

ENTEROHEMORAJİK *E. COLI* (EHEC)



Escherichia coli...

İnsan ve tüm sıcak kanlı hayvanların
kalın bağırsağının
normal flora üyesi

- ▣ Gram negatif,
- ▣ Fakültatif anaerop,
- ▣ Hareketli bir çomaktır.

Genetik olarak heterojen bir grup

Özgün virulans faktörlerine sahip patojen serogruplar:

- ❖ Barsakta yerleşerek hastalık yapanlar

diyarejenik

- ❖ Birincil yerleşim yerleri barsak olmakla birlikte barsak dışı infeksiyon yapanlar

ExPEC

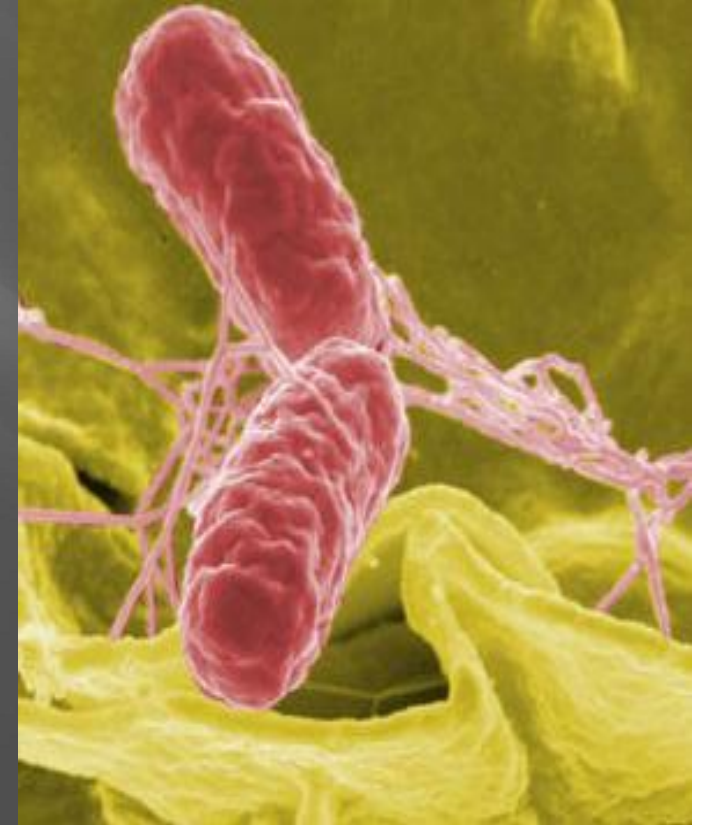
olmak üzere iki grupta incelenirler.

- ▣ **Barsakta** infeksiyon oluşturan ***E. coli*** suşları patojenite mekanizmalarına göre ayırt edilen **6 patogrup** içinde yer alırlar:
 - ❖ ETEC (enterotoksijenik *E. coli*),
 - ❖ EPEC (enteropatojenik *E. coli*),
 - ❖ **EHEC (enterohemorajik *E. coli*)**,
 - ❖ EAEC (enteroagregatif *E. coli*),
 - ❖ DAEC (diffüz adherent *E. coli*) ve
 - ❖ EIEC (enteroinvazif *E. coli*) olarak adlandırılmaktadır.

VTEC = STEC (EHEC)

(Verotoksin üreten *E. coli* = Shiga toksin üreten *E. coli*)

- ▣ **Zoonoz etkeni, besin kaynaklı**
- ▣ **1982** yılında **ABD**'de az pişmiş **hamburgerlerin** yenmesiyle ortaya çıkan O157:H7'nin etken olduğu iki ayrı **hemorajik kolit salgını** sonrasında insan patojeni olarak tanımlanmıştır.
- ▣ **1983'te** ise *E. coli* O157:H7 ve diğer STEC serotiplerinin etken olduğu sporadik **HUS** olguları saptanmıştır.



