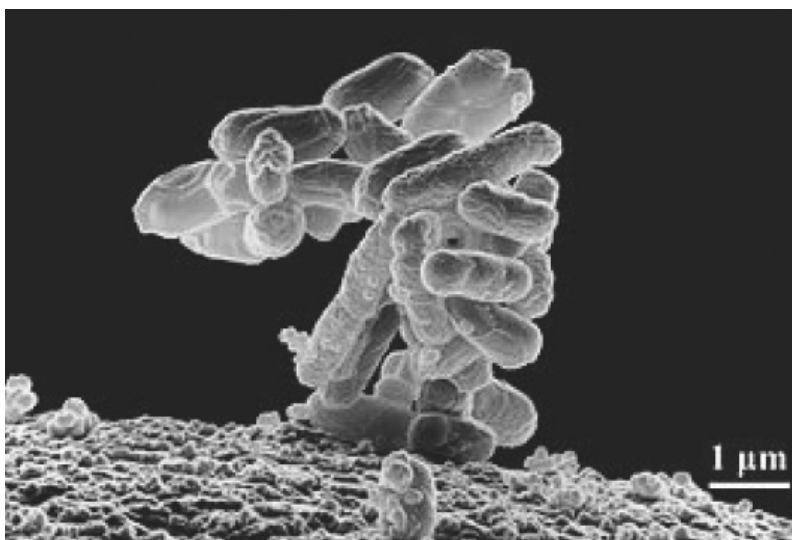


Bakterie *Escherichia coli* – od nezbytného komenzála po nebezpečného patogena

LENKA MICENKOVÁ

Bakterie *Escherichia coli* (*E. coli*) je jednou z nejznámějších a nejvíce prozkoumaných bakterií osídlujících člověka. Nevyskytuje se však jenom u člověka, běžně ji lze nalézt i v intestinálním traktu většiny teplokrevných živočichů, kde je součástí normální mikroflóry.

E. coli byla poprvé popsána v roce 1885 německým vědcem Theodorem Escherichem. Profesor Escherich se primárně věnoval pediatrii, ale projevoval i mimořádný zájem o bakteriologii. Kombinace těchto dvou zajímavých medicínských směrů vyvrcholila v jeho kariéře v roce 1886, kdy se mu podařilo uveřejnit habilitační práci s názvem Střevní bakterie kojenců a jejich vztah k fyziologii trávení. Po obhájení habilitační práce byl Escherich uznán za jednoho z předních bakteriologů tehdejší doby. Jeho zájem poutala zvláště tyčinkovitá bakterie, kterou Escherich pojmenoval jako *Bacterium coli commune*. Později, po jeho smrti, získala tato bakterie na jeho počest jméno *Escherichia coli*.



Bakterie *Escherichia coli*. Shluk tyčinkovitých buněk z kolonie na agarové plotně (rastrovací elektronový mikroskop).



Theodor Escherich (1857–1911), objevitel bakterie *Escherichia coli*.

Proč právě *Escherichia coli*?

Proč se ale právě tato bakterie těší takové obecné známosti? Proč se jí daří poměrně často plnit titulky, a to nejen vědeckých časopisů? *E. coli* se v lidském střevě vyskytuje spolu s dalšími asi 400 různými bakteriálními druhy a určitě to nebude kvůli množství buněk *E. coli*, osídlující náš trávicí trakt, protože ve srovnání s dalšími druhy v něm je zastoupení *E. coli* poměrně nízké. Stejně to nebude ani kvůli jejím fyzickým parametrům, protože nepatří do skupiny významných bakteriálních rekordmanů. Tvar buňky *E. coli* také není ničím zajímavý, jedná se o klasickou tyčinkovitou bakterii. Co je však na této bakterii zajímavé, je její genetická výbava a její univerzalita, které jí umožňují přežít v rozmanitých podmínkách a zejména jí velice snadno umožňují, že se z primárně nepatogenního kmene může stát život ohrožujícím patogenem. Díky těmto vlastnostem je *E. coli* jednou z nejvíce prozkoumaných bakterií a slouží i jako modelový

organismus pro genové a klinické studie. V roce 1947 americký molekulární mikrobiolog Joshua Lederberg jako první pozoroval a popsal u bakterie *E. coli* výměnu genetického materiálu tzv. konjugací. Za tento objev získal v roce 1958 Nobelovu cenu. Na bakterii *E. coli* byly také popsány procesy metabolismu dusíku u bakterií, biosyntéza L-tryptofanu z indolu a L-serinu a další. V oblasti biotechnologií se *E. coli* používá také pro produkci rekombinantních proteinů, například byla použita pro produkci inzulínu.

