

Received: 2014.06.13
Accepted: 2014.12.05
Published: 2015.03.17

Znane i nowe warianty patogennych *Escherichia coli* jako konsekwencja plastycznego genomu*

Well-known and new variants of pathogenic *Escherichia coli* as a consequence of the plastic genome

Katarzyna Baldy-Chudzik, Ewa Bok, Justyna Mazurek

Katedra Biologii Molekularnej Uniwersytet Zielonogórski

Streszczenie

E. coli jest bardzo zróżnicowanym gatunkiem bakterii skupiającym szczepy komensalne oraz jelitowe i pozajelitowe patogeny. Zdolności przystosowania do tak różnych nisz w organizmie gospodarza są uwarunkowane niezwykle plastycznym genomem. Zróżnicowanie genetyczne jest spowodowane złożoną strukturą filogenetyczną, w której oprócz grup głównych A, B1, B2 i D niedawno wyróżniono cztery nowe grupy C, E, F i klad I. Inną istotną siłą napędową ewolucji genomów u *E. coli* jest ruchoma pula genów wymieniana w wyniku horyzontalnego transferu genów (HGT). Chorobotwórczość szczepów jest uzależniona od czynników wirulencji umiejscowionych na ruchomych elementach genetycznych i przenoszonych drogą HGT. Zmieniające się środowisko stymuluje powstawanie nowych kombinacji genów wirulencji powodując rozprzestrzenianie się, nieobserwowanych dotąd, nowych patogennych klonów *E. coli*, które wyróżniają się większą zjadliwością i ekspansywnością. Wśród patogenów pozajelitowych u ludzi i ptaków obserwuje się występowanie bardzo podobnych plazmidów wirulencji niosących konserwatywne kombinacje genów wirulencji (CVP). Wskazuje to na realną możliwość transmisji tych klonów i/lub plazmidów między człowiekiem a zwierzętami i występowanie tych samych czynników wirulencji. Wzrost lekooporności wśród patogennych szczepów *E. coli* znajduje również odzwierciedlenie w rozpowszechnieniu bardzo ekspansywnych klonów wykazujących zarówno wysoką wirulencję jak i oporność. Dane wskazują, że aby skuteczniej zwalczać choroby zakaźne wywoływane przez *E. coli*, są potrzebne dalsze badania aby poznać wzajemne zależności między opornością i zjadliwością na poziomie genetycznym i aby zrozumieć mechanizmy regulujące ekspresję tych cech.

Słowa kluczowe:

patogenne *E. coli* • struktura filogenetyczna • horyzontalny transfer genów • geny wirulencji • lekooporność

Summary

E. coli is a diverse bacterial species encompassing commensal as well as intestinal and extraintestinal pathogenic strains. The ability to adapt to so many different niches in the host organism is determined by the extreme genomic plasticity of *E. coli*. The genetic diversity is due to a complex phylogenetic structure in which besides the well-known main groups A, B1, B2 and D, four new groups, C, E, F and Clad I, have been characterized recently. The mobile gene pool exchanged by horizontal gene transfer (HGT) is another important driving force in the evolution of *E. coli*. Pathogenicity of strains is conditioned by a specific repertoire of virulence factors located on the mobile genetic elements and transmitted by HGT. The environment changing constantly

*Praca wykonana w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N304 412538.

Key words:	stimulates the formation of new virulence gene combinations that generate the formation, not observed so far, of new pathogenic clones of higher capacity for virulence and greater expansiveness. The presence of very similar virulence plasmids carrying conserved combinations of the virulence genes (CVP) among extraintestinal pathogenic strains in humans and birds has been observed. It indicates a real possibility of occurrence of common virulence factors. The increase in drug resistance among pathogenic <i>E. coli</i> is also reflected in the prevalence of highly expansive clones exhibiting both high virulence and resistance. The presented data indicate that further studies are required to determine the interdependencies of resistance and virulence at the genetic level to help improve our management of the infectious diseases caused by these bacteria. pathogenic <i>E. coli</i> • phylogenetic structure • horizontal gene transfer • virulence genes • drug resistance
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1145173
Word count:	6184
Tables:	3
Figures:	1
References:	118

Adres autorki: dr hab. Katarzyna Baldy-Chudzik, Katedra Biologii Molekularnej, Uniwersytet Zielonogórski, ul. Monte Cassino 21b, 65-561 Zielona Góra; e-mail: k.baldy-chudzik@wnb.uz.zgora.pl

WPROWADZENIE

Plastyczny genom gatunku *Escherichia coli* funkcjonuje na zasadzie utrzymywania dynamicznej równowagi między rdzeniem genomu a ruchomą pulą genów. Rdzeń genomu to stabilny zestaw genów zabezpieczających podstawowe procesy życiowe bakterii. Natomiast ruchoma pula genów to wymienny zestaw, który umożliwia bakterii przystosowanie do bardzo różnych środowisk (organizm gospodarza/środowisko zewnętrzne) oraz warunkujący zasiedlanie zróżnicowanych niszy w organizmie gospodarza. Ruchoma pula genów może być wymieniana, zarówno między spokrewnionymi jak i odległymi systematycznie bakteriami, w wyniku horyzontalnego transferu genów (horizontal gene transfer, HGT), w którym platformami niosącymi geny adaptacyjne są ruchome elementy genetyczne [106,107]. HGT polega na nabywaniu przez komórki bakteryjne obcego DNA w wyniku trzech mechanizmów: transformacji (wychwytywanie wolnego DNA), transdukcji (za pośrednictwem DNA bakteriofaga) i koniugacji (przekazywanie plazmidów). W populacjach bakterii, horyzontalny transfer informacji genetycznej to nieustanna wewnętrzna gra między wieloma dawcami i biorcami w dynamicznym środowisku [102]. Istnieje wiele hipotez dotyczących możliwości ukierunkowania HGT. Pewne z nich zakładają, że HGT jest bardziej skuteczny wewnątrz grup taksonomicznych niż między grupami lub wówczas, gdy dawca i biorca zajmują wspólne środowisko lub niszę ekologiczną [32].

E. coli dzięki wysokiej plastyczności genomu i złożonej klonalnej strukturze genetycznej jest jedną z najbardziej uniwersalnych bakterii, która wykazuje bardzo zróżnicowany styl życia. Kompletnie sekwencje DNA genomów

szczepów komensalnych i patogenów jelitowych oraz pozajelitowych, dowodzą w jak znaczącym stopniu szczepy te różnią się w zawartości genów, co jednoznacznie wskazuje, że HGT występuje często w tym gatunku [114,115]. Adaptacja *E. coli* do przewodu pokarmowego człowieka i ciepłokrwistych zwierząt jest uważana za najważniejsze źródło naturalnej selekcji w ewolucji od wspólnego przodka z *Salmonellą* [17,32]. Pałeczka *E. coli* pierwotnie odkryta w przewodzie pokarmowym od dawna jest wiązana z miejscową florą bakteryjną jelit. Zdecydowana większość *E. coli* przejściowo występuje w przewodzie pokarmowym z małym lub żadnym wpływem na organizm gospodarza. Niewielka liczba szczepów może egzystować u jednego gospodarza przez miesiące i lata prawdopodobnie z powodu symbiotycznych relacji, które może rozwijać z innymi składnikami mikroflory jelitowej [41]. Niektóre szczepy, które dostają się do przewodu pokarmowego są chorobotwórcze i odpowiedzialne za różnorodne objawy obejmujące zarówno jelitowe jak i pozajelitowe infekcje u ludzi i zwierząt. W krajach rozwijających się, każdego roku prawie 1 mld epizodów ostrej biegunki bakteryjnej u dzieci poniżej 5 roku życia jest wywoływane przez patogenne *E. coli*. Dlatego te bakterie są najczęstszą przyczyną biegunki związanej ze zgonami na całym świecie [12,114]. Główną drogą transmisji, zwłaszcza chorobotwórczych szczepów, jest szlak oralno-fekalny. Z tego powodu *E. coli* jest organizmem wskaźnikowym do sanitarnej oceny jakości wody i wykrywania źródeł zanieczyszczenia kałowego [40,114].

Patogenne *E. coli* wykazują wiele genotypów i fenotypów oraz wywołują wiele klinicznych objawów. Ponadto mogą kolonizować wiele tkanek oraz miejsc w organizmie gospodarza. Chorobotwórczość tych szczepów jest w znacz-

nej mierze zależna od zróżnicowania zestawu czynników wirulencji [47,63]. Szczepy mogą się różnić drastycznie pod względem genetycznych wyznaczników patogenności, które najczęściej są niesione na ruchomych elementach genetycznych, w tym na plazmidach, transpozonach, wyspach patogenności, bakteriofagach [69,71]. Mobilne elementy mogą występować pojedynczo lub w zespołach i mogą nieść geny warunkujące toksyny, struktury promujące adhezję istotną w kolonizacji (fimbrie), zewnętrzkomórkowe polisacharydy (antygeny O i K) i białkowe podjednostki rzęsek (antygen H), które wyznaczają ich serotypy [35,116,117]. Nowe kombinacje czynników wirulencji nieustannie powstają i są rozpowszechniane wśród szczepów, które u wrażliwych gospodarzy powodują rozwój infekcji i nowe objawy kliniczne [1].

W ostatnich latach odnotowano istotny wzrost oporności na antybiotyki nie tylko wśród patogennych szczepów, ale też wśród komensalnych *E. coli*. Intensywne stosowanie antybiotyków, nie tylko w celach terapeutycznych, także jako środków profilaktycznych w rolnictwie i hodowli zwierząt, spowodowało, że występowanie opornych bakterii nie jest dziś ograniczone tylko do szczepów klinicznych. Zasięg lekoopornych szczepów *E. coli* rozszerza się w różnych środowiskach. Zwierzęta mogą funkcjonować jako rezerwuuar opornych bakterii, które mogą być przenoszone na ludzi, przez bezpośredni kontakt lub pośrednio drogą łańcucha pokarmowego [4,10,15,50]. Bakterie mogą nabywać oporność na antybiotyki w wyniku mutacji DNA chromosomowego lub w wyniku HGT, który odgrywa główną rolę w rozpowszechnianiu się genów oporności u bakterii. Genetyczne determinanty oporności są umiejscowione na mobilnych elementach, takich jak plazmidy i transpozony, które mogą być przenoszone między różnymi szczepami i gatunkami bakterii [2,21,37,57,75,84].

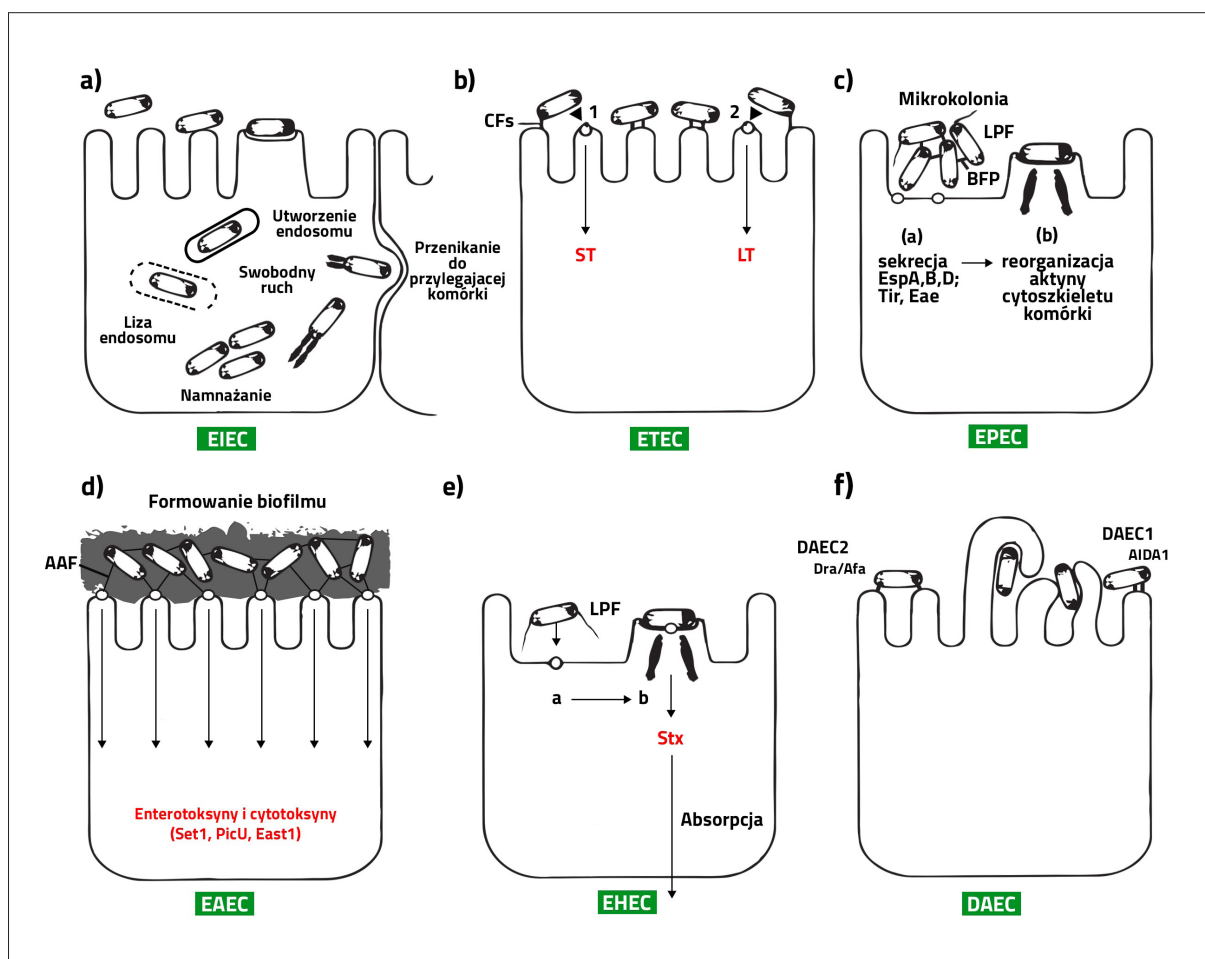
Pozyskanie cech oporności i/lub zjadliwości decyduje o zdolności bakterii do przeżycia w określonym środowisku. Nie można wykluczyć, że genetyczne determinanty zjadliwości, jeśli znajdują się na tej samej platformie genetycznej z genami oporności (plazmid, transpozon), mogą być wspólnie mobilizowane pod wpływem presji selekcyjnej antybiotyku [93,96,98]. Ponadto szczepy czy też klony zjadliwe mogą być utrwalane jeśli nabędą determinanty oporności. Problem powiązań między opornością a zjadliwością u *E. coli* jest złożony, biorąc pod uwagę różnorodność genów oporności na antybiotyki, różnorodność czynników wirulencji, wielość gatunków gospodarzy [6,16,26,27,38]. Celem opracowania jest przedstawienie stanu wiedzy o strukturze filogenetycznej *E. coli* i zobrazowanie relacji między tłem filogenetycznym a wirulencją oraz omówienie obserwowanych związków między wirulencją a opornością na antybiotyki u klinicznych szczepów.

