



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC)



Σταυρίδου Ελευθερία (15130)

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Μπατρινού Ανθιμία

Μέλη επιτροπής:

Μπατρίνου Ανθιμία , Επίκ.Καθηγήτρια

Χούγουλα Δήμητρα , Αναπλ.Καθηγήτρια

Αντωνόπουλος Διονύσης , μέλος ΕΔΙΠ

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη ΣΤΑΥΡΙΔΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ του ΣΤΑΥΡΟΥ, με αριθμό μητρώου 71615130 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ ΣΤΑΥΡΙΔΟΥ



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η *E. coli* αποτελεί τη κυρίαρχη μη παθογόνο γλωρίδα του ανθρώπινου και ζωικού εντέρου και βοηθά στην παραγωγή βιταμινών , ανταγωνίζεται και καταστέλλει την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων.

Η συγκεκριμένη μελέτη που θα ακολουθήσει αφορά έναν από τους έξι παθότυπους που κατηγοριοποιείται η *E. coli*, την Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

Τα εντεροτοξινογόνα στελέχη της STEC τα οποία παράγουν Shiga τοξίνες (Stx), αποτελούν ένα συχνά εμφανιζόμενο τροφιμογενή παθογόνο παράγοντα από τα πιο παλιά χρόνια μέχρι και τώρα που προέρχεται κυρίως από τα ζώα , από λανθασμένη μεταχείριση αυτών , του χώρου που αυτά κατοικούν και του χειριστή αυτών. Εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω του γενετικού της χαρακτήρα ο οποίος επηρεάζει τόσο την παθογένεια της όσο την εμφάνιση της στα τρόφιμα, στο νερό και στο περιβάλλον αλλά ακόμα τις διαδικασίες ελέγχου πρόληψης και απομόνωσης της. Εξαιτίας των κρίσιμων και σοβαρών παθήσεων που ενδέχεται να προκαλέσει στους ανθρώπους και στα ζώα, λόγω της παραγωγής Shiga τοξίνης, παρουσιάζει ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον που αξίζει να αναλυθεί στην συγκεκριμένη εργασία. Τα συμπτώματα της λοίμωξης από κάποιο στέλεχος της STEC ποικίλουν ανάλογα με το άτομο που νοσεί και πολλές φορές ανάλογα και με την πηγή μόλυνσης , γεγονός που απασχολεί τους ερευνητές και προκαλεί ακόμα και σήμερα πρόκληση η κατανόηση της και η ανίχνευση της σε σύντομο χρόνο ώστε να αποφευχθεί η διασπορά της.

Απώτερος σκοπός της μελέτης αυτής είναι η εκτίμηση των επιπτώσεων της μόλυνσης από STEC στους ανθρώπους και η συσχέτισή της με τον επιπολασμό του παθογόνου στο ζωικό πληθυσμό, σε προϊόντα ζωικής και φυτικής προέλευσης με σκοπό την κατανόηση της και τον έλεγχο της σε επίπεδο παραγωγής αλλά και προσωπικό.

ABSTRACT

E. coli is the predominant non-pathogenic flora of the human and animal gut and assists in the production of vitamins and competes with and suppresses the growth of pathogenic bacteria.

The specific study that will follow concerns one of the six passive *E. coli* categorized, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

The enterotoxigenic strains of STEC that produce Shiga toxins (Stx) are a frequently occurring foodborne pathogen from the earliest years until now, which mainly originates from animals, from incorrect treatment of them, the space they live in and their operator. It is of particular interest due to its genetic character, which affects both its pathogenicity and its appearance in food, water and the environment, but also its prevention control and isolation procedures.

Because of the critical and serious diseases it may cause in humans and animals, due to the production of Shiga toxin, it is of particular scientific interest that deserves to be analyzed in this paper. The symptoms of infection by a strain of STEC vary depending on the person who is sick and often depending on the source of infection, a fact that worries researchers and even today causes a challenge to understand it and to detect it in a short time in order to avoid its dispersion.

The ultimate aim of this study is to assess the effects of STEC infection in humans and its correlation with the prevalence of the pathogen in the animal population, in products of animal and plant origin with the aim of understanding it and controlling it at the production level as well as personal

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	10
Εισαγωγή	11
1.1 Εμφάνιση της <i>Escherichia coli</i>	12
1.2 Χαρακτηριστικά του γένους <i>Escherichia coli</i>	13
1.2.1 Μορφολογία	13
1.2.2 Καλλιέργεια.....	13
1.2.3 Ταξινόμηση στελεχών.....	14
1.3 Ανάλυση της Shiga Toxin-producing <i>Escherichia coli</i> (STEC)	15
1.3.1 Παθογένεια	15
1.3.2 Δευτερεύοντες παθογενετικοί μηχανισμοί	17
1.3.3 Γενετική.....	18
1.3.3.1 Γονίδια	18
1.3.3.2 Τοξίνες.....	21
1.4 Πηγές μόλυνσης της STEC.....	25
1.4.1 Τρόφιμα	25
1.4.2 Ζώα.....	27
1.4.3 Νερό και Περιβάλλον	27
1.4.4 Άνθρωπος.....	28
1.5 Χαρακτηριστικά της ασθένειας – Συμπτώματα	29
1.6 Διάγνωση	33
1.7 Θεραπευτικές μέθοδοι	35
1.8 Επιδημιολογία	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	45
2.1 Τεχνολογία ελέγχου του στελέχους STEC και διαχείριση ποιότητας	46
2.2 Κρέας, προϊόντα κρέατος και STEC	47
2.3 Γάλα , προϊόντα γάλακτος και STEC	50
2.4 Υπόλοιπα τρόφιμα και STEC	53
2.4.1 Λαχανικά και φρούτα	53

2.4.2	Ιχθυηρά	55
2.4.3	Υπόλοιπα προϊόντα	55
2.5	Μέθοδοι ανίχνευσης και απομόνωσης STEC στα τρόφιμα	57
2.5.1	ISO 13136:2012	57
2.5.2	ISO 16654:2001	58
2.5.3	Φίλτρο μεμβράνης υδροφοβικού πλέγματος (Hydrophobic Grid Membrane Filter HGMF)	58
2.5.4	Προεμπλουτισμός και καλλιέργεια του δείγματος	58
2.5.5	Ανοσομαγνητικός διαχωρισμός (IMS)	59
2.5.6	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης PCR	59
2.6	Πρόληψη και έλεγχος μικροβιολογικών κινδύνων	60
2.6.1	Στρατηγικές ελέγχου επεξεργασίας για STEC στο κρέας	61
2.6.2	Στρατηγικές ελέγχου επεξεργασίας για STEC στο γάλα και στα προϊόντα του	63
2.6.3	Στρατηγικές ελέγχου για STEC στα υπόλοιπα τρόφιμα	64
2.6.4	Προσωπική ευθύνη πρόληψης μόλυνσης από STEC	65
	ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	66
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση Stx1, Stx2 ομάδων τοξινών και οι ορότυποι τους.....	22
Πίνακας 2. Ονοματολογία ομάδων SPT και ταξινόμηση ορότυπων βάση λοιμογόνου δράσης.....	24
Πίνακας 3. Κατανομή των δηλωθέντων κρουσμάτων λοίμωξης από εντεροαιμορραγικό κολοβακτηρίδιο (EHEC) στην Ελλάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021 (ΕΟΔΥ, ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΕΝΤΕΡΟΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ (EHEC) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ 2004-2021).....	39

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1. *E.coli* σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο υπό μεγέθυνση x20.000. Η ράβδος που διακρίνεται έχει μήκος 1,5 μm - 2 μm και διάμετρο 1 μm. Διακρίνονται επίσης το μαστίγιο (flagella) και το ινίδιο (pilus) που βοηθούν στην κίνηση του μικροοργανισμού (Audrey Segura 2017). 13
- Εικόνα 2. Αποτελέσματα ανάλυσης PCR ύστερα από καλλιέργεια κοπράνων. M: DNA size marker, 1 αρνητικός/εσφαλμένος έλεγχος , 2-8 δείγματα από ασθενείς με θετικό σε STEC αποτέλεσμα , 9 θετικός έλεγχος (W.Paton and C.Paton 2002). 34
- Εικόνα 3. Κατανομή επιβεβαιωμένων κρουσμάτων STEC (ανά 100.000 πληθυσμό) ανά χώρα, ΕΕ/ΕΟΧ, 2020 (European Centre for Disease Prevention and Control. STEC infection. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2020. Stockholm: ECDC; 2022). 41
- Εικόνα 4. Κατανομή επιβεβαιωμένων κρουσμάτων STEC (ανά 100.000 πληθυσμό) ανά ηλικία (σε χρόνια) και φύλο, ΕΕ/ΕΟΧ, 2020. Το πράσινο χρώμα αντιστοιχεί στο αρσενικό φύλο και το γαλάζιο στο θηλυκό φύλο..... 42
- Εικόνα 5 Απεικόνιση μολυσματικών περιστατικών μέσω ειδοποιήσεων της EFSA σε κλίμακα χρόνου 2009-2017 ανά προϊόν τρόφιμου (Koutsoumanis et al. 2020).. 47
- Εικόνα 6. Εικονική αναπαράσταση και συσχέτιση μολυσμένων ζώων και περιβάλλοντος με την κατανάλωση τροφών από τον καταναλωτή (Centre for Food Safety Understanding STEC: A Significant Food Safety Issue , 2022)..... 57

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Εισαγωγή

Η *Escherichia coli* είναι ένα Gram αρνητικό βακτήριο που ανήκει στην οικογένεια των Enterobacteriaceae. Τα στελέχη της *E. coli* βρίσκονται συνήθως στο στομάχι των θερμόαιμων ζώων καθώς και των ανθρώπων αποτελώντας τη φυσιολογική μη παθογόνο χλωρίδα του εντέρου. Από την άλλη πλευρά όμως η *Escherichia coli* αποτελείται εκτός των άλλων από κάποια παθογόνα στελέχη που κατηγοριοποιούνται βάσει των διαφορετικών μολυσματικών ιδιοτήτων, των μηχανισμών παθογένειας και της ποικιλίας των ορότυπων σε ομάδες αναγνώρισης (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Από τις πιο γνωστές ομάδες αναγνώρισης, είναι η Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), η Vero Toxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) καθώς και η EnteroHemorrhagic *E.coli* (EHEC) (Riley 2014). Οι παραπάνω αποτελούν ίσως τις πιο κοινές αιτίες γαστρεντερικών παθήσεων.

Η μετάδοση της STEC γίνεται κατά κύριο λόγο μέσω κατανάλωσης τροφίμων, μέσω νερού και έπειτα από επαφή με μολυσμένο άνθρωπο ή ζώο (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Λόγω της μετάδοσης της τόσο στους ανθρώπους αλλά και στα ζώα μέσω πολλών διαφορετικών οδών αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα στελέχη της *E.coli*.

Η STEC πρωτοεμφανίστηκε το 1977 σε δείγματα καλλιέργειας *E. coli* και το 1983 αποτέλεσε την βασική αιτία αιματώδους διάρροιας στον άνθρωπο (Thorpe 2004) (Kaper, Nataro, and Mobley 2004). Από την εμφάνιση της το 1977 μέχρι και την σύγχρονη εποχή έχουν εκδηλωθεί αρκετά κρούσματα πάθησης από στελέχη της STEC σε παγκόσμιο επίπεδο. Επιπροσθέτως, πολλές επιδημίες έχουν προκληθεί από διάφορους ορότυπους της STEC, με τις σημαντικότερες αυτή της *Escherichia coli* O157:H7 το 2011 στο Οντάριο του Καναδά και της O104:H4 στην Γερμανία, καθιστά το στέλεχος της STEC αντικείμενο ερευνών και μελετών από πολλούς επιστήμονες. Με την πάροδο του χρόνου, και λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών, είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι η STEC αποτελεί την κύρια αιτία αιμορραγικής κολίτιδας και αιμολυτικού-ουραιμικού συνδρόμου ή Hemorrhagic Uremic Syndrome (HUS) (De Boer and Heuvelink 2000). Ένας από τους πιο γνωστούς και μελετημένους ορότυπους της STEC είναι ο O157:H7, καθώς τα περισσότερα κρούσματα τροφογενών ασθενειών σχετίζονται με στελέχη του συγκεκριμένου ορότυπου (Valilis et al. 2018).

Η μολυσματική δόση της *Escherichia coli* εκτιμάται ότι είναι μικρότερη από 100 κύτταρα καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις τροφογενών κρουσμάτων οι εργαστηριακές έρευνες βγάζουν ως αποτέλεσμα αρκετά μικρό αριθμό cfu/g (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Η εμφάνιση του αιμολυτικού-ουραιμικού συνδρόμου στον πληθυσμό και ιδιαίτερος στα παιδιά κάτω των 5 ετών είναι αρκετά αυξημένη όπως θα αναλυθεί και στο παρακάτω κεφάλαιο που αφορά την επιδημιολογία. Τα ποσοστά νόσησης από το HUS στον πληθυσμό σχετίζονται κυρίως με τον προαναφερόμενο ορότυπο O157:H7 καθώς οι non O157:H7 ορότυποι συνδέονται με γαστρεντερίτιδα και αιμορραγική διάρροια (Valilis et al. 2018). Ο συνδυασμός της μικρής μολυσματικής δόσης με την κρισιμότητα των ασθενειών που προκαλεί η *Escherichia coli* καθιστά το βακτήριο στα πιο επικίνδυνα παθογόνα που έχουν άμεση σχέση με τα τρόφιμα (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Εξαιτίας όλων των παραπάνω, η άμεση πρόληψη της λοίμωξης αλλά και ο έλεγχος των ανθρώπινων λοιμώξεων αποτελούν ιδιαίτερα σημαντική διαδικασία. Η εύρεση τρόπων πρόληψης ή μείωσης διασποράς είναι μια τεράστια ερευνητική πρόκληση ακόμα και σήμερα αφού προϋποθέτει αυξημένη ευαισθητοποίηση και σωστή εκπαίδευση του καταναλωτικού κοινού αλλά και των παραγωγών τροφίμων (Newell and La Ragione 2018).

1.1 Εμφάνιση της *Escherichia coli*

Η *Escherichia coli* ταυτοποιήθηκε το 1884 από τον Γερμανό μικροβιολόγο και παιδίατρο Theodor Escherich όπου ξεκίνησε μια μελέτη σχετικά με τα μικρόβια του εντέρου των βρεφών. Από την μελέτη αυτή ανακάλυψε το *Bacterium coli commune*, ένα αρκετά ταχέως αναπτυσσόμενο κολοβακτηρίδιο το οποίο στην συνέχεια κατοχυρώθηκε ως *Escherichia coli*. (Zachary D Blount 2015).

Από τη δεκαετία του 1940 και μετά η *Escherichia coli* αποτέλεσε τον θεμελιώδη βακτηριακό μικροοργανισμό για έρευνες που αφορούν τον γενετικό κώδικα, τη μεταγραφή, τη μετάφραση και μέχρι και τώρα χρησιμοποιείται ως “πρότυπο” βακτήριο για μελέτες που αφορούν την μοριακή βιολογία, την γενετική μηχανική, την βιοτεχνολογία και την φαρμακευτική (Zachary D Blount 2015).

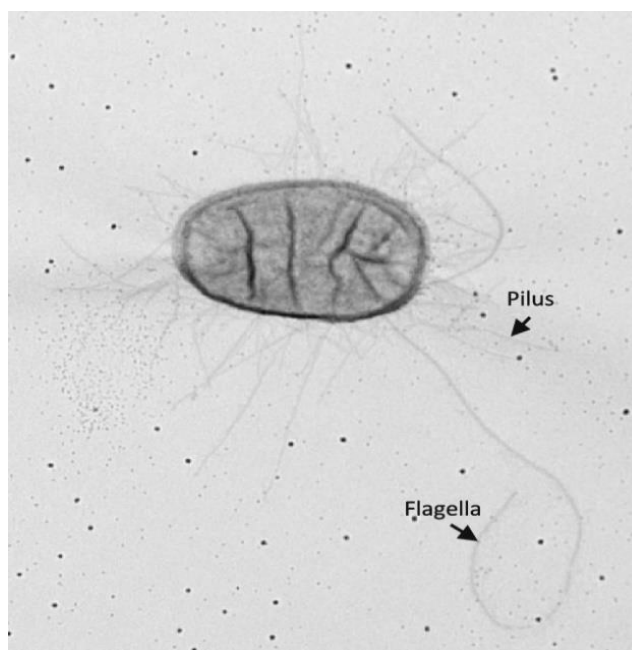
Τα περισσότερα στελέχη της είναι αβλαβή, υπάρχουν όμως και παθογόνα στελέχη που είναι υπεύθυνα για τις περισσότερες κοινές βακτηριακές λοιμώξεις σε ανθρώπους και

ζώα, όπως εντερίτιδα, διάρροια, ουρολοίμωξη, σηψαιμία και νεογνική μηνιγγίτιδα (Kaper et al. 2004).

1.2 Χαρακτηριστικά του γένους *Escherichia coli*

1.2.1 Μορφολογία

Η *Escherichia coli*, είναι ένα gram αρνητικό αερόβιο και προαιρετικά αναερόβιο μη σπορογόνο βακτήριο. Όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 1, η *E.coli* είναι ραβδόμορφο βακτήριο με μήκος 1,5 μm - 3 μm και διάμετρο 0,25 μm - 1,0 μm . Επιπλέον φέρει μαστίγιο μαζί με ινίδια που αποτελούν βοηθητικά μέσα κίνησης (Rogers, Lotha, and Gaur 2007). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαστάσεις του βακτηρίου μπορεί να ποικίλλουν σημαντικά ανάλογα με το στέλεχος και τις συνθήκες διαβίωσης του (Rogers et al. 2007).



Εικόνα 1. *E.coli* σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο υπό μεγέθυνση x20.000. Η ράβδος που διακρίνεται έχει μήκος 1,5 μm - 2 μm και διάμετρο 1 μm . Διακρίνονται επίσης το μαστίγιο (flagella) και το ινίδιο (pilus) που βοηθούν στην κίνηση του μικροοργανισμού (Audrey Segura 2017).

1.2.2 Καλλιέργεια

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η *E.coli* είναι αερόβιο και προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο που σημαίνει ότι μπορεί να αναπτυχθεί με παρουσία οξυγόνου αλλά και χωρίς παρουσία οξυγόνου. Αναπτύσσεται σε μη εκλεκτικά θρεπτικά υλικά με τιμές pH 7,2-

7,5, και ενεργότητα νερού $a_w < 0,95$. Η θερμοκρασία ανάπτυξης κυμαίνεται από 15°C έως 45°C με άριστες τιμές θερμοκρασίας από 30°C έως 37°C ενώ μπορεί να επιβιώσει στους 55°C για 1 ώρα ή στους 60°C για 15 λεπτά (David Greenwood et al. 2010). Αρκετά βακτήρια του γένους *E.coli* έχουν την δυνατότητα να ζυμώνουν και να παράγουν ινδόλη, λακτόζη και άλλους υδατάνθρακες σε υψηλές θερμοκρασίες. Επίσης, σε θερμοκρασίες παστερίωσης πολλά από τα βακτήρια τους γένους καταστρέφονται. Κάποια είναι ανθεκτικά σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος 7-10 % αλλά παραμένουν ευαίσθητα στην ακτινοβολία (Σπηλιώτης 2019)

1.2.3 Ταξινόμηση στελεχών

Η *Escherichia coli* χαρακτηρίζεται ως ένα μη παθογόνο μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντερικού συστήματος ανθρώπων και ζώων. Παρ' όλα αυτά επειδή εμφανίζονται πολλά παθογόνα στελέχη της *E.coli* που προκαλούν ασθένειες και κυρίως διάρροια, κατηγοριοποιείται σε συγκεκριμένες ομάδες λόγω των διαφορετικών μολυσματικών ιδιοτήτων του καθενός (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010);(Riley 2014). Κάθε στέλεχος *E.coli* διαφοροποιείται και ξεχωρίζεται από τα άλλα με την βοήθεια τριών αντιγόνων, του αντιγόνου O που είναι το σωματικό, H το μαστιγιακό και K το καψιδιακό (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Οι ομάδες αυτές αναγνωρίζονται βάση των διαφορετικών ορότυπων O:H όπου το κάθε αντιγόνο φέρει το δικό του αριθμό-κλειδί και έτσι αντιστοιχεί σε μοναδικό στέλεχος όπου δημιουργείται η οροομάδα για κάθε παθογενετική κατηγορία (David Greenwood et al. 2010);(Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010) .