V současnosti jsou popsány tři velké skupiny různých kmenů *E. coli*. Jedná se konkrétně o nepatogenní kmene (komezální kmene, které osídlují organismus bez toho, aby jej napadaly, či jinak poškozovaly) a patogenní kmene intestinální a extraintestinální. Jako kmen se v mikrobiologii označuje kultura mikroorganismu, která je většinou izolovaná z jedné kolonie, to jest prakticky z jedné buňky.

***Escherichia coli* a její přínos pro lidské zdraví**

E. coli v roli střevního komezála (organismus živící se saprofyticky zbytky potravy druhu hostitelského) představuje významný přínos pro lidské zdraví. Je zodpovědná za produkci vitamínu K, který je nezbytný pro funkci určitých základních bílkovin, podílejících se na srážení krve, a dále je potřebný v procesu buněčného růstu, mineralizaci kostí a metabolismu bílkovin cévní stěny. Dále je zodpovědná za produkci vitamínu B12, který je důležitý pro nervové buňky a krvetvorbu.

V roce 1919, během první světové války byla bakterie *E. coli* poprvé použita i jako probiotikum. Jednalo se konkrétně o kmen *E. coli* Nissle 17, který izoloval německý profesor Alfred Nissle v roce 1917 ze střevní mikroflóry dvou vojáků, u kterých se výjimečně nevyskytla dyzentérie, během bojů na srbochorvatském území Dobrudža. V této době byl tento region kontaminován množstvím enteropatogenních kmenů *E. coli* a docházelo k častým průjemovým epidemiím. Alfred Nissle předpokládal významnou antagonistickou aktivitu přirozeně se vyskytujících komezálních kmenů *E. coli* ve střevě vojáků. Aktivita těchto nepatogenních komezálních kmenů vedla k ochraně vojáků před infekcí enteropatogenními kmeny. Po provedení laboratorních testů a experimentů, které Nissle vykonával i sám na sobě, se začal terapeuticky a hlavně preventivně používat první probiotický kmen – *E. coli* Nissle 17. Tento kmen je i v současnosti součástí probiotického preparátu Mutaflor. Kmen *E. coli* Nissle 17 byl od doby svého objevu důkladně charakterizován a byla stanovena sekvence jeho genomu, jeho serologická typizace, biochemická typizace membránových lipidů a lipopolysacharidů a také bylo určeno spektrum jeho buněčných bílkovin. V současnosti se jedná o jedno z nejlépe typizovaných a prověřených probiotik, u kterého nebyly zjištěny žádné patogenní vlastnosti. Bylo navíc potvrzeno, že probiotický kmen *E. coli* Nissle 17 je velmi dobře snášen lidským organismem. Významnou vlastností tohoto kmene je i schopnost produkovat antibakteriální proteiny – bakteriociny, které umožňují

tomuto kmeni obstát v konkurenčním bakteriálním boji a jsou schopné zabít i patogenní kmeny téhož druhu *E. coli*. *E. coli* je jako probiotický kmen také součástí dalšího komerčně používaného přípravku – Symbiofloru. Jedná se konkrétně o kmen *Escherichia coli* G3/10, u kterého byla rovněž zjištěna produkce antibakteriálních proteinů bakteriocinů, hlavně mikrocinu.

***Escherichia coli* jako nebezpečný patogen**

Ne však všechny kmeny druhu *E. coli* jsou prospěšné pro lidské zdraví. Díky schopnosti přijímat přídatnou genetickou informaci bylo popsáno množství jeho patogenních kmenů. Rozsah celkové genetické výbavy nepatogenních kmenů *E. coli* je přibližně 4 500 000 bp (páru bazí DNA), zatím co rozsah genetické výbavy patogenních kmenů bývá i o 1 000 000 bp DNA větší. Při představě, že jeden bakteriální gen má délku přibližně 1 000 bp, vidíme, že patogenní kmeny obsahují významně více genů než kmeny komenzální. Jedna se zejména o geny, kódující různé faktory virulence. Virulentní faktory můžeme charakterizovat jako molekuly produkované daným kmenem *E. coli*, které přispívají k jeho patogenitě, pomáhají dané bakterii poškozovat buňky hostitelského organismu. Různé virulentní faktory umožňují kmenům *E. coli* například adhezi na buňky makroorganismu a následně vniknutí jejich bakterií do nich. Mimo jiné mohou různé virulentní determinanty umožnit i vstříknutí svého toxinu do hostitelské buňky nebo čerpat a vázat železo z červených krvinek. Na základě kombinace různých virulentních faktorů je u druhu *E. coli* známo množství kmenů, které se tu a tam sporadicky vyskytnou a jsou schopny způsobit různé epidemie. Dále budou v textu popsány některé intestinální patogenní kmeny *E. coli* a nebezpečné průjemové infekce jimi způsobené.

