete K., Cerf O.: Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. Int. J. Food Microbiol. 2012, 162 (2), 190-212, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.008.
- Feng P.: Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) in fresh produce – a food safety dilemma. Microbiol. Spectr. 2014, 2 (4), doi: 10.1128/microbiolspec.EHEC-0010-2013.
- Frank E., Bonke R., Drees N., Heurich M., Märtilbauer E., Gareis M.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) shedding in a wild roe deer population. Vet. Microbiol. 2019, 239, 108479, doi: 10.1016/j.vetmic.2019.108479.
- Gomes T. A. T., Elias W. P., Scaletsky I. C. A., Guth B. E. C., Falcão J., Piazza R. M. F., Ferreira L. C., Martinez M. B.: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Braz. J. Microbiol. 2016, 1 (1), 3-30, doi: 10.1016/j.bjm.2016.10.015.
- Hernandes R. T., Elias W. P., Vieira M. A. M., Gomes T. A. T.: An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. 2009, 297 (2), 137-149, doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01664.x.
- Jenkins C., Perry N. T., Godbole G., Gharbia S.: Evaluation of chromogenic selective agar (CHROMagar STEC) for the direct detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from faecal specimens. J. Med. Microbiol. 2020, 69, 487-491, doi: 10.1099/jmm.0.001136.
- Joseph A., Cointe A., Kurkdjian P. M., Rafat C., Hertig A.: Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review. Toxins (Basel) 2020, 12 (2), 67, doi: 10.3390/toxins12020067.
- Juneja V. K., Bari M. L., Inatsu Y., Kawamoto S., Friedman M.: Thermal destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in sous-vide cooked ground beef as affected by tea leaf and apple skin powders. J. Food Prot. 2009, 72 (4), 860-865, doi: 10.4315/0362-028x-72.4.860.
- Karmali M. A.: Emerging public health challenges of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* related to changes in the pathogen, the population, and the environment. Clin. Infect. Dis. 2017, 64 (3), 371-376, doi: 10.1093/cid/ciw708.
- Kwiatk K., Różańska H.: *Escherichia coli*, serotyp O157:H7 – czynnik etiologiczny zatruc pokarmowych u ludzi. Med. Weter. 1996, 52 (1), 29-32.
- Ma Z., Bumunang E. W., Stanford K., Bie X., Niu Y. D., McAllister T. A.: Biofilm formation by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on stainless steel coupons as affected by temperature and incubation time. Microorganisms 2019, 7, 95, doi: 10.3390/microorganisms7040095.
- Mayer C. L., Leibowitz C. S., Kurosawa S., Stearns-Kurosawa D. J.: Shiga toxins and the pathophysiology of hemolytic uremic syndrome in humans and animals. Toxins (Basel) 2012, 4 (11), 1261-1287, doi: 10.3390/toxins4111261.
- Melton-Celsa A., Mohawk K., Teel L., O'Brien A.: Pathogenesis of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2012, 357, 67-103, doi: 10.1007/82_2011_176.
- Menge C.: The role of *Escherichia coli* Shiga toxins in STEC colonization of cattle. Toxins (Basel) 2020, 12, 607, doi: 10.3390/toxins12090607.
- Murinda S. E., Ibekwe A. M., Rodriguez N. G., Quiroz K. L., Mujica A. P., Osmon K.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in mastitis: An international perspective. Foodborne Pathog. Dis. 2019, 16, 229-243, doi: 10.1089/fpd.2018.2491.
- Newell D. G., La Ragione R. M.: Enterohaemorrhagic and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies? Transbound Emerg. Dis. 2018, 65, Suppl 1, 49-71, doi: 10.1111/tbed.12789.

26. Pakbin B., Brück W. M., Rossen J. W. A.: Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 9922, doi: 10.3390/ijms22189922.
27. Poirel L., Madec J. Y., Lupo A., Schink A. K., Kieffer N., Nordmann P., Schwarz S.: Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol. Spectr.* 2018, 6, ARBA-0026-2017, doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017.
28. Pokharel S., Brooks J. C., Martin J. N., Echeverry A., Parks A. R., Corliss B., Brashears M. M.: Internalization and thermal susceptibility of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in marinated beef products. *Meat Sci.* 2016, 116, 213-220, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.02.016.
29. Półtorak K., Wieczorek K., Osek J.: Patogenne *Escherichia coli* – mechanizmy chorobotwórczości. *Med. Weter.* 2016, 72 (6), 352-357, doi: 10.21521/mw.5522.
30. Reynolds C., Checkley S., Chui L., Otto S., Neumann N. F.: Evaluating the risks associated with Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in private well waters in Canada. *Can. J. Microbiol.* 2020, 66, 337-350, doi: 10.1139/cjm-2019-0329.
31. 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., Cohen M. L.: Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.* 1983, 308 (12), 681-685, doi: 10.1056/NEJM198303243081203.
32. Smith J. L., Fratamico P. M., Gunther IV N. W.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Adv. Appl. Microbiol.* 2014, 86, 145-197, doi: 10.1016/B978-0-12-800262-9.00003-2.
33. Stringer S. C., George S. M., Peck M. W.: Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* 2000, 88, 79S-89S, doi: 10.1111/j.1365-2672.2000.tb05335.x.
34. Sui X., Yang X., Luo M., Wang H., Liu Q., Sun H., Jin Y., Wu Y., Bai X., Xiong Y.: Characteristics of shiga toxin-producing *Escherichia coli* circulating in asymptomatic food handlers. *Toxins* 2023, 15, 640, doi: 10.3390/toxins15110640.
35. Szot W., Potocki A., Kolarzyk E.: Higieniczne i epidemiologiczne aspekty zakażenia bakteriami *Escherichia coli* w kontekście wydarzeń w Unii Europejskiej w 2011 r. *Prz. Lek.* 2011, 68, 8.
36. Tarr C. L., Large T. M., Moeller C. L., Lacher D. W., Tarr P. I., Acheson D. W., Whittam T. S.: Molecular characterization of a serotype O121:H19 clone, a distinct Shiga toxin-producing clone of pathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 2002, 70 (12), 6853-6859, doi: 10.1128/IAI.70.12.6853-6859.2002.
37. Truszczyński M., Pejsak Z.: Epidemia wywołana przez werotoksyczny serotyp O104:H4 *Escherichia coli* za pośrednictwem żywności pochodzenia roślinnego. *Życie Wet.* 2011, 86 (9).
38. Varma J. K., Greene K. D., Reller M. E.: An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. *JAMA* 2003, 290 (20), 2709-2712, doi: 10.1001/jama.290.20.2709.
39. Vasan A., Leong W. M., Ingham S. C., Ingham B. H.: Thermal tolerance characteristics of non-O157 Shiga toxigenic strains of *Escherichia coli* (STEC) in a beef broth model system are similar to those of O157:H7 STEC. *J. Food Prot.* 2013, 76 (7), 1120-1128, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-500.
40. Weiner M.: Shigatoksyczne enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* – nowe czy dobrze znane zagrożenie. *Życie Wet.* 2011, 86 (7), 507-514.
41. Xia X., Meng J., McDermott P. F., Ayers S., Blickestaff K., Tran T. T., Abbott J., Zheng J., Zhao S.: Presence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and other potentially diarrheagenic *E. coli* strains in retail meats. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76 (6), 1709-1717, doi: 10.1128/AEM.01968-09.

Autor korespondencyjny: dr hab. Henryk Krukowski, Zakład Mikrobiologii i Biologii Rozrodu, Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin; e-mail: henryk.krukowski@up.lublin.pl