Με βάση τους παραπάνω λόγους έχουμε τους 6 βασικούς παθότυπους της *E.coli* :

1. Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) ή Vero Toxin-producing *E. coli* (VTEC) ή Entero Hemorrhagic (εντεροαιμορραγική) *E. coli* (EHEC)
2. Entero Pathogenic (εντεροπαθογόνος) *E. coli* (EPEC)
3. Entero Aggregative (εντεροσυγκολλητική) *E. coli* (EAEC)
4. Entero Invasive (εντεροδιεισδυτική) *E. coli* (EIEC)
5. Entero Toxigenic (εντεροτοξική) *E. coli* (ETEC)
6. Diffusely Adherent (εντεροδιαχεόμενη) *E. coli* (DAEC)

1.3 Ανάλυση της Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC)

Η Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) ονομάστηκε έτσι από τον Ιάπωνα μικροβιολόγο Kiyoshi Shiga (1870–1957) που ανακάλυψε το γένος *Shigella*, η οποία σχετίζεται με τη *Shigella dysenteriae* που παράγει τις δύο τοξίνες Stx1 και Stx2 όπως και η STEC (Hunt 2010). Η Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) αρχικά ανιχνεύτηκε το 1977 σε δείγματα καλλιέργειας *E. coli* αφού ξεχώρισε από άλλες θερμοσταθερές τοξίνες οι οποίες είναι γνωστό ότι υπάρχουν φυσιολογικά στο εσωτερικό του βακτηρίου (Thorpe 2004). Η STEC σχετίστηκε για πρώτη φορά με το σύνδρομο HUS το 1983 (Thorpe 2004).

1.3.1 Παθογένεια

Η παθογένεια της STEC ξεκινάει από την μετακίνηση βλεννογόνου στο εσωτερικό του εντέρου ύστερα από κατάποση μολυσμένου τρόφιμου ή νερού και ο κύριος παράγοντας που συμβάλει σε αυτή είναι οι τοξίνες που παράγει (Newell and La Ragione 2018; Krü and Lucchesi 2015). Συγκεκριμένα τα παθογόνα βακτήρια έχουν τη δυνατότητα να προσκολλάνε στην εξωτερική μεμβράνη του ξενιστή κυττάρου, να προσδέονται και να πολλαπλασιάζονται στο παχύ έντερο, σημείο στο οποίο φέρουν μια ή περισσότερες τοξίνες Stxs (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Η προσκόλληση αυτή συνδέεται με διάφορους μολυσματικούς παράγοντες που κατά κύριο λόγο είναι γονίδια που βρίσκονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη όπου το καθένα έχει την δική του χαρακτηριστική λειτουργία και κωδικοποιεί κάποια συγκεκριμένη πρωτεΐνη (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Τα βακτήρια αυτά της Shiga toxin-producing *Escherichia coli* προκαλούν βλάβη Attaching and Effacing (A/E) στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου η οποία περιγράφει την πρόσδεση και την προσκόλληση τους στα εντερικά κύτταρα και για αυτό σχετίζεται με τις περισσότερες λοιμογόνες ασθένειες που προκαλούνται σε ανθρώπους και ζώα (Farfan and Torres 2012). Διάφορα από αυτά τα μέλη της STEC είναι αρκετά λοιμογόνα για τον ανθρώπινο οργανισμό από την στιγμή που σχηματίζουν ένα σημαντικό μηχανισμό παθογένειας που είναι ο τύπος εξάλειψης εντεροκυττάρων (Locus of Enterocyte Effacement, LEE) που κωδικοποιεί αρκετές πρωτεΐνες μέσω ενός απεκκριτικού συστήματος τύπου III (W.Paton and C.Paton 2002).

Βασικός ορότυπος που συντέλεσε στην επιστημονική γνώση που έχει αποκτηθεί για την παθογένεια της Shiga Toxin-producing *E.coli* είναι ο O157:H7 καθώς είναι το στέλεχος που απομονώνεται συχνότερα από την ανάλυση καλλιέργειας ασθενών με σύνδρομο HUS αποτελώντας έτσι το πιο χαρακτηριστικό στέλεχος της STEC (Newell and La Ragione 2018).

Τόπος Εξάλειψης Εντεροκυττάρων (Locus of Enterocyte Effacement, LEE)

Ο LEE είναι ο πιο καθοριστικός μηχανισμός παθογένειας καθώς χωρίζεται σε τρεις βασικές περιοχές με γνωστές λειτουργίες και βοηθάει το κύτταρο-ξενιστή να περιλάβει τις ήδη κωδικοποιημένες πρωτεΐνες (Sedighian Rad et al. 2013). Αναλυτικότερα οι πρωτεΐνες αυτές είναι οι EspA, EspB και EspD και είναι ιδιαίτερα κρίσιμες για τη μεταγωγή του σήματος στα κύτταρα-ξενιστές θηλαστικών καθώς και για τον σχηματισμό αλλοιώσεων A/E, με την πρωτεΐνη EspA να παίζει σημαντικό δομικό ρόλο καθώς αποτελεί το κύριο συστατικό ενός μεγάλου νηματώδους οργανιδίου που βρίσκεται στην βακτηριακή επιφάνεια και παρέχει τις συμπληρωματικές δύο πρωτεΐνες, EspB και EspD απευθείας στη κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή (Sedighian Rad et al. 2013).

Εκτός από το LEE άλλος ένας επιπλέον γενετικός τόπος που αναφέρεται συχνά είναι το πλασμίδιο και ο φάγος καθώς αναφέρονται σαν κινητά γενετικά στοιχεία μαζί με τους βακτηριοφάγους, τα τρανσποζόνια, τις νησίδες παθογένειας (PAIs) και διάφορα στοιχεία αλληλουχίας εισαγωγής (IS) (Koutsoumanis et al. 2020).

Πλασμίδιο 60MDa

Πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεια διαδραματίζει το 60MDa πλασμίδιο το οποίο βοηθάει στη διευκόλυνση της προσκόλλησης του βακτηριδίου στον εντερικό βλεννογόνο ενώ οι ερευνητές έχουν συνδέσει την παρουσία του πλασμιδίου με την παραγωγή ορισμένων βλεφαριδικών αντιγόνων, τις φίμπριες, τα οποία συμμετέχουν στον αποικισμό του στελέχους STEC στο έντερο. Αυτή η άποψη στις σημερινή εποχή αμφισβητείται λόγω κυρίως μετά την ανεύρεση του pO157 και σε ακίνητα στελέχη STEC (Toth et al. 1990). Έπειτα από την πιο πρόσφατη ολοκλήρωση της γενετικής αποκωδικοποίησης του πλασμιδίου οι αμφιβολίες αυτές γίνονται όλο και πιο έντονες, ενώ παράλληλα όμως επιβεβαιώνει τη συμμετοχή του πλασμιδίου στην παραγωγή της εντεροαιμολυσίνης (hly), ενός εκκριτικού συστήματος πρωτεϊνών τύπου II, ενός

συστήματος καταλάσης-υπεροξειδάσης και μιας πρωτεάσης της σερίνης. Παρόλα αυτά, ο ακριβής ρόλος του πλασμιδίου αλλά και η σημασία του για την εξέλιξη της νόσου δεν είναι ακόμα γνωστά και η δημοσίευση άλλωστε αρκετών διαφορούμενων μελετών αποδεικνύει την ανάγκη επιπλέον διερεύνησης.

1.3.2 Δευτερεύοντες παθογενετικοί μηχανισμοί

Εντεροαιμολυσίνη (hly)

Η παραγωγή της εντεροαιμολυσίνης καθορίζεται γενετικά από το πλασμίδιο pO157, αντίθετα από την α-αιμολυσίνη των υπολοίπων τυπών *E. coli* που κωδικοποιούνται χρωμοσωμικά. Ο τρόπος με τον οποίο η εντεροαιμολυσίνη συμβάλλει στην παθογένεια της O157 δεν είναι ακόμα επιστημονικά διατυπωμένος και εξακριβωμένος καθώς δίνεται μεγάλο βάρος στη προσφορά των ιόντων σιδήρου έπειτα από την απελευθέρωση της αιμοσφαιρίνης που ενισχύει την ανάπτυξη της STEC στον εντερικό βλεννογόνο. Το ενδιαφέρον μελέτης της εντεροαιμολυσίνης ωστόσο δεν αφορά το τρόπο δράσης της αλλά τη στενή σχέση που υπάρχει ανάμεσα στην παραγωγή της και στην παραγωγή βεροτοξινών στα στελέχη της STEC και κυρίως στο O157.

Πρωτεάση της σερίνης (EspP)

Ένας επιπλέον μηχανισμός παθογένειας που αναφέρθηκε είναι η πρωτεάση της σερίνης (EspP) η οποία είναι μια εξωκυτταρική πρωτεΐνη με μέγεθος 104kDa και κωδικοποιείται επίσης από το πλασμίδιο pO157. Η EspP είναι αρκετά τοξική έναντι των βεροκυττάρων της VTEC ενώ έχει βρεθεί επίσης πως προκαλεί καταστροφή του ανθρώπινου παράγοντα πήξης V. Η έκκριση της πρωτεάσης της σερίνης δεν έχει επιβεβαιωθεί με επιστημονικές έρευνες σε όλα τα εντεροαιμορραγικά στελέχη της STEC ενώ ανιχνεύθηκε από τον Bruner και τους συνεργάτες του το 1997 σε τέσσερα από τα έξι στελέχη O157 και σε ένα από τα δυο O126.

Θερμοανθεκτική εντεροτοξίνη EAST1

Θεωρείται πως η εντεροτοξίνη EAST1 συμμετέχει ενεργά στην εμφάνιση υδαρής διάρροιας που εμφανίζει στα αρχικά στάδια της λοίμωξης από STEC (Tuttle et al. 1997).

1.3.3 Γενετική

1.3.3.1 Γονίδια

Γονίδιο stx

Τα γονίδια Stx βρίσκονται εντός της περιοχής του λυσοφάγου STEC. Έπειτα από λειτουργική και γενετική ανάλυση παρουσιάστηκε σύνδεση μεταξύ της παραγωγής τοξίνης Shiga και της απελευθέρωσης φάγων και εκτός από αυτό παίζουν σημαντικό ρόλο στη διάγνωση κάποιας ασθένειας, καθώς ορισμένοι τύποι/υποτύποι της τοξίνης Shiga συνδέονται επιδημιολογικά με πολλές κλινικές εμφανίσεις της μόλυνσης από STEC (Krü and Lucchesi 2015). Ο ρόλος των γονιδίων stx είναι ότι βοηθούν και επιτρέπουν στα περισσότερα STEC στελέχη να προσκολλώνται, να αποικίζουν, να παράγουν και να εκκρίνουν τοξίνες (Yang et al. 2020). Η μεταφορά των Stx που γίνεται με την βοήθεια των βακτηριοφάγων αναγνωρίστηκε τη δεκαετία του 1980 και οι φάγοι που έφεραν το Stx απομονώθηκαν και αναλύθηκαν. Την δεκαετία του 1990 επιβεβαιώθηκε από επιστημονικές μελέτες ότι τα stx έχουν αλληλουχία και γονιδιακή οργάνωση παρόμοια με εκείνη των λαμβδοειδών φάγων (Krü and Lucchesi 2015). (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Στη λυσογονική κατάσταση, το DNA του φάγου stx ενσωματώνεται στο χρωμόσωμα STEC και η λειτουργία των περισσότερων γονιδίων φάγων stx αναστέλλεται καθώς όμως με ταυτόχρονη παραγωγή τοξίνης εξωτερικών παραγόντων επαγωγής μπορεί να προκαλέσει τον θάνατο ευκαρυωτικών κυττάρων (Krü and Lucchesi 2015).

Η κυτταροτοξική δραστηριότητα στα Vero κύτταρα είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό των στελεχών STEC που οφείλεται κυρίως στην παραγωγή τοξινών Shiga ενώ η διαφορετικότητα της βεροτοξικότητας που έχει εμφανιστεί στις καλλιέργειες στελεχών STEC έχει συσχετιστεί με τον αριθμό και/ή τον τύπο ή τον υπότυπο των γονιδίων stx που φέρονται από το στέλεχος STEC (Krü and Lucchesi 2015).

Τα πιο σημαντικά γονίδια που μελετώνται και παίζουν καθοριστικό ρόλο στη παθογένεια της STEC ονομαστικά είναι τα eae, ehxA.

Γονίδιο eae

Προέρχεται από την *E.coli* με βλάβη A/E και έχει τη δυνατότητα να κωδικοποιεί την ιντιμίνη, πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης (Yang et al. 2020). Οι βλάβες A/E χαρακτηρίζονται από λειτουργίες όπως τοπική εξάλειψη μικρολάχνων, στενή προσκόλληση βακτηρίων και αναδιοργάνωση νηματοειδούς ακτίνης (Yang et al. 2020). Κατά το αρχικό στάδιο σχηματισμού αλλοιώσεων A/E, η προαναφερόμενη πρωτεΐνη EspA έχει τη δυνατότητα να αλληλοεπιδρά με το κύτταρο ξενιστή και να είναι ένα από τα μέλη που βοηθούν στο σχεδιασμό της ένωσης των επιθηλιακών κυττάρων με την επιφάνεια των βακτηρίων (Sedighian Rad et al. 2013). Το προαναφερόμενο γονίδιο αποτελείται από 2800 νουκλεοτίδια και βρίσκεται στον τόπο εξάλειψης εντεροκυττάρων (Yang et al. 2020). Μέσω της συγκεκριμένης ένωσης δημιουργείται μια λεγόμενη “γέφυρα” από την οποία η πρωτεΐνη Tir μεταφέρεται στο κύτταρο ξενιστή και δρα ως υποδοχέας για μια ενσωματωμένη πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης που ονομάζεται Intimin/Ιντιμίνη (Sedighian Rad et al. 2013).

Έπειτα από βιοχημικές κυρίως έρευνες βρέθηκε ότι η ιντιμίνη μπορεί αρχικά να υποδιαιρεθεί σε τρεις περιοχές (εύκαμπτη N-τερματική περιοχή, κεντρική μεμβράνη και εκτεθειμένη στην επιφάνεια C-τερματική περιοχή) και έχουν προκύψει τουλάχιστον έξι διαφορετικοί ορότυποι της ιντιμίνης (Int-α, β, γ, δ, ε και θ) οι οποίοι διαφέρουν ως προς την αλληλουχία της καρβοξυ-τελικής περιοχής δέσμευσης κυττάρων (Sedighian Rad et al. 2013). Το N-τερματικό της πρωτεΐνης ιντιμίνης είναι σταθερό ενώ το C-τερματικό της όπου γίνεται η κυτταρική δέσμευση είναι μεταβλητό. Λόγω αυτής της ιδιότητας του N-τερματικού και του C-τερματικού οι 6 ορότυποι διαιρούνται σε 30 υπότυπους (α1, α2, α8, β1, β2, β3, γ1, γ2, ε1, ε2, ε3, ε4, ξ, z, z3, η, η2, θ, τ, ι1, ι2, κ, λ, μ, ν, ο, π, ρ, σ) που προκαλούν διαφορετικές ιστοπαθολογικές βλάβες A/E (Yang et al. 2020).

Αρκετές μελέτες έχουν καταλήξει στη συσχέτιση μεταξύ των οροτύπων και συγκεκριμένων υποτύπων της ιντιμίνης. Πιο αναλυτικά, οι ορότυποι O157:H7 και O145:H28 έχουν συνδεθεί με τον υποτύπο eae-γ1, ενώ το O26:H11 συχνά φέρει eae-β1. Αυτοί οι ορότυποι αναφέρονται συχνότερα σε παγκόσμιες περιπτώσεις δυσεντερίας και HUS που προκλήθηκαν από STEC καθιστώντας το γονίδιο eae ένα πολύτιμο εργαλείο για την αξιολόγηση του κινδύνου και την πρόβλεψη της έκβασης της νόσου (Yang et al. 2020).

Γονίδιο ehxA

Το γονίδιο ehxA ή αλλιώς η αιμολυσίνη βρίσκεται συνήθως προσκολλημένο στο πλασμίδιο, σχετίζεται ιδιαίτερα με το σύνδρομο HUS καθώς έχει την ιδιότητα να συνδέεται με της Shiga τοξίνες και χαρακτηρίζεται ως επιδημιολογικός δείκτης ανίχνευσης των στελεχών STEC (Fu et al. 2018). Κατά την μελέτη και έρευνα πάνω στο γονίδιο ehxA έχουν δημιουργηθεί φυλογενετικά δέντρα τον αλγόριθμο γειτονικής ένωσης και τους αλγόριθμους μέγιστης πιθανότητας που έδειξαν ότι όλες οι αλληλουχίες ehxA εμπίπτουν σε τρεις φυλογενετικές ομάδες, που ονομάζονται ομάδα I, ομάδα II και ομάδα III. Στις ομάδες αυτές ανήκουν ορότυποι της STEC σχετιζόμενοι με μολύνσεις σε ζώα και ανθρώπους. Από την ομάδα I ξεχωρίζουν οι ορότυποι O130, O116 , O140 και O144, από την ομάδα II οι ορότυποι O157 και O103 ενώ από την III οι ορότυποι O145 και O136 (Fu et al. 2018).

Διακρίνεται σε 4 διαφορετικούς τύπους :

- i. Alpha-hemolysin (hlyA)
- ii. Silen-hemolysin (sheA)
- iii. Bacteriophage-associated hemolysin (ehlyA)
- iv. Plasmid-carried hemolysin (ehxA)

Γονίδιο aggR

Το γονίδιο αυτό είναι μέλος της γενικής κατηγορίας γονιδίων AraC που έχουν την ιδιότητα να λειτουργούν ως μεταγραφικοί ενεργοποιητές έπειτα από κωδικοποίηση από το πλασμίδιο λοιμογόνου δράσης pAA (Muniesa et al. 2012;(Andreoletti et al. 2014);(Prieto et al. 2021). Αρχικά ονομαζόταν aar, και χαρακτηριζόταν από την έκκριση μιας πρωτεΐνης που λειτουργούσε κατά της συσσωμάτωσης, αλλά αργότερα μετονομάστηκε διασπορίνη ,πρωτεΐνη προσκολλημένη στο στρώμα λιποπολυσακχαρίτη (LPS) που έχει ρυθμιστικό ρόλο στο σύστημα νηματίων AAF (Muniesa et al. 2012). Το γονίδιο aggR έχει επίσης τη δυνατότητα κωδικοποίησης των κροσσών αθροιστικής προσκόλλησης (AAF). Τα AAF είναι απαραίτητα για την διαδικασία της προσκόλλησης σε ανθρώπινα εντερικά εκφυτεύματα και προκαλούν τόσο απελευθέρωση κυτοκίνης όσο και άνοιγμα στενών συνδέσεων επιθηλιακών κυττάρων (Boisen et al. 2019).