Epidemie způsobené kmeny *Escherichia coli* O157:H7

Jedním z neznámějších kmenů způsobujícím nebezpečné epidemie je enterohemoragický kmen serotypu *E. coli* O157:H7. Na základě serologické (antigenní) charakterizace označuje O v tomto názvu typ kmenového O-antigenu (somatického, tělového antigenu, lipopolysacharidu), kterého je u druhu *E. coli* v současnosti popsáno přibližně 170 typů. H v názvu kmene označuje typ jeho H-antigeny (bičíkový antigen, flagelární protein). Serotypizace je důležitá při identifikaci kmenů, které způsobují závažná onemocnění. U *E. coli* se rozlišuje se více než 700 antigenních typů (serotypů, serovarů) na základě jejich O-somatických (tělních), H-flagelárních (bičíkových), K-kapsulárních (pouzdrových) povrchových a F-fimbriálních antigenů.

Virulentním faktorem, typickým pro kmen *E. coli* O157:H7, je Shiga toxin, který má enterotoxické, neurotoxické a cytotoxické účinky a výsledkem infekce jeho producentem je poškození enterocytů (buněk sliznice střeva). Dochází k závažným infekcím, charakterizovaným krvavými a mohutnými průjmy

(hemoragická kolitida). Těžké průjmy bývají jen na začátku infekce a postupně často dochází k rozvoji hemolyticko-uremického syndromu (HUS – hemolytická anémie, trombocytopenie, mikroangiopatie a selhání ledvin). Zdrojem infekce je hlavně skot a vehikulem je většinou hovězí maso. Kmen *E. coli* O157:H7 byl však izolován i z ostatních hospodářských a domácích zvířat. K nákaze často dochází prostřednictvím kontaminovaných potravin. Nejčastěji se jedná o syrové nebo nedostatečně tepelně zpracované maso, syrové nepasterizované mléko a sýry, nemytou zeleninu a ovoce. Také je možný přenos prostřednictvím nakažených lidí nebo kontaminované vody či půdy. Infekční dávka je nízká a k vyvolání infekce stačí několik desítek bakterií. Inkubační doba infekce je relativně dlouhá, a to 3 až 8 dní.

V roce 1982 byla popsána první větší epidemie způsobená kmenem *E. coli* O157:H7. Zdrojem nákazy bylo mleté hovězí maso, použité v hamburgerech v obchodní síti McDonald's v Oregonu nebo Michiganu v USA. Kmen byl vykultivován ze stolice 9 z 12 osob; tentýž izolát byl ještě vykultivován i přímo z hovězího hamburgeru. Do té doby byl tento kmen izolován jenom ze sporadických případů hemoragické kolitidy v roce 1975. V roce 1996 kmen O157:H7 způsobil v Japonsku epidemii s nejvyšším počtem postižených osob; jednalo se přibližně o 10 000 případů. Infekce trvala od května do srpna 1996 a proběhla ve více oblastech Japonska. Největší se vyskytla v městě Ósaka, kde onemocnělo 6 000 žáků základní školy. Zdrojem nákazy byly ředkvičkové výhonky, které žáci zkonsumovali v jídle podávaném v menze. Během infekce došlo celkově k úmrtí dvanácti pacientů. V USA bylo od roku 1982 do roku 2002 popsáno celkem 350 epidemií, způsobených kmenem *E. coli* O157:H7. Jednalo se konkrétně o 8 598 jednotlivých případů infekce, z nichž 1 493 (17,4 %) pacientů bylo hospitalizováno, u 354 (4,1 %) pacientů došlo k rozvoji hemolyticko-uremického syndromu a 40 (0,5 %) pacientů zemřelo. Často byly zdrojem epidemie hamburgery, a v USA se proto užívá pro označení infekce způsobené kmenem *E. coli* O157:H7 pojmu „hamburgerová nemoc“.