Son **20** yılda özellikle sanayileşmiş ülkelerde en çok önem kazanan
besin kaynaklı zoonoz etkenlerinden biri

- ▣ ABD'de yılda:
 - ▣ 73480 hastalık,
 - ▣ 2168 hastaneye yatış,
 - ▣ 61 ölüm

- ▣ Avrupa'da 24 ülkede (2000-2005)
 - ▣ 14000 hastalık (% 62'si O157)

Franz E., van Bruggen AHC (2008)

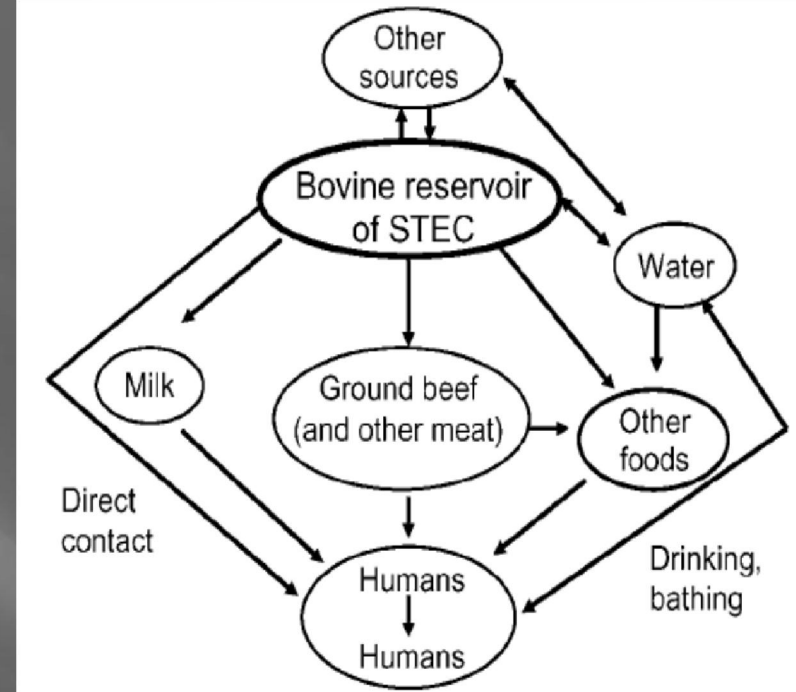
- ▣ **Bulaşma yolu** : kontamine besin veya sular
- ▣ **Kuluçka devri** : 3-4 gün

- Hastalık gelişmez,
- İshal,
- **Hemorajik kolit** gelişir.

İnsidansı en yüksek olarak **65 yaş ve üstü** grubunda görülür, **%15-23 oranında ölümcül**

- Kendiliğinden iyileşir
- Komplikasyonlar gelişebilir
%10-20'sinde
(genellikle pediatrik ve geriatric popülasyonda)

HUS



Komplikasyonlar

☠ Mikroanjiyopatik hemolitik anemi,

☠ Trombotik trombositopenik purpura,

☠ Böbrek yetmezliği

Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview¹

C. L. Gyles²

Department of Pathobiology, Ontario Veterinary College,
University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, N1G 2W1

Sero-pathotype ¹	Serotype	Frequency of association with disease	Involvement in outbreaks	Association with HUS and HC ²
A	O157:H7, O157:NM	High	Common	+
B	O26:H11, O103:H2, O111:NM, O121:H19, O145:NM	Moderate	Uncommon	+
C	O5:NM; O91:H21, O104:H21; O113:H21; O121:NM; O165:H25 and others	Low	Rare	+
D	O7:H4; O69:H11; O103:H25; O113:H4; O117:H7; 119:H25; O132:NM; O146:H21; O171:H2; O172:NM; O174:H8 and others	Low	Rare	-
E	O6:H34; O8:H19; O39:H49; O46:H38; O76:H7; O84:NM; O88:H25; O98:H25; O113:NM; O136:NM; O143:H31; O156:NM; O163:NM and others	Not implicated	Not implicated	-

¹Adapted from Karmali et al., 2003.

²HUS = hemolytic uremic syndrome; HC = hemorrhagic colitis.