STRUKTURA FILOGENETYCZNA GATUNKU *ESCHERICHIA COLI*

W okresie wczesnych lat 80 XX w., badania Whittama i wsp. dostarczyły pierwszych dowodów występowania złożonej struktury genetycznej gatunku *E. coli* [115].

Późniejsze prace przyczyniły się do potwierdzenia zróżnicowanego podłoża filogenetycznego tego gatunku [10,41,104,106]. Metoda MLEE (MultiLocus Enzyme Electrophoresis) - analiza elektroforetyczna izoenzymów podstawowych przemian metabolicznych była pierwszą referencyjną techniką pozwalającą na wyróżnienie odrębnych grup filogenetycznych u *E. coli*, które określono jako grupy: A, B1, B2 i D [29,32,46]. Badania struktury filogenetycznej szczepów klinicznych i środowiskowych ujawniły, że o ile wśród szczepów środowiskowych (z wody, gleby) występowanie każdej z grup filogenetycznych jest powszechne, to jednak ich rozpowszechnienie wśród klinicznych izolatów nie jest losowe. Szczepy odpowiedzialne za zakażenia pozajelitowe wykazywały znamienne częściej przynależność do grup filogenetycznych B2 lub D, podczas gdy patogeny jelitowe częściej reprezentowały grupy D niż B2, B1 lub A. Komensalne *E. coli* traktowane jako potencjalnie niewirulentne najczęściej reprezentowały grupę A albo B1 [33,54,102,107,118]. Znaczenie kliniczne tych obserwacji spowodowało konieczność skonstruowania prostej metody typowania, pozwalającej na przypisanie każdego izolatu do jednej z czterech grup filogenetycznych. W 2000 r. zespół Clermonta opracował szybką i tanią metodę typowania filogenetycznego, opartą na reakcji PCR. W metodzie zastosowano trzy pary starterów (triplex-PCR) o sekwencjach homologicznych do markerów genetycznych swoistych dla grup filogenetycznych *E. coli* (gen *chuA*, *yjaA* i anonimową sekwencję DNA TspE4. C2, później określoną jako gen esteraazy (*aes*) [18,19,24]. Metoda triplex-PCR stworzyła realną możliwość poznania struktury filogenetycznej licznych populacji *E. coli* pochodzących z różnych środowisk i pozostających w różnych relacjach z organizmem gospodarza (komensalnej/patogennej). Metoda dostarczyła też dowodów, że kliniczne szczepy różnych grup filogenetycznych różnią się charakterystyką fenotypową i genotypową, zajmując różne nisze w organizmach gospodarzy i wykazując różną zdolność do wywoływania choroby [8,10,17,20,41,106,118].

Ostatnie dziesięciolecie, era genomiki, umożliwiło poznanie kompletnych sekwencji DNA genomów prototypowych szczepów reprezentujących zarówno szczepy komensalne (*E. coli* K12), jak i patogeny jelitowe (O157:H7) oraz pozajelitowe (J96). Zgromadzono dane obejmujące pełne sekwencje DNA genomów 27 szczepów *E. coli* reprezentujących szczepy komensalne i patogenne. Przeprowadzono analizy porównawcze sekwencji obszarów rdzeniowych tych genomów obejmujące zestaw 5282 ortologicznych genów kodujących białka. Badania ujawniły dowody występowania HGT w zestawach 2655 genów (50,3%), spośród których 678 (12,8%) zawierało co najmniej jedną wewnątrzgenową rekombinację dowodząc, że wewnątrzgenowy HGT zachodzi znacznie częściej niż dotychczas sądzono [17,28]. Analizy porównawcze ujawniły również, że do rekombinacji wewnątrz genów metabolizmu podstawowego dochodzi częściej w obrębie tej samej grupy filogenetycznej niż między grupami. Wykazano też, że do rekombinacji wewnątrz tych genów dochodzi częściej w obrębie grup patogenów niż u komensali. Rezultaty analiz porównawczych dostarczyły dowodów na



Ryc. 1. Ogólny schemat mechanizmów patogenności u najlepiej poznanych biegunkowych patotypów *E. coli* (wg [64] zmodyfikowano): a) szczepy EIEC niszczą komórki nabłonka jelita wykorzystując inwazyjne odpowiadające za internalizację, zamykanie bakterii w pęcherzyku endosomu i przenikanie do przyległych komórek (jak u rodzaju *Shigella*); b) u szczepów ETEC fimbrie CFs (czynniki kolonizacji) odpowiadają za adhezję do komórek nabłonka jelita; adhezja indukuje sekrecję toksyn LT (termolabilna) i ST (termostabilna), dla których receptorem na powierzchni komórek nabłonka jest cyklaza adenylowa (1) i guanylowa (2). Związanie toksyn powoduje wypływ jonów z komórki i akumulację wody, wywołując biegunkę; c) Szczepy EPEC adhezują do komórek nabłonka jelita za pomocą fimbrii tworzących wiązkę Bfp i długich polarnych fimbrii LPF; adhezja indukuje sekrecję białek EspA, B, D, następnie Tir (receptor intyminy) oraz Eae (intymina) (a) i powoduje formowanie piedestału adhezyjnego (b), wywołując biegunkę; d) szczepy EAEC formują biofilm z udziałem fimbrii AAF i wydzielają do wnętrza komórek endotoksyny i cytotoksyny; e) szczepy EHEC wykorzystują fimbrie LPF do kolonizacji, sekrecja białek EspA, B, D oraz Tir i Eae prowadzi do utworzenia piedestału adhezyjnego (a → b) i wydzielania toksyny Shiga Stx do wnętrza komórki, co powoduje zespół hemolityczno-mocznicowy; f) szczepy DAEC indukują przekazywanie sygnału do komórek nabłonka jelita za pośrednictwem adhezyn AIDA I (DAEC1) lub Afa/Dra (DAEC2), co powoduje wydłużenie wypustek komórkowych otaczających bakterie i stan zapalny nabłonka

to, że struktura genetyczna w obrębie grup filogenetycznych, np. B2, D i B1 jest bardziej rozbudowana niż dotąd sądzono [28,70,102].

Upowszechnienie analiz sekwencji DNA wielu genów enzymów metabolizmu podstawowego (MLST, MultiLocus Sequence Typing) ujawniło, że stopień zróżnicowania filogenetycznego *E. coli* uzyskiwany dotąd, w oparciu o metodę triplex-PCR, jest niedoszacowany. Metoda MLST pozwala na ujawnianie wyższej rozdzielczości różnicowania podłoża filogenetycznego oraz na przyporządkowywanie szczepów do tzw. typów sekwencyjnych (ST, Sequence Type) [40,53]. MLST nie jest szybką i prostą metodą diagnostyczną, ponieważ nie jest użyteczna do analiz liczo-

nych szczepów. Dlatego charakterystyka typów ST wśród klinicznych szczepów jest prezentowana w piśmiennictwie rzadziej niż grupy filogenetyczne *E. coli* określane metodą triplex-PCR [40]. Analizy danych sekwencyjnych udoskonaliły i poszerzyły rozumienie struktury genetycznej gatunku *E. coli* doprowadzając w 2012 r. do rozbudowy struktury filogenetycznej, polegającej na wyodrębnieniu dodatkowych grup [42,114]. Wyodrębniona grupa E jest blisko związana z grupą główną D, a której dobrze znanymi przedstawicielami są szczepy O157:H7 [106]. Grupa filogenetyczna F została utworzona dla szczepów tworzących grupę siostrzaną dla grupy głównej B2 [21,51,107]. Wyróżniono również grupę C dla szczepów wzajemnie związanych i siostrzanych dla grupy głównej

B1 [71]. Ponadto Walk i wsp. udowodnili istnienie kilku nowych rodów/klonów w rodzaju *Escherichia* (nowy gatunek?) [114], które są genetycznie różne, ale fenotypowo nierozróżnialne z *E. coli*. Dla nowo poznanych klonów zaproponowano odrębną grupę w drzewie filogenetycznym gatunku określoną mianem kryptycznego kładu *Escherichia* (klad I). Podsumowując, w gatunku *E. coli* istnieje osiem rozpoznawanych grup filogenetycznych, spośród których siedem należy do *E. coli sensu stricto* (A, B1, B2, C, D, E, F) i jedna odpowiada kryptycznemu *Escherichia* (klad I). Opracowano też nowy sposób szybkiego typowania filogenetycznego. Nowa metoda - tetraplex-PCR w porównaniu z wcześniejszą, triplex-PCR, została wzbogacona o kolejny filogenetyczny marker, tj. gen *arpA* kodujący białko regulatora syntezy enzymu syntetazy acetylo-CoA [19]. W ramach sprawdzania zdolności typujących nowej metody, dotychczas przeprowadzono analizy dwóch dużych kolekcji ludzkich izolatów kałowych. Wyniki analiz ujawniły, że prawie 13% *E. coli* należy do nowo opisanych grup filogenetycznych: C, E, F i kładu I [19,24].

WIRULENCJA *ESCHERICHIA COLI* – ZNANE I NOWE ZAGROŻENIA

Plastyczny genom powoduje, że gatunek *E. coli* obejmuje rozmaite komensalne i chorobotwórcze warianty.

Patogeny jelitowe *E. coli*

Patogeny jelitowe (intestinal pathogenic *E. coli* - IPEC) wywołują różnorodne objawy kliniczne związane z biegunką, a ciężkość przebiegu choroby zależy od mikroorganizmu i czynników gospodarza. Typowo biegunkowe szczepy IPEC należą do grup enterotoksycznych (ETEC), enterokrwtoczących (EHEC), enteropatogennych (EPEC), enteroinwazyjnych (EIEC), enteroagregacyjnych (EAEC), adherentno-inwazyjnych (AIEC) i dyfuzyjno-adherentnych (DAEC) *E. coli* [3,63,73,117]. Szczepy te wykorzystują zróżnicowane mechanizmy chorobotwórczości i różnorodne czynniki wirulencji (ryc.1, tab. 1, 2, 3).

Enteroinwazyjne *E. coli* (enteroinvasive *E. coli* - EIEC) – pod względem patomechanizmu zakażenia przypominają pałeczki z rodzaju *Shigella*. Bakterie wnikają do komórek nabłonka jelitowego i wytwarzają inwazyjny (ryc.1a, tab. 1). Geny kodujące czynniki wirulencji są umiejscowione zarówno na dużym, niekonjugacyjnym plazmidzie pINV, występującym w pojedynczej kopii w komórce, jak też na wyspie patogenności *ipa-mxi-spa* na chromosomie. W diagnostyce klinicznej *Shigella* i EIEC mogą być odróżniane od innych *E. coli* na podstawie właściwości biochemicznych i obecności genu *ipa-H*, który swoiście występuje wyłącznie u pałeczek *Shigella* i EIEC [110].

Enterotoksyczne *E. coli* (enterotoxigenic *E. coli* - ETEC) - są główną przyczyną biegunki wśród dzieci poniżej 5 roku życia w krajach rozwijających się oraz wśród osób podróżujących do tych krajów. Szczepy ETEC izolowane od ludzi wytwarzają ciepłooporną (Stal lub StalI) i/lub ciepłowrażliwą (LTH lub LTP) enterotoksynę (ryc. 1b, tab. 1). Wiele szczepów tej grupy wytwarza czynniki kolonizacji

(Colonization Factors, CFs), tj. powierzchniowe struktury pośredniczące w adhezji bakterii do błony śluzowej jelita cienkiego (tab. 2). Dotychczas opisano ponad 22 typy CFs (np. CF A/I, CS1-CS8, CS12-CS15, i CS 17-CS22), kodowane wraz z enterotoksynami na tym samym plazmidzie [43,95,104].