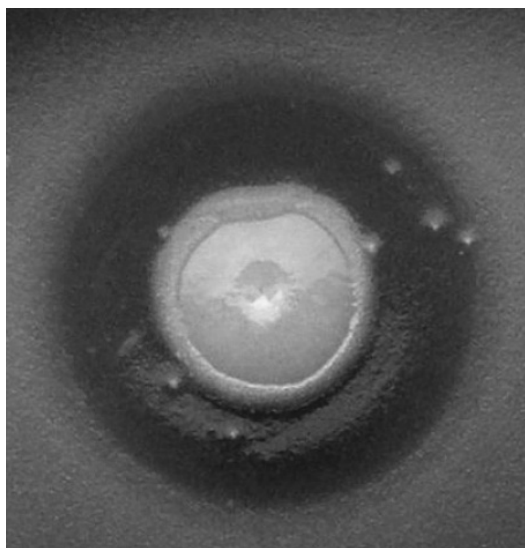
Roční incidence nákazy tímto kmenem je v jednotlivých zemích velmi rozdílná. Epidemie *E. coli* O157:H7 je závažným problémem zejména severní Ameriky, jižní Afriky, Japonska nebo Austrálie, ale v současnosti začíná být také problémem některých oblastí v Evropě. Ve studii zaměřené na bakteriologickou analýzu potravin byl v letech 1999 až 2003 sledován výskyt kmene *E. coli* O157:H7. Výběr vyšetřovaných komodit (1 380 vzorků) byl proveden podle spotřebního koše a byl zaměřen na ty skupiny potravin, které se v zahraničí podílely na vzniku alimentárních onemocnění. Jednalo se o různé druhy mas, mléčných výrobků, koření a zeleniny. V žádném ze vzorků však nebyl potvrzen výskyt kmene *E. coli* O157:H7. V České republice byly analyzované vzorky, odebrané od pacientů s rozvinutým hemolyticko-uremickým syndromem, izolované v letech 1998 až 2012. Během 15 let byl kmen *E. coli* O157:H7 zachycen jen u pěti pacientů z nich. Na Slovensku bylo v posledních letech ročně hlášeno 8–14 onemocnění způsobených kmenem *E. coli* O157:H7.

Kmen *E. coli* O157:H7 je nejznámějším ze skupiny enterohemoragických kmenů *E. coli* ale zdaleka není jediný. Dalšími často zachycenými serotypy jsou O26, O111, O103 a O145. V srpnu roku 2007 se v České republice vyskytly dva případy těžkých infekcí, způsobených enterohemoragickými kmeny *E. coli*. Serotyp EHEC NSF O157:H7 (NSF: sorbitol-nefermentující) byl etiologickým agens těžké infekce tříleté holčičky, kdy anurie (pokles denní diurézy nebo její úplné zastavení) trvala 21 dní, během kterých byla nutná dialyzační terapie. Druhým případem byl osmiměsíční chlapec, u kterého došlo k rozvoji hemolyticko-uremického syndromu. Infekce byla způsobena kmenem EHEC O111:NM (nepohyblivý). Anurie v tomto případě trvala 7 dní, dialýza probíhala 12 dní. V roce 2009 došlo v České republice dokonce k úmrtí dívky po těžkém průběhu hemolyticko-uremického syndromu, způsobeného enterohemoragickým kmenem EHEC O26:H11.

Epidemie způsobené enteroagregativními kmeny *Escherichia coli*

Enteroagregativní kmeny (EA_ggEC) jsou definovány jako kmeny *E. coli*, které neprodukují tepelně stabilní nebo labilní enterotoxiny, ale vyskytuje se u nich plazmid pAA (extrachromozomální DNA), který obsahuje geny kódující agregativní adherentní fimbrie, potřebné pro projev agregativního fenotypu. Agregativní adherentní fimbrie mu umožňují intenzivní adhezenci na buňky střevního epitelu.