Serogruplar (A-E)

A Virulansı en yüksek: **O157:H7, O157:NM**

B Daha nadir görülen ancak şiddetli hastalıklara ve salgınlara yol açan: **O26:H11, O103:H2, O111:NM, O121:H19, O145:NM**

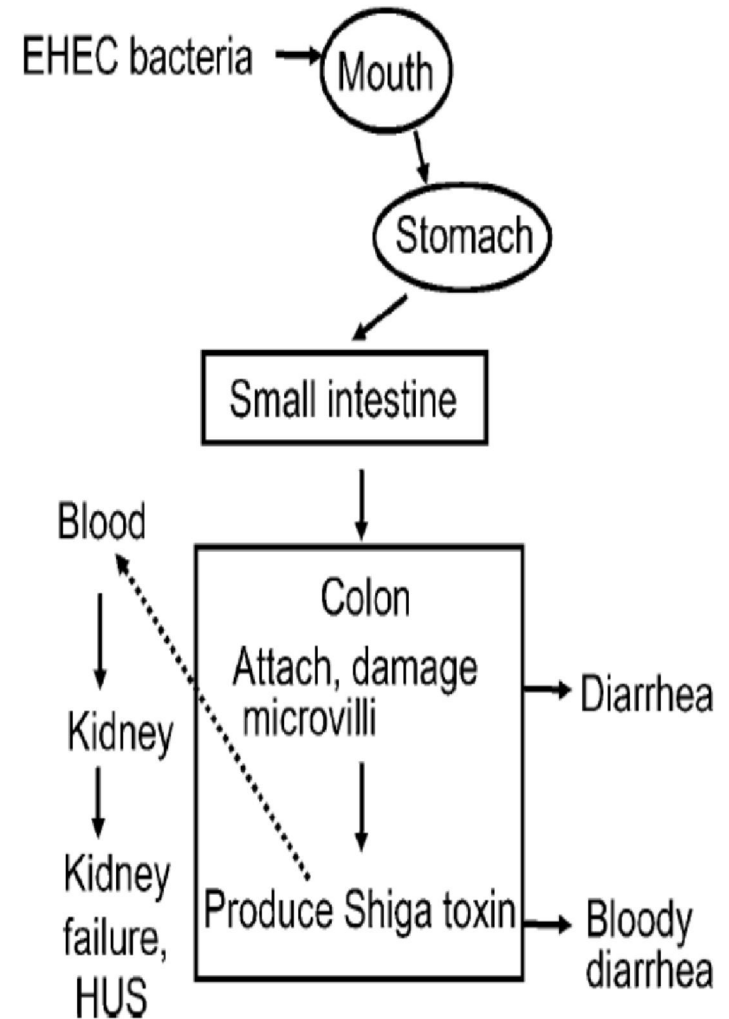
C Salgınlarla ilişkili olmayan, nadiren HUS olgularından sorumlu: **O91:H21, O113:H21**

D Sporadik diyare olgularında etken olan birçok serotip

E İnsanlarda hastalık oluşturmayan suşlar

EHEC suşları için karakteristik olan virulans faktörleri nerde kodlanmaktadır ?

- Shiga toksin (Stx)-
Bakteriyofaj
- A/E (yapışma/bozma)
lezyonları oluşturma
kapasitesi
Patojenite adası
- Hemolizin, vs
Plazmit (60 MDa)



Shiga Toksin:

- ▣ EPEC suşlarından ayırımında önemlidir.
- ▣ İki Stx serogrubu tanımlanmıştır:
Stx-1 ve Stx-2
- ▣ Bakteriyofajda kodlanır.
(Stx-2e hariç)

Stx

32 kDa katalitik bir alt birim (A) ve 7,7 kDa bağlanmadan sorumlu 5 alt birimden (B) oluşan bir **AB5 toksindir.**

- ▣ Konak hücre yüzeyine spesifik globotriaosilseramid (**Gb3**) reseptörüne **B alt birimleriyle bağlanır.**



- ▣ **Endositoz yoluyla alınıp Golgi ve ER'a aktarılır.**



- ▣ **A alt birim sitoplazmaya girer,**



- ▣ EF-1 aracılı aminoaçil tRNA bağlanması inhibisyonu ile **protein sentezi bloke olur ve sonuçta hücre ölür.**