Enteropatogenne *E. coli* (enteropathogenic *E. coli* - EPEC) – kolonizują jelito cienkie, indukują destrukcję mikroskopów rąbka szczoteczki komórek nabłonka i bardzo ściśle przylegają do powierzchni. Porównywany do „molekularnej strzykawki”, system sekrecji III typu „wstrzykuje” efektorowe białko do wnętrza komórki gospodarza indukując przebudowę rozmieszczenia aktywny w cytoszkieletu komórki gospodarza (ryc. 1c, tab. 1, 2, 3). Mechanizm umożliwia utworzenie piedestału aktynowego do umiejscowienia swoistego bakteryjnego białka - receptora Tir (Translocated intimin receptor). Tir jest wbudowywany w błonę komórki enterocyta w celu zakotwiczenia intyminy (bakteryjnej adhezyny) i zapewnienia ścisłego kontaktu bakteria-enterocyt. Charakterystyczne zmiany na powierzchni komórek nabłonka są określane mianem zmian typu A/E (Attaching/Effacing). Geny warunkujące zmiany A/E są umiejscowione na ~35 kbp wyspie patogenności LEE (Locus Enterocyte Effacing), w której wyróżnia się trzy funkcjonalne regiony: (i) region zawierający geny *esc* i *sep* kodujące aparat sekrecji typu III; (ii) region obejmujący gen *eae* kodujący białko intyminy i gen *tir* kodujący receptor Tir dla intyminy; (iii) region obejmujący geny *espA*, *espB*, *espD* kodujące białka niezbędne do translokacji sygnału do wnętrza komórki gospodarza [31,39]. EPEC są zróżnicowane pod względem plazmidu pEAF (60 MDa) niosącego operon kodujący fimbrie typu IV (*bfp*), które odpowiadają za umiejscowioną adhezję i formowanie mikrokolonii na powierzchni nabłonka. Szczepy niosące plazmid pEAF są określane mianem typowych EPEC (tEPEC), natomiast te, które nie mają plazmidu pEAF są określane atypowymi EPEC (atePEC) [49,82,108].

Enteroagregacyjne *E. coli* (enteroaggregative *E. coli* - EAEC) wyodrębniono na podstawie swoistego adherentno-agregacyjnego przylegania (fenotyp AA) do większości linii komórek nabłonkowych (np. HEP-2) (ryc. 1d, tab. 1, 2, 3). Początkowo szczepy tej grupy wiązano z biegunką dziecięcą, obecnie są uważane za przyczynę ostrych biegunek u dorosłych zakażonych wirusem HIV. Są również przyczyną epidemii w krajach rozwiniętych oraz powszechnie izolowane od zdrowych dzieci i ze środowiska. Analizy prototypowych szczepów EAEC wykazały, że fenotyp AA zależy od plazmidu wirulencji pAA. Plazmid niesie wiele czynników wirulencji, takich jak: ciepłooporna toksyna-1 (EAST1, *eastA*), fimbrie agregacyjne (AAF/I, II, III, i IV), geny operonu transportera ABC warunkującego sekrecję dyspersyny (*aat*) oraz gen *aap* kodujący dyspersynę umożliwiającą rozproszenie EAEC na błonie śluzowej jelita człowieka [36,47]. Chromosomalnie kodowane czynniki wirulencji EAEC obejmują małe wyspy patogenności pochodzące od *Shigella* i *Yersinia*, zawierające geny umożliwiające zdobywanie i wykorzystywanie jonów żelaza [62]. Podkreślić trzeba, że żaden z czynników wirulencji nie

Tabela 1. Czynniki wirulencji u patogennych *E. coli* - toksyny i ich efekторы

Czynnik wirulencji	Nośnik czynnika wirulencji	Patotyp <i>E.coli</i>	Mechanizm działania	Rola w patogenezie
Termolabilna enterotoksyna LT (<i>elt</i>)	plazmid	ETEC	Aktywuje cyklazę adenylową na powierzchni komórek nabłonka, zaburza działanie pompy jonowej	Uszkodzenie kom. nabłonka jelita; Przyczyna biegunki
Toksyna Shiga Stx (<i>stx</i>)	profag	EHEC/STEC	Hamuje syntezę białka, indukuje apoptozę komórek	Zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS)
Toksyna CDT	plazmid	SEPEC	Blokuje mitozę, zaburza organizację cytoszkieletu kom.	Niszczy komórki
Enterotoksyna <i>Shigella</i> Set 1 (<i>set1</i>)	Plazmid: pAA	EAEC	Uszkadza błonę komórek nabłonka, wywołuje wypływ jonów z komórki	Akumulacja płynu w świetle jelita Przyczyna biegunki
Toksyna Pic U (<i>picU</i>)	Plazmid	EAEC	Egzotoksyna o aktywności mucynazy; degraduje mucyny w śluzie, ułatwia kolonizację nabłonka, uszkadza błonę komórkową	Niszczy kom. nabł. jelita i pęcherza moczowego; hamuje klasyczną drogę aktywności dopełniacza
	PAI na plazmidzie	UPEC		
Toksyna Sat (<i>sat</i>)	PAI na plazmidzie	UPEC	Toksyna proteolityczna, efekt cytotoksyczny polega na wakuolizacji komórek	Niszczy komórki pęcherza moczowego i nerek
Toksyna Vat (<i>vat</i>)	PAI na plazmidzie	UPEC	Toksyna proteolityczna wywołuje wakuolizację komórek eukariotycznych	Niszczy komórki pęcherza moczowego i nerek, narządy u ptaków
		APEC		
Receptor Tir (<i>tir</i>)	LEE na chromosomie	EPEC EHEC	Receptor intyminy, zapewnia adhezję bakterii do kom. nabł.	Zmiany typu A/E Przyczyna biegunki
Inwazyjna IpaH (<i>ipaH</i>)	Plazmid pINV PAI _{ipa-mxi-spa}	EIEC	Warunkuje adhezję i inwazję do kom. nabłonka prowadząc do zamknięcia bakterii w pęcherzyku endosomu	Wywołuje proces zapalny w nabłonku jelita; przyczyna biegunki
Hemolizyna HlyA (<i>hlyA</i>)	PAI Plazmid: pAPEC, pChi7122	AIEC, UPEC APEC	Tworzy pory w błonie różnych komórek eukariotycznych, powoduje liżę komórek	Niszczy kom. nabł. jelita, kom. nerek, narządy u ptaków
Enterohemolizyna EhxA (<i>ehlyA</i>)	Plazmid: pO157 PAI I _{CL3}	EHEC STEC _{LEE-negat.}	Powoduje liżę różnych komórek eukariotycznych	HUS
Cytotoksyczny czynnik nekrotyzujący CNF (<i>cnf</i>)	PAIs na plazmidzie/chromosomie	AIEC UPEC, SEPEC	Wywołuje zmiany w cytoszkiecie kom. gospodarza i powstawanie syncytiów	Odpowiedzialny za nekrozę komórek
Termostabilna enterotoksyna STI (<i>estI</i>)	Plazmid	ETEC	Aktywuje cyklazę guanylową na pow. kom. i wytwarzanie cGMP, powoduje wypływ jonów z kom	Niszczy kom. nabł. jelit, przyczyna biegunki
Termostabilna enterotoksyna STII (<i>estII</i>)	Plazmid	ETEC	Aktywuje cyklazę adenylową i wytwarzanie cAMP, powoduje wypływ jonów z komórki,	Niszczy nabłonek jelita, przyczyna biegunki
Termostabilna toksyna-1 EAST-1, (<i>eastA</i>)	Plazmid: pAA	EAEC	Aktywuje cyklazę adenylową na powierzchni kom. nabłonka i stymuluje wytwarzanie cAMP	Niszczy nabłonek jelita, przyczyna biegunki

jest swoiście związany z klinicznymi objawami zakażenia i nie występuje u wszystkich, dotychczas izolowanych szczepów EAEC. Patogeny te są reprezentowane w każdej spośród głównych grup filogenetycznych (A, B1, B2 i D). Różnorodność czynników wirulencji EAEC i różnice w obrazie klinicznym zakażenia powodują, że jak dotąd nie wykazano korelacji między czynnikami chorobotwórczymi tych szczepów a swoistym dla zakażenia genotypem i fenotypem EAEC [36,62,86].

Enterokrwotoczne *E. coli* (enterohemorrhagic *E. coli* – EHEC) – ten termin został wprowadzony przez Levina do określenia *E. coli* (głównie serotypu O157:H7) odpowiedzialnych za wywołanie u człowieka krwotocznego zapalenia okrężnicy (Hemorrhagic Colitis - HC) [73]. Niekiedy powikłaniem HC jest zespół hemolityczno-mocznicowy (Hemolytic-Uremic Syndrome - HUS), główna przyczyna ostrej niewydolności nerek, zwłaszcza u dzieci. Rzadkim powikłaniem HUS może być małopłytkowa plamica zakrzepowa (Thrombotic Thrombocytopenic Purpura - TTP). W tej grupie patogenów szczepy mogą się różnić właściwościami biochemicznymi, fenotypowymi oraz genotypowymi, ale ich cechą wspólną jest zdolność wytwarzania toksyny Shiga (Shigatoksyny *E. coli*, STEC) (ryc. 1e, tab. 1,2,3). Geny kodujące toksyny Shiga (*stx*) oraz intymina i jej warianty (*eaeA*) są powszechnie wykrywanymi czynnikami wirulencji szczepów STEC w różnych grupach wiekowych u człowieka [45,63,64,79,118]. Determinanty wirulencji STEC są zorganizowane głównie na ruchomych elementach genetycznych, takich jak wyspy patogenności (Pathogenicity Islands, PAIs), profagi i plazmidy. Wyspa patogenności LEE niesie geny kodujące zmiany typu A/E. Wyspa LEE jest elementem umiejscowionym w genomach EHEC/STEC w specyficznych miejscach integracji, ograniczonych do bezpośredniego sąsiedztwa genów tRNA swoistych dla seleno-cysteiny i fenyloalaniny (*tRNA^{selC}*, *tRNA^{pheU}*, *tRNA^{pheV}*) [31,39,67]. Intymina, determinowana przez gen *eaeA*, jest najważniejszym markerem patogenności odcinka LEE. Występuje w wielu wariantach, dotąd poznano ich 15 [45,67]. Determinanty wirulencji szczepów STEC LEE-negatywnych są umiejscowione na hybrydowej wyspie patogenności PAI_{IC₃} [45], która niesie geny kodujące hemolizyny i adhezyny podobne do występujących u *Yersinia pestis* [64]. Ponadto, u szczepów LEE/*eaeA*-negatywnych, białka o właściwościach autoaglutynin wspomagających adhezję kodowane są przez geny *sab i*/lub *saa* występujące na plazmidach [1,31,89,90]. Fagi niosące geny toksyn Shiga (*stx*) są zdolne do integracji w różnych miejscach chromosomu bakterii i w istotny sposób są zaangażowane w regulację czynników wirulencji oraz profil zjadliwości szczepu. W genomie szczepu STEC występować może jeden lub więcej profagów niosących gen *stx* [5,13,67]. Toksyny Shiga, Stx1 i Stx2, różnią się składem aminokwasowym, strukturą antygenową i aktywnością biologiczną. Szczepy STEC mogą wytwarzać tylko Stx1 lub Stx2 lub obie toksyny jednocześnie [13,67]. Plazmid pO157, stwierdzony u wszystkich *E. coli* O157:H7 oraz wielu bakterii innych serotypów należących do STEC, zawiera m.in. geny *ehlyA*, *katP*, *toxB*. [89,117]. Gen enterohemolizyny (*ehlyA*) występuje powszechnie u szczepów STEC

innych grup serologicznych niż O157, izolowanych od ludzi z HC i HUS. Gen *katP* determinuje enzym o podwójnej aktywności - katalazy i peroksydazy (KatP), o nieustalonej dotąd roli w patogenie zakażeń wywołanych szczepami STEC [117]. Produkt genu *toxB*, białko ToxB, bierze udział w kolonizacji nabłonka jelitowego gospodarza oraz działa hamująco na odpowiedź immunologiczną typu komórkowego [35].

Różnorodność możliwych genów wirulencji i ich duża zdolność do transferu horyzontalnego powoduje, że grupy STEC o nowej kombinacji genów, takie jak O104:H4 mogą się rozwinąć gwałtownie [81]. W 2011 r. szczep *E. coli* O104:H4 wywołał epidemię HUS w Niemczech [5]. Analizy sekwencji DNA genomów szczepów O104:H4 i identyfikacja profili genów wirulencji wykazały niespotykaną dotąd kombinację genów wirulencji pochodzących od szczepów STEC (Stx2, długie polarne fimbrie [LPF], oporność na tellur, system wykorzystywania żelaza) i od szczepów EAEC (fimbrie AAF/I, dyspersyna Aap, białko Pic, enterotoksyna Shigella Set1). Ponadto czynniki wirulencji EAEC były niesione na charakterystycznym dla tych patogenów plazmidzie pAA [5,81]. Szczepy O104:H4 stanowią zupełnie nową i szczególną hybrydę, w której rdzeń genomu ma charakter EAEC i dwa różne mobilne elementy, fag i plazmid, warunkują niezwykle dla patogenu *E. coli* zestaw genów wirulencji. Połączenie EHEC- i EAEC-swoistych czynników wirulencji wykreowało patogen zdolny do zwiększonej adhezji, a to znacznie przyczyniało się do adsorpcji toksyn Shiga, wywołując bardzo częste występowanie HUS wśród chorych [5,13,81].