1.3.3.2 Τοξίνες

Όλα τα γένη της STEC εκκρίνουν Shiga-toxins, Vero-toxins ή αλλιώς ονομαζόμενες Verocyto-toxins οι οποίες είναι υπεύθυνες για την δράση του λοιμογόνου παράγοντα και αποτελούνται από τουλάχιστον 10 τύπους από τους οποίους όμως δεν έχουν συνδεθεί όλοι με ασθένειες που έχουν προκληθεί και καταγραφεί (Krü and Lucchesi 2015). Οι τοξίνες είναι τύπου AB₅ βακτηριακές πρωτεϊνικές τοξίνες, όπου A 32kDa είναι μια υπομονάδα με ενζυμική δραστηριότητα και B 7,7 kDa πέντε υπομονάδες με την δυνατότητα να λειτουργούν ως δεσμευτικοί κρίκοι για τους υποδοχείς στο κύτταρο που είναι το σφαιροτριασλοκεραμίδιο (Gb3) και το σφαιροτετρασλοκεραμίδιο (Gb4) τα οποία βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια των ανθρώπων και των θηλαστικών ζώων (Amézquita-López et al. 2018). Η κάθε πρωτεϊνική υπομονάδα αποτελείται από ένα μόριο πρωτεΐνης που συντίθεται με άλλα πρωτεϊνικά μόρια και φτιάχνουν το πρωτεϊνικό σύμπλοκο (Gore and Pandit 2011). Η A υπομονάδα εσωτερικεύεται στο κύτταρο μεταφέρεται στο σύμπλεγμα Golgi και στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Castro et al. 2017) όπου διασπάται από την θρυψίνη σε 2 μέρη, το ενζυμικό κομμάτι A1 (~27 kDa) και ένα καρβοξυ-τελικό κομμάτι A2 (~4 kDa) το οποίο λειτουργεί ως συνδετικός κρίκος μεταξύ A1 και B υπομονάδας (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Ο τρόπος που δρουν οι AB₅ πρωτεϊνικές τοξίνες έχει ως κύριο βήμα την δέσμευση τους σε ένα σύμπλεγμα υδατανθράκων που συνήθως είναι το γλυκολιπίδιο για την ενδοκυτταρική μεταφορά τους με την βοήθεια της B υπομονάδας μέσα στο “κύτταρο-στόχο” (Bryan, Youngster, and McAdam 2015). Η κυκλοφορία των τοξινών Stx από το έντερο στο όργανο/στόχο συνδέεται με τα ώριμα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα λειτουργώντας ως φορείς με δύο τρόπους την παρακυτταρική μεταφορά με τη μετανάστευση ουδετερόφιλων (PMN) και την ανεξάρτητη διακυττάρωση του Gb3 πριν ελευθερωθεί στο αίμα (Joseph et al. 2020).

Οι Shiga-toxins έχουν κοινές ενζυμικές και δομικές λειτουργίες, διαφορετική τις πρωτεϊνική αλληλουχία, βιολογική δράση και ορολογική αντιδραστικότητα και για το λόγο αυτό διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τις Stx1 και Stx2 (Amézquita-López et al. 2018).

Η κάθε ομάδα έχει χαρακτηριστικούς ορότυπους:

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση Stx1, Stx2 ομάδων τοξινών και οι ορότυποι τους

Stx1	Stx2
Stx1a, Stx1c, Stx1d	Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g

Ανάλυση Stx1 και Stx2

Η ομάδα των Stx1 τοξινών προέρχεται και σχετίζεται με την *Shigella dysenteriae* toxin με διαφορά ενός αμινοξέος, καθώς οι Stx2 τοξίνες χαρακτηρίζονται από αρκετά διαφορετικά είδη τοξινών βάση αλληλουχίας των αμινοξέων (Bryan et al. 2015). Από τις παραπάνω τοξίνες του Πίνακα 1 σύμφωνα με έρευνες η Stx2 είναι πιο μολυσματική από την Stx1 (Henderson et al. 2021), καμία όμως δεν στοχεύει στους ίδιους ιστούς και όργανα (Bryan et al. 2015). Από την ομάδα των Stx1, η Stx1a είναι εκείνη που συνδέεται με τα περισσότερα κρούσματα πάθησης από το σύνδρομο HUS, ενώ η Stx1c σχετίζεται με ήπιες ασυμπτωματικές νόσους καθώς η Stx1d μπορεί να συσχετιστεί με ανθρώπινες ασθένειες χωρίς όμως να μπορεί να αναλυθεί και να μελετηθεί κλινικά (Henderson et al. 2021)(Amézquita-López et al. 2018). Από τους ορότυπους των Stx2, ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στα στελέχη των Stx2a, Stx2b, Stx2c και Stx2d τα οποία είναι ικανά για πρόκληση σοβαρών ασθενειών όπως είναι η αιμορραγική διάρροια αλλά και το αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο ενώ η Stx2e τοξίνη συσχετίζεται με αρκετά ήπιες ή μηδενικής μορφής ανθρώπινη λοίμωξη σε αντίθεση με τις Stx2f και Stx2g που δεν παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον (Amézquita-López et al. 2018). Η Stx2e έχει επίσης συσχετιστεί με ασθένεια οιδήματος σε χοίρους ενώ η Stx2f έχει βρεθεί σε απομονώσεις STEC από περιστέρια (Eklund, Leino, and Siitonen 2002).

Σε γενικές γραμμές οι Stx2a και Stx2d τοξίνες φέρουν μεγαλύτερη μολυσματική δόση και μελετώνται περισσότερο από τις υπόλοιπες (Amézquita-López et al. 2018).

Τα περισσότερα στελέχη STEC που έχουν την ικανότητα να παράγουν τοξίνες προέρχονται κυρίως από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως είναι η μικρή ποσότητα περιβαλλοντικού σιδήρου, η έκκριση στρεσογόνων και η παρουσία αντιβιοτικών που στοχεύουν στην σύνθεση του DNA (Bryan et al. 2015). Η παραγωγή αυτή σχετίζεται με τα γονίδια του λ-προφαγικού γονιδιώματος και έχουν ως στόχο την

απομόνωση ενός στελέχους αδερίνης εντός του 28S r-RNA μιας 60S ευκαρυωτικής ριβοσωματικής υπομονάδας, γεγονός που θα οδηγήσει στην ενεργοποίηση της απόπτωσης και παράλληλης απενεργοποίησης της πρωτεϊνικής σύνθεσης (Bryan et al. 2015).

Ορότυποι τοξινών

Ορότυπος ονομάζεται ένας δείκτης γονιδιωματικού περιεχομένου ενός στελέχους STEC (Werber and Scheutz 2019).

Συγκεκριμένα στελέχη E.coli έχουν περιγραφεί και καθοριστεί έπειτα από κλινικές μελέτες με την βοήθεια ενός ορότυπου προσδιορισμού ειδικών επιφανειακών αντιγόνων (Bryan et al. 2015). Βασικά αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στην οροτυποποίηση της STEC είναι ο σωματικός λιποπολυσακχαρίτης O ή αντιγόνο O (Ohne) και το μαστιγωτό ή αντιγόνο H (Hauch), τα οποία συνδέονται άμεσα με παράγοντες λοιμογόνου δράσης και το καψικό ή αντιγόνο K (Kapsule) το οποίο παίζει δευτερεύοντα ρόλο (Bryan et al. 2015).

Ο πιο κοινός ορότυπος STEC που ανιχνεύθηκε αρχικά στη Βόρεια Αμερική και στην συνέχεια στην Ευρώπη είναι ο O157:H7, καθώς μετά από μία σειρά κλινικών ερευνών παρατηρήθηκε συσχέτιση μιας κυτταροτοξικής επίδρασης στα κύτταρα Vero52 η οποία οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η κυτταροτοξίνη Vero, η τοξίνη Shiga, και η τοξίνη O157 ταυτίζονται (Bryan et al. 2015). Εκτός του ορότυπου O157 έχουν αποτυπωθεί σχεδόν άλλοι 470 διαφορετικοί ορότυποι STEC, εκ των οποίων περισσότεροι από 100 είναι ικανοί να προκαλέσουν κάποια ανθρώπινη ασθένεια ή λοίμωξη και είναι γνωστοί ως non157 (Werber and Scheutz 2019). Μερικά από τα στελέχη STEC ,τα non O157 μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες, άλλα συνδέονται με ήπια συμπτώματα κάποιας πιθανής λοίμωξης και άλλα δεν έχουν καμία επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό (Franz et al. 2015).

Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στην δημιουργία μίας ταξινόμησης ενός οροπαθότυπου (SPT) STEC, η οποία βασίζεται στη συσχέτιση κάθε ορότυπου με ανθρώπινες επιδημίες, με το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο HUS ή αντίστοιχα με μηδενική ανίχνευση συμπτωμάτων ή ασθενειών (Franz et al. 2015).

Πίνακας 2. Ονοματολογία ομάδων SPT και ταξινόμηση ορότυπων βάση λοιμογόνου δράσης

Ομάδα οροπαθότυπου SPT	Ορότυπος	Εμφάνιση
A	O157:H7	Αιμορραγική κολίτιδα (HC) και το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS)
B	O26, O111, O103, O145 O144	Συσχέτιση με επιδημίες αλλά και με εμφανίσεις αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου HUS, σπανιότερα όμως από εκείνα του οροπαθότυπου A.
C	O91:H21, O104:H21, O113:H21, O5, O121, O165:H25	Μερικά κρούσματα HUS αλλά όχι με επιδημίες
D	12 ορότυποι	Ήπια εμφάνιση διάρροιας
E	14 ορότυποι	Καμία σύνδεση με ανθρώπινη ασθένεια, απομόνωση μόνο από ζώα.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας των Τροφίμων (EFSA) η παραπάνω ταξινόμηση δεν ορίζει τα παθογόνα στελέχη STEC ούτε τα κατηγοριοποιεί σε κάποια λίστα παθογόνων ορότυπων, απλά χαρακτηρίζει το κάθε στέλεχος βάση της πολυπλοκότητας του σε ομάδα λόγω γενετικών ιδιοτήτων που προκαλούν ασθένεια (Franz et al. 2015).

Ο επιπολασμός των οροομάδων αυτών της STEC διαφέρει γεωγραφικά. Πιο αναλυτικά για παράδειγμα στην Αυστραλία, τα στελέχη STEC που εμφανίζονται κυρίως είναι όπου το O111 και το O26 ενώ στην ΕΕ οι πιο κοινές οροομάδες O157, O26, O111, O103 και το O145 . Επιπλέον, η σημασία της οροομάδας O182 ολοένα και αυξάνεται, παρουσιάζοντας μεγαλύτερη αύξηση μεταξύ των έτων 2011 και 2013 στην Ε.Ε (Heredia and García 2018).

1.4 Πηγές μόλυνσης της STEC

Το στέλεχος STEC της *E. coli* όπως έχει ήδη αναφερθεί χαρακτηρίζεται ως η κυρίαρχη μη παθογόνος χλωρίδα του ανθρώπινου εντέρου καθώς βοηθά στην παραγωγή βιταμινών και έχει την δυνατότητα να ανταγωνίζεται και να καταστέλλει την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων (Heredia and García 2018). Υπάρχουν όμως ορισμένα στελέχη τα οποία έχουν αναπτύξει την ικανότητα να προκαλούν ασθένειες στο γαστρεντερικό, ουροποιητικό ή κεντρικό νευρικό σύστημα με την ιδιότητα λοιμογόνου δράσης (Heredia and García 2018).

Οι ασθένειες που σχετίζονται με την Shiga Toxin-producing *E. coli* έχουν παγκόσμιο αντίκτυπο καθώς τα κρούσματα έχουν καταγραφεί και στην συνέχεια μελετηθεί και στις 6 κατοικημένες ηπείρους (Bryan et al. 2015).

1.4.1 Τρόφιμα

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος εξάπλωσης του βακτηρίου STEC αποτελεί η κατανάλωση μολυσμένων προϊόντων διατροφής. Επίσης, αρκετά συχνή αιτία μετάδοσης τους STEC αποτελεί η διαδικασία της σφαγής αλλά και η ελλιπή επεξεργασία και μαγειρέματος των τροφίμων (Bryan et al. 2015).

Παρακάτω θα αναλυθούν οι κυριότεροι τρόποι μετάδοσης της STEC ανά κατηγορία τροφίμων.

Κρέας

- Ελλιπώς μαγειρεμένο βόειο, πρόβιο, κατσικίσιο ή χοιρινό τεμάχιο ή παρασκεύασμα κρέατος
- Έτοιμα προς κατανάλωση συσκευασμένα κρέατα

Μεταξύ των διαφορετικών τεμαχίων και παρασκευασμάτων κρέατος που προσφέρονται στο εμπόριο, ο κιμάς αποτελεί το πιο επιβλαβές και επικίνδυνο παρασκεύασμα επειδή μπορεί να μολυνθεί εκτός των άλλων και κατά τη λειτουργία της άλεσης (Etcheverría and Padola 2013). Ο κίνδυνος αυτός σχετίζεται με την αντοχή της *E. coli* στη θερμότητα κατά τη διαδικασία μαγειρέματος, καθώς ο οργανισμός έχει την δυνατότητα να προστατεύεται μέσα στο σώμα του αναμορφωμένου κρέατος (Etcheverría and Padola 2013).

Γαλακτοκομικά προϊόντα

- Μη παστεριωμένο/ωμό γάλα
- Κατεργασμένο γάλα σε χαμηλή θερμοκρασία
- Μαλακά τυριά και λοιπά γαλακτοκομικά προϊόντα (γιαούρτι) από ωμό γάλα

Φρούτα και λαχανικά

- Ελλιπώς καθαρισμένα φρούτα και λαχανικά
- Μη παστεριωμένος μηλίτης και χυμός φρούτων ή και λαχανικών

Κατά κύριο λόγο η επιμόλυνση φρούτων και λαχανικών γίνεται μέσω της απόρριψης κοπράνων μολυσμένων ζώων σε ελεύθερο περιβάλλον που προκαλεί μόλυνση νερού και υδραγωγικού συστήματος το οποίο σε συνδυασμό με το μη σωστό φιλτράρισμα του ήδη προαναφερόμενου νερού επιμολύνει τα φυτικά τρόφιμα κατά την ύδρευση τους (Beutin and Fach 2014).

Τα τελευταία χρόνια για την αντιμετώπιση του φαινομένου της παχυσαρκίας και άλλων επιπλοκών που προκύπτουν από την ανθυγιεινή διατροφή έχουν αναφερθεί λύσεις που σε συνδυασμό με τον ολοένα πιο γρήγορο και πολυάσχολο τρόπο ζωής έχουν καταστήσει πιο εύκολη και ευχάριστη την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών (Feng 2014). Η πιο συνηθισμένη λύση είναι οι “έτοιμες σαλάτες” που πωλούνται σε σακούλες και περιέχουν φρέσκο κομμένο ή ολόκληρο λαχανικό έτοιμο προς κατανάλωση χωρίς περαιτέρω βήματα παρέμβασης και αναφέρονται ως RTE (Ready To Eat) (Feng 2014). Ωστόσο, επειδή τα προϊόντα αυτά βρίσκονται εξωτερικά αλλά και εσωτερικά στο έδαφος είναι επιρρεπή σε μόλυνση και μπορεί να περιέχουν υψηλά επίπεδα πολύπλοκων μικροβιακών πληθυσμών καθώς και παθογόνων βακτηρίων που έχουν ως αποτέλεσμα μετά την κατάποση τους από τον καταναλωτή την πρόκληση τροφογενών ασθενειών (Feng 2014).

Υπόλοιπα

- Κατανάλωση ωμής ζύμης/κουρκουτιού
- Έτοιμη ζύμη μπισκότου ή πίτας

1.4.2 Ζώα

Η φυσική πηγή του στελέχους STEC είναι κυρίως η γαστρεντερική οδός των βοοειδών αλλά και άλλων οικόσιτων ζώων όπως πρόβατα, κατσίκες ακόμα και ελάφια που ενώ είναι αδύνατο να προκαλέσει ασθένεια στα ίδια τα ζώα διότι δεν φέρουν τους υποδοχείς στους οποίους προσκολλάται η Shiga Toxin παραμένουν όμως δότες της μόλυνσης (Bryan et al. 2015). Ενώ ισχύει αυτό όμως για τα απογαλακτισμένα και ενήλικα ζώα, το ακριβώς αντίθετο συμβαίνει στα νεογέννητα κυρίως μοσχάρια στα οποία μπορεί να προκληθεί διάρροια αλλά και άλλες οργανικές βλάβες παρόμοιες με του ανθρώπου (Σπηλιώτης and Γιαβάσης 2010). Πλην των παραπάνω πληροφοριών μετάδοσης έπειτα από κατάποση μολυσμένου τροφίμου η μόλυνση από STEC μπορεί να προέλθει μέσω άμεσης επαφής με ζώα που είναι μολυσμένα ενώ επίσης σημαντική πηγή αποτελεί το χαίδεμα ζώων σε ζωολογικούς κήπους, φάρμες, αγροκτήματα ακόμη και κατοικίδιων στα οποία δεν έχει ανιχνευθεί το στέλεχος (Bryan et al. 2015). Στην εξάπλωση του στελέχους παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο η οικογένεια των πτηνών και εντόμων όπου αρκετές φορές λόγω της περιπλάνησης τους και της επαφής του με αντικείμενα, επιφάνειες, φυτά αλλά και άλλα ζώα επιτρέπουν τη διασπορά και την εξάπλωση του STEC σε ευρύτερες γεωγραφικές περιοχές (Beutin and Fach 2014).

1.4.3 Νερό και Περιβάλλον

Η πρόκληση λοίμωξης από το νερό και γενικά το περιβάλλον προέρχεται κυρίως μέσω χρήσης μολυσμένου νερού άρδευσης στην παραγωγή προϊόντων το οποία με τη σειρά του μπορεί να επιμολύνει και το έδαφος στο οποίο κυκλοφορεί αυτό. Ιδιαίτερα καθοριστικό ρόλο μπορεί να διαδραματίσει η κατάποση νερού από τον άνθρωπο από πηγές όπως οι λίμνες γλυκού νερού , η θάλασσα και οι πισίνες, αλλά και το νερό που χρησιμοποιείται σε υδάτινα πάρκα ψυχαγωγίας (Σπηλιώτης 2019). Ο μη σωστός καθαρισμός του νερού στις διασωληνώσεις του που γίνεται μέσω φίλτρων και προορίζεται για ανθρώπινη χρήση αποτελεί κύρια πηγή μόλυνσης από το στέλεχος STEC. Το περιβάλλον εργασίας κρίνεται αρκετά επικίνδυνο αφού θα μετατραπεί σε μολυσμένο μετά την επαφή του επίφοβα φαγητά και πρώτες ύλες , ακόμα και με μολυσμένο νερό που κυκλοφορεί στην παραγωγή.

1.4.4 Άνθρωπος

Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι ασθένειες που προκαλεί η Shiga Toxin-producing *E.coli* επηρεάζουν κυρίως τον ανθρώπινο πληθυσμό, παράλληλα όμως ο ίδιος είναι κατά ένα πολύ σημαντικό ποσοστό υπεύθυνος για την εξάπλωση της.

Συγκεκριμένα οι παράγοντες που συνδέουν των άνθρωπο με την μετάδοση της STEC είναι:

- Επαφή με μολυσμένα ζώα ή περιττώματα αυτών
- Επαφή με κόπρανα άλλου ανθρώπου (συνήθως σε παιδικούς σταθμούς, οίκους ευγηρίας, κέντρα ημερήσιας φροντίδας και νοσοκομεία)
- Επαφή με το φυσικό περιβάλλον το οποίο περιλαμβάνει ζώα
- Μη επαρκής καθαρισμός σκευών
- Κατάποση φαγητού προετοιμασμένο από άνθρωπο που δεν έχει προβεί προηγουμένως στην σωστή ατομική υγιεινή

Η STEC στα ζώα όπως και στους ανθρώπους αρχικά πρέπει να εισέλθει από την στοματική κοιλότητα για να προκαλέσει κάποια μόλυνση και στην συνέχεια αποβάλλεται μέσω του εντερικού συστήματος (Etcheverría and Padola 2013). Τα απόβλητα αυτά μολύνουν το νερό, και την επιφάνεια με την οποία έρχεται σε επαφή το άτομο ή αντίστοιχα το φυσικό περιβάλλον που βρίσκεται το ζώο. Όλα ξεκινάνε από τον λεγόμενο «χειριστή» εκείνης της στιγμής ο οποίος αν παραλείψει την σωστή ατομική υγιεινή που περιλαμβάνει τον καθορισμό και απολύμανση των χεριών ή αν ξεχάσει να καθαρίσει τα σκεύη, τον πάγκο εργασίας μέσω των οποίων μπορεί επιμολύνει το τρόφιμο και τον χώρο εργασίας η διασπορά του στελέχους θα αυξηθεί. Οι δύο τελευταίες κατηγορίες πηγών μόλυνσεων σχετίζονται άμεσα καθώς δημιουργούν έναν κύκλο ο οποίος κυρίως εξαρτάται από την επαφή του ανθρώπου με κάποιο μολυσματικό παράγοντα και έπειτα από την κατάποση του με κάποιο τρόπο (κυρίως μέσω της τοποθέτησης των χεριών στο στόμα).