Kmeny vyvolávají tzv. perzistentní průjmy, které trvají déle než 14 dní. Nejčastěji se vyskytují u dětí, žijících především v asijských zemích s nízkou úrovní



Kolonie bakterie *Escherichia coli*, produkující antibakteriální protein (bakteriocin, kolicin), na kultivační plotně živného agaru. Kolicin agarom difunduje do určité koncentrace – tedy vzdálenosti a bakterie ke kolicinu citlivé usmrcuje a vytváří tak kolem produkční kolonie zónu inhibice růstu jeho kultury.

hygieny. Jedná se však i o typické „cestovatelské“ vodnaté průjmy bez zvracení. Rezervoárem těchto kmenů je člověk a přenos se děje hlavně orálně-fekální cestou. Vznik onemocnění je výsledkem interakce mezi patogenem a jeho hostitelem, která pozůstává z adherence na střevní epitel, následované poškozením buněk a indukci zánětu sliznice, kterou kryjí. První známá epidemie, způsobená enteroagregativním kmenem, byla zaznamenána v roce 1993 v Mexiku. Během epidemie zemřelo 5 dětí následkem přetrvávajících průjmů. Další větší epidemie byla zaznamenána v Japonsku, kdy onemocnělo téměř 2 700 osob. V roce 1995 v Srbsku onemocnělo 16 novorozenců a 3 kojenci. Dále byly epidemie zaznamenány také v Anglii a v Itálii.

Velká německá epidemie – evoluce vysoce virulentního kmene *Escherichia coli*

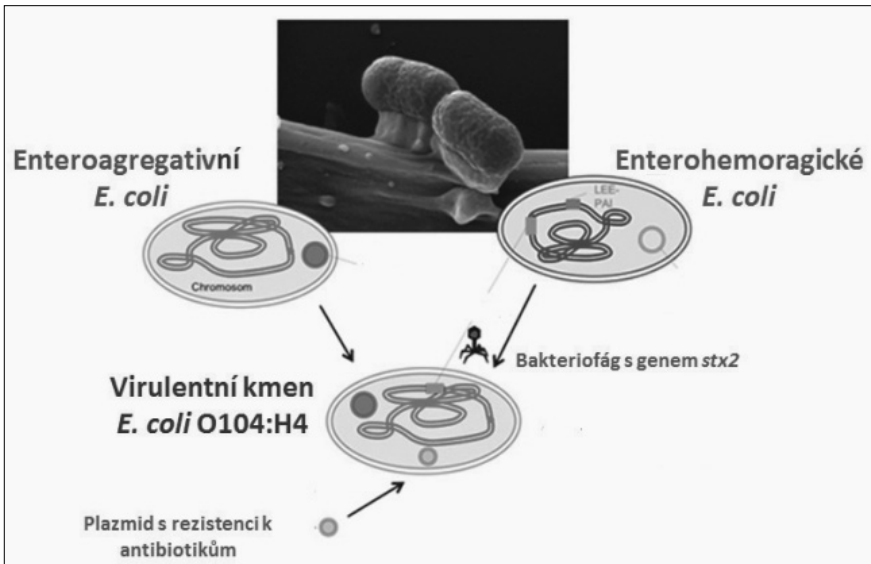
Evoluce patogenních kmenů *E. coli* je závislá na jejich neustálém získávání nových faktorů virulence. Bakterie neustále zdokonalují své strategie, kterými jsou schopny obejít imunitní systém hostitelského organismu. Často získávají nové faktory virulence cestou bakteriofágů (virů bakterií), plazmidů, transpozonů (segmentů DNA, které jsou schopny se v jejich genomu přemísťovat z jednoho místa na jiné), nebo pomocí tzv. ostrovů patogenity (úseků DNA zabírajících relativně velké části genomu a obsahujících geny přispívající k virulenci patogenních *E. coli*). Nově získané virulentní faktory umožňují bakterii získat selektivní výhodu oproti bakteriím, které těmito virulentními geny nedisponují, a tak snadno dochází k masivnímu množení virulentního klonu.

Případ evoluce vysoce patogenního kmene *E. coli* byl zaznamenán v roce 2011 v Německu. Jednalo se o nový, dosud nepopsaný vysoce virulentní kmen *E. coli* O104:H4, který v sobě spojuje vlastnosti enterohemoragických a enteroagregativních kmenů *E. coli*. Pravděpodobně je to původně enteroagregativní kmen *E. coli*, který převzal do svého genomu gen *stx2* (gen kódující Shiga toxin, nesený v genetické výbavě bakteriofága). Agregativní adherentní fimbrie (typické pro enteroagregativní kmene) mu umožňují intenzivní adhezenci na buňky střevního epitelu a následný snadný průnik Shiga toxinu do hostitelských buněk. Dále tento kmen přijal plazmid zodpovědný za rezistenci k antibiotikům. Jednalo se konkrétně o plazmid, obsahující geny produkující širokospektré betalaktamázy TEM-1 a CTX-M. Tyto enzymy jsou produkovány některými mikroby a umožňují hydrolyzovat peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Díky přítomnosti několika těchto typů plazmidů bakterie získává rezistenci k širokému spektru antibiotik. Kombinace těchto faktorů plus vysoká infekčnost tohoto kmene byly zřejmě hlavní důvody, proč infekce způsobená kmenem *E. coli* O104:H4 byla příčinou obrovské epidemie se závažným průběhem.