Adherentno-inwazyjne *E. coli* (adherent-invasive *E. coli* – AIEC) – szczepy *E. coli* o właściwościach adhezyjnych i inwazyjnych kolonizujące śluzówkę jelita krętego pacjentów z chorobą Crohna są coraz częściej odnotowywane. Derfeuille-Michaud zaproponował utworzenie nowego patowaru *E. coli* związanego z chorobą Crohna [25]. Główne cechy AIEC to: (i) zdolność do adhezji i inwazji komórek nabłonka jelita, (ii) zdolność do przetrwania i ekspansywnej replikacji wewnątrz makrofagów bez wyzwalania śmierci komórki gospodarza i bez indukcji uwalniania czynnika martwicy nowotworu alfa (TNF- α) (iii) brak znanych czynników wirulencji. Szczepy AIEC, dotychczas opisane, należą do różnych serotypów i reprezentują różne grupy filogenetyczne z przewagą rozpoznania w obrębie grupy B2 [68,99]. Szczepy często niosą geny charakterystyczne dla patogenów pozajelitowych (ExPEC), związane z wytwarzaniem różnych fimbrii, systemów wykorzystywania żelaza i toksyn (*fimH*, *papC*, *papG*, *sfa/focDE*, *iucD*, *cnf1*, *hlyA*, *ibeA*), co może sugerować bliskie pokrewieństwo AIEC z ExPEC (tab. 1,2,3). Wydaje się, że fenotyp EIEC może być kodowany przez nieznanne jeszcze geny wirulencji lub też może być rezultatem zróżnicowanej ekspresji głównych genów ExPEC [3,76].

Dyfuzyjno-adherentne *E. coli* (diffusely adhering *E. coli* – DAEC) formują heterogenną grupę, w której wyróżnia się dwie klasy (ryc. 1f, tab. 2,3). Klasa pierwsza, związana z występowaniem biegunk u dzieci, obejmuje szczepy,

Tabela 2. Czynniki wirulencji u patogennych *E. coli* – adhezyny fimbrialne

Czynnik wirulencji	Nośnik czynnika wirulencji	Patotyp <i>E. coli</i>	Mechanizm działania	Rola w patogenezie
Fimbrie typu 1 (<i>fim</i>)	PAIs na plazmidzie/ chromosomie	Wszystkie patotypy	Odpowiedzialne za adhezję do powierzchni kom., czynnik kolonizacji w zakażeniach pozajelitowych	ZUM, zapalenie nerek, opon mózgowo-rdzeniowych, sepsa
Fimbrie Dr (<i>dra</i>)	PAIs na plazmidzie PAI _{CFT073}	DAEC2 UPEC	Wiążą się z receptorem DAF na powierzchni kom. nabłonka i pośredniczą w internalizacji bakterii do kom. gospodarza	Uszkodzenia pęcherza moczowego i nerek, ZUM
Fimbrie P (<i>pap</i>)	PAIs na plazmidzie/ chromosomie	AIEC UPEC, SEPEC NMEC	Stymulują wytwarzanie cytokin przez limfocyty T, czynnik kolonizacji w zakażeniach pozajelitowych	Choroba Crohna, zapalenie nerek, ZUM, zapalenie opon mózgowych noworodków, sepsa
Fimbrie CFA (<i>cfa</i>)	plazmid	ETEC	Czynnik rozprzestrzeniania	Przyczyna biegunek
Fimbrie F17 (<i>f17</i>)	plazmid	UPEC, SEPEC, APEC	Czynnik kolonizacji, promuje adhezję do komórek w zakażeniach pozajelitowych	ZUM, sepsa, zakażenia ogólnoustrojowe u ptaków
Fimbrie S (<i>sfa</i>)	PAIs na plazmidzie/ chromosomie	AIEC UPEC, MNEC	Adhezja do kom. nabł. jelita, nerkowych, komórek dolnych dróg moczowych; ułatwiają bakteriom przenikanie w głąb tkanek	Choroba Crohna, ZUM, zapalenie nerek, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
Fimbrie tworzące wiązkę Bfp (<i>bfp</i>)	Plazmid pEAF	EPEC	Fimbrie typu IV, czynnik kolonizacji, odpowiada za luźne wiązanie do powierzchni kom. nabłonka jelita	Przyczyna biegunek
Fimbrie AAF (typu-IV) (<i>aagA</i>)	Plazmid pAA	EAEC	Odpowiedzialne za agregacyjną adhezję do kom. nabłonka, hemaglutynację erytrocytów	Przyczyna biegunek
Długie polarne fimbrie LPF (<i>lpf</i>)	PAI na plazmidzie	EHEC/STEC _{LEE-neg.} EPEC	Czynnik ochrony przed fagocytozą, hamuje klasyczną drogę aktywności dopełniacza	Przyczyna biegunek

które wytwarzają adhezynę AIDA-I i mogą nieść jedną lub więcej struktur homologicznych do wyspy patogenności LEE warunkującej zmiany typu A/E u EPEC [31,32,103]. Druga klasa obejmuje szczepy noszące adhezyny Afa/Dr (Afa/Dr DAEC) i związane z zakażeniami układu moczowego (ZUM). Wśród Afa/Dr DAEC stwierdza się też duże rozpowszechnienie genów warunkujących systemy transportu jonów żelaza, w tym: yersiniabaktyny (*irp*), aerobaktyny (*aer,iuc*), salmocheliny (*iro*), systemu transportu hemu (*shu*) i systemu transportu molibdenu (*modD*). Geny te rzadko występują wśród DAEC klasy 1 [32,100]. Porównanie sekwencji rdzeniowych genomów sugeruje, że Afa/Dr DAEC są bliżej spokrewnione ze szczepami jelitowymi EAEC. Jednak obecność wyspy patogenności PAI_{CFT073} charakterystycznej dla uropatogennego szczepu (CFT073), powszechne występowanie genu receptora salmocheliny (*iroN*) i przynależność do grupy filogenetycznej B2 wskazują na podobieństwo do ExPEC [77,100,103].

Patogeny pozajelitowe *E. coli* (extraintestinal pathogenic *E. coli* – ExPEC)

W przeciwieństwie do IPEC, które są bezwzględnie pato-

genami, patogeny pozajelitowe ExPEC są fakultatywnymi patogenami, które należą do prawidłowej flory jelitowej pewnej frakcji zdrowej populacji organizmów gospodarzy, gdzie egzystują jak komensale. ExPEC są związane z wieloma chorobami zakaźnymi ludzi i zwierząt, takimi jak zakażenia układu moczowego (ZUM), zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych szczególnie groźne u noworodków, zróznicowane zakażenia wewnątrzbrzuszne, zapalenie płuc, kości i szpiku, zakażenia tkanek miękkich, posocznica. W obrębie ExPEC wyróżnia się grupę patotypów uropatogennych (UPEC), grupę związaną z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków (NMEC) oraz grupę związaną z sepsą (SEPEC) [97].

Uropatogenne *E. coli* (uropathogenic *E. coli* – UPEC). Infekcje spowodowane przez UPEC to bardzo poważny problem społeczny związany z ZUM o różnym stopniu nasilenia, od nieskomplikowanych i sporadycznych przypadków infekcji pęcherza moczowego do skomplikowanych i nawracających stanów zapalnych nerek stwarzających ryzyko zakażenia krwi lub sepsy [23,105]. UPEC zawierają wiele czynników wirulencji: fimbrie (typu1, P, S), toksyny (hemolizyna [*hly*], cytotoksyczny czynnik nekrotyzujący

Tabela 3. Czynniki wirulencji u patogennych *E. coli* – adhezyny niefimbrialne oraz czynniki kolonizacji i rozprzestrzeniania w ustroju gospodarza

Czynnik wirulencji	Nośnik czynnika wirulencji	Patotyp <i>E. coli</i>	Mechanizm działania	Rola w patogenezie
Adhezyna AIDA I (<i>aida</i>)	plazmid	DAEC1	Odpowiada za rozsianą adhezję bakterii do komórek nabłonka, czynnik rozprzestrzeniania	Przyczyna biegunki
Intymina EaeA (<i>eaeA</i>)	LEE	EPEC, EHEC	Adhezyna niefimbrialna, wiąże się z receptorem Tir w błonie kom. eukariotycznej; stymuluje odpowiedź limfocytów T _{H1}	Zmiany typu A/E Przyczyna biegunek
Adhezyna Afa (<i>afa</i>)	plazmid PAI _{CF1073}	DAEC2, UPEC	Adhezyna niefimbrialna wiąże się z receptorem DAF na powierzchni kom. nabłonka, zdolność do hemaglutynacji	Uszkodzenia komórek pęcherza moczowego i nerek ZUM
Autoaglutynina Saa (<i>saa</i>)	plazmid	EHEC/ STEC _{LEE, eae-neg}	Promuje adhezję do kom., blokuje fagocytozę, hamuje aktywność dopełniacza	HUS
Adhezyna ToxB (<i>toxB</i>)	Plazmid: pO157	EHEC	Czynnik rozprzestrzeniania w nabłonku jelita	HUS, hamuje odp. typu komórkowego
Inwazyjna ibeA,B,C (<i>ibeA,B,C</i>)	Plazmid: pRS218, pS286colV	AIEC NMEC SEPEC	Promuje inwazję do komórek i w głąb tkanek	Choroba Crohna, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, sepsa
Dyspersyna Aap (<i>aap</i>)	Plazmid: pAA	EAEC, EHEC	Wspomaga penetrację śluzu, promuje kolonizację	Przyczyna biegunki
Antygen otoczkowy: K1 (<i>KapsMI</i>) K2 (<i>KapsMII</i>)	chromosom	NMEC SEPEC	Czynnik ochrony przed fagocytozą i czynnik rozprzestrzeniania	Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, sepsa
Aerobaktyna (<i>iuc, aer</i>)	plazmid PAI _{CF1073}	AIEC, UPEC, NMEC APEC	Siderofor, pozyskiwanie jonów Fe ^{2+/3+} w ustroju gospodarza	Choroba Crohna, ZUM, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych,
Yersiniabaktyna (<i>ybt, irp</i>)	Plazmid PAIs	DAEC2, UPEC, NMEC	Siderofor, pozyskiwanie jonów Fe ^{2+/3+} w ustroju gospodarza	ZUM, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, sepsa
Salmochelina (<i>iro</i>)	PAI _{CF1073} Plazmid: pAPEC plazmid z CVP	DAEC2, UPEC APEC	Receptor sideroforów, wykorzystywanie jonów Fe z ustroju gospodarza	ZUM u człowieka, ogólnoustrojowe zakażenia u ptaków
System Chu, Hma, Shu (<i>chu, hma, shu</i>)	PAIs Plazmid: pRS218	UPEC NMEC	Umożliwia wykorzystywania Fe z hemu w ustroju gospodarza	ZUM, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
Transporter Sit (<i>sitA,B,C</i>)	PAIs Plazmid: pAPEC	UPEC APEC	Transport jonów Fe, Mn	ZUM u człowieka, ogólnoustrojowe zakażenia u ptaków
Białko TraT (<i>traT</i>)	Plazmid: pRS218	NMEC, APEC	Czynnik ochrony przed mechanizmami obronnymi organizmu	Hamuje klasyczną drogę aktywności dopełniacza w zakażeniach NMEC
Białko Iss (<i>iss</i>)	Plazmid: pcolV pAPEC,	NMEC, SEPEC, APEC	Czynnik ochrony przed fagocytozą	Rozprzestrzenianie zakażenia w ustroju gospodarza
Kolicyna V (<i>colV, cvaC</i>)	Plazmid: pRS218 Plazmid z CVP	NMEC, SEPEC, APEC	Czynnik ułatwiający kolonizację	Rozprzestrzenianie zakażenia w ustroju gospodarza

[*cnf*], toksyna autotransportująca [*sat*, *vat*], autotransporter [*picU*] oraz systemy pozyskiwania żelaza: enterobaktyna (*ent*), aerobaktyna (*iuc*), yersiniabaktyna (*ybt*), salmochelina (*iro*), systemy wykorzystania hemu (*chu* i *hma*) i system transportu jonów żelaza (*sit*) (tab. 2,3) [7,54]. Analizy porównawcze sekwencji DNA genomów prototypowych szczepów UPEC (CFT073, UTI189, *E. coli* 536, J96) wskazują, że rozpowszechnienie głównych czynników wirulencji jest różne. Na przykład ze wszystkich reprezentatywnych szczepów systemy pozyskiwania żelaza typu enterobaktyny, salmocheliny ulegają ekspresji, to tylko CFT073 wytwarza aerobaktynę. Klony CFT073 i UTI189 niosą system transportu żelaza, a szczepy *E. coli* 536 nie mają tych determinant. Ponadto wszystkie szczepy niosą geny *hly*, ale *E. coli* 536 zawiera dwie jego kopie. Podobnie operon warunkujący fimbrie P (*pap*) jest obecny u wszystkich szczepów, ale CFT073 zawiera dwie kopie tego operonu. Czynniki wirulencji UPEC pozostają w dość ściśle określonych wzajemnych zależnościach, które mogą być bardzo zróżnicowane między poszczególnymi klonami [69,105]. Dlatego, że różne kombinacje genów wirulencji są niesione na różnych wyspach patogenności (PAIs). PAIs u UPEC/ExPEC wykazują wiele charakterystycznych cech: (i) niosą liczne geny wirulencji, (ii) są obecne u szczepów patogennych i bardzo rzadko występują u komensali, (iii) są zbudowane z dużych regionów DNA (10-200 kbp), (iiii) są relatywnie niestabilne i często zawierają mobilne elementy genetyczne (sekwencje insercyjne, transpozony, bakteriofagowe DNA). Ponadto są często oflankowane prostymi sekwencjami powtórzonymi i wykazują mozaikową strukturę, złożoną z mniejszych segmentów DNA prawdopodobnie nabytych w różnym czasie *via* HGT. Szczepy UPEC niosą na chromosomie wiele wysp patogenności, o różnym rozmiarze np. w genomie CFT073 wyróżniono 13 PAIs o rozmiarach 13-123 kbp [56,69,74]. Ponadto, oprócz PAIs niesionych na chromosomie, mniejsze wyspy w różnej liczbie i kombinacjach mogą też występować na plazmidach należących do rodzin niezgodności np.: IncFIB, IncFIC, IncP, IncFIIA, IncI, IncN, IncB/O [59,60].