Bazı antimikrobiyal maddeler

profaj indüksiyonu

stx genlerinin transkripsiyonu,

kopya sayısını

artırarak

ve

hücre lizisine yol açarak

toksin salınımını arttırır

- ▣ Kolonda bulunan **sodyum butirat** ayrıca,
- ▣ **IL-1 β** ve **TNF- α** endotel hücrelerinde **Gb3** ekspresyonunu artırır.

stx serogrupları - klinik tablo ilişkisi

Stx-1 veya Stx-1 / Stx-2
non-komplike infeksiyonlarla ilişkili

Stx-2

- ❖ HUS gelişimi ile en sık ilişkili bulunan toksin!
- ❖ Non-O157 serotiplerin (O26, O103, O111 ve O145) etken olduğu şiddetli infeksiyonlardan sorumlu
- ❖ Biyolojik aktivitesi farklı birçok varyantı var.

Stx-2 varyantları

- ▣ Stx-2c, Stx-2d insanlardan
- ▣ Stx-2e domuzlardan,
nadiren insanlardan
- ▣ Stx-2f yabani güvercinlerden

***Escherichia coli* Harboring Shiga Toxin 2 Gene Variants: Frequency and Association with Clinical Symptoms**

Alexander W. Friedrich,^{1,a} Martina Bielaszewska,^{1,a}
Wen-Lan Zhang,^{1,a} Matthias Pulz,² Thorsten Kuczius,^{3,a}
Andrea Ammon,⁴ and Helge Karch^{1,a}

¹Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg, Würzburg, ²Niedersächsisches Landesgesundheitsamt, Abteilung Mikrobiologie, Hannover, ³Nationales Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger, Hygiene Institut, Hamburg, and ⁴Robert Koch-Institut, Zentrum für Infektionskrankheiten und Epidemiologie, Berlin, Germany

- ▣ Stx-2d ve Stx-2e varyantları:
 - İshal etkeni olan STEC (%20'si)
 - Asemptomatik taşıyıcılardan (%26)
 - İnsanlar için Stx-2 veya Stx-2c'den daha az toksik.

İshalin etiyolojisindeki rolü tartışmalıdır.

- ▣ **Stx-2c** HUS ile ilişkili
- ▣ **Stx-2 ve Stx-2c** : eae geni ve HUS ilişkili

A/E (yapışma/bozma) histopatolojisi

- ▣ Sorumlu genler EPEC suşlarında da vardır.
- ▣ Patojenite adasında LEE (locus of enterocyte effacement) lokusunda kodlanır.
- ▣ Bu bölge normal florada bulunan *E. coli* ve ETEC suşlarında bulunmaz.

- ▣ LEE, üç bölge halinde organize olmuştur:

İntimin (*eae* geni)
İntimin reseptörü (*tir* geni)

Salgısal proteinler
(EspA, EspB, EspD)
(*esp* genleri)

Tip 3 sekresyon sistemi
(*esc* (*sep*) genleri)

İntimin

- Barsak epiteline adherans
- 94-95 kDa dış membran proteini
- Hemorajik kolit ve HUS olgularından izole edilen suşlarda sık
- C-terminal 3' ucundaki heterojenliğe bağlı olarak farklı tipleri belirlendi:
 - α EPEC suşlarında,
 - γ ve ϵ EHEC suşlarında,
 - β EHEC ve EPEC suşlarında

Tir (translocated intimin reseptor)

- İntimin reseptörü
- 90 kDa proteindir.
- Bakteri hücresinde fosforillenmemiş halde sentezlenir,
- Konak hücreye Tip 3 sekresyon sistemi ile transloke edildiğinde fosforillenir.

60 M Da plazmit:

- ▣ Konjugatif olmayan pO157 plazmidi
- ▣ EPEC suşlarında bulunmayan
- ▣ Mozaik bir yapı gösterir.
- ▣ Fonksiyonel bölgelerin IS elementleri ile birbirinden ayrılmış olması farklı kaynaklardan plazmite integre olduklarını düşündürmektedir.