1.5 Χαρακτηριστικά της ασθένειας – Συμπτώματα

Ο χρόνος από την κατάποση του βακτηρίου μέχρι την πρώτη εμφάνιση κάποιου συμπτώματος ή αδιαθεσίας πριν την εμφάνιση αυτού ονομάζεται περίοδος επώασης και συνηθίζεται να είναι 3-4 ημέρες αφότου γίνει η έκθεση του οργανισμού στο βακτήριο ενώ δίνεται σαν ενδεικτικό εύρος 1 έως 10 ημέρες (Iowa Department of Public Health 2018). Τα συμπτώματα/ενδείξεις μόλυνσης αρχικά ξεκινούν αργά και με ήπιο τρόπο με την μορφή κοιλιακών κραμπών ή και μη αιματηρής διάρροιας που στην συνέχεια συνήθως επιδεινώνεται και εξελίσσεται στις περισσότερες περιπτώσεις σε αιματηρή διάρροια (Iowa Department of Public Health 2018)(IFAD 2018).

Η λοίμωξη από Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) χαρακτηρίζεται από ποικίλα κλινικά συμπτώματα που είτε έχουν ήπια εμφάνιση όπως η μη αιμορραγική διάρροια η οποία δεν συνδέεται με πυρετό είτε από πιο σοβαρές εκδηλώσεις που είναι η αιμορραγική διάρροια και το ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο (Hemorrhagic Uremic Syndrome, HUS) (David Greenwood et al. 2010). Τα συμπτώματα προσβολής από STEC εμφανίζονται από 1 έως 10 ημέρες μετά την έκθεση του οργανισμού στο βακτήριο ενώ κατά μέσο όρο στις περισσότερες περιπτώσεις χρειάζονται 3-4 ημέρες να εκδηλωθούν (Virginia Department of Health 2018).

Αναλόγως της μολυσματικής δόσης και διάφορων άλλων παραγόντων που θα αναλυθούν περαιτέρω στην συνέχεια τα συμπτώματα ποικίλουν και σχετίζονται με κοινές ενδείξεις νόσησης του γαστρεντερικού συστήματος όπως:

- Διάρροια (συνήθως αιματηρή)
- Μειωμένη ούρηση
- Κοιλιακές κράμπες
- Ναυτία
- Εμετός
- Κρυάδες
- Πυρετός
- Σωματική κόπωση

Πρέπει να αναφερθεί πως έχουν σημειωθεί και μη συμπτωματικές κλινικές περιπτώσεις μόλυνσης από το στέλεχος STEC που ανιχνεύθηκε στη συνέχεια μέσω ιατρικών και εργαστηριακών εξετάσεων (Iowa Department of Public Health 2018).

Μια από τις συνηθέστερες επιπλοκές που μπορεί να εμφανιστεί αρχικά με λοίμωξη από το στέλεχος STEC ονομάζεται Αιμολυτικό Ουραιμικό Σύνδρομο (Haemolytic Uremic Syndrome HUS) και χαρακτηρίζεται ως μια νεφρική νόσος που μπορεί να οδηγήσει μέχρι και σε νεφρική ανεπάρκεια ή θάνατο (Iowa Department of Public Health 2018).

Αιμολυτικό Ουραιμικό Σύνδρομο (Haemolytic Uremic Syndrome HUS)

Η πρώτη αναφορά του αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου (Haemolytic Uremic Syndrome HUS) έγινε το 1955 σε μία εργασία του Ελβετού παιδίατρο Conrad von Gasser αλλά επισημοποιήθηκε το 1982 από τον Karmali και την ομάδα του που συνέδεσαν το διαρροϊκό HUS που ήταν μέχρι τότε άγνωστης προσέλευσης με μια τοξίνη παραγόμενη από την *E.coli* παραβρισκόμενη σε κόπρανα μολυσμένων ανθρώπων, κατά βάση παιδιών (Joseph et al. 2020). Το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS) είναι ένα κλινικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από μη ανοσολογική αιμολυτική αναιμία, θρομβοπενία και οξεία νεφρική βλάβη που αποτελεί την βασική αιτία θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας, η οποία επηρεάζει κυρίως το νεφρό συνήθως νεαρών ατόμων/παιδιών αλλά και υπόλοιπα όργανα, όπως πάγκρεας, μάτια, και καρδιά (Karpman et al. 2017). Η κύρια αιτία εμφάνισης και πάθησης από HUS αναφέρεται από γαστρεντερική μόλυνση με το στέλεχος STEC έπειτα από την πρώτη συσχέτιση του με κρούσμα αιμορραγικής κολίτιδας σε εστία στις Η.Π.Α το 1983 ενώ από τότε εμφανίζεται σε μεγαλύτερα ή μικρότερα κρούσματα ή σε σποραδικές περιπτώσεις (Karpman et al. 2017).

Κλινικά Χαρακτηριστικά

Όπως έχει ήδη προαναφερθεί το HUS στοχοποιεί και προσβάλλει κυρίως το νεφρό καθώς στο μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων, έως και το 50% απαιτεί αιμοκάθαρση με την ανάρρωση να κυμαίνεται από 1 έως 2 εβδομάδες ενώ σε ποσοστό 25-40% αναφέρονται περιπτώσεις που από συχνές νεφρικές παθήσεις που οδηγούν σε χρόνια νεφρική νόσο (Chronic Kidney Disease CKD)(Sheerin et al. 2019). Λίγο έπειτα από την εμφάνιση του HUS και ύστερα από κλινικές μελέτες διαχωρίστηκε σε δύο βασικές κατηγορίες : το D+HUS και το D-HUS (Canpolat et al. 2015). Το D+HUS είναι το θετικό στέλεχος προς την διάρροια δηλαδή το τυπικό HUS και το D-HUS το αρνητικό δηλαδή το άτυπο HUS, στην πορεία όμως παρατηρήθηκε πως ακόμα και στο D-HUS το κύριο σύμπτωμα του ασθενούς ήταν η διάρροια σε ποσοστό 25-30%, με αποτέλεσμα το τέλος της ταξινόμησης τυπικού και άτυπου HUS (Canpolat et al. 2015).

Περίπου το 50% των ασθενών που χαρακτηρίζεται θετικό σε HUS θα χρειαστεί αιμοκάθαρση ενώ το 75% θα χρειαστεί μετάγγιση αίματος. Σε ποσοστό 25% των ασθενών από HUS εμφανίζονται νευρολογικές επιπλοκές όπως το εγκεφαλικό , σπασμοί σε όλο το σώμα και στην χειρότερη περίπτωση το κώμα. Στις επιπλοκές αυτές σε σπάνιο επίπεδο εμφανίζεται η παγκρεατίτιδα και η περικαρδιακή συλλογή υγρού.

Πνευμονιοκοκκικό HUS

Αυτού του είδους HUS επηρεάζει κυρίως παιδιά με σοβαρή πνευμονιοκοκκική λοίμωξη, όπως για παράδειγμα πνευμονία ή εμπύημα, και σε πιο σοβαρές περιπτώσεις σηψαιμία, μηνιγγίτιδα, ηπατοκυτταρική βλάβη και/ή περιτονίτιδα με σημαντικότερο μηχανισμό την παραγωγή νευραμινιδάσης μέσω του πνευμονιόκοκκου (Sheerin et al. 2019). Η νευραμινιδάση αποτελεί ένζυμο που στην συγκεκριμένη περίπτωση εξαφανίζει το σιαλικό οξύ από τις περιεχόμενες γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας, εκθέτοντας το κρυπτικό αντιγόνο Thomsen- Friedenreich (T) με αποτέλεσμα το ίδιο να αναγνωριστεί από τα φυσικά αντισώματα IgM , ενεργοποιώντας έτσι τα αιμοπετάλια και το ενδοθήλιο (Sheerin et al. 2019). Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου είναι υπεύθυνη για την θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια (TMA), ασθένεια που χαρακτηρίζεται από σχηματισμό θρόμβων εμπλουτισμένων από αιμοπετάλια και ινώδη σε μικρά αγγεία που οδηγούν σε διαταραχές των ερυθρών κυττάρων (Sheerin et al. 2019). Με την εμφάνιση του πνευμονιοκοκκικού αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου συχνά συνεπάγεται και η εμφάνιση της TMA η οποία σε συνδυασμό με άλλες ασθένειες όπως μηνιγγίτιδα, ιγμορίτιδα και ωτίτιδα παρουσιάζουν ποσοστό μετάγγισής αίματος κυρίως σε παιδιά έως και 75% και ποσοστό θνησιμότητας πολύ πιο υψηλό από ότι το κοινό HUS που έχει προκληθεί από το στέλεχος STEC (Sheerin et al. 2019).

Άτυπο HUS / D-HUS

Η άτυπη μορφή HUS ή αλλιώς μη μολυσματική προκαλείται από την υπερβολική ενεργοποίηση ενός συμπληρώματος που υπό κανονικές συνθήκες μπορεί να ελεγχθεί από τον οργανισμό, λόγω όμως κληρονομικών ή γεννητικών ελαττωμάτων του οργανισμού η μεσολάβηση του δεν μπορεί να κριθεί ως ελέγξιμη (Sheerin et al. 2019). Θεωρείται κληρονομικό πρόβλημα προκαλώντας κυρίως νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου με αρκετές επιπτώσεις στο νευρολογικό σύστημα με πρόιμη θνησιμότητα 10-25% (Conway 2015). Η κληρονομικότητα του άτυπου HUS οφείλεται σε μεταλλάξεις

γονιδίων που έχουν ως λειτουργία να κωδικοποιούν τα συστατικά του συμπληρώματος ή να αλλάζουν την λειτουργία των (Conway 2015). Το συμπλήρωμα αυτό που ενεργοποιείται χωρίς έλεγχο το κάνει μέσω 3 τρόπων: την κλασική οδό Classical Pathway (CP), την λεκτίνη Lectin Pathway (LP) και την εναλλακτική οδό Alternative Pathway (AP) και συνδυάζει περισσότερες από 30 διαλυτές και προσκολλημένες στην μεμβράνη πρωτεΐνες που συνεργάζονται για την εξάλειψη παθογόνων κυττάρων (Conway 2015). Το άτυπο HUS χαρακτηρίζεται σαν νόσος από συχνά και έντονα συμπτώματα νόσου που οδηγούν κυρίως σε τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια με πολλές πιθανότητες υποτροπιασμού καθώς επίσης υπάρχουν κάποιες εξωφρενικές περιπτώσεις πρόκλησης γάγγραινας, στένωσης εγκεφαλικού ή περιφερικού αγγείου και διάφορες πνευμονικές και παγκρεατικές επιπλοκές (Karpman et al. 2017).

STEC και εγκυμοσύνη

Κατά τη περίοδο της εγκυμοσύνης η μητρική ανοσολογική απόκριση βοηθάει τις φυσιολογικές προσαρμογές για να αντέξει το ξένο έμβρυο. Ωστόσο όμως, πολλές παθοφυσιολογικές καταστάσεις μπορεί να διακόψουν την κανονική εξέλιξη της ανθρώπινης εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένων γενετικών και ενδοκρινολογικών ανωμαλιών. Μέχρι στιγμής ενώ δεν έχουν υπάρξει αναφορές για δημιουργία επιπλοκών στην γυναίκα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης που να σχετίζονται με το στέλεχος της STEC, έχουν εμφανιστεί περιπτώσεις νεογνικού HUS. Το νεογνικό HUS προκαλείται από την μετάδοση STEC από την μητέρα στο νεογνό κατά τη περίοδο του τοκετού. Το νεογνικό αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS) είναι αρκετά σπάνια επιπλοκή και χαρακτηρίζεται από μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία (ΜΗΑ) θρομβοπενία και νεφρική ανεπάρκεια. Έχουν αναφερθεί πολύ λίγες περιπτώσεις νεογνικού HUS μέχρι σήμερα ενώ αρκετά σημαντικό ρόλο αποτελεί η διαφοροποίηση του HUS με παρόμοια συμπτώματα από άλλες νεογνικές ασθένειες (Saikia et al. 2016).

1.6 Διάγνωση

Για την διάγνωση του στελεχούς STEC η πιο συνηθισμένη μέθοδος καλείται αυτή του εμπλουτισμού με την βοήθεια χρήσης συμπληρωμάτων με την δυσκολία όμως αναγνώρισης όλων των ορότυπων λόγω πολυπλοκότητας και ποικιλομορφίας των χαρακτηριστικών φαινότυπων της *E.coli* (Koutsoumanis et al. 2020).

Σε γενικά πλαίσια υπάρχουν δύο βασικοί τρόποι διαγνωστικών δοκιμασιών που βασίζονται στην κυτταροκαλλιέργεια, ο πρώτος είναι η απόδειξη κυτταροτοξικής Shiga-toxin παρουσίας σε στιβάδες κυττάρων Vero(VCA) και ο προσδιορισμός μεμονωμένων στελεχών που την δυνατότητα προσκόλλησης (Koutsoumanis et al. 2020). Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι ο δεύτερος τρόπος διάγνωσης δεν έχει ιδιαίτερα αξιόπιστα αποτελέσματα στην Shiga-toxin *Escherichia coli* και για αυτό το λόγο στην συνέχεια αντικαταστάθηκε από μια πιο σύγχρονη μέθοδο ανάλυσης, την PCR (Koutsoumanis et al. 2020).

Ανοσολογικές μέθοδοι διάγνωσης

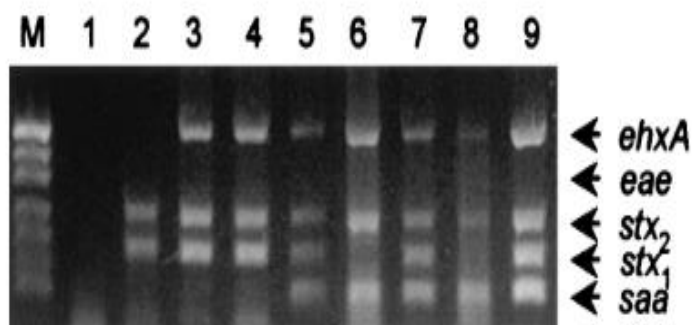
Η πορεία εξέτασης πρέπει να περιλαμβάνει σίγουρα καλλιέργεια κοπράνων σε όλους τους ασθενείς ανεξαρτήτου ιατρικού ιστορικού, φύλου, ηλικίας (Sheerin et al. 2019). Η μέθοδος Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays (ELISA) είναι απλή και εύκολη στην ερμηνεία και απαιτεί ελάχιστη επεξεργασία δείγματος , δίνει αποτελέσματα σε 30-50 ώρες και συνήθως συνδυάζεται με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction PCR) για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα (Jadhav, Bhave, and Palombo 2012). Η λήψη κοπράνων από τον ασθενή πρέπει να γίνεται εντός 6 ημερών από την εμφάνιση συμπτωμάτων και αν είναι εφικτό το συντομότερο δυνατό, ενώ σε περίπτωση που δεν μπορεί να παρθεί δείγμα με αυτό τον τρόπο, γίνεται με βαμβάκι από το ορθό (Bruyand et al. 2018).

Μοριακές μέθοδοι διάγνωσης

Η μοριακή μέθοδος είναι πλέον η καταλληλότερη μέθοδος ανίχνευσης σε κλινικά, ζωικά και τροφικά δείγμα λόγω ταυτοποίησης γονιδίων που έχουν την δυνατότητα να κωδικοποιούν την Shiga τοξίνη μέσω δειγμάτων κοπράνων αλλά και τροφίμων (Koutsoumanis et al. 2020).

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ή Polymerase Chain Reaction (PCR) αποτελεί την πιο κατάλληλη προσέγγιση για την ανίχνευση Shiga τοξίνης σε σύνθετα περιστατικά, ενώ με την ικανότητα αναγνώρισης περαιτέρω χαρακτηριστικών (εκτός της τοξίνης) όπως γονιδίων και άλλων χαρακτηριστικών με λοιμογόνο δράση γίνεται πιο εύκολη η ένδειξη παρουσίας στελεχών STEC πιθανά να προκαλέσουν σοβαρή ασθένεια (Koutsoumanis et al. 2020). Και ύστερα από το πέρας της χρονικής περιόδου παρουσίας διάρροιας είναι δυνατό να απομονωθούν βακτήρια για την πραγματοποίηση PCR και την μετέπειτα ανίχνευση γονιδίων της Shiga-toxin (Sheerin et al. 2019). Η διαδικασία αντίδρασης PCR πραγματοποιείται βάση συγκεκριμένης επιστημονικής βιβλιογραφίας η οποία αναγράφει την αλληλουχία των εκκινητών και των θερμικών προφίλ που θα χρησιμοποιηθούν στο τελικό σημείο ανίχνευσης, ενώ παράλληλα έχει αναπτυχθεί η Real Time PCR με την οποία γίνεται προσθήκη φθοροφόρων (χημικών ενώσεων φθορισμού) που βοηθούν σε πιο γρήγορη αναγνώριση (Koutsoumanis et al. 2020). Μέθοδοι βασισμένες σε Real Time PCR έχουν αναγνωριστεί και μεταφραστεί από τον Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης ISO (Koutsoumanis et al. 2020).

Στις ημέρες μας οι μέθοδοι που βασίζονται στη μοριακή βιολογία χρησιμοποιούνται κυρίως για επιδημιολογικές έρευνες εστιών αλλά και για τον έλεγχο και την παρακολούθηση της εξάπλωσης πιθανών παθογόνων παραγόντων. Μία όχι τόσο διαδεδομένη πιά μοριακή μέθοδος είναι η ηλεκτροφόρηση γέλης παλμικού πεδίου (PFGE) που χρησιμοποιείται για τον υποτύπο των στελεχών STEC (Lascowski et al. 2013). Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί αν στην διαδικασία ανίχνευσης βρεθούν περισσότερα από ένα γονίδια *stx* σε δείγμα φαγητού καθώς υπάρχει ένας προβληματισμός πως σε αυτή την περίπτωση δεν είναι ικανά να προκαλέσουν ανθρώπινη ασθένεια αφού υπάρχουν και οι φάγοι *stx* στα τρόφιμα που είναι ικανοί να οδηγήσουν σε ψευδή θετικά αποτελέσματα (Koutsoumanis et al. 2020).



Εικόνα 2. Αποτελέσματα ανάλυσης PCR ύστερα από καλλιέργεια κοπράνων. M: DNA size marker, 1 αρνητικός/εσφαλμένος έλεγχος, 2-8 δείγματα από ασθενείς με θετικό σε STEC αποτέλεσμα, 9 θετικός έλεγχος (W.Paton and C.Paton 2002).