***E. coli* związane z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków i z sepsą** (neonatal meningitis *E. coli* - NMEC, septicemic *E. coli* - SEPEC) - w przeciwieństwie do UPEC zrozumienie patomechanizmów szczepów NMEC i SEPEC nadal nie jest pełne, mimo znacznego postępu jaki nastąpił w ostatnich kilku latach [69]. Szczepy NMEC należą zasadniczo do grup filogenetycznych B2 i rzadziej do D. Kilka grup klonalnych jest dość dobrze rozpoznanych. Jedną z nich są *E. coli* O18:K1:H7 rozpowszechnione na świecie, ale są też inne, np. O83:K1 lub O45:K1, ograniczone w swoim zasięgu [53]. Charakterystyczną cechą NMEC jest obecność antygenu otoczkowego K1 (geny operonu *kpsM*, *neuA*), genów warunkujących pozyskiwanie i transport żelaza, genów inwazyjności (*ibeA*) (tab. 2,3). Ponadto obecność białek pełniących rolę ochronną wobec mechanizmów obronnych organizmu i warunkujących odporność na działanie surowicy (geny *traT*, *iss*,) [8,61]. Szczepy SEPEC w porównaniu do NMEC mogą wykazywać obecność antygenu otoczkowego K2 (*kpsMII*), toksyny CDT i/lub CNF oraz fimbrii P i F17 [50,78]. Ana-

lizy porównawcze genomów prototypowych szczepów NMEC i SEPEC (RS218, S88, CE10) ujawniły, że czynniki wirulencji są najczęściej niesione na dużych plazmidach (np. pRS218, ~114kbp). Charakterystyczną ich cechą jest obecność genów kodujących kolicynę V (*colV*, *cvaC*). Zdolność do wytwarzania kolicyny V wyraźnie odróżnia szczepy NMEC i SEPEC od UPEC oraz wskazuje na podobieństwo z ptasimi patogenami *E. coli* (APEC) [34,56,58]. Szczepy APEC są odpowiedzialne za zakażenia u ptaków (kolibakteriozy) powodujące chorobę, która zaczyna się jako infekcja dróg oddechowych i rozwija się w ogólnoustrojowe zakażenia narządów wewnętrznych. Mimo że jak dotąd nie ma uzgodnionego genotypu wirulencji dla APEC, to od dawna podejrzewa się, że ludzkie ExPEC są pochodzenia zwierzęcego. Obecnie wiele badań koncentruje się na analizach porównawczych genomów i czynników wirulencji związanych ze szczepami UPEC, NMEC, SEPEC i APEC [56,57,58,60]. Analizy porównawcze szczepów UPEC i APEC o serotypie O1:K1:H7/NM ujawniły występowanie tego samego typu sekwencyjnego ST95 grupy filogenetycznej B2. Wskazuje to, że pewne APEC mogą być potencjalnymi patogenami człowieka [56].

Inne badania dowodzą, że dość charakterystyczną cechą APEC jest obecność plazmidu wirulencji pAPEC (180 kbp) niosącego wyspę patogenności zawierającą liczne geny wirulencji i operon *ColV* warunkujący kolicynę V. Niesione na plazmidach wyspy patogenności ExPEC i APEC dość często tworzą obszerne, zakonserwowane plazmidowe regiony wirulencji (Conserved Virulence Plasmidic (CVP) region) [55,59]. Jeden z takich regionów plazmidowych został scharakteryzowany u ludzkich i ptasich ExPEC. Region CVP zawierał 8 genów/grup genów: kodujące systemy wykorzystywania i transportu żelaza (*iro*, *iuc*, *sit*), warunkujące kolicynę V (*cva*), hemolizynę (*hlyF*) [59,60], operon *est* systemu sekrecji typu I i gen *iss* odporności na surowicę [61]. Rozpowszechnienie regionu CVP wykazano u 10-20% szczepów UPEC i 50-60% szczepów NMEC. Region CVP jest wykazywany głównie w grupie B2 u ludzkich szczepów [53,56], podczas gdy u ptasich występuje w każdej z czterech głównych grup filogenetycznych [72]. Dane te dość jednoznacznie wskazują, że ludzkie i ptasie patogeny mogą nieść na różnych plazmidach wspólne czynniki wirulencji. Niedawno scharakteryzowano też szczep NMEC, *E. coli* S286, należący do typu sekwencyjnego ST23 i serotypu O78. Szczep ten niesie plazmid wirulencji pS286colV (120kbp) wykazujący 98% homologii sekwencji DNA z plazmidem pChi 7122-1 pochodzącym z ptasiego szczepu O78 APEC Chi7122. Ponadto szczep S286 należy do nietypowej dla NMEC grupy filogenetycznej C, siostrzanej dla grupy głównej B1 o małej zjadliwości. Rzeczywiście, S286 w modelu szczurzym sepsy noworodków wykazywał mniejszą zjadliwość w porównaniu do prototypowego szczepu NMEC - *E. coli* S88 grupy B2 [72,78]. Wyniki wspierają wzrastające przekonanie, że NMEC i APEC mogą mieć wspólne czynniki wirulencji przenoszone na bardzo podobnych plazmidach. Jednak nieoczekiwane występowanie plazmidu wirulencji w grupie filogenetycznej innej niż B2 i D wskazuje na konieczność dalszych badań, aby zrozumieć znaczenie filogenetycznego tła szczepów

ExPEC w rozwoju mechanizmów patogenności.

Genomika porównawcza ujawniła, że o ile IPEC są filogenetycznie odrębne od ExPEC i komensalnych szczepów, to jednak wiele ExPEC i niepatogennych *E. coli* ma dużo wspólnych frakcji genomowego DNA [58]. Ponadto zakażenia pozajelitowe u pacjentów w podeszłym wieku lub z upośledzoną odpornością mogą być spowodowane przez warianty *E. coli* różniące się genotypowo i fenotypowo od prototypowych ExPEC [54,69]. W celu lepszego zrozumienia podłoża zakażeń pozajelitowych jest wymagana dobra znajomość znaczenia podłoża filogenetycznego i regulacji ekspresji czynników wirulencji. Ponadto rozpoznawanie prawdopodobnie nieznanymi jeszcze cech przystosowawczych rozwijanych przez różne ExPEC oraz ustalenie czynników mających wpływ na wrażliwości organizmów gospodarzy na różne warianty grup ExPEC.

Wpływ *E. coli* na zachorowalność, śmiertelność i opiekę zdrowotną nie wzbudzał dużego zaniepokojenia, ponieważ bakterie te w większości przypadków eliminowane były terapią antybiotykową. Niestety, sytuacja zmieniła się radykalnie w ciągu ostatnich dwóch dekad z powodu rozpowszechnienia lekooporności.

OPORNOŚĆ I WIRULENCJA WŚRÓD PATOGENÓW JELITOWYCH IZOLOWANYCH OD LUDZI

Stosowanie antybiotyków jest główną przyczyną powstawania lekooporności wśród bakterii. Chociaż poziom rozpowszechnienia opornych szczepów *E. coli* jest istotnie różny dla różnych populacji i środowisk, to narastająca oporność obserwuje się powszechnie. Elementy genetyczne, np. plazmidy, transpozony i integrony odgrywają ważną rolę w transferze determinant oporności. W ostatniej dekadzie, w większości badań starano się powiązać epidemiologię poszczególnych genów oporności z czynnikami wirulencji, co stanowi pierwszy krok do zrozumienia, czy istnieje związek między opornością a wirulencją [27,50,84]. Wzrost stosowania antybiotyków, a często nieracjonalne ich stosowanie są prawdopodobną przyczyną obserwowanych zmian w częstości występowania poszczególnych patotypów biegunkowych *E. coli* w krajach rozwijających się i rozwiniętych.

Szczepy ETEC są główną przyczyną ostrej biegunki bakteryjnej wśród dzieci poniżej 5 roku życia w Azji, Afryce i Ameryce Łacińskiej [27,43,44,111]. Wśród charakteryzowanych na świecie szczepów ETEC od dzieci z ostrą biegunką, wykazywano porównywalną częstość występowania szczepów niosących enterotoksyny LT, ST i/ lub zróżnicowane CFs [43,44,94]. Wykazywały głównie oporność na ampicylinę, tetracyklinę i doksycyklinę, które wówczas rekomendowano w leczeniu ostrych biegunk u podróżnych. Dane przedstawiane w badaniach z lat 2005-2012, wskazują, że w obrębie patotypu ETEC odnotowuje się stały wzrost występowania szczepów LT-dodatnich niosących jednocześnie określone czynniki kolonizacji, takie jak CS17, CFA/I, CS21. Jeden z genotypów ETEC, tj. szczep O6: H16/LT, CS1+CS3+CS21 jest sze-

roko rozpowszechniony na świecie [44,95,113]. Ponadto szczepy te wykazują wysoki poziom antybiotykoodporności. Chociaż wzory wielooporności są różne w różnych obszarach geograficznych i zależne od warunków socjoekonomicznych, to jednak wszędzie dominuje oporność na ampicylinę (*bla_{TEM}*), tetracyklinę (*tetA*), trimetoprim (*dfrA*) i sulfametoksazol (*sul*), które są szeroko stosowane [2,30,112]. Znamienne statystycznie korelacje wykazywane między obecnością CF a wieloopornością mogą sugerować wspólne występowanie tych determinant na plazmidzie wirulencji ETEC [2,94].

W przewlekłych biegunkach u dzieci znamienne częściej odnotowywany jest patotyp EAEC niosący plazmid pCVD432 i gen toksyny *eastA* oraz w mniejszym stopniu szczepy aTEPEC charakteryzujące się obecnością genu intyminy *eaeA* [113]. Szczepy tEPEC były zazwyczaj przyczyną biegunk w krajach rozwijających się, a aTEPEC występowały w krajach rozwiniętych [93,98]. Obecne dane wskazują jednak, że częstość występowania aTEPEC znamienne wzrasta w odniesieniu do tEPEC w Afryce i w Azji, a geny oporności niesione przez te szczepy są najczęściej związane z obecnością ampicyliny, trimetoprimu i sulfametoksazolu [95,98]. Spośród głównych kategorii szczepów biegunkowych (ETEC, EAEC, EPEC, EHEC i EIEC), charakteryzowanych na świecie, szczepy EAEC występują znacznie częściej i wykazują wyższe poziomy oporności na ampicylinę, trimetoprim-sulfametoksazol w porównaniu do innych kategorii biegunkowych *E. coli* [30,49,66,84,88]. Ponadto wśród szczepów pochodzących z Meksyku i Iranu wykazano też geny oporności ESBL związanej z aktywnością β-laktamazy CTX-M oraz oporność na fluorochinolony niesioną plazmidowo (allele *qnr*) [62,66,101]. Dane wspierają wzrastające przekonanie, że EAEC są związane z przewlekłymi biegunkami, chociaż ich rozprzestrzenienie w różnych regionach geograficznych jest różne. Wynika to prawdopodobnie z tego, że w heterogennej grupie EAEC, w rozwoju mechanizmów patogenyzy mogą odgrywać rolę złożone relacje między filogenetycznym pochodzeniem szczepu, czynnikiem gospodarza i presją antybiotyków. Argumentem wspierającym to twierdzenie mogą być wyniki badań filogenetycznych. Wskazują, że oporne szczepy EAEC należące do grupy filogenetycznej D najczęściej powodowały przewlekłe biegunki w Ameryce Południowej, Meksyku i USA [36], podczas gdy w Europie (Rumunia) były to szczepy grupy A i B1 [109].

OPORNOŚĆ I WIRULENCJA WŚRÓD SZCZEPÓW EXPEC IZOLOWANYCH OD LUDZI

Mimo że nie ma bezpośrednich dowodów wspólnej selekcji i transferu cech oporności i wirulencji wśród *E. coli*, to jednak związek oporności i cech wirulencji wśród klinicznych szczepów jest obserwowany. Problem wydaje się szczególnie istotny wobec wysokiej i rosnącej liczby klinicznych szczepów ExPEC opornych na antybiotyki o szerokim zakresie działania, takich jak cefalosporyny i fluorochinolony.