Takový kmen *E. coli* O104:H4 způsobil velkou německou epidemii, která propukla začátkem května 2011 v Hamburku. Výsledkem epidemie bylo 3 842 ne-

mocných pacientů, z nichž u 855 došlo k rozvinutí hemolyticko-uremického syndromu. Maxima tato epidemie dosáhla 22. května, kdy bylo ohlášeno 230 nových případů, z toho asi u 60 případů propukl hemolyticko-uremický syndrom. Celkově zemřelo 53 z 3 842 nakažených pacientů. Epidemie přesáhla hranice Německa, došlo k záchytu infekce v dalších 13 evropských státech a nemocní byli hlášeni i z Kanady a USA. Jednalo se však o turisty, kteří se vrátili z pobytu v Německu. Onemocnění proběhlo krvácivými průjmy spolu s hemolyticko-uremickým syndromem. Velkou německou epidemii provázelo několik zvláštností. První byl výjimečně vysoký počet případů, které byly provázeny hemolyticko-uremickým syndromem (u „běžných“ epidemií způsobených kmeny EHEC dochází k rozvoji hemolyticko-uremického syndromu u přibližně 10–15 % pacientů, zatímco v případě německé epidemie to bylo u 25 % pacientů). Další zvláštností bylo, že infekce postihla převážně osoby starší než 20 let, a to převážně ženy. Kmen *E. coli* O104:H4 se objevil během německé epidemie i v České republice. Jednalo se o 62letou americkou turistku, která přijela do Prahy po předcházející dovolené v Německu, kde během pobytu konzumovala saláty z čerstvé zeleniny. Pacientka trpěla těžkými průjmy, které se ovšem po symptomatické léčbě a po čtyřech dnech hospitalizace zlepšily.

Dosud není zcela jasné, odkud se kmen *E. coli* O104:H4 objevil. Nejprve se předpokládalo, že zdrojem infekce mohly být biookurky pocházející ze španělské farmy, ale analýza půdy, vody a vzorku okurek toto podezření nepotvrdila.



Vznik vysoce virulentního kmene *E. coli* O104:H4 z enterohemoragických a enteroagregativních kmenů *E. coli*

Pravděpodobně ke kontaminaci španělských okurek došlo někde v Německu z jiného zdroje. Epidemiologové později zjistili, že všichni nakažení jedli naklíčená semena pískavice (řecké seno) pocházející z Egypta a že to byla pravděpodobně tato semena, která se stala zdrojem příslušného kmene *E. coli* O104:H4. Mikrobiologickými metodami byl však kmen *E. coli* O104:H4, který byl izolován z pacientů z „německé epidemie“, srovnáván s kmeny izolovanými ze semen, ale shoda se nenašla. Navzdory těmto analýzám epidemiologové předpokládají, že kmen se v Evropě rozšířil ze semen importovaných v letech 2009 až 2010 z Egypta do Evropy a že naklíčená semena představovala hlavní zdroj příslušného kmene *E. coli* O104:H4. Po detailnějších analýzách se zjistilo, že virulentní kmeny se do Evropy dostaly v zásilce semen z prosince 2009. Egyptský ministr zemědělství však tyto analýzy a všechny spekulace o možné infekční egyptské zásilce semen v této souvislosti označil za pouhé lži.

Jak je tedy zřejmé z předcházejícího textu, i u tak „běžné“ bakterie jakou je *E. coli*, je neustále patrný evoluční proces ve prospěch různých patogenních kmenů. Tato běžná součást naší normální saprofytické mikroflóry se může velice snadno stát život ohrožujícím patogenem a způsobit rozsáhlé epidemie. Proto je i v dnešní době, kdy je k dispozici množství genetických a fyziologických informací, důležité bakterii *E. coli* nepodceňovat, protože i přes velké množství poznatků, které o ní máme, nás stále dokazuje nepřijemně překvapovat.

Literatura použitá v textu a obrázcích je u autorky.