Άλλες μέθοδοι διάγνωσης

Η διάγνωση περιλαμβάνει έπειτα από την δειγματοληψία των κοπράνων (εκτός της PCR μεθόδου) καλλιέργεια χρονικής διάρκειας 5 ημερών σε χρωμογόνο άγαρ ιδιαίτερα επιλεκτικό στον ορότυπο O157 αρνητικό στη σορβιτόλη όπως για παράδειγμα το MacConkey-Sorbitol ή το CHROMagar με σημαντικό μειονέκτημα τους φαινότυπους της STEC που ζυμώνουν την σορβιτόλη άρα δεν θα ανιχνευθούν με αυτή τη μέθοδο (Newell and La Ragione 2018). Σημαντικά στοιχεία στην διαδικασία διάγνωσης αποτελούν η διάρκεια της πρόδρομης φάσης, η παρουσία αιματηρής ή υδαρής διάρροιας, η ηλικία και το φύλο με ιατρικό αρχείο βασισμένο στον έλεγχο του αιματοκρίτη, αριθμό αιμοπεταλίων και σχιστοκυττάρων και μέτρηση γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH), κρεατινίνης και ουρίας (Balestracci 2021).

1.7 Θεραπευτικές μέθοδοι

Οι θεραπευτικές μέθοδοι έναντι της STEC αποτελούν πρόκληση για την δημόσια υγεία και το υγειονομικό σύστημα καθώς αποτελούν συνδυασμό νοσοκομειακής φροντίδας αλλά και ιατρικής εκπαίδευσης (Joseph et al. n.d.).

Σε γενικό πλαίσιο, στην περίπτωση εμφάνισης HUS στον ασθενή, η θεραπεία είναι υποστηρικτική και στοχεύει στην αιτία πρόκλησης της νόσου (Karpman et al. 2017). Πιο συγκεκριμένα η θεραπεία περιλαμβάνει φροντίδα κατά της νεφρικής ανεπάρκειας με περιτοναϊκή κάθαρση ή συνεχή αιμοκάθαρση, επαρκή ενυδάτωση και κατάλληλη διατροφή, αποκατάσταση ηλεκτρολυτών και περιορισμό υπέρτασης και επιληπτικών κρίσεων (Karpman et al. 2017). Από το ξέσπασμα του HUS στην Γερμανία το 2011(που θα αναλυθεί αργότερα) βγήκε το συμπέρασμα πως υπάρχει σοβαρή έλλειψη στην ειδική θεραπεία κατά του συνδρόμου εκτός της υποστηρικτικής φροντίδας του ασθενούς και δεν είχαν πραγματοποιηθεί αρκετές κλινικές δοκιμές βασισμένες σε κάποια θεραπευτική ιδέα σημαντική σαν την ειδικά θεραπεία μέσω αντισωμάτων αντί-Stx2 (Ibarrá, Amaral, and Palermo 2013). Αρκετές μελέτες είχαν βασιστεί στο φάρμακο SYNSORB Pk, που περιλαμβάνει ένα σωματίδιο του πυριτίου ομοιοπολικά συνδεδεμένο με έναν τρισακχαρίτη το οποίο μεσολαβεί στη μεταξύ σύνδεση της τοξίνης και της επιφάνειας των ενδοθηλιακών κυττάρων ενώ όμως παράλληλα οδηγεί στη δέσμευση της τοξίνης στο έντερο, γεγονός που δεν δίνει ελπίδες για θεραπευτική δράση (Amirlak and Amirlak 2006). Πρόσφατες έρευνες και δοκιμές σε ζωικούς

οργανισμούς έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα της ανάπτυξης τετρασθενών πεπτιδίων PPP-Tet και MMA-Tet, τα οποία προστατεύσαν τον οργανισμό από μια αρκετά μεγάλη δόση O157:H7, καθώς παρεμπόδισαν την διασπορά της κυτταροτοξικότητας και απέτρεψαν οποιαδήποτε επιπλοκή (Ibarra, Amaral, and Palermo 2013).

Η χορήγηση ισοτονικών υγρών λειτουργεί νεφροπροστατευτικά πριν και μετά την εμφάνιση του HUS με ιδιαίτερη προσοχή αφού έχουν την δυνατότητα να μειώνουν σε σημαντικά επίπεδα το προνεφρικό συστατικό της οξείας νεφρικής βλάβης λόγω αποβολής υγρών κατά την φάση της γαστρεντερικής βλάβης (Karpman et al. 2017).

Η χρήση διάφορων αντιδιαρροϊκών φαρμάκων και ειδικότερα αυτών που έχουν τη δυνατότητα να αναστέλλουν την κινητικότητα του εντέρου, φαίνεται να αντενδείκνυται καθώς παρατείνει το χρόνο παραμονής του μικροβίου στον εντερικό σωλήνα και κατά συνέπεια την έκθεση του οργανισμού στις Shiga τοξίνες. Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως στις περισσότερες περιπτώσεις επιδημιών η χορήγηση τέτοιων σκευασμάτων είχε ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη διάρκεια αιμορραγικής διάρροιας και μεγαλύτερα ποσοστά με HUS και αλλοιώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Χορήγηση αντισωμάτων

Τα αντισώματα αντί-Stx2 εμφανίζονται ως εξουδετερωτικά και ιδιαίτερα ιδανικά ώστε να σχηματίσουν σταθερά ανοσοσυμπλέγματα που μπορούν να καθарίσουν την τοξίνη αφού αυτή έρθει σε επαφή με τους υποδοχείς στους ιστούς (Ibarra et al. 2013). Η θεραπεία με την χρήση αντισωμάτων λειτουργεί αρκετά αποτελεσματικά διότι έχουν την δυνατότητα αρχικά να εξουδετερώνουν την κυτταροτοξικότητα της Shiga τοξίνης αλλά και να αποτρέπουν την περαιτέρω ανάπτυξη συμπτωμάτων αμέσως μετά την χορήγηση τους στην αρχή της μόλυνσης (Mühlen and Dersch 2020).

Ανταλλαγή πλάσματος

Η έγχυση και η ανταλλαγή πλάσματος σχετίζεται συχνά με την καταπολέμηση της STEC αποτελώντας παράλληλα μεγάλο επιστημονικό δίλημμα η αποτελεσματικότητα της καθώς ωφελούμενοι θεωρούνται κυρίως οι ενήλικοι ενώ τα παιδιά δεν εμφανίζουν κάποια θετική αναφορά (Karpman et al. 2017). Στο συμπέρασμα αυτό οδηγήθηκαν οι αρχές διότι γνωρίζοντας πως η Shiga-toxin δεν κυκλοφορεί σε ελεύθερη μορφή η ανταλλαγή πλάσματος είναι αδύνατη να επηρεάσει την πορεία της νόσου εκτός από το

στάδιο της αφαίρεσης τοξικών μικροκυστιδίων, προγλεφμονωδών προθρομβοτικών παραγόντων και αναπλήρωσης συμπληρώματος (Karpman et al. 2017). Σε περίπτωση που ο ασθενής προγνωστεί με HUS τα κύτταρα-στόχος έχουν ήδη υποστεί βλάβη, η ανταλλαγή πλάσματος δεν δρα αποτελεσματικά (Karpman et al. 2017)

Πρωτόγαλα

Μελέτες έχουν καταλήξει στο αποτέλεσμα ότι το βόειο πρωτόγαλα δρα ευεργετικά στη θεραπεία παιδιών από την τοξίνη Shiga αφού μείωσε τη διάρροια και εξαφάνισε σε σημαντικό βαθμό την περαιτέρω βακτηριακή μόλυνση (Mühlen and Dersch 2020). Επίσης άλλες επιστημονικές πειραματικές έρευνες κατέληξαν στο συμπέρασμα πως το βοοειδές πρωτόγαλα με προσθήκη αντισωμάτων Stx1 και Stx2 παρεμπόδισε τη βακτηριακή προσκόλληση, αποικισμό και ανάπτυξη σε μολυσμένο ποντίκι από Shiga-toxin producing *Escherichia Coli*, ενώ το πρωτόγαλα IgG απέτρεψε επιτυχώς τη θνησιμότητα του ορότυπου O157:H7 σε πείραμα πάνω σε ποντίκια (Mühlen and Dersch 2020).

Αντιβιοτικά

Οι απόψεις πάνω στην χορήγηση αντιβιοτικών για την θεραπεία λοίμωξης από STEC είναι ιδιαίτερα αντικρουόμενες αφού έχει παρατηρηθεί βακτηριακή απόκριση που οδηγεί σε αύξηση παραγωγής και απελευθέρωσης Shiga τοξίνης αλλά και περίπτωση ανάπτυξης HUS αν η χρήση τους γίνει σε διάρκεια λοίμωξης λόγω Shiga (Mühlen and Dersch 2020). Από την άλλη δεν είναι οριστικά επιβεβαιωμένη και συνδεδεμένη αυτή η επίδραση των αντιβιοτικών διότι σημαντικό ρόλο παίζει προφανώς η επιλογή και η συγκέντρωση του αντιβιοτικού σε συνδυασμό με το στέλεχος-στόχος STEC αλλά και του ορότυπου stx (Mühlen and Dersch 2020). Βασισμένο στα παραπάνω το επιστημονικό ενδιαφέρον συγκεντρώνεται στις ανσαμυκίνες και τη χλωρομφενικόλη που μελετώνται ακόμα λόγω θετικών μέχρι στιγμής θεραπευτικών αντιδράσεων κατά της Shiga τοξίνης (Mühlen and Dersch 2020). Πολλά αντιβιοτικά, όπως η αμικικιλίνη, χρησιμοποιούνται συνήθως σε ζωοτροφές για την ελαχιστοποίηση της αποβολής STEC από τα κόπρανα των μηρυκαστικών. Ωστόσο, η συνεχής αύξηση της μικροβιακής αντοχής περιορίζει σοβαρά την ευρεία χρήση αντιβιοτικών για τον έλεγχο του αποικισμού μικροβίων σε ζώα που παράγουν τρόφιμα και τα οδηγούν να έχουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (Cole et al. 2012)

Παρά της ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών έναντι της STEC πρέπει να επικεντρωνόμαστε στην πρόληψη κατά της μόλυνσης από το στέλεχος STEC. Η πρόληψη αποτελεί τόσο ατομική αλλά και κτηνιατρική ευθύνη ενώ συμπεριλαμβάνει προληπτικά μέτρα ακόμα και σε βιομηχανικό επίπεδο.

Ο καταναλωτής οφείλει να εστιάσει σε σχολαστικό, επαρκές μαγείρεμα του κρέατος, κατανάλωση παστεριωμένου γάλακτος, σωστό καθαρισμό φρούτων και λαχανικών πριν την κατάποση τους καθώς και σωστά προληπτικά μέτρα πριν την επαφή τους με ζώα σε φάρμες και ζωολογικούς κήπους (Joseph et al., n.d.).

Οι φάρμες πρέπει να δίνουν ιδιαίτερη προσοχή και φροντίδα στα ζώα καθώς πρέπει αυτά να έχουν ολοκληρώσει τις εμβολιαστικές τους ανάγκες κατά του στελέχους STEC που σε αντίθεση με τον άνθρωπο , στο ζώο είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό. Πιο συγκεκριμένα, οι υπεύθυνοι πρέπει να αλλάζουν αρκετά συχνά την τροφή των ζώων, να κατηγοριοποιούν τα ζώα ανά είδος ώστε να μην έρχονται διαφορετικά είδη σε επαφή μεταξύ τους, να φροντίζουν ώστε η γη που βρίσκονται τα ζώα τους να είναι κάτω από ηλιακό φως αλλά κυρίως να μαζεύουν καθημερινά τα κόπρανα από την βάση τους (Joseph et al., n.d.).

1.8 Επιδημιολογία

Σε γενικά πλαίσια μέχρι και το 2020 η Shiga-toxin *Escherichia coli* έχει προκαλέσει περίπου 2.801.001 περιστατικά οξεία ασθένειας, 3.890 περιπτώσεις αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου (HUS), 270 περιπτώσεις μόνιμης νεφρικής νόσου τελικού σταδίου (ESRD) και 230 θανάτους στον άνθρωπο (Nehoya et al. 2020a).

Στην Ελλάδα η λοίμωξη από το κολοβακτηρίδιο STEC δεν είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη καθώς τα κρούσματα σπανίζουν αφού από το έτος 2004 έως και το 2021 δηλώθηκαν μόλις 34 ανθρώπινα κρούσματα με αναλυτικά στοιχεία ανά έτος και αριθμό κρουσμάτων στον πίνακα 3. Για το χρονικό διάστημα 2004 έως 2021 τα κρούσματα ήταν 0,2 ανά 1.000.000 πληθυσμό.

Από τον πίνακα παρατηρούμε πως από την αρχή καταγραφής δηλωθέντων κρουσμάτων το 2004 μέχρι και το 2018 ο αριθμός είναι σημαντικό μικρός ενώ παρατηρείται μια σχετικά μικρή έξαρση από το 2019, με αποκορύφωση το 2021 με 10 κρούσματα. Το 2019 η καταγραφή των πέντε κρουσμάτων αναλύεται με τα τέσσερα να έχουν παρατηρηθεί την περίοδο μεταξύ Απριλίου-Ιουλίου στις Περιφερειακές Ενότητες Μαγνησίας και Ημαθίας ενώ η εξέταση τους όμως δεν ανέδειξε κάποια επιδημιολογική σύνδεση μεταξύ των κρουσμάτων αυτών. Το 2020 προκλήθηκε μια σειρά κρουσμάτων γαστρεντερίτιδας μικτής αιτιολογίας στην Περιφερειακή Ενότητα Αργολίδας με τα στελέχη STEC και ιδιαίτερα τον ορότυπο O157 να σχετίζονται με τα κρούσματα αυτά. Το ιστορικό καταγραφής λεπτομερειών από τους ασθενείς εμφάνισε μια αρκετά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην εμφάνιση συμπτωμάτων γαστρεντερίτιδας αφού οι περισσότεροι ανέφεραν την κατανάλωση νερού βρύσης και την χρήση παγόκubων από νερό βρύσης.

Η διαφορά του αριθμού κρουσμάτων στο χρονικό διάστημα 2004-2021 βασίζεται στην ανάπτυξη συστημάτων επιτήρησης, στην δυνατότητα εργαστηριακής διάγνωσης σε σχέση με τα παλαιότερα χρόνια καθώς ακόμα και στην αλλαγή των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού.

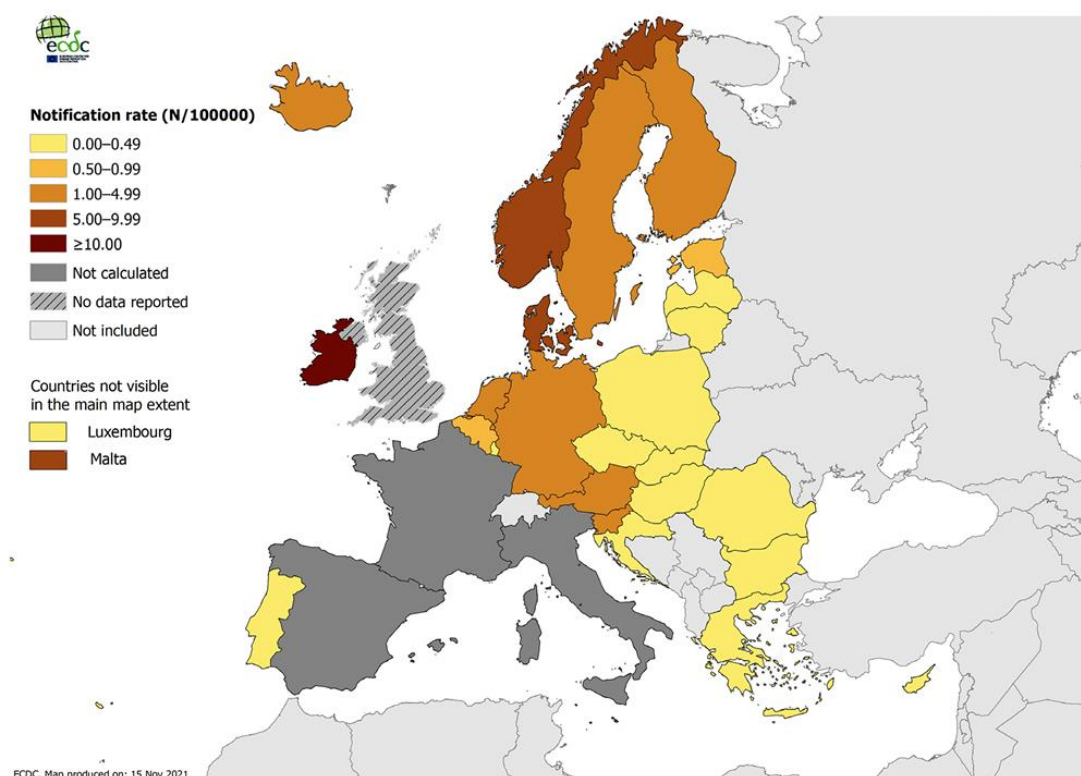
Πίνακας 3. Κατανομή των δηλωθέντων κρουσμάτων λοίμωξης από εντεροαιμορραγικό κολοβακτηρίδιο (EHEC) στην Ελλάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021 (ΕΟΔΥ, ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΕΝΤΕΡΟΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ (EHEC) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ 2004-2021).

Έτος	Αριθμός κρουσμάτων
2004	2
2005	0
2006	1
2007	1
2008	0
2009	0
2010	1
2011	1
2012	0
2013	2
2014	1
2015	1
2016	2
2017	3
2018	1
2019	5
2020	3
2021	10
Σύνολο	34

Οι αρχές δημόσιας υγείας της χώρας μας ωστόσο βρίσκονται σε άμεση εγρήγορση με την συνεχή εκπαίδευση των ιατρών και την ανάπτυξη κλινικών και εργαστηριακών μεθόδων για την γρήγορη ανίχνευση και δήλωση τυχόν κρουσμάτων λοιμώξεων από το στέλεχος STEC

Όσο αφορά την παρουσία της STEC στην Ευρωπαϊκή ένωση και στον Ευρωπαϊκό Οικονομικό Χώρο, 4.824 επιβεβαιωμένα κρούσματα αναφέρθηκαν το 2020. Συνολικά, 25 χώρες έκαναν αναφορά τουλάχιστον ενός επιβεβαιωμένου κρούσματος και τέσσερις χώρες δεν ανέφεραν κανένα κρούσμα. Ο μεγαλύτερος αριθμός κρουσμάτων παρουσιάστηκε στην Γερμανία και στην Ιρλανδία, πιο συγκεκριμένα οι δυο αυτές χώρες αποτέλεσαν μαζί το 44 % όλων των αναφερόμενων κρουσμάτων στην ΕΕ/ΕΟΧ. Όπως παρουσιάζεται και στην εικόνα 3, 13 χώρες της νότιας και ανατολικής Ευρώπης ανέφεραν λιγότερο από 0.3 περιστατικά ανά 100.000 πληθυσμό. Από τα 3.313

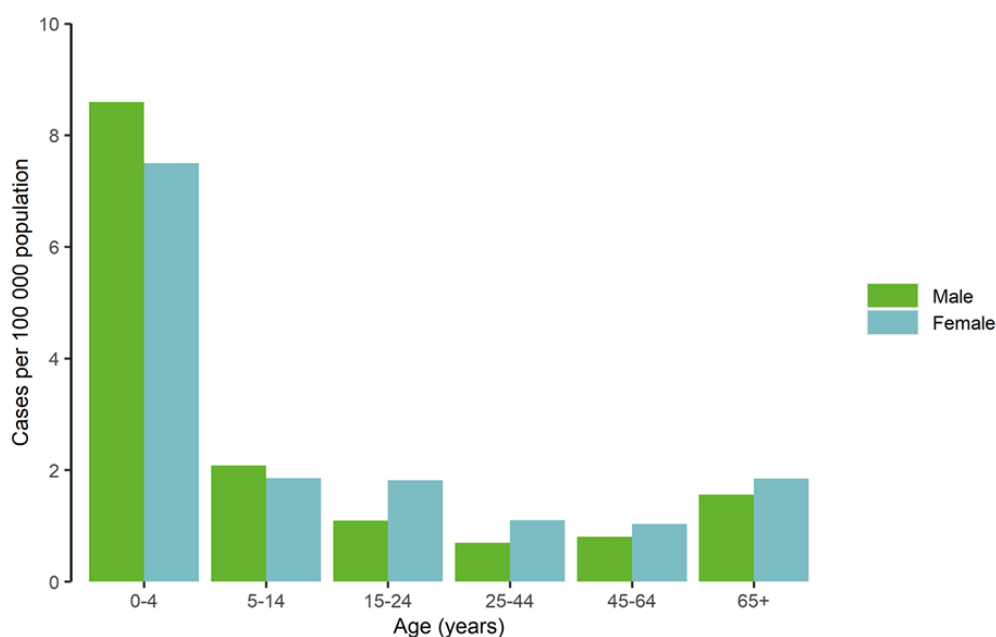
περιστατικά για τα οποία η έκβαση της ασθένειας είναι γνωστή, το 39 % οδηγήθηκε στον θάνατο, παρουσιάστηκε δηλαδή ποσοστό θνησιμότητας 0,4%. Στην πλειοψηφία τους αυτά τα περιστατικά αφορούν ηλικίες άνω των 65 ετών (64%), το ένα τρίτο από αυτά είχαν εμφανίσει HUS. Για το 39 % από τα 1.957 περιστατικά, για τα οποία υπάρχουν πληροφορίες, κρίθηκε απαραίτητη η ιατροφαρμακευτική περίθαλψη σε νοσοκομείο.