Cefalosporyny i penicyliny należą do najczęściej stosowanych w medycynie i weterynarii antybiotyków β -laktamowych. Mechanizm oporności pałeczek Gram-ujemnych na te antybiotyki polega na enzymatycznej hydrolizie struktury pierścienia w cząsteczce antybiotyku przez β -laktamazy, co powoduje jego inaktywację. Geny kodujące β -laktamazy (*bla*) są niesione na plazmidach. Ewolucyjnie wcześniej pojawiły się β -laktamazy typu TEM (*bla_{TEM}*) i typu SHV (*bla_{SHV}*) zdolne do inaktywacji penicylin i cefalosporyn I generacji (penicyliny). Aktywność enzymatyczna β -laktamaz o rozszerzonym zakresie substratowym (ESBL) wykazuje zdolność do inaktywacji penicyliny, cefalosporyn II, III i IV generacji oraz monobaktamów, ale nie karbapenemów. Aktywności ESBL, które warunkują oporność na cefalosporyny były, aż do 2000 r., stwierdzane głównie w *Klebsiella pneumoniae* i *Enterobacter* sp. - szczepów bakteryjnych odpowiedzialnych za szpitalne zakażenia. Jednak obecnie *E. coli* jest dominującym wśród wytwarzających ESBL gatunkiem enterobakterii [9,14,101]. Warto podkreślić, że występowanie oporności ESBL typu CTX-M (*bla_{CTX-M}*) po raz pierwszy odnotowano w klinicznym szczepie *E. coli*, w 1995 r. Była to β -laktamaza CTX-M-1, która charakteryzuje się lepszą wydajnością hydrolizy cząsteczki cefotaksymu niż ceftazydymu (III generacja cefalosporyn) [9]. Od tego czasu wyróżniono wiele odmian w rodzinie enzymów CTX-M. W ciągu ostatniej dekady, enzym CTX-M-15 związany z efektywną hydrolizą ceftazydymu też się pojawił i rozprzestrzenił na całym świecie głównie przez szczepy *E. coli* [11].

W leczeniu klinicznym zakażeń wywołanych przez wielolekooporne patogeny, coraz częściej zakłada się, że oporność na leki prawdopodobnie jest związana z selekcją i utrzymywaniem przez szczepy patogenne określonych czynników wirulencji. Jednak związek między opornością i wirulencją pozostaje niewyjaśniony i może być zależny od interakcji między filogenetycznym pochodzeniem szczepu a rodzajem determinanty oporności. Zespół Brangera analizował szczepy ExPEC izolowane od chorych w latach 1997-2003, w różnych regionach Francji. Wyniki wykazały, że oporność ESBL warunkowana enzymami typu SHV i TEM występowała wśród u *E. coli* grupy filogenetycznej B2, niosących geny wirulencji: *pap*, *afa/foc*, *hly*, *aer*. Oporność ESBL typu CTX-M była natomiast związana z rzadziej identyfikowanym genotypem - grupą D, którą charakteryzowała mniejsza liczba czynników wirulencji i większa oporność na fluorochinolony [10]. Podobne wyniki uzyskał zespół Karisika analizując szczepy zebrane w latach 2003-2006, w Wielkiej Brytanii. Szczepy z tego zbioru wykazywały oporność ESBL typu CTX-M-15 i niosły nieliczne geny wirulencji (*iutA* i *fyuA*) oraz należały do grupy D [65]. Wyniki wskazują, że mobilne elementy genetyczne niosące determinanty ESBL nie są przypadkowo rozmieszczone w różnych genotypach szczepów *E. coli*. Nabywanie ESBL i ich utrzymanie w komórce gospodarza może być wynikiem złożonych interakcji między typem ESBL, pochodzeniem filogenetycznym i związaną z tym pochodzeniem wirulencją oraz opornością szczepów na fluorochinolony. W przeciwieństwie do ustaleń zespołu Brangera, niektóre opracowania wskazują, że szczepy *E.*

coli będące producentami CTX-M należą głównie do grup filogenetycznych B2. Jednak epidemiczne szczepy B2 pomysłnie krążące w Wielkiej Brytanii i niosące CTX-M-15 nie wydają się bardziej zjadliwe, mimo większego rozpowszechnienia w nich genów *iutA* i *fyuA* niż wśród izolatów niebędących producentami CTX-M-15 [65]. W rzeczywistości wydaje się, że istnieją znaczne różnice w częstotliwości występowania poszczególnych czynników wirulencji wśród producentów CTX-M i szczepów niewytwarzających CTX-M [11,16,20,48,92,96].

Szczepy UPEC należące do typu sekwencyjnego ST131 są grupą klonów wytwarzających CTX-M-15 i wykazują bardzo duży potencjał zjadliwości w mysim modelu infekcji pozajelitowej. Obecnie ta grupa klonalna jest szeroko rozpowszechniona na całym świecie i stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. *E. coli* ST131 należy do filogenetycznej grupy B2 i do serotypu O25b:H4 [38,85,91]. Szczepy O25b:H4 - B2 - ST131 charakteryzuje lekooporność na kilka klas antybiotyków i zdolność do pozyskiwania nowych mechanizmów oporności na antybiotyki. W obrębie tej grupy klonalnej opisano też inne aktywności niż CTX-M-15, mianowicie TEM-1, TEM-24, SHV-12, CTX-M-1,-2,-3, -9, -14, -27, -32, -35 i -61. Scharakteryzowano też plazmid pośredniczący w oporności niesionej przez geny *AmpC*, *CMY-2* i gen *aac(6')-Ib-cw*, warunkujące wariant enzymu modyfikującego aminoglikozydy i niektóre fluorochinolony [22,26,80,83]. Warto podkreślić, że analiza sekwencji DNA genomu szczepu prototypowego dla klonu O25b:H4- ST131-B2, *E. coli* EC958, wykazała insercję transpozonu w genie *fimB*, który koduje aktywator fimbrii typu 1, ważnego czynnika kolonizacji pęcherza moczowego. Zidentyfikowana insercja powoduje konstytutywną ekspresję fimbrii typu 1, powszechnie wykazywanych wśród szczepów ST131 w Anglii oraz Australii i to może mieć związek z obserwowaną ekspansją tych klonów [96].

Wysoki wskaźnik występowania klonu O25b-ST131-B2 zidentyfikowano wśród szczepów opornych na fluorochinolony (FQ) w różnych regionach geograficznych [96]. Badania zespołu Johnsona dostarczyły argumentów uzasadniających rosnącą przewagę klonów ST131 wśród opornych klinicznych *E. coli*. Analizowano sekwencje DNA genów *gyrA* i *parC* kodujących miejsce wiązania fluorochinolonów. Wyniki sugerują, że obecne FQ-oporne szczepy ST131 pochodzą od wrażliwego na chinolony, wspólnego przodka ST131, a ewolucja oporności polegała na kumulacji niesynonimicznych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNPs) w obrębie genów *gyrA* i *parC*. Prawdopodobnie w tym samym przedziale czasowym, szczep prototypowy ST131 nabył charakterystyczny zestaw genów wirulencji, które są dość równomierne i stabilnie obecne wśród krążących ST131 FQ-opornych izolatów, ale są w dużym stopniu nieobecne u szczepu prototypowego wrażliwego na chinolony. W przeciwieństwie do oporności na chinolony, gen *bla_{CTX-M-15}* warunkujący ESBL został nabyty niedawno, w wyniku transferu mobilnego elementu genetycznego, przez FQ-oporne warianty klonów szczepu ST131 [52]. Badania wskazują złożoność interakcji między wirulencją ExPEC i czynnikami oporności. *E. coli* ST131 jest przykładem grupy klonów, która łączy geny oporności i wirulencji, a ta właściwość może być związana z jej

rozpowszechnianiem w szpitalach oraz innych lokalnych populacjach na świecie [6,16,26]. Dalsze badania są potrzebne, aby lepiej zrozumieć genetyczną dynamikę ST131 oraz źródła i drogi jego transmisji.

Powiązania między opornością a zjadliwością u poszczególnych klonów mogą mieć związek z pochodzeniem geograficznym oraz podłożem genetycznym. Na przykład rodzina plazmidów Inc11 jest związana z rozprzestrzenianiem się genów ESBL [15]. Plazmid Inc11 niosący bla_{CTX-M-1} stwierdzono we Francji, w szczepach ExPEC izolowanych od chorych ludzi i zdrowego drobiu, co sugeruje potencjalne możliwości transmisji szczepów i/lub plazmidów między człowiekiem a zwierzętami. Wszystkie charakteryzowane w tym badaniu plazmidy Inc11 niosły też determinanty fimbrii typu IV (*bfp*) warunkujących adhezję i inwazję u szczepów STEC [75]. W Hiszpanii wśród szczepów wytwarzających CTX-M-15 wykazano obecność plazmidów wieloopornych IncA/C2 i IncN niosących geny bla_{CTX-M-15} i/lub *qnrS1*. Przykłady badań wskazują, że potencjał rekombinacyjny plazmidów o szerokim zakresie gospodarza przyczynia się do rozwoju regionów genetycznych kodujących oporność wielolekową i stwarza możliwość ich rozprzestrzeniania się do innych klonów bakterii [57,75,87]. Ponieważ czynniki wirulencji ExPEC są też umieszczone w tej rodzinie plazmidów, to istnieje związek między rozpowszechnianiem wirulencji i determinant oporności. Innym przykładem może być rodzina plazmidów IncF, która jest bardzo powszechna u *Enterobacteriaceae* i może być uważana za epidemiczną rodzinę, ponieważ stwierdza się ją u bakterii z różnych regionów geograficznych i z różnych źródeł. Sekwencjonowanie plazmidu pRSB107 będącego przedstawicielem IncF wykazało obecność dziewięciu determinant oporności na antybiotyki, system wychwyty żelaza aerobaktyny i gen warunkujący białko TraT, które jest odpowiedzialne za odporność *E. coli* na działanie surowicy i zredukowaną podatność na fagocytozę przez makrofagi [15,37,65]. Wiele genów ESBL z grup CTX-M, SHV, TEM jest umieszczonych w tej rodzinie plazmidowej, tak samo jak genów wpływających na oporność na inne grupy antybiotyków, takich jak chinolony [75]. Przykłady obrazują jak plazmidy niosące determinanty wirulencji i oporności mogą podlegać

selekcji pod wpływem presji antybiotykowej, która umożliwia utrzymywanie swoistych cech zjadliwości w populacjach *E. coli* przez działanie antybiotyków.

PODSUMOWANIE

Wielkość obserwowanych fenotypów, genotypów i objawów klinicznych powodowanych przez patogenne *E. coli* jest następstwem występowania dynamicznych zmian w obrębie plastycznego genomu u tego gatunku [28]. Intensywne analizy molekularne wykazały istnienie wielu mechanizmów, dzięki którym możliwe jest pojawianie się zróżnicowanych i bardzo ekspansywnych klonów. Główną siłą napędową obserwowanej zmienności jest HGT, który jest realizowany w wyniku przenoszenia plazmidów koniugacyjnych, internalizacji fagów i elementów transpozycyjnych służących za platformy genetyczne dla genów wirulencji i oporności na antybiotyki [32,70]. Transfer ruchomych elementów genetycznych doprowadza do powstawania nowych kombinacji determinant wirulencji warunkujących często większą zjadliwość (*E. coli* O104:H4) i/lub wyższą ekspansywnością klonów (*E. coli* O25b:H4- ST131-B2) [1,96]. Określone kombinacje genów wirulencji niesione na plazmidach mogą być wspólne dla patogenów człowieka i zwierząt, co wskazuje, że takie klony i/lub plazmidy mogą z powodzeniem rozprzestrzeniać się w ekosystemach bakterii [58,60]. Dalsze badania są potrzebne, aby lepiej zrozumieć wzajemne relacje między filogenetycznym pochodzeniem rdzenia genomu a ruchomymi elementami genetycznymi obciążonymi genami wirulencji. Zagadnienie wydaje się szczególnie istotne dla poznania patomechanizmów infekcji pozajelitowych powodowanych przez *E. coli*. W odniesieniu do jednoczesnego występowania i transferu determinant oporności i wirulencji wśród jelitowych i pozajelitowych patotypów, wnikliwe badania są potrzebne, aby w pełni zrozumieć wzajemne oddziaływanie genów oporności i wirulencji. Rozpoznanie tego zagadnienia pozwoli ustalić czy ekspresja genów wirulencji zależy od obecności determinant oporności, gdy czynniki te są umieszczone na tym samym ruchomym elemencie genetycznym, np. na koniugacyjnym plazmidzie. Ponadto przybliży możliwość odpowiedzi na pytanie: czy relacje między wirulencją i lekoopornością są zależne od filogenetycznego pochodzenia szczepu.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahmed S.A., Awosika J., Baldwin C., Bishop-Lilly K.A., Biswas B., Broomall S., Chain P.S., Chertkov O., Chokoshvili O., Coyne S., Davenport K., Detter J.C., Dorman W., Erkkila T.H., Folster J.P. i wsp.: Genomic comparison of *Escherichia coli* O104:H4 isolates from 2009 and 2011 reveals plasmid, and prophage heterogeneity, including Shiga toxin encoding phage stx2. *PLoS One*, 2012; 7: e48228
- [2] Amaya E., Reyes D., Vilchez S., Paniagua M., Möllby R., Nord C.E., Weintraub A.: Antibiotic resistance patterns of intestinal *Escherichia coli* isolates from Nicaraguan children. *J. Med. Microbiol.*, 2011; 60: 216-222
- [3] Barnich N., Carvalho F.A., Glasser A.L., Darcha C., Jantschke P., Allez M., Peeters H., Bommelaer G., Desreumaux P., Colombel J.F., Darfeuille-Michaud A.: CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 1566-1574
- [4] Baudry-Simner P.J., Singh A., Karlowsky J.A., Hoban D. J., Zhanel G.G., the Canadian Antimicrobial Resistance Alliance.: Mechanisms of reduced susceptibility to ciprofloxacin in *Escherichia coli* isolates from Canadian hospitals. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, 2012; 23: e60-e71
- [5] Bielaszewska M., Mellmann A., Zhang W., Köck R., Fruth A., Bauwens A., Peters G., Karch H.: Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect. Dis.*, 2011; 11: 671-676
- [6] Blanco J., Mora A., Mamani R., López C., Blanco M., Dahbi G., Herrera A., Blanco J.E., Alonso M.P., García-Garrote F., Chaves F., Orellana M.Á., Martínez-Martínez L., Calvo J., Prats G. i wsp.: National survey of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections reveals

the spread of drug-resistant clonal group O25b:H4-B2-ST131, O15:H1-D-ST393 and CGA-D-ST69 with high virulence gene content in Spain. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011; 66: 2011-2021