- ✓ Hemolizin (HlyA),
 - ✓ Tip 2 sekresyon sistemi,
 - ✓ Katalaz peroksidaz (Kat P),
 - ✓ Serin proteaz (Esp P)
- } ~ tüm EHEC O157 suşlarında
- } suşların 2/3'ünde

- Non-O157 suşlarında pO157'ye benzer büyük plazmitler bulunur:
 - ~ tamamı hly operonu,
 - %50'den azı Tip 2 sekresyon sistemi, katP, espP taşır.

Hemolizin

- EHEC *hlyCABD* operonu tarafından kodlanır.
- Barsakta eritrositlerden demir kaynağı olarak kullanılmak üzere hemoglobin salınmasını indüklediği düşünülmektedir.

Serin proteaz (EspP)

- Birçok bakteri hücrelerinde sentezlenen ototransportör protein grubu ile yakın benzerlik gösteren 104 kDa hücre dışı proteindir.
- Koagülasyon faktörü V'i yıkar ve Vero hücreleri için sitotoksik etkinliği bulunur.
- Hemorajik hastalık gelişiminde sinerjistik etkisi olduğu düşünülmektedir.

- ▣ QS regülatör sistemi:
- ▣ EHEC suşları intestinal çevreyi tanımak,
- ▣ Kolonizasyon için gerekli genleri aktive etmek

- ▣ AI-3, epinefrin/norepinefrin analogudur.
 - Kolondaki çok sayıda bakteri tarafından üretilir.
 - EHEC suşları kolona girişlerini algılamak ve
 - Flagella kodlayan genlerin ekspresyonunu arttırmak için kullanılır.

- ▣ B-adrenerjik antagonistleri (Propranolol) EHEC suşlarında sinyalizasyonu inhibe ederek;
 - Hareket ve
 - A/E lezyonlarının oluşumunu engelleyebilir.

EHEC infeksiyonlarında yeni, alternatif tedavi seçeneği?

Olası Virulans Faktörleri:

▣ **Non-fimbriyal adhezinler:**

- EfaI (EHEC factor for adherence)
- Iha
- OmpA (Dış membran proteini)
- Saa (STEC otoaglutine eden adhezin)
- ToxB

▣ **Fimbriyal adhezinler:**

- Lpf (long polar fimbriae)
- Sfp

▣ **Toksinler:**

- CDT (sitoletal distending toxin)
- EAST1 (Enteroagregatif termo stabil enterotoksin)
- Subtilaz sitotoksin

▣ **Diğer:**

- Üreaz, H7 flagellin, LPS

Factor	Properties
Nonfimbrial adhesins	
Efa1	Adherence of O157 and a few other serotypes of EHEC to epithelial cells; colonization of cattle.
Iha (IrgA homologue adhesin)	Encoded in a PAI in LEE+ and LEE- STEC; confers adhesive properties on a laboratory <i>E. coli</i> .
OmpA	Adherence of O157 EHEC to HeLa and Caco2 cells
Saa	STEC autoagglutinating adhesin; plasmid-encoded; present in some LEE- negative STEC.
ToxB	Plasmid-encoded adhesin that promotes production and/or secretion of type III secreted proteins.
Fimbriae	
Lpf _{O157-O1-141}	Long polar fimbriae of O157:H7 encoded in OI-141; plays a role in microcolony formation
Lpf _{O157-O1-154}	Long polar fimbriae of O157:H7 encoded in OI-154; similar to Lpf O113 produced by O113:H21 STEC; functions in adherence
SfpA	Pilin of sorbitol-fermenting EHEC O157:NM.
OI-1 fimbrial operon	Putative O157:H7 fimbriae; subunit has homology to StcA of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium; specific for O157:H7/H-.
OI-47 fimbrial operon	Putative O157:H7 fimbriae; subunit has homology with SfaA of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium; specific for O157:H7/H-.
Toxins	
Cytolethal distending toxin (CLDT)	Interferes with cell cycling; may cause vascular endothelial cell death.
EHEC hemolysin	Plasmid-encoded RTX toxin; release of hemoglobin; cytotoxic; induces inflammatory cytokines
EAST1	Enteroggregative heat-stable enterotoxin
Subtilase cytotoxin	Plasmid-encoded potent and lethal cytotoxin
Proteases	
EpeA	Plasmid-encoded serine protease in some LEE-negative STEC; has mucinase activity
EspP/PssA	Plasmid-encoded extracellular serine protease that cleaves pepsin A and human coagulation factor V; cytotoxic for Vero cells
EspI/NleA	Serine protease functionally related to EspP; degrades pepsin A and human apolipoprotein A-I
KatP	Plasmid-encoded catalase/oxidase
StcE	Plasmid-encoded metalloprotease secreted via Etp system; cleaves the C1 esterase inhibitor; mucinase; antiinflammatory; enhances adherence
Other	
Etp	Plasmid-encoded type II secretion system
H7 flagellin	Activation of proinflammatory signals in the colon of humans
H21 flagellin	Promotes close association of O113:H21 STEC with the colonic epithelium
LPS	Induction of proinflammatory cytokines by the enterocytes and endothelial cells; activation of platelets
Urease	Present in many eae-positive STEC serotypes; usually not expressed in vitro