Εικόνα 3. Κατανομή επιβεβαιωμένων κρουσμάτων STEC (ανά 100.000 πληθυσμό) ανά χώρα, ΕΕ/ΕΟΧ, 2020 (European Centre for Disease Prevention and Control. STEC infection. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2020. Stockholm: ECDC; 2022).

Από το σύνολο των κρουσμάτων για το 2020 που αναφέρθηκαν παραπάνω, για τα 4.817, δηλαδή το 99.9%, υπάρχει διαθέσιμη πληροφορία για το φύλο του ασθενούς με το 45% να είναι άνδρες και το 55% γυναίκες. Από το σύνολο των κρουσμάτων για το 2020, η ηλικία του ασθενούς είναι γνωστή για τα 4.819 περιστατικά με το 28% να αφορά βρέφη και παιδιά ηλικίας 0-4. Το μικρότερο ποσοστό εμφάνισης STEC παρουσιάζεται στους άνδρες ηλικίας 25 – 44 ετών ενώ στις γυναίκες στην ηλικία από 45 έως 64 ετών, όπως παρουσιάζεται και στην εικόνα 4. Από το σύνολο των 324 περιστατικών που παρουσίασαν αιμορραγικό ουραιμικό σύνδρομο για το έτος 2020, το 73 % ανήκε σε παιδιά ηλικίας 0-4 ετών, το 18% σε παιδιά και εφήβους από 5 έως 14

ετών και το υπόλοιπο ποσοστό ασθενών ανήκει σε άλλες ηλικιακές ομάδες. Το ποσοστό θνησιμότητας των συγκεκριμένων περιστατικών είναι 2 %.



Εικόνα 4. Κατανομή επιβεβαιωμένων κρουσμάτων STEC (ανά 100.000 πληθυσμό) ανά ηλικία (σε χρόνια) και φύλο, ΕΕ/ΕΟΧ, 2020. Το πράσινο χρώμα αντιστοιχεί στο αρσενικό φύλο και το γαλάζιο στο θηλυκό φύλο.

Κατά το 2020 για την ΕΕ/ΕΟΧ, οι πέντε επικρατέστεροι ορότυποι της STEC ήταν τα O26, O157, O103, O145, και το O146. Το πιο κοινό γονίδιο που βρέθηκε να σχετίζεται με σοβαρές λοιμώξεις στους ανθρώπους από την STEC ήταν το *stx1a* και ακολούθως το *stx2a*.

Τέλος αξίζει να αναφερθεί ότι για το 2020, η STEC αποτέλεσε την τέταρτη πιο κοινή ζωονόσο στην Ευρωπαϊκή Ένωση και τον Ευρωπαϊκό Οικονομικό Χώρο. Ο αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων για το 2020 παρουσιάζει σημαντική μείωση συγκριτικά με τον αντίστοιχο αριθμό κρουσμάτων για τα έτη 2016-2019. Αυτή η μείωση οφείλεται τόσο στην πανδημία του COVID-19, κατά την οποία η συλλογή και επεξεργασία επιδημιολογικών δεδομένων γινόταν με δυσκολία, αλλά και στην αποχώρηση της Μεγάλης Βρετανίας από την Ευρωπαϊκή Ένωση καθώς τα προηγούμενα χρόνια η Μεγάλη Βρετανία εμφάνιζε μεγάλο αριθμό κρουσμάτων STEC συγκριτικά με τον πληθυσμό της χώρας.

Σε παγκόσμιο επίπεδο μια από τις πιο αξιοσημείωτες αναφορές λοίμωξης από το στέλεχος STEC, εντοπίζεται στην Ιαπωνία με πάνω από 2289 επιβεβαιωμένα

κρούσματα το 2014 από τον ορότυπο O157 μέσω μοσχαρίσιου και χοιρινού κρέατος (Castro et al. 2017).

Επιδημία της *Escherichia coli* O104:H4

Από τις πιο σημαντικές περιπτώσεις επιδημίας εξαιτίας του στελέχους STEC ξέσπασε στην Γερμανία το καλοκαίρι του 2011, με τον ορότυπο O104:H4 να προκαλεί πάνω από 3000 περιπτώσεις διάρροιας χωρίς πρόκληση HUS και πάνω από 830 κρούσματα HUS με σύνολο 54 θανάτους (Bloch, Felczykowska, and Nejman-Faleńczyk 2012). Με την έρευνα που ακολούθησε εκείνη την περίοδο βασισμένη στην έξαρση του O104:H4 βγήκε το συμπέρασμα πως ο ορότυπος αυτός αντιπροσωπεύει έναν καινούριο παθότυπο *E.coli*, την εντεροσυσσωματική-αιμορραγική *E.coli* (EAHEC), στην οποία και το πλασμίδιο αλλά και ο φάγος συμβάλλουν στα λοιμογόνα χαρακτηριστικά του παθότυπου (Bloch et al. 2012). Το φαινόμενο αυτό δεν μπορεί να περάσει απαρατήρητο καθώς αντικατοπτρίζει ένα παράδειγμα συνδυασμό γονιδίων που δρουν κυρίως στο κινητό μέλος του DNA και οδηγούν στην ανάπτυξη μιας σοβαρής λοίμωξης που κλονίζει την υγεία του ανθρώπου (Bloch et al. 2012).

Επιδημία της *Escherichia coli* O157:H7

Σε αυτή τη περίπτωση η επιδημία εμφανίστηκε το 2011 στο Οντάριο του Καναδά σε μια ομάδα ανθρώπων που παρευρέθηκαν σε τετραήμερη συγκέντρωση με έτοιμο φαγητό από catering (Lise A. Trotz-Williams 2012). Οι 59 παρευρισκόμενοι μοιράστηκαν τα φαγητά και έπειτα από 4 ημέρες εμφάνισαν συμπτώματα λοίμωξης από STEC με το ποσοστό των 89% να πάσχει από διάρροια, το 73% από κοιλιακές κράμπες ενώ σε ποσοστά 26% και 22% εμφανίστηκε η ναυτία και η αιματηρή διάρροια αντίστοιχα (Lise A. Trotz-Williams 2012). Οι ερευνητικές μελέτες έδειξαν πως η έξαρση αυτή προκλήθηκε μαζικά λόγω μη σωστού μαγειρέματος χοιρινού κρέατος αλλά και εξαιτίας της πρώτης ύλης που είχε αγοραστεί από λιανικό μικροεμπόριο της αγοράς χωρίς τη σωστή υγιεινή του χώρου (Lise A. Trotz-Williams 2012).

Επιδημία της *Escherichia coli* O103, O145 και O26

Τρία ξεσπάσματα με αιτία την *E. coli* εμφανίστηκαν φέτος το 2022 στην περίοδο μεταξύ Ιουλίου-Σεπτέμβριο με τα δύο από αυτά να συνδέονται άμεσα με γαλακτοπαραγωγικές φάρμες. Η Υπηρεσία Υγείας Ζώων και Φυτών (Animal and Plant Health Agency APHA) βοήθησε την Υπηρεσία Ασφάλειας Υγείας του Ηνωμένου Βασιλείου (UK Health Security Agency UKHSA) να διερευνήσει τα κρούσματα αυτά συμπεραίνοντας πως προέρχονται από STEC O103, O145 και O26.

Η STEC O103 εμφανίστηκε με συνολικά 11 κρούσματα και συνδέθηκε με μαλακό, ωμό τυρί από μια φάρμα παραγωγής γάλακτος στην Ανατολική Αγγλία. Η μόλυνση προήλθε από μη παστεριωμένο μαλακό τυρί που μοιάζει με μπρι το οποίο μολύνθηκε κάποια στιγμή κατά τη διάρκεια της άνοιξης. Η συγκεκριμένη φάρμα πούλησε επίσης μη παστεριωμένο , νωπό γάλα μέσω μηχανήματος αυτόματης πώλησης το οποίο όμως κρίθηκε ασφαλές και οι πωλήσεις του επετράπη να συνεχιστούν καθώς έπειτα από μικροβιολογικές και επιδημιολογικές έρευνες κρίθηκε ότι υπήρχαν αρκετές επιδημιολογικές πληροφορίες που να συνδέουν το ξέσπασμα με το μαλακό τυρί που παράγεται από το αγρόκτημα (Whitworth 2022).

Η STEC O145 εμφανίστηκε στα μέσα του Ιουλίου με 10 κρούσματα και συνδέθηκε με την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων από μια φάρμα γαλακτοπαραγωγής στη Βορειοδυτική Αγγλία. Οι εντατικές έρευνες εντόπισαν πρόβλημα στην φάρμα που αφορά την διαδικασία της παστερίωσης, τον καθαρισμό και την αποθήκευση των κιβωτίων γάλακτος που καθιστούσαν εύλογη την εξωτερική μόλυνση των συσκευασιών (Whitworth 2022).

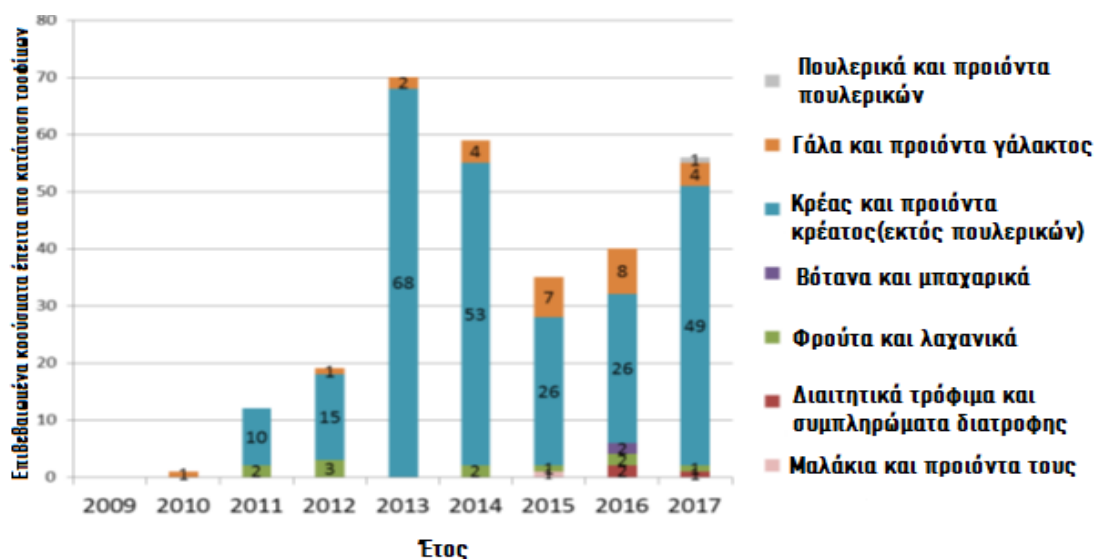
Το στέλεχος που προκάλεσε το ξέσπασμα των κρουσμάτων αυτών δεν ανιχνεύθηκε σε δείγματα περιττωμάτων των βοοειδών, αλλά τα αρνητικά εργαστηριακά αποτελέσματα δεν απέκλεισαν το γαλακτοκομικό αγρόκτημα ως πηγή εστίας. Το αποτέλεσμα των ερευνών έδειξε πως υπήρχαν επαρκείς επιδημιολογικές πληροφορίες για τη σύνδεση με το ξέσπασμα ενώ στη συνέχεια έγιναν βελτιώσεις, ιδίως στις διαδικασίες HACCP και άλλα μέτρα ελέγχου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 Τεχνολογία ελέγχου του στελέχους STEC και διαχείριση ποιότητας

Είναι ιδιαίτερα σημαντική η ανάπτυξη στρατηγικών παρεμβάσεων για τον έλεγχο του στελέχους STEC σε εργαστηριακό επίπεδο μελετών όπως είναι οι καλές γεωργικές πρακτικές και οι καλές πρακτικές υγιεινής που όχι μόνο ελέγχουν αλλά και μειώνουν την μετάδοση του στελέχους STEC (FAO and WHO 2022). Το 2013 η Ευρωπαϊκή Επιτροπή (European Commission EC) ζήτησε από την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Authority EFSA) να διατυπώνει την επιστημονική γνώμη της σε θέματα που αφορούν την μοριακή προσέγγιση για την παθογένεια του στελέχους STEC, τις μεθόδους ανίχνευσης αλλά και γενικές πληροφορίες για την εμφάνιση της STEC σε ανθρώπους, ζώα, ζωοτροφές και τρόφιμα (Koutsoumanis et al. 2020). Με αυτό τον τρόπο έγινε πιο εύκολη και κατανοητή η κατάταξη των προϊόντων διατροφής βάση επικινδυνότητας στην δημόσια υγεία προκαλώντας ανθρώπινες μολύνσεις (Koutsoumanis et al. 2020). Η κατάταξη αυτή εκτός από τις επιστημονικές γνωματεύσεις της EFSA συμπληρώθηκε από ιατρικά δεδομένα που έχουν υποβληθεί στο Ευρωπαϊκό Σύστημα Εποπτείας (European Surveillance System TESSy) αλλά και από εθνικά εργαστήρια αναφοράς δημόσιας υγείας σε 29 ΕΕ/ΕΟΧ κράτη-μέλη μέσω ερωτηματολογίων που δόθηκαν σε ανθρώπους προσβεβλημένους με το στέλεχος της STEC (Koutsoumanis et al. 2020). Για την ανίχνευση τοξινών stx1 και stx2 σε δείγματα τροφίμων ως μέθοδος χρησιμοποιείται το σύστημα International Organization for Standardization (ISO) (Koutsoumanis et al. 2020). Η τελευταία επιδημία που προκλήθηκε από την Shiga-toxic *Escherichia coli* το 2011 οδήγησε αρκετά κράτη στον πιο συχνό επίσημο επιστημονικό έλεγχο με στόχο της ανίχνευση του στελέχους STEC σε τρόφιμα που διατίθενται στην αγορά, εισαγόμενα ή και εγχώριας παραγωγής. Με αυτό τον τρόπο λοιπόν τα τελευταία χρόνια υπάρχει η δυνατότητα κατάταξης τροφίμων και προϊόντων τους βάση συνδεδεμένων περιστατικών μολύνσεων από STEC λόγω κατάποσης του συγκεκριμένου προϊόντος. Το προϊόν που έχει τη μεγαλύτερη συσχέτιση με μόλυνση από STEC είναι το κρέας και προϊόντα κρέατος όπως παρατηρούμε και στην Εικόνα 5. Από το 2010 έως και το 2017 οι περισσότερες υποθέσεις αφορούν το κρέας και τα προϊόντα κρέατος εκτός των πουλερικών όπως βλέπουμε να σκιαγραφούνται με μπλε χρώμα σε κάθε στήλη. Σε σημαντικό αλλά μικρότερο ποσοστό εμφανίζεται με πορτοκαλί χρώμα το γάλα και τα προϊόντα γάλακτος ενώ με πράσινο τα φρούτα και τα λαχανικά. Είναι εμφανές ότι οι ειδοποιήσεις

και οι προκλήσεις ζωοτροφών μολύνσεων από το στέλεχος STEC μειώνονται με το πέρασμα του χρόνου ενώ παραμένει 'υπεύθυνος' για τις μολύνσεις σε μεγάλο συγκριτικά ποσοστό το κρέας.



Εικόνα 5 Απεικόνιση μολυσματικών περιστατικών μέσω ειδοποιήσεων της EFSA σε κλίμακα χρόνου 2009-2017 ανά προϊόν τρόφιμου (Koutsoumanis et al. 2020).

2.2 Κρέας, προϊόντα κρέατος και STEC

Στην κατηγορία των κρεάτων από όλα τα μηρυκαστικά που φέρουν το στέλεχος STEC αυτό που υπερτερεί και συνδέεται περισσότερο με ενδείξεις μόλυνσης από STEC είναι το βοδινό κρέας (FAO and WHO 2022). Τόσο τα προϊόντα βόειου κρέατος όσο και η διασταυρωμένη μόλυνση από την αρχή της κτηνοτροφίας μέχρι και τον τόπο παραγωγής βόειου κρέατος αποτελούν κύριο στόχο ελέγχου και μελέτης για τη διασφάλιση ποιότητας του τρόφιμου αλλά και τη διασφάλιση της ανθρώπινης υγείας. Το μικροβιακό οικοσύστημα της γαστρεντερικής οδού των βοοειδών αποτελεί μια μεγάλη ενζυμική, βιοχημική και θρεπτική 'δεξαμενή' που επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τη μεταφορά του στελέχους STEC στο ζωικό οργανισμό αφού δεν έχει παρατηρηθεί ενέργεια αντίστασης του οργανισμού κατά της αποικίας της STEC (FAO and WHO 2022). Όταν έχει προηγηθεί μόλυνση σε κάποιο ζώο από κάποιο ορότυπο της Shiga-toxin producing *Escherichia coli* , αυτό δεν σημαίνει ότι το ίδιο ζώο θα προστατευτεί από την επαναμόλυνση του ακόμα και με τον ίδιο ορότυπο (Menge 2020).

Η Shiga-toxin producing *Escherichia coli* όταν προσβάλει τα ζώα έχει την ικανότητα να παραμένει σε μέρος του παχέος εντέρου ενώ σε αρκετά από αυτά παραμένει για πολλούς μήνες, γεγονός που ακολουθεί στο συμπέρασμα ότι τα βακτήρια εκεί συνδέονται με το βλεννογόνο του ζώου (Menge 2020). Η υπερβολική αποβολή σε ποσότητα του στελέχους STEC από τα βοοειδή φαίνεται να είναι η κύρια αιτία εναπόθεση του παθογόνου μικροοργανισμού στο περιβάλλον και έχει σημαντικό ρόλο στην αύξηση της μετάδοσης αυτού από βοοειδή σε βοοειδή (Menge 2020). Το γεγονός που προαναφέρθηκε πρέπει να σημειωθεί πως δεν συμβαίνει μόνο στην οικογένεια των βοοειδών αλλά αποτελεί πιο συχνό φαινόμενο σε αυτά συγκριτικά με τα υπόλοιπα μηρυκαστικά.