[7] Blanco M., Blanco J.E., Alonso M.P., Mora A., Balsalobre C., Muñoz F., Juárez A., Blanco J.: Detection of *pap*, *sfa* and *afa* adhesion-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with expression of adhesins and production of toxins. *Res. Microbiol.*, 1997; 148: 745-755

[8] Bonacorsi S., Bingen E.: Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2005; 295: 373-381

[9] Bonnet R.: Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004; 48: 1-14

[10] Branger C., Zamfir O., Geoffroy S., Laurans G., Arlet G., Thien H.V., Gouriou S., Picard B., Denamur E.: Genetic background of *Escherichia coli* and extended-spectrum β -lactamase type. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005; 11: 54-61

[11] Brisse S., Diancourt L., Laouénan C., Vigan M., Caro V., Arlet G., Drioux L., Leflon-Guibout V., Mentré F., Jarlier V., Nicolas-Chanoine M.H., and the Coli β Study Group.: Phylogenetic distribution of CTX-M- and non-extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates: group B2 isolates, except clone ST131, rarely produce CTX-M enzymes. *J. Clin. Microbiol.*, 2012; 50: 2974-2981

[12] Bryce J., Boschi-Pinto C., Shibuya K., Black R.E., the WHO Child Health Epidemiology Reference Group: WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet* 2005; 365: 1147-1152

[13] Brzuszkiewicz E., Thürmer A., Schuldes J., Leimbach A., Liesegang H., Meyer F.D., Boelter J., Petersen H., Gottschalk G., Daniel R.: Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: entero-aggregative haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Arch. Microbiol.*, 2011; 193: 883-891

[14] Bush K.: Extended-spectrum β -lactamases in North America, 1987-2006. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2008; 14, Suppl. 1: 134-143

[15] Carattoli A.: Resistance plasmid families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009; 53: 2227-2238

[16] Cerquetti M., Giufrè M., García-Fernández A., Accogli M., Fortini D., Luzzi I., Carattoli A.: Ciprofloxacin resistant, CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST131 clone in extraintestinal infections in Italy. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010; 16: 1555-1558

[17] Chaudhuri R.R., Henderson, I.R.: The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infect. Genet. Evol.*, 2012; 12: 214-226

[18] Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E.: Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000; 66: 4555-4558

[19] Clermont O., Christenson J.K., Denamur E., Gordon D.M.: The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol. Rep.*, 2013; 5: 58-65

[20] Clermont O., Lavollay M., Vimont S., Deschamps C., Forestier C., Branger C., Denamur E., Arlet G.: The CTX-M-15-producing *Escherichia coli* diffusing clone belongs to a highly virulent B2 phylogenetic subgroup. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008; 61: 1024-1028

[21] Clermont O., Olier M., Hoede C., Diancourt L., Brisse S., Keroudean M., Glodt J., Picard B., Oswald E., Denamur E.: Animal and human pathogenic *Escherichia coli* strains share common genetic backgrounds. *Infect. Genet. Evol.*, 2011; 11: 654-662

[22] Coelho A., Mora A., Mamani R., López C., González-López J.J., Larrosa M.N., Quintero-Zarate J.N., Dahbi G., Herrera A., Blanco J.E., Blanco M., Alonso M.P., Prats G., Blanco J.: Spread of *Escherichia coli* O25b:H4-B2-ST131 producing CTX-M-15 and SHV-12 with high virulence gene content in Barcelona (Spain). *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011; 66: 517-526

[23] Czaja C., Stamm E., Stapleton A., Roberts P., Hawn T., Scholes D., Samadpour M., Hultgren S.J., Hooton T.M.: Prospective cohort study of microbial and inflammatory events immediately preceding *Escherichia coli* recurrent urinary tract infection in women. *J. Infect. Dis.*, 2009; 200: 528-536

[24] Danzeisen J.L., Wannemuehler Y., Nolan L.K., Johnson T.J.: Comparison of multilocus sequence analysis and virulence genotyping of *Escherichia coli* from live birds, retail poultry meat, and human extraintestinal infection. *Avian Dis.*, 2013; 57: 104-108

[25] Darfeuille-Michaud A., Boudeau J., Bulois P., Neut C., Glasser A.L., Barnich N., Bringer M.A., Swidsinski A., Beaugerie L., Colombel J.F.: High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2004; 127: 412-421

[26] Dhanji H., Doumith M., Rooney P.J., O'Leary M.C., Loughrey A.C., Hope R., Woodford N., Livermore D.M.: Molecular epidemiology of fluoroquinolone-resistant ST131 *Escherichia coli* producing CTX-M extended - spectrum β -lactamases in nursing home in Belfast, UK. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011; 66: 297-303

[27] Djie-Maletz A., Reither K., Danour S., Anyidoho L., Saad E., Danikuu F., Ziniel P., Weitzel T., Wagner J., Bienzle U., Stark K., Seidu-Korkor A., Mockenhaupt F.P., Ignatius R.: High rate of resistance to locally used antibiotics among enteric bacteria from children in Northern Ghana. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008; 61: 1315-1318

[28] Dobrindt U.: (Patho-)Genomics of *Escherichia coli*. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2005; 295: 357-371

[29] Donnenberg, M.S., Whittam T.S.: Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 539-548

[30] Dutta S., Guin S., Ghosh S., Pazhani G.P., Rajendran K., Bhattacharya M.K., Takeda Y., Nair G.B., Ramamurthy T.: Trends in the prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* among hospitalized diarrheal patients in Kolkata, India. *PLoS One*, 2013; 8: e56068

[31] Elliott S.J., Sperandio V., Girón J.A., Shin S., Mellies J.L., Wainwright L., Hutcheson S.W., McDaniel T.K., Kaper J.B.: The locus of enterocyte effacement (LEE)-encoded regulator controls expression of both LEE- and non-LEE-encoded virulence factors in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 2000; 68: 6115-6126

[32] Escobar-Paramo P., Clermont O., Blanc-Potard A.B., Bui H., Le Bouguenec C., Denamur E.: A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol.*, 2004; 21: 1085-1094

[33] Escobar-Paramo P., Giudicelli C., Parsot C., Denamur E.: The evolutionary history of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* revised. *J. Mol. Evol.*, 2003; 57: 140-148

[34] Ewers C., Li G., Wilking H., Kiessling S., Alt K., Antão E.M., Laturnus C., Diehl I., Glodde S., Homeier T., Böhnke U., Steinrück H., Philipp H.C., Wieler L.H.: Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? *Int. J. Med. Microbiol.*, 2007; 297: 163-176

[35] Farfan M.J., Torres A.G.: Molecular mechanisms that mediate colonization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.*, 2012; 80: 903-913

[36] 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

[37] Garza-Ramos U., Barrios H., Hernandez-Vargas M.J., Rojas-Moreno T., Reyna-Flores F., Tinoco P., Othon V., Poirrel L., Nordmann P., Cattoir V., Ruiz-Palacios G., Fernandez J.L., Santamaria R.I., Bustos P., Castro N., Silva-Sanchez J.: Transfer of quinolone resistance gene *qnrA1* to *Escherichia coli* through a 50 kb conjugative plasmid resulting from the splitting of a 300 kb plasmid. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2012; 67: 1627-1634

- [38] Gibreel T.M., Dodgson A.R., Cheesbrough J., Fox A.J., Bolton F.J., Upton M.: Population structure, virulence potential and antibiotic susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* from Northwest England. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2012; 67: 346-356
- [39] Goffaux F., China B., Mainil J.: Organisation and in vitro expression of *esp* genes of the LEE (locus of enterocyte effacement) of bovine enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.*, 2001; 83: 275-286
- [40] Gordon D.M., Clermont O., Tolley H., Denamur E.: Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. *Environ Microbiol.*, 2008; 10: 2484-2496
- [41] Gordon D.M., Stern S.E., Collignon P.J.: Influence of the age and sex of human hosts on the distribution of *Escherichia coli* ECOR groups and virulence traits. *Microbiology*, 2005; 151: 15-23
- [42] Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O.: New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.*, 2010; 59: 307-321
- [43] Gupta S.K., Keck J., Ram P.K., Crump J.A., Miller M.A., Mintz E.D.: Analysis of data gaps pertaining to enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in low and medium human development index countries, 1984-2005. *Epidemiol. Infect.*, 2008; 136: 721-738
- [44] Harris A.M., Chowdhury F., Begum Y.A., Khan A.I., Faruque A.S., Svennerholm A.M., Harris J.B., Ryan E.T., Cravioto A., Calderwood S.B., Qadri F.: Shifting prevalence of major diarrheal pathogens in patients seeking hospital care during floods in 1998, 2004, and 2007 in Dhaka, Bangladesh. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2008; 79: 708-714
- [45] Hauser E., Mellmann A., Semmler T., Stoeber H., Wieler L.H., Karch H., Kuebler N., Fruth A., Harmsen D., Weniger T., Tietze E., Schmidt H.: Phylogenetic and molecular analysis of food-borne Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013; 79: 2731-2740
- [46] Herzer P.J., Inouye S., Inouye M., Whittam T.S.: Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1990; 172: 6175-6181
- [47] Huang D.B., Mohanty A., DuPont H.L., Okhuysen P.C., Chiang T.: A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.*, 2006; 55: 1303-1311
- [48] Jadhav S., Hussain A., Devi S., Kumar A., Parveen S.: Virulence characteristics and genetic affinities of multiple drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from a semi urban locality in India. *PLoS One*, 2011; 6: e18063
- [49] Jafari F., Garcia-Gil L.J., Salmanzadeh-Ahrabi S., Shokrzadeh L., Aslani M.M., Pourhoseingholi M.A., Derakhshan F., Zali M.R.: Diagnosis and prevalence of enteropathogenic bacteria in children less than 5 years of age with acute diarrhea in Tehran children's hospitals. *J. Infect.*, 2009; 58: 21-27
- [50] Jakobsen L., Garneau P., Kurbasic A., Bruant G., Stegger M., Harel J., Jensen K.S., Brousseau R., Hammerum A.M., Frimodt-Møller N.: Microarray-based detection of extended virulence and antimicrobial resistance gene profiles in phylogroup B2 *Escherichia coli* of human, meat and animal origin. *J. Med. Microbiol.*, 2011; 60: 1502-1511
- [51] Jauregui F., Landraud L., Passet V., Diancour L., Frapy E., Guigon G., Carbonnelle E., Lortholary O., Clermont O., Denamur E., Picard B., Nassif X., Brisse S.: Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. *BMC Genomics*, 2008; 9: 560-566
- [52] Johnson J.R., Johnston B., Clabots C., Kuskowski M.A., Castanheira M.: *Escherichia coli* sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant *E. coli* infections in the United States (2007). *Clin. Infect. Dis.*, 2010; 51: 286-294
- [53] Johnson J.R., Owens K.L., Clabots C.R., Weissman S.J., Cannon S.B.: Phylogenetic relationships among clonal groups of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* as assessed by multi-locus sequence analysis. *Microbes Infect.*, 2006; 8: 1702-1713
- [54] Johnson J.R., Stell A.L.: Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J. Infect. Dis.*, 2000; 181: 261-272
- [55] Johnson T.J., Jordan D., Kariyawasam S., Stell A.L., Bell N.P., Wannemuehler Y.M., Alarcon C.F., Li G., Tivendale K.A., Logue C.M., Nolan L.K.: Sequence analysis and characterization of a transferable hybrid plasmid encoding multidrug resistance and enabling zoonotic potential for extraintestinal *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 2010; 78: 1931-1942
- [56] Johnson T.J., Kariyawasam S., Wannemuehler Y., Mangiamale P., Johnson S.J., Doetkott C., Skyberg J.A., Lynne A.M., Johnson J.R., Nolan L.K.: The genome sequence of avian pathogenic *Escherichia coli* strain O1: K1: H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic *E. coli* genomes. *J. Bacteriol.*, 2007; 189: 3228-3236
- [57] Johnson T.J., Lang K.S.: IncA/C plasmids: an emerging threat to human and animal health? *Mob. Gen. Elements*, 2012; 2: 55-58
- [58] Johnson T.J., Logue C.M., Johnson J.R., Kuskowski M.A., Sherwood J.S., Barnes H.J., DebRoy C., Wannemuehler Y.M., Obata-Yasuoka M., Spanjaard L., Nolan L.K.: Associations between multidrug resistance, plasmid content, and virulence potential among extraintestinal pathogenic and commensal *Escherichia coli* from humans and poultry. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2012; 9: 37-46
- [59] Johnson T.J., Nolan L.K.: Pathogenomics of the virulence plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2009; 73: 750-774
- [60] Johnson T.J., Wannemuehler Y.M., Johnson S.J., Stell A.L., Doetkott C., Johnson J.R., Kim K.S., Spanjaard L., Nolan L.K.: Comparison of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains from human and avian sources reveals a mixed subset representing potential zoonotic pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008; 74: 7043-7050
- [61] Johnson T.J., Wannemuehler Y.M., Nolan L.K.: Evolution of the *iss* gene in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008; 74: 2360-2369
- [62] Kahali S., Sarkar B., Rajendran K., Khanam J., Yamasaki S.H., Nandy R.K., Bhattacharya S.K., Ramamurthy T.: Virulence characteristics and molecular epidemiology of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from hospitalized diarrheal patients in Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.*, 2004; 42: 4111-4120
- [63] Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.: Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004; 2: 123-140
- [64] Karch H., Friedrich A.W., Gerber A., Zimmerhackl L.B., Schmidt M.A., Bielaszewska M.: New aspects in the pathogenesis of enteropathic hemolytic uremic syndrome. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2006; 32: 105-112
- [65] Karisik E., Ellington M.J., Pike R., Warren R.E., Livermore D.M., Woodford N.: Molecular characterization of plasmids encoding CTX-M-15 β -lactamases from *Escherichia coli* strains in the United Kingdom. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2006; 58: 665-668
- [66] Khoshvaght H., Haghi F., Zeighami H.: Extended spectrum beta-lactamase producing enteroaggregative *Escherichia coli* from young children in Iran. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench.*, 2014; 7: 131-136
- [67] Kiranmayi C.B., Krishnaiah N.E., Mallika E.N.: *Escherichia coli* O157:H7 - an emerging pathogen in foods of animal origin. *Vet. World*, 2010; 3: 382-389
- [68] Kotlowski R., Bernstein C.N., Sepehri S., Krause D.O.: High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease. *Gut*, 2007; 56: 669-675
- [69] Köhler C.D., Dobrindt U.: What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? *Int. J. Med. Microbiol.*, 2011; 301: 642-647
- [70] Lawrence J.G., Retchless A.C.: The interplay of homologous recombination and horizontal gene transfer in bacterial speciation. *Meth. Mol. Biol.*, 2009; 532: 29-53