¹EHEC = enterohemorrhagic *E. coli*; PAI = pathogenicity island; LEE = locus of enterocyte effacement.

Ekoloji

Rezervuarlar

▣ Sığırlar

- İnsanlardaki EHEC O157:H7 infeksiyonlarının en önemli kaynağı,
- Normal barsak mikroflora üyesi,
- Asemptomatik taşıyıcı,
- Yaş ve süttten kesilme önemli faktörler
 - ▣ < 2 ay %1,5
 - ▣ 2-4 ay %2-5 dışkı örneklerinde bulunuyor.
 - ▣ Yetişkin sığırlarda daha kısa süre ve az yoğunlukta
- Mevsime bağımlı
 - ▣ Sıcak aylarda artış
- İshalli buzağılardan non-O157 (5, 26, 111, 118) serogrupları da izole edilir.

▣ Diğer otçul hayvanlar

- EHEC O157 ve non-O157 serogrupları (O91, O128, O146) koyun dışkılarından sıkça izole edilir.
- O157 et ve süt ürünlerinde de bulunuyor.
- O157 keçilerden izole edilmiş, keçi sütünden kaynaklanan bir salgın bildirilmiş.
- Mandalarında potansiyel bir kaynak olabilir ?
- Bazı vahşi otçullarında evcil hayvanlarla aynı çevreyi paylaşması sonucu rezervuar olduğu öne sürülüyor.
 - ▣ EHEC O157 geyikten izole edilmiş.

▣ Otçul harici memeliler:

- Gerçek konak /temasla kolonize olan nadir vektörler?
- At, köpek, tavşan
- Domuzların insanlarda gelişen infeksiyonlarda major kaynak olduğu düşünülüyor. **EHEC O157 fekal taşıyıcılık:**
 - ▣ Avrupa ülkeleri, Japonya, Amerika'da %0,2-2
 - ▣ Afrika'da %8-10

▣ Kuşlar:

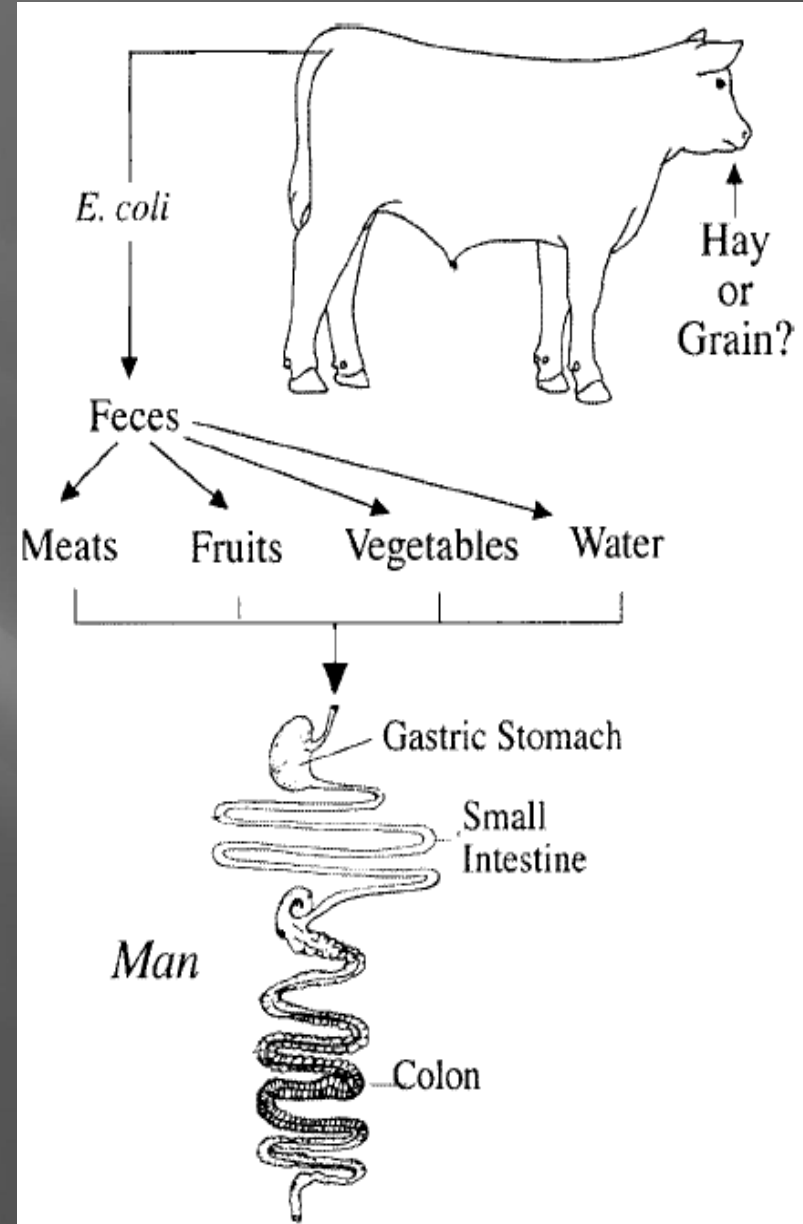
- EHEC O157 ve diğer serogruplar martı dışkısında izole edilmiş.
- Rezervuar değil, potansiyel vektör
- Güvercinler, Stx-2f üreten STEC suşları için doğal rezervuar
- Tavuk ürünlerinden ve bir hindiden izole edilmiş.

- ▣ Sığırlarda aynı hayvandan atılımı ~bir ay kadar sürer.
- ▣ Bazı STEC suşlarının aynı sığır sürülerinde yıllarca kalabildiği gösterilmiş.
- ▣ Aynı çiftlik ortamında:
 - Yemler,
 - İçme suları,
 - Kuş ve sinekler yeni STEC suşları için kaynak.
- ▣ EHEC suşlarının varlığını sürdürmesi:
 - Dışkıyla kontamine olmuş, ıslak zeminler,
 - İdrar birikintileri

- ✘ **EHEC suşları aside dirençlidir**, bu özelliği sayesinde infeksiyöz dozunun düşük (10-100 organizma) olduğu düşünülmektedir.

Başlıca bulaşma yolları:


- 1) Kontamine yiyecek ve kontamine içme veya yüzme suları,
- 2) İnsandan insana bulaşma ve
- 3) Hayvanlar ve dışkıları ile direkt temas olarak saptanmıştır.



Aside Direnç

- Mide asidi tüm besin kaynaklı bulaşan patojenlere karşı ilk savunma mekanizması.
 - Farklı patojenlerin ID 'ları, asit ortamlardaki dirençlerine bağlıdır.
- EHEC suşları GIS'de infeksiyon oluşturabilmek için bu asit bariyeri geçebilmek zorunda.
 - Oksidatif sistem: fermentatif bakterilerde bulunmaz.
 - Arjinine bağımlı sistem
 - Glutamata bağımlı sistem

} asit direncine neden olur.
- E. coli suşlarında rpoS geni ürünü alternatif sigma faktörü asit direncinin düzenlenmesinde görevli.
 - **RpoS defektif mutant** suşlar akut asit şokuna daha duyarlı.



- ▣ *E. coli* suşlarının pH 2,5'da canlı kalma oranı:
 - Asidik pH'da,
 - ▣ AA dekarboksilaz düşük pH'da indüklenir.
 - Katı besiyerinde,
 - Karbonhidrat içeren besiyerinde (fermentasyon asitleri indüklüyor) ürettiğinde 
 - Asetat, propionat, butirat yüksek oranda
 - Format, laktat, benzoat düşük oranda asit direnci sağlıyor.
 - ▣ rpoS asetat ile indüleniyor.


Asit direnci seleksiyon değil adaptasyonla gelişiyor!

Uygulanan Diyetin Etkisi

- ▣ Sığır barsak içerikleri ve yem içeriklerinin ilişkisi tam olarak aydınlatılmamış
- ▣ Rumen ve kolon pH'sı:
 - Tahıl fermentasyonu sonucu düşüyor.
 - Sığırlar samanla beslendiğinde ise nötre yakın değerlerde.
- ▣ Tahılca zengin diyet uygulanan sığırlardan izole edilen STEC suşlarında aside direnç mekanizması indükleniyor.
- ▣ Ancak bazı çalışmalarda samanla beslenen sığırlarda çok daha uzun süre STEC atılımı gerçekleştiği gösterilmiş.

- Uygulanan diyetin deęiřtirilmesi besin kaynaklı infeksiyon riskini azaltmada önemli

- Scott ve ark. (2000):
 - Tahıl temelli diyet  saman
 - Asite dirençli *E. coli* sayısı 7 günde onbin  20 nücre

- Keen ve ark. (1999): doğal taşıyıcılar kullanıldı
 - Aynı diyet değişimi ile EHEC O157:H7 + sığırların oranı 7 günde %53  %18

- ▣ Hovde ve ark. (1999) EHEC O157:H7 inoküle edilen sığırlarda:
 - Samanla beslendiğinde 76 gün
 - Tahılla beslendiğinde ise 2-4 gün atılım gerçekleşti.

- ▣ Kudva ve ark. (1997) EHEC O157:H7 inoküle edilen koyunlarda:
 - Samanla beslendiğinde 8-15 gün
 - Tahılla beslendiğinde 2-6 gün atılım sürdü.

Saman kullanılması insanlar için infeksiyon riskini arttırıyor .

- ⌚ Kullanılan besine *L. acidophilus* ilavesi ürettiği laktik asit sebebiyle *E. coli* O157:H7 atılımını azaltıyor.

- ⌚ Profilaktik kullanımda etkinliği üzerine araştırmalar sürüyor.

▣ Sığırlar için kullanılan su olukları:

- ▣ İnfekte sığırların O157:H7 suşları içeren dışkı ve tükürükleri ile sıklıkla kontamine olmaktadır.
- ▣ Uzun süreli kolonizasyonda önemli bir çevresel rezervuar.
- ▣ Taşıyıcıların sayısındaki artış, et ve süt tüketimi açısından riski arttırır.
- ▣ Soğuk aylarda uzun süre canlı kalabilir.
 - ▣ Sığır dışkılarında 37°C'de 49 gün, 22 °C'de 56 gün, 5°C'de 70 gün (Wang ve ark, 1996)

▣ İnsanlarda EHEC O157:H7 infeksiyonlarının en önemli bulaşma kaynakları

- ▣ İçme suları,
- ▣ Havuz veya göl suları,
- ▣ Sebzeler
 - ▣ Gübre
 - ▣ Sulama sularının kontaminasyonu

~ EHEC suşlarına özgü virulans genlerini taşıyan çoğul antibiyotik dirençli *E. coli* suşlarıyla kontamine içme suları ile temasın insan sağlığı açısından risk teşkil ettiği,

~ Gelişmekte olan ülkelerde içme suyu dağıtım sistemlerine ilişkin yapılan sürveyans çalışmalarının artırılmasıyla risk derecesinin ve halk sağlığını korumaya yönelik geliştirilecek etkili stratejilerin belirlenmesi gerektiği vurgulanmaktadır.