Σε πειραματικά παραδείγματα μόλυνσεων μόσχων παρατηρήθηκε πως η ιντιμίνη ως πρωτεΐνη προσκόλλησης και υπεύθυνη πρωτεΐνη για βλάβες A/E είναι απαραίτητη για τον αποικισμό του βλεννογόνου των μόσχων (Menge 2020). Καθώς γίνεται αυτό όμως η ιντιμίνη ως μέρος του τόπου εξάλειψης εντεροκυττάρων (LEE) έχει επίσης την δυνατότητα να παρέχει αντίσταση έναντι ορότυπων του στελέχους STEC και συγκεκριμένα των O157:H7 και O26:H (Menge 2020). Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2020 από τους Kaarina N. Nehoya, Ndinomholo Hamatui σε 204 δείγματα ακατέργαστου βόειου κρέατος έπειτα από βιοχημικό έλεγχο, όλα βρέθηκαν θετικά σε *E.coli*, ενώ 85(41.66%) δείγματα βρέθηκαν θετικά σε παθογόνα στελέχη STEC λοιμογόνου δράσης (Nehoya et al. 2020b).

Στην ευρύτερη κατηγορία των ζώων πλην των βοοειδών και των προβάτων αρκετό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα κουνέλια και οι γλάροι που μπορούν να μεταφέρουν το στέλεχος STEC με μεγάλη ευκολία αλλά και να διευκολύνουν την περαιτέρω επιμόλυνση στις καλλιέργειες (Koutsoumanis et al. 2020).

Άλλα ζώα που παίζουν καθοριστικό ρόλο στην μετάδοση στελεχών STEC στο περιβάλλον της φάρμας και του βοσκοτόπου είναι τα κατοικίδια ζώα(γάτες και σκύλοι) , παράσιτα ζώα(μύγες και τρωκτικά) (Farrokh et al. 2013).

Η καμήλα αποικεί κυρίως σε άνυδρες περιοχές και η γνώση για τις παραγωγικές διαδικασίες σε συνδυασμό με την σωστή υγιεινή είναι αρκετά περιορισμένη. Οι καμήλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για την παραγωγή κρέατος όσο και για την παραγωγή νωπού γάλακτος ενώ επίσης έχουν τη δυνατότητα να φέρουν στέλεχος της STEC.

Οι καμήλες διαχωρίζονται σε μεγάλο ποσοστό στα σφαγεία από τα υπόλοιπα ζώα, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα πως δεν ευθύνονται για την μεταφορά STEC από ζώο σε ζώο. Αυτό αλλάζει κατά τη διάρκεια της ξηρής περιόδου, όπου οι καμήλες μπορούν να εκτρέφονται μαζί με βοοειδή, πρόβατα και κατσίκες, γεγονός που δημιουργεί αυξημένο κίνδυνο μετάδοσης STEC (FAO and WHO 2022).

Ηλικία

Η ηλικία στα ζώα παίζει πολύ σημαντικό ρόλο τόσο στην μετάδοση της STEC όσο και στην αποβολή της μέσω του εντερικού συστήματος των ζώων. Συγκεκριμένα τα βοοειδή και τα πρόβατα όσο μεγαλώνουν σε ηλικία και απομακρύνονται από τον απογαλακτισμό τους, η ύπαρξη και η δυνατότητα μόλυνσης και μεταφοράς STEC μειώνεται καθώς η μικροχλωρίδα του εντέρου μεταβάλλεται συνεχώς ενώ το ζώο ωριμάζει (McCarthy et al. 2021). Στις Η.Π.Α σε μονοετή έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε πρόβατα βοσκοτόπου διαπιστώθηκε πως τα νεότερα σε ηλικία είχαν σε μεγαλύτερο ποσοστό το στέλεχος STEC από ότι τα μεγαλύτερα σε ηλικία. Στην Αυστραλία σε πολυετή έρευνα εντοπίστηκε πως τα νεογέννητα αρνιά αποβάλουν σε μεγαλύτερη ποσότητα το στέλεχος STEC συγκριτικά με τα απογαλακτισμένα αρνιά που τα ποσοστά αποβολής είναι φανερά πιο χαμηλά (McCarthy et al. 2021). Οι συνεχόμενες αλλαγές στις στεγαστικές δομές των υποδομών εκτροφής των ζώων σε συνδυασμό με τις πρακτικές εκτροφής και τις διατροφικές αλλαγές ενώ αυτά ωριμάζουν, ευθύνονται στην παρατήρηση της αποβολής και επικράτησης της STEC στα νεότερα σε ηλικία ζώα. Η επιμόλυνση του κοπαδιού και του βοσκοτόπου μπορεί να αυξηθεί και κατά την τακτική επαφή των διαφορετικών ειδών ζώων μεταξύ τους καθώς θα πρέπει να διαχωρίζονται τα μηρυκαστικά ανά είδος στην φάρμα και σε ξεχωριστό χώρο από τα άγρια ζώα (McCarthy et al. 2021).

Διατροφή

Η διατροφή των ζώων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον αποικισμό της STEC στον ζωικό οργανισμό και στην αποβολή του στελέχους από το εντερικό σύστημα τόσο των βοοειδών όσο και των αιγοπροβάτων (McCarthy et al. 2021). Η περιεκτικότητα της τροφής που προορίζεται για τα ζώα σε φυτικές ίνες επηρεάζει σημαντικά το βακτηριακό ποσοστό πληθυσμού στο έντερο. Όταν η διατροφή περιλαμβάνει συμπληρώματα ή χόρτο αυτόματα αυξάνεται η ποσότητα αποκρίσεων σε STEC από το ζώο (McCarthy et al. 2021).

Εποχή

Σε περιόδους χαμηλής έκθεσης σε παθογόνα στους βοσκοτόπους το ποσοστό αποβολής STEC από τα ζώα ενδέχεται να ελαττωθεί σημαντικά ενώ όμως ταυτόχρονα ο ίδιος κλώνος του στελέχους STEC έχει την ιδιότητα να παραμείνει σε ένα μόνο κοπάδι για αρκετούς μήνες έως και χρόνο (Menge 2020). Την περίοδο του καλοκαιριού όπου η θερμοκρασία του περιβάλλοντος είναι υψηλή δημιουργούνται σε συνδυασμό με την αυξημένη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία μεγαλύτερα ποσοστά απόρριψης STEC στο περιβάλλοντα χώρο από τα ζώα (McCarthy et al. 2021). Την ίδια εποχή, παρατηρείται μεγαλύτερη δραστηριότητα μυγών , πληροφορία που οδηγεί στην πιο εύκολη μεταφορά και διασπορά του στελέχους της STEC μέσω αυτών στον περιβάλλοντα χώρο.

Για την διασφάλιση της ποιότητας του κρέατος και την υγιεινή των καταναλωτών αλλά και των εγκαταστάσεων ορίζονται κρίσιμα σημεία ελέγχου.

2.3 Γάλα , προϊόντα γάλακτος και STEC

Για την παρακάτω ανάλυση θα χρειαστεί πρώτα να συμπεριληφθεί ο ορισμός του νωπού γάλακτος σύμφωνα με τον Codex General Standards for the Use of Dairy Terms και τον Κώδικα Υγιεινών Πρακτικών για το Γάλα και τα Γαλακτοκομικά Προϊόντα (CAC/RCP 57-2004). Ως νωπό γάλα ορίζεται η μαστική έκκριση κατά το άρμεγμα ζώων το οποίο δεν έχει υποστεί κάποια θερμική επεξεργασία σε θερμοκρασία άνω των 40 °C ή δεν έχει υποστεί καμία επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα (FAO and WHO 2022).

Για αυτό το λόγο λοιπόν όταν εξετάζουμε τη περίπτωση του γάλακτος δίνεται ιδιαίτερα μεγάλη προσοχή στο νωπό γάλα από την παραγωγή του μέχρι και την κατανάλωση του, αφού περιέχει ορισμένα βακτήρια αρκετά επικίνδυνα και υπεύθυνα για πρόκληση σοβαρής νόσου στον άνθρωπο.

Αγελαδινό γάλα

Το γάλα της αγελάδας σε υγρή κύτταρα του μαστού θεωρείται πως είναι αποστειρωμένο ενώ στη συνέχεια όμως αποικίζεται από μικροοργανισμούς από διάφορες πηγές, όπως η κορυφή της θηλής, ο εξοπλισμός αρμέγματος, ο αέρας, το νερό, οι ζωοτροφές αλλά και το έδαφος. Η μόλυνση του νωπού αγελαδινού γάλακτος μπορεί να γίνει μέσω δύο

τρόπων. Ο πρώτος τρόπος χαρακτηρίζεται από την υποκλινική μαστίτιδα, μια νόσο που πάσχουν κάποια ζώα καθώς αποβάλλουν υγρά από τους μαστούς που τα οποία περιέχουν στελέχη STEC. Ο δεύτερος τρόπος μόλυνσης του νοπού γάλακτος είναι η άμεση ή έμμεση επιμόλυνση του μαστού και των θηλών του ζώου που έρχονται σε επαφή με κόπρανα που βρίσκονται στο περιβάλλον, καθώς το ζώο αναπαύεται , περπατάει ή βρίσκεται στην διαδικασία αρμέγματος (Farrokh et al. 2013). Η ανοσοποίηση των εγκύων αγελάδων με Stxs δημιουργεί τον εμπλουτισμό του πρωτογάλακτος με αντισώματα αντι-Stx1 και αντι-Stx2 τα οποία επιστημονικά αποδεδειγμένα μετριάζουν την απορρόφηση Stx2 από το έντερο των ζώων και ελαχιστοποιούν την αποβολή της STEC (Farrokh et al. 2013). Σημαντικό ρόλο στην μείωση απέκκρισης κοπράνων που ενδέχεται να είναι μολυσμένα από κάποιο στέλεχος της STEC , αποτελεί η συνεχής αλλαγή της στρωμνής και του σανό στον στεγαζόμενο χώρο , η σωστή διαχείριση της κοπριάς και η έναρξη πρακτικών διαδικασιών για την μείωση του άγχους των ζώων (Farrokh et al. 2013).

Βουβαλίσιο γάλα

Το βουβαλίσιο γάλα καταναλώνεται σε διάφορες χώρες σε όλο τον κόσμο και συνήθως στην Ινδία και το Πακιστάν αφού δεν είναι τόσο διαδεδομένο στην Ευρώπη, αλλά χρησιμοποιείται αρκετά συχνά για την παρασκευή παραδοσιακού τυριού, την Mozzarella. Η μικροβιακή περιεκτικότητα του ακατέργαστου γάλακτος βουβάλου περιλαμβάνει αρκετά μεγάλο πληθυσμό σε *E.coli* ενώ προκαλεί ανησυχία ανάπτυξης και επιβίωσης STEC σε αυτό όπως διάφορα άλλα βακτήρια που επηρεάζουν την διασφάλιση της ποιότητας (Quigley et al. 2013).

Η παρασκευή του τυριού συνεπάγεται από διαδικασίες οι οποίες μπορούν να μεταβάλουν τη σταθερότητα του σε pH, NaCl και ενεργότητα νερού που αυτό προϋποθέτει. Οι παράγοντες αυτοί όμως σε συνδυασμό με τη διαδικασία της παστερίωσης η οποία είναι απαραίτητη αλλά και άλλων θερμικών επεξεργασιών που τα τυριά υποβάλλονται κατά την παραγωγή τους οδηγούν στην τελική σύνθεση, το σχήμα, τη γεύση και την υφή του τυριού αλλά και στην μειωμένη δυνατότητα επιβίωσης της STEC μέσα στο προϊόν (Farrokh et al. 2013). Οι πιο ολοκληρωμένες μελέτες σχετικά με την επικράτηση του στελέχους STEC στα τυριά έχουν διεξαχθεί στην Ευρώπη και δείχνουν ότι η STEC κυμαίνεται από 0% έως 13,1%.

pH

Το pH ως παράγοντας αποτελεί ίσως την μεγαλύτερη πρόκληση στη τυροκομία. Η τιμή του pH κατά την παραγωγική διαδικασία προϊόντων γάλακτος επηρεάζεται συνεχώς λόγω των βακτηρίων γαλακτικού οξέος τα οποία παράγουν οξέα που οδηγούν στην μείωση της τιμής του pH κατά τη τυροκομία σε γαλακτικά κυρίως τυριά, στην κρέμα τυριού και στη φέτα σε τιμές έως και 4,5. Η *E.coli* εμφανίζει βέλτιστη ανάπτυξη σε τιμές pH 7 ενώ επιβιώνει σε εύρος 4,5-9 και σε πολλές περιπτώσεις σε pH 3. Αυτό συνεπάγεται στο ότι το χαμηλότερο pH δεν θα απενεργοποιήσει, ούτε θα παρεμποδίσει τα στελέχη της STEC να επιβιώσουν (Farrokh et al. 2013).

Αλάτι και ενεργότητα νερού (a_w)

Απαραίτητο βήμα στην παραγωγή τυριού αποτελεί το αλάτισμα, κατά το οποίο παρέχεται στο προϊόν συμπληρωματική αποστράγγιση του ορού γάλακτος και η τελευταία χαρακτηριστική γεύση του. Με αυτή την διαδικασία το τυρί σχηματίζει το χαρακτηριστικό φλοιό του αποκτώντας τιμή ενεργότητας νερού ιδανική ώστε να ελέγχεται η μικροβιακή ανάπτυξη (Farrokh et al. 2013). Η *Escherichia coli* δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε μεγάλες ποσότητες NaCl.

Θερμοκρασία

Στην διαδικασία παρασκευής του τυριού η παστερίωση εκτός από απαραίτητη πια είναι εξίσου αποτελεσματική αφού εξαλείφει την *E.coli* συνήθως στην θερμοκρασία των 72 °C για 16 δευτερόλεπτα. Στη περίπτωση της Mozzarella για την εξάλειψη πιθανών στελεχών STEC πιο σημαντικό ρόλο από την παστερίωση αποκτά η θερμική επεξεργασία στους 80°C για 5 λεπτά. Τα περιστατικά μόλυνσης STEC από τυρί αναφέρονται στο μεγαλύτερο ποσοστό από τυρί παρασκευασμένο από νωπό γάλα ή έπειτα από . Η θερμοκρασία και η χρονική διάρκεια της ωρίμανσης μπορεί εξίσου να επηρεάσει την παρουσία της Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 καθώς αποδείχθηκε ότι μπορεί να επιβιώσει για 60 έως 75 ημέρες στα τυριά Camembert και στην φέτα στους 2 °C (Farrokh et al. 2013).

Ο Arques E. Rodriguez και οι συνεργάτες του το 2005 στην έρευνα τους διαπίστωσαν πως στην παρασκευή τυριού η συμπίεση του τυριού στα 300MPa για 10 λεπτά στους 10 °C μειώνει το ποσοστό ύπαρξης STEC και συγκεκριμένα της O157:H7 σε χαμηλά επίπεδα ονομαζόμενα μη ανιχνεύσιμα επίπεδα ή ανιχνεύσιμα μόνο με εμπλουτισμό

μετά από 60 ημέρες ωρίμανσης (Farrokh et al. 2013). Στην έρευνα τους έπειτα από εμβολιασμό της STEC O59:H21 και O157:H7 σε δείγμα τυροπήγματος, η υψηλή υδροστατική πίεση 400 ή 500 MPa μείωσε τους πληθυσμούς και των δύο στελεχών *E. coli* (Farrokh et al. 2013). Η ανίχνευση STEC στα τυριά παρασκευασμένα από νωπό γάλα είναι ιδιαίτερα δύσκολη αφού το βακτηριακό DNA αποσπάται σαν δείγμα από συγκεκριμένο όγκο ζωμού εμπλουτισμού και στη συνέχεια, ανιχνεύονται γονίδια-στόχοι STEC (Bagel and Sergentet 2022).

Τον Απρίλιο του 2022 η Ομοσπονδιακή Υπηρεσία Ασφάλειας των Τροφίμων έβγαλε σε ανάκληση ελληνικό μανούρι που πωλιόταν στο Βέλγιο καθώς εντοπίστηκε Shiga-toxin producing *Escherichia coli*.

Γνωρίζοντας όλους τους κινδύνους που εγκυμονεί το νωπό γάλα και η παρασκευή προϊόντων βάση αυτού, τα τυριά από νωπό γάλα αποτελούν ένα πολύ βασικό μέρος της Ευρωπαϊκής και κυρίως γαλλικής διατροφικής κληρονομικής καθώς ενισχύουν και μικρές παραγωγές και αγροτικές εκτάσεις. Τα περισσότερα Π.Ο.Π τυριά προέρχονται κυρίως από τυριά τέτοιου είδους. Για αυτό το λόγο κρίνεται σημαντικό η προστασία τέτοιων παραδοσιακών περιοχών παραγωγής με ταυτόχρονη συνεχή εκπαίδευση και ενημέρωση σχετικά με το φαινόμενο της STEC αλλά και μεθόδων για τον έλεγχο και την επιτήρηση του βακτηρίου αυτού.

2.4 Υπόλοιπα τρόφιμα και STEC

Στην κατηγορία νωπών φρέσκων προϊόντων παρατηρούνται πολυάριθμες συσχετίσεις με τροφογενείς επιδημίες που αφορούν κυρίως τον ορότυπο O157:H7 αλλά και άλλους ορότυπους της Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC).

2.4.1 Λαχανικά και φρούτα

Οι απαιτητικά γρήγοροι ρυθμοί ζωής που χαρακτηρίζουν πια την καθημερινότητα των ανθρώπων τους οδηγούν στην κατάποση φαγητών που συνδυάζουν τα σωστά διατροφικά στοιχεία με την γρήγορη προετοιμασία τους. Λύση σε αυτό το είδος διατροφής προσφέρουν οι σαλάτες Ready-To-Eat (RTE) όπου περιέχουν έτοιμα λαχανικά κομμένα σε σακουλάκια τα οποία μπορεί συνήθως να συνοδεύονται με κάποια έτοιμη παρασκευασμένη σως σε κυπελάκι.

Οι σακούλες με τις περιεχόμενες σαλάτες υφίστανται επεξεργασία και πλένονται πολλές φορές πριν και μετά τον τεμαχισμό των λαχανικών γεγονός που οδηγεί στην άποψη πως θα έχουν χαμηλότερο μικροβιακό περιεχόμενο από τα φρέσκα λαχανικά που προμηθευόμαστε από κάποιο μανάβικο ή σουπερ μάρκετ. Ωστόσο μικροβιολογικές έρευνες που έγιναν σε διάφορες χώρες πάνω σε αυτά τα προϊόντα έδειξαν ότι ο συνολικός βακτηριακός πληθυσμός ήταν παρόμοιος με των λαχανικών που βρίσκονται στο χωράφι πριν την συλλογή τους και κυμαίνονταν από 10³ έως 10⁷ CFU/g (Feng 2014).

Τα λαχανικά και τα φρούτα και γενικά τα προϊόντα που η παραγωγή τους απαιτεί την καλλιέργεια στο έδαφος με την άρδευση τους να γίνεται από τις εκάστοτε διαθέσιμες πηγές νερού τα καθιστά ιδιαίτερα επικίνδυνα και ευαίσθητα σε μόλυνση από το στέλεχος STEC που μπορεί να προκληθεί από παράγοντες όπως το έδαφος, το νερό, το χρησιμοποιούμενο λίπασμα και τα ζωικά απόβλητα (Feng 2014). Από έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2015 στην Ιταλία σε 273 δείγματα φρέσκων φρούτων και λαχανικών τα οποία περιελάμβαναν έτοιμα, συσκευασμένα και προκομμένα φρούτα και λαχανικά βρέθηκαν τα 5 δείγματα(1,8%) θετικά σε STEC με θετικό έλεγχο σε stx1/stx2 εκ των οποίων τα 3 ήταν από RTE σαλάτα και τα άλλα 2 από φασόλια σόγιας (Bardasi et al. 2015).

Πρέπει να αναφερθεί πως η επιδημία τον Μάιο του 2011 στην Γερμανία που προκλήθηκε από το στέλεχος O104:H4 της STEC αναφέρει ως αιτία τα Ready To Eat(RTE) φρέσκα φρούτα και λαχανικά (Bardasi et al. 2015). Για τον λόγο αυτό οι διαδικασίες ελέγχου πάνω σε φρέσκα προϊόντα όπως τα φρούτα και τα λαχανικά είναι απαραίτητες και κάθε χώρα προσαρμόζει τα μέτρα ελέγχου στις δικές της απαιτήσεις. Στην Γερμανία οι πράσινες σαλάτες και τα φρούτα εξετάζονται κατά τη πρωτογενή παραγωγή και φυσικά κατά την παράδοση τους στο λιανικό εμπόριο ενώ στην Ιαπωνία η δειγματοληψία και ο έλεγχος γίνεται μόνο στην πρωτογενή παραγωγή για την διασφάλιση της ασφάλειας του αγροκτήματος.