- [71] Leimbach A., Hacker J., Dobrindt U.: *E. coli* as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2013; 358: 3-32
- [72] Lemaître C., Mahjoub-Messai F., Dupont D., Caro V., Diancourt L., Bingen E., Bidet P., Bonacorsi S.: A conserved virulence plasmidic region contributes to the virulence of the multiresistant *Escherichia coli* meningitis strain S286 belonging to phylogenetic group C. *PLoS One*, 2013; 8: e74423
- [73] Levine M.M.: *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.*, 1987; 155: 377-389
- [74] Lloyd A.L., Henderson T.A., Vigil P.D., Mobley H.L.: Genomic islands of uropathogenic *Escherichia coli* contribute to virulence. *J. Bacteriol.*, 2009; 191: 3469-3481
- [75] Martínez-Martínez L., Eliecer C.M., Rodríguez-Martínez M.J., Calvo J., Pascual A.: Plasmid-mediated quinolone resistance. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2008; 6: 685-711
- [76] Martínez-Medina M., Aldeguez X., Lopez-Siles M., González-Huix F., López-Oliu C., Dahbi G., Blanco J.E., Blanco J., García-Gil L.J., Darfeuille-Michaud A.: Molecular diversity of *Escherichia coli* in the human gut: new ecological evidence supporting the role of adherent-invasive *E. coli* (AIEC) in Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2009; 15: 872-882
- [77] Martínez-Medina M., Mora A., Blanco M., López C., Alonso M.P., Bonacors S.J., Nicolas-Chanoine M.H., Darfeuille-Michaud A., García-Gil J., Blanco J.: Similarity and divergence among adherent-invasive *Escherichia coli* and extraintestinal pathogenic *E. coli* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 2009; 47: 3968-3979
- [78] Mokady D., Gophna U., Ron E.Z.: Virulence factors of septicemic *Escherichia coli* strains. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2005; 295: 455-462
- [79] Momtaz H., Dehkordi F.S., Hosseini M.J., Sarshar M., Heidari M.: Serogroups, virulence genes and antibiotic resistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrheic and non-diarrheic pediatric patients in Iran. *Gut Pathog.*, 2013; 5: 39-49
- [80] Mora A., Herrera A., Mamani R., López C., Alonso M.P., Blanco J.E., Blanco M., Dahbi G.I., García-Garrote F., Pita J.M., Coira A., Bernárdez M.I., Blanco J.: Recent emergence of clonal group O25b:H4-B2-ST131 *ibeA* strains among *Escherichia coli* poultry isolates, including CTX-M-9-producing strains, and comparison with clinical human isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010; 76: 6991-6997
- [81] Muniesa M., Hammerl J.A., Hertwig S., Appel B., Brüssow H.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4: a new challenge for microbiology. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012; 78: 4065-4073
- [82] Müller D., Hagedorn P., Brast S., Heusipp G., Bielaszewska M., Friedrich A.W., Karch H., Schmidt M.A.: Rapid identification and differentiation of clinical isolates of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), atypical EPEC, and shiga toxin-producing *Escherichia coli* by a one-step multiplex PCR method. *J. Clin. Microbiol.*, 2006; 44: 2626-2629
- [83] Naseer U., Haldorsen B., Tofteland S., Hegstad K., Scheutz F., Simonsen G.S., Sundsfjord A., Norwegian ESBL Study Group: Molecular characterization of CTX-M-15-producing clinical isolates of *Escherichia coli* reveals the spread of multidrug-resistant ST131 (O25:H4) and ST964 (O102:H6) strains in Norway. *APMIS*, 2009; 117: 526-536
- [84] Nguyen T.V., Le P.V., Le C.H., Weintraub A.: Antibiotic resistance in diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains isolated from children in Hanoi, Vietnam. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 816-819
- [85] Nicolas-Chanoine M.H., Blanco J., Leflon-Guibout V., Demarty R., Alonso M.P., Canica M.M., Park Y.J., Lavigne J.P., Pitout J., Johnson J.R.: Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008; 61: 273-281
- [86] Nishikawa Y., Zhou Z., Hase A., Ogasawara J., Kitase T., Abe N., Nakamura H., Wada T., Ishii E., Haruki K.: Diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka City, Japan between 1997 and 2000: prevalence of enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 gene-possessing *E. coli*. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2002; 55: 183-190
- [87] Novais Â., Viana D., Baquero F., Martínez-Botas J., Cantón R., Coque T.M.: Contribution of IncFII and broad-host IncA/C and IncN plasmids to the local expansion and diversification of phylogroup B2 *Escherichia coli* ST131 clones carrying *bla*_{CTX-M-15} and *qnrS1* genes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2012; 56: 2763-2766
- [88] Ochoa T.J., Ecker L., Barletta F., Mispireta M.L., Gil A.I., Contreras C., Molina M., Amemiya I., Verastegui H., Hall E.R., Cleary T.G., Lanata C.F.: Age-related susceptibility to infection with diarrheagenic *Escherichia coli* among infants from Periurban areas in Lima, Peru. *Clin. Infect. Dis.*, 2009; 49: 1694-1702
- [89] Paton A.W., Paton J.C.: Direct detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, and *saa*. *J. Clin. Microbiol.*, 2002; 40: 271-274
- [90] Paton A.W., Srimanote P., Woodrow M.C., Paton J.C.: Characterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. *Infect. Immun.*, 2001; 69: 6999-7009
- [91] Peirano G., Pitout J.D.: Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2010; 35: 316-321
- [92] Pitout J.D., Laupland K.B., Church D.L., Menard M.L., Johnson J.R.: Virulence factors of *Escherichia coli* isolates that produce CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 4667-4670
- [93] Prats G., Mirelis B., Llovet T., Munoz C., Miró E., Navarro F.: Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985-1987 and 1995-1998 in Barcelona. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000; 44: 1140-1145
- [94] Qadri F., Das S.K., Faruque A.S., Fuchs G.J., Albert M.J., Sack R.B., Svennerholm A.M.: Prevalence of toxin types and colonization factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated during a 2-year period from diarrheal patients in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.*, 2000; 38: 27-31
- [95] Rodas C., Mamani R., Blanco J., Blanco J.E., Wiklund G., Svennerholm A.M., Sjöling Å., Iniguez V.: Enterotoxins, colonization factors, serotypes and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains isolated from hospitalized children with diarrhea in Bolivia. *Braz. J. Infect. Dis.*, 2011; 15: 132-137
- [96] Rogers B.A., Sidjabat H.E., Paterson D.L.: *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community associated strain. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011; 66: 1-14
- [97] Russo T.A., Johnson J.R.: Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *J. Infect. Dis.*, 2000; 181: 1753-1754
- [98] Scaletsky I.C., Souza T.B., Aranda K.R., Okeke I.N.: Genetic elements associated with antimicrobial resistance in enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from Brazil. *BMC Microbiol.*, 2010; 10: 25-33
- [99] Sepehri S., Kotlowski R., Bernstein C.N., Krause D.O.: Phylogenetic analysis of inflammatory bowel disease associated *Escherichia coli* and the fimH virulence determinant. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2009; 15: 1737-1745
- [100] Servin A.L.: Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2005; 18: 264-292
- [101] Silva-Sánchez J., Cruz-Trujillo E., Barrios H., Reyna-Flores F., Sánchez-Pérez A., Bacterial Resistance Consortium, Garza-Ramos U.: Characterization of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes in extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* pediatric clinical isolates in Mexico. *PLoS One*, 2013; 8: e77968
- [102] Skippington E., Ragan M.A.: Phylogeny rather than ecology or lifestyle biases the construction of *Escherichia coli*-*Shigella* genetic exchange communities. *Open Biol.*, 2012; 2: 120112

- [103] Spano L.C., Sadovsky A.D., Segui P.N., Saick K.W., Kitagawa S.M., Pereira F.E., Fagundes-Neto U., Scaletsky I.C.: Age-specific prevalence of diffusely adherent *Escherichia coli* in Brazilian children with acute diarrhea. *J. Med. Microbiol.*, 2008; 57: 359-363
- [104] Steinsland H., Lacher D.W., Sommerfelt H., Whittam T.S.: Ancestral lineages of human enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, 2010; 48: 2916-2924
- [105] Subashchandrabose S., Smith S.N., Spurbeck R.R., Kole M.M., Mobley H.L.: Genome-wide detection of fitness genes in uropathogenic *Escherichia coli* during systemic infection. *PLoS Pathog.*, 2013; 9: e1003788
- [106] Tenaillon O., Skurnik D., Picard B., Denamur E.: The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010; 8: 207-217
- [107] Touchon M., Hoede C., Tenaillon O., Barbe V., Baeriswyl S., Bidet P., Bingen E., Bonacorsi S., Bouchier C., Bouvet O., Calteau A., Chiapello H., Clermont O., Cruveiller S., Danchin A. i wsp.: Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet.*, 2009; 5: e1000344
- [108] Trabulsi L.R., Keller R., Tardelli Gomes T.A.: Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002; 8: 508-513
- [109] Usein C.R., Tatu-Chitoiu D., Ciontea S., Condei M., Damian M.: *Escherichia coli* pathotypes associated with diarrhea in Romanian children younger than 5 years of age. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2009; 62: 289-293
- [110] Van den Beld M.J., Reusaet F.A.: Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2012; 31: 899-904
- [111] Vicente A.C., Teixeira L.F., Iniguez-Rojas L., Luna M.G., Silva L., Andrade J.R., Guth B.E.: Outbreaks of cholera-like diarrhoea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in the Brazilian Amazon Rainforest. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2005; 99: 669-674
- [112] Vila J., Vargas M., Ruiz J., Corachan M., Jimenez De Anta M.T., Gascon J.: Quinolone resistance in enterotoxigenic *Escherichia coli* causing diarrhea in travelers to India in comparison with other geographical areas. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000; 44: 1731-1733
- [113] Vilchez S., Reyes D., Paniagua M., Bucardo F., Möllby R., Weintroub A.: Prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from León, Nicaragua. *J. Med. Microbiol.*, 2009; 58: 630-637
- [114] Walk S.T., Alm E.W., Gordon D.M., Ram J.L., Toranzos G.A., Tiedje J.M., Whittam T.S.: Cryptic lineages of the genus *Escherichia*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009; 75: 6534-6544
- [115] Whittam T.S., Ochman H., Selander R.K.: Multilocus genetic structure in natural populations of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983; 80: 1751-1755
- [116] Wolf M.K.: Occurrence, distribution, and associations of O and H serogroups, colonization factor antigens, and toxins of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1997; 10: 569-584
- [117] Wong A.R., Pearson J.S., Bright M.D., Munera D., Robinson K.S., Lee S.F., Frankel G., Hartland E.L.: Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*: even more subversive elements. *Mol. Microbiol.*, 2011; 80: 1420-1438
- [118] Ziebell K., Konczy P., Yong I., Frost S., Mascarenhas M., Kropinski A.M., Whittam T.S., Read S.C., Karmali M.A.: Applicability of phylogenetic methods for characterizing the public health significance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008; 74: 1671-1675

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.