Η παρουσία της STEC σε αυτή την κατηγορία προϊόντων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως την απόσταση από το έδαφος του βρώσιμου τμήματος του φυτικού προϊόντος (π.χ καρότα, κρεμμύδια κτλ) και την απόσταση της ρίζας του φυτού από το έδαφος (π.χ λάχανα, μαϊντανός, κτλ). Βάση αυτών των παραμέτρων καθίσταται πιο πιθανή η επιμόλυνση των προϊόντων που βρίσκονται κοντά στο έδαφος σε σχέση με

αυτά που αναπτύσσονται σε εκατοστά πάνω από το έδαφος (π.χ ντομάτες, πιπεριές κτλ).

Η επιδημία της *Escherichia coli* O104:H4 το 2011 υπογραμμίζει τη σημασία των λαχανικών και των ωμών φρούτων ως πιθανά αίτια λοίμωξης από STEC αλλά και ως πιθανούς σημαντικούς παράγοντες στην πρόκληση τροφιμογενών επιδημιών.

2.4.2 Ιχθυηρά

Η εμφάνιση STEC στα ιχθυηρά και συγκεκριμένα στα θαλασσινά οφείλεται κυρίως σε δευτερογενή μόλυνση των ζωικών οργανισμών από το νερό, τους χειριστές θαλασσινών ή ακόμα και διασταυρούμενη μόλυνση από άλλα τρόφιμα (Prakasan et al. 2018). Δεδομένου λοιπόν πως τα θαλασσινά είναι μολυσμένα από χερσαίες πηγές βγαίνει το συμπέρασμα πως τα δειγματοληπτικά προϊόντα STEC των θαλασσινών θα είναι γενετικά και ορολογικά διαφορετικά καθώς το περιβάλλον της θάλασσας αποτελεί ιδανικό για ανταλλαγή γενετικών υλικών μεταξύ στενά συνδεδεμένων βακτηρίων που οδηγούν στην εξέλιξη και ανάπτυξη νέων παθογόνων βακτηρίων (Prakasan et al. 2018).

Στην περιοχή της δυτικής Βομβάης στην Ινδία κατά την περίοδο Αυγούστου 2014 μέχρι Απριλίου 2015 συλλέχθηκαν 39 δείγματα θαλασσινών από την λιανική αγορά και από κέντρα εκφόρτωσης. Τα δείγματα αφού τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένες πλαστικές σακούλες και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο εντός μιας ώρα απομονώθηκαν έπειτα από βακτηριολογική ανάλυση σε 670 στελέχη. Από αυτά τα 670 στελέχη, τα 368 (54,9%) βγήκαν θετικά σε *E.coli* , ενώ μόλις 10 (25,64%) ήταν θετικά σε STEC (Prakasan et al. 2018).

2.4.3 Υπόλοιπα προϊόντα

Στην κατηγορία τροφίμων , το αλεύρι αποτελεί σημαντικό σημείο επιμόλυνσης καθώς το στέλεχος STEC μπορεί να εισαχθεί σε πολλά στάδια της τροφικής αλυσίδας και παραγωγικής διαδικασίας του όπως στην καλλιέργεια , τη συγκομιδή , την αποθήκευση του, το καθαρισμό και την λείανση του , ενώ ακόμα και στην συσκευασία του (Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). 2020). Η μόλυνση από βακτήρια και πιο συγκεκριμένα από την *Escherichia coli* που έχει τη δυνατότητα ακόμα και να αναπτυχθεί στο σιτάρι μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της λίπανσης των χωραφιών με κοπριά από βοοειδή αποικισμένα από STEC ή μέσω περιττωμάτων από άγρια μηρυκαστικά.

Τα τελευταία χρόνια από το 2015 μέχρι το 2019 το Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς (National Reference Laboratory NRL) έλαβε συνολικά 133 δείγματα απομονωμένα με STEC από αλεύρι, μείγματα ψησίματος και υπολείμματα δημητριακών. Από τα δείγματα αυτά , τα 28 θεωρήθηκαν διπλά αφού βρέθηκε ο ίδιος ορότυπος STEC με τους ίδιους παράγοντες λοιμογόνου δράσης απομονώθηκε περισσότερες από μία φορές στο ίδιο δείγμα.

Αναλύσεις έχουν δείξει πως έτοιμα dressing σαλάτας, σε διάφορες συνοδευτικές σως , στην μαργαρίνη και σε προϊόντα παραγόμενα από κίτρινο λίπος η *E.coli* O157:H7 έχει επιβιώσει από 1 έως 21 ημέρες υπό σταθερές συνθήκες αποθήκευσης θερμοκρασίας και υγρασίας (Erickson and Doyle 2007).

Η δυνατότητα της παθογόνου STEC να επιβιώνει και να αναπτύσσεται στο έδαφος και στο νερό το καθιστά υδατογενές παθογόνο βακτήριο αφού η ανεπαρκής επεξεργασία επιφανειακών υδάτων για την παροχή πόσιμου νερού, η δυσλειτουργία των συστημάτων συλλογής λυμάτων και οι ελαττωματικοί αγωγοί διανομής νερού οδηγούν σε πολλές μολύνσεις ζώων και ανθρώπων μέσω της STEC. Κατά την περίοδο Φεβρουαρίου 2005 έως Ιανουαρίου 2006 σε βόρειο δήμο της πολιτείας Parana της Βραζιλίας συλλέχθηκαν συνολικά 1850 δείγματα πόσιμου νερού που προορίζονταν για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση από τα οποία 1200 ήταν επεξεργασμένα και 650 μη επεξεργασμένα. Οι παροχές νερού βρίσκονταν τόσο σε αγροτικές όσο και σε αστικές περιοχές. Σε 204 δείγματα(11%) από τα οποία τα 198 ήταν από μη επεξεργασμένο νερό και τα 6 από επεξεργασμένο ανιχνεύθηκε παρουσία *E.coli* . Η παρουσία του *E.coli* ενώ 12 απομονώσεις βρέθηκαν θετικές στην παρουσία stx γονιδίου (Lascowski et al. 2013). Συμπεραίνουμε λοιπόν πως τα περισσότερα τρόφιμα που μπορούν να μολυνθούν από κάποιο στέλεχος της STEC έρχονται άμεσα ή έμμεσα σε επαφή με μολυσμένο νερό, ζώα μολυσμένα από STEC και γενικά το υπαίθριο περιβάλλον που αυτά μπορεί να εδρεύουν(βλέπε Εικόνα.6).



Εικόνα 6. Εικονική αναπαράσταση και συσχέτιση μολυσμένων ζώων και περιβάλλοντος με την κατανάλωση τροφών από τον καταναλωτή (Centre for Food Safety Understanding STEC: A Significant Food Safety Issue , 2022)

2.5 Μέθοδοι ανίχνευσης και απομόνωσης STEC στα τρόφιμα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί για την ανίχνευση τοξινών stx1 και stx2 και στελεχών STEC σε δείγματα τροφίμων χρησιμοποιείται το πιστοποιημένο πρότυπο σύστημα International Organization for Standardization (ISO). Η απομόνωση των στελεχών STEC αρχικά πραγματοποιήθηκε μόνο για θετικά δείγματα στα οποία ανιχνεύθηκε κάποιος γενετικός δείκτης όπως τα γονίδια stx, eae και τουλάχιστον ένας δείκτης ομάδας O (Balière et al. 2015).

2.5.1 ISO 13136:2012

Η μέθοδος ανίχνευσης ISO 13136:2012 (ISO, 2012) προϋποθέτει την απομόνωση του στελέχους STEC από όλα τα δείγματα όπου ανιχνεύονται τα γονίδια stx ενώ επίσης περιλαμβάνει πρωτόκολλα τα οποία βοηθούν στην ανίχνευση του γονιδίου eae και της STEC σε θετικά δείγματα που σχετίζονται με τις πέντε ορομάδες STEC O157, O145, O111, O103, O26. Η απομόνωση στελεχών της STEC με τη συγκεκριμένη μέθοδο ISO13136:2012 καθίσταται πιο εύκολη και αποτελεσματική καθώς το δείγμα προς ανάλυση περνάει από μια ανοσομαγνητική διαδικασία που χωρίζεται σε δύο μέρη. Το πρώτο μέρος της διαδικασίας ασχολείται με την ανίχνευση και την απομόνωση του στελέχους STEC από τα τρόφιμα και γενικά από τις παραγωγικές διαδικασίες ενώ το δεύτερο μέρος είναι αφιερωμένο τις προδιαγραφές που θα χρειαστούν για τον

χαρακτηρισμό και την ταυτοποίηση των απομονωμένων στελεχών (Koutsoumanis et al. 2020)

2.5.2 ISO 16654:2001

Το ISO 16654:2001 (ISO, 2001) ήταν το πρώτο πρότυπο σύστημα που καθορίστηκε για την ανίχνευση STEC στα τρόφιμα. Αρχικά το ISO 16654:2001 χρησιμοποιήθηκε κυρίως για την ειδική ανίχνευση της ορότυπης ομάδας STEC O157 αφού βασίζεται στην ανοσολογική συγκέντρωση του O157. Η μέθοδος αποτελείται από καλλιέργεια εμπλουτισμού με μαγνητικά σφαιρίδια που σε συνδυασμό με ένα αντίσωμα το οποίο στρέφεται προς το O157 και εμποδίζει τα στελέχη της οροομάδας αυτής να αναπτυχθούν. Το πρότυπο αυτό αποτελεί μια αρκετά ευαίσθητη και περιορισμένη διαδικασία καθώς σε αντίθεση με το ISO13136:2012 δεν παρέχει κανένα βήμα και συνεπώς καμία πληροφορία για τον χαρακτηρισμό των απομονωμένων στελεχών STEC (Koutsoumanis et al. 2020).

2.5.3 Φίλτρο μεμβράνης υδροφοβικού πλέγματος (Hydrophobic Grid Membrane Filter HGMF)

Η μέθοδος HGMF αποτελείται από μια υποθετική απαρίθμηση διάρκειας 24 ωρών σε άγαρ SD-39 που χρησιμοποιείται με το ISO-GRID και εξαρτάται από τρεις βιοχημικές αντιδράσεις, την αποκαρβοξυλάση της λυσίνης, τη ζύμωση σορβιτόλης και το GUD, οι οποίες διαβάζονται ταυτόχρονα. Η μέθοδος περιγράφεται από τρεις διαδοχικές διαδικασίες. Η πρώτη διαδικασία της μεθόδου είναι η απομόνωση των οργανισμών από κλινικά δείγματα ενώ ακολουθεί ο εμπλουτισμός της STEC σε τρόφιμα mTSB+N (modified tryptone soyabroth with novobiocin) αν υπάρχει περίπτωση παρουσίας STEC ακολουθούμενο από ανάπτυξη σε άγαρ HC (De Boer and Heuvelink 2000). Η τρίτη διαδικασία είναι ο εμπλουτισμός σε EEB, IMS και η επιμετάλλωση στο CT-SMAC το οποίο αντιστοιχεί στο προσχέδιο διεθνούς προτύπου για την ανίχνευση του *E. coli* O157 σε τρόφιμα που έχει επιβεβαιωθεί από τον Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (ISO) και από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Τυποποίησης (CEN).

2.5.4 Προεμπλουτισμός και καλλιέργεια του δείγματος

Η απομόνωση στελεχών STEC στα τρόφιμα μπορεί να γίνει με προεμπλουτισμό των δειγμάτων τροφίμων σε ειδικό εμπλουτιστικό ζωμό με επώαση στους 37°C για 24 ώρες και στη συνέχεια με καλλιέργεια του δείγματος σε κατάλληλα εκλεκτικά θρεπτικά υποστρώματα. Οι διαδικασίες αυτές θεωρούνται απαραίτητες καθώς η λοιμογόνος

δράση της STEC είναι χαμηλότερη έναντι των υπόλοιπων εντεροβακτηρίων του δείγματος και έτσι επιτυγχάνεται η επικράτησή της

2.5.5 Ανοσομαγνητικός διαχωρισμός (IMS)

Ένας επιπλέον εκλεκτικός εμπλουτισμός επιτυγχάνεται μέσω του ανοσομαγνητικού διαχωρισμού (IMS) ο οποίος είναι ιδιαίτερα χρήσιμος για τα τρόφιμα και ειδικά σε περιπτώσεις ύπαρξης μεγάλου αριθμού ανταγωνιστικών μικροβίων και μικρού αριθμού κυττάρων της STEC χρησιμοποιώντας ειδικά μαγνητικά σφαιρίδια, επικαλυμμένα με ειδικά αντισώματα. Η μέθοδος του ανοσομαγνητικού διαχωρισμού έχει βελτιώσει σημαντικά την δυνατότητα απομόνωσης του μικροοργανισμού από δείγματα τροφίμων, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία της μεθόδου από 10 μέχρι και 100 φορές (Richard 2007)

2.5.6 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης PCR

Η χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης PCR ανεβάζει το ποσοστό επιτυχημένης ανίχνευσης οροτύπων εκτός της O157 STEC που μπορεί να είναι η αιτία του HUS και έχει την δυνατότητα να καταφέρει την ανίχνευση μιας σειράς στελεχών STEC με πιθανή χαμηλή πιθανότητα πρόκλησης σοβαρής ασθένειας στον άνθρωπο. Η μέθοδος της PCR χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των γονιδίων *stx1* και *stx2* και άλλων πιθανών γονιδίων λοιμογόνου δράσης (π.χ. *eae* και *ehxA*) σε στελέχη STEC (Haugum et al. 2014). Η ανίχνευση στελεχών STEC σε δείγματα τροφίμων με PCR αποτελεί μια διαδικασία δύο σταδίων όπου πρώτα γίνεται σε μικτές καλλιέργειες δειγμάτων και στη συνέχεια ακολουθείται απομόνωση του στελέχους με τυπικές μεθόδους, συμπεριλαμβανομένου του άγαρ SMAC (Haugum et al. 2014). Επιπλέον στην μέθοδο PCR στο εργαστηριακό κομμάτι αν γίνει εφαρμογή μεμβρανών 0,22 ή 0,45 μm χαμηλής δέσμευσης πρωτεϊνών που δεν διατηρούν τους φάγους μπορεί να διευκολυνθεί η ανίχνευση STEC σε τρόφιμα. Μια πρόσφατη μελέτη της απόδοσης ενός πάνελ με βάση PCR δείχνει πως τα εμπορικά κιτ βρήκαν καλή απόδοση για δείγματα κρέατος, αλλά όχι για λαχανικά (Koutsoumanis et al. 2020).

Τα εμπορικά κιτ(rapid test) βασισμένα στην μέθοδο PCR που είναι ιδανικά για την ανίχνευση των «μεγάλων πέντε» οροομάδων O157, O111, O26, O103 and O145 τα οποία περιλαμβάνουν το Pall Corporation GeneDisc® και το σύστημα Hunter® από την Instantlabs Inc. Μετά το ξέσπασμα της επιδημίας το 2011 στη Γερμανία, η Biotecon ανέπτυξε ένα κιτ δοκιμής foodproof® για την ορομάδα O104.

Το τρέχον διεθνές εφαρμοζόμενο πρότυπο ISO 13136:2012 , αντιπροσωπεύει την πιο αξιόπιστη προσέγγιση για ανίχνευση στελεχών STEC στα τρόφιμα, αν και, όπως και με κάθε άλλη μέθοδο που βασίζεται στη μοριακή βιολογία, υπάρχουν περιορισμοί που συνδέονται με τη χαμηλότερη ευαισθησία της διαδικασίας απομόνωσης σε σχέση με τη βασισμένη σε PCR διαλογή των δειγμάτων εμπλουτισμού (Koutsoumanis et al. 2020).

2.6 Πρόληψη και έλεγχος μικροβιολογικών κινδύνων

Τα στελέχη της STEC μπορούν έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν αποικίες σε ένα μεγάλο φάσμα ξενιστών, αλλά κυρίως θεωρούνται το βασικό πρόβλημα τροφιμογενούς ασθένειας στον άνθρωπο που προκαλεί τόσο εξάρσεις όσο και σποραδικές επιδημίες. Η άμεση πρόληψη και ο έλεγχος των ανθρώπινων λοιμώξεων STEC καθίσταται πρόκληση κυρίως λόγω της ποικιλίας των μολυσματικών στελεχών και της μεγάλης ποικιλίας πηγών και οδών μετάδοσης αυτών των παθογόνων. Οι προσπάθειες πρόληψης ή και θεραπείας του ανθρώπινου αποικισμού με τη χρήση προβιοτικών ή συμπληρωμάτων διατροφής μέχρι στιγμής είχαν ελάχιστα στοιχεία επιτυχίας και μπορεί να είναι επιζήμιες για τον ασθενή (Newell and La Ragione 2018).

Η επιφόρτιση της δημόσιας υγείας μέσω μολύνσεων από κάποιο στέλεχος της STEC βασίζεται στον έλεγχο της μεταφοράς του στελέχους στον ζωικό οργανισμό και στην πρόληψη της περαιτέρω διάδοσης του στα τρόφιμα, το νερό και το περιβάλλον. Η πρόκληση ανθρώπινης νόσου από την Shiga-toxin producing *Escherichia coli* που βρίσκεται στο περιβάλλον βασίζεται στην πολυπλοκότητα των χαρακτηριστικών του στελέχους, την έκθεση του οργανισμού και τον συνολικό αριθμό βιώσιμων οργανισμών που προκύπτουν από την ευαισθησία του ξενιστή. Η παρακολούθηση και η τακτική επιτήρηση των ζώων και των τροφίμων είναι η πιο σημαντική στρατηγική στις τροφιμογενείς λοιμώξεις STEC (Newell and La Ragione 2018).

Η κύρια λειτουργία της παρακολούθησης είναι η παροχή μιας βάσης αποδεικτικών στοιχείων για την υλοποίηση παρεμβάσεων που συμβάλλει στη μείωση της επιβάρυνσης της δημόσιας υγείας και στη παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας τέτοιων παρεμβάσεων. Μια από τις σημαντικές παρεμβάσεις χαρακτηρίζεται από την ανάλυση κινδύνου στα κρίσιμα σημεία ελέγχου (HACCP) το οποίο είναι το βασικό εργαλείο που χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία τροφίμων για την πρόληψη και τον έλεγχο μικροβιολογικών κινδύνων στην τροφική αλυσίδα. Τα κρίσιμα σημεία ελέγχου

HACCP δραστηριοποιούνται κυρίως στη διασφάλιση της καλής προσωπικής υγιεινής, του διαχωρισμού των άψητων από τα μαγειρεμένα τρόφιμα και της χρήσης κατάλληλων θερμοκρασιών αποθήκευσης και μαγειρέματος εκεί που υφίσταται απαραίτητο.

2.6.1 Στρατηγικές ελέγχου επεξεργασίας για STEC στο κρέας

Στη βιομηχανία τροφίμων και συγκεκριμένα σε βιομηχανίες παραγωγής και συσκευασίας κρεάτων και προϊόντων τους έχουν αναπτυχθεί και υπογραμμιστεί ως κρίσιμα σημεία ελέγχου διαδικασίες που στοχεύουν στην απολύμανση στον χώρο του σφαγείου, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης βελτιωμένων δορυφόρων και αντιμικροβιακών μεθόδων που είναι το τακτικό πλύσιμο του χώρου με νερό σε συνδυασμό πάντα με επιλεγμένα χημικά , οργανικά οξέα και βακτηριοφάγους (Newell and La Ragione 2018).

Τα δωμάτια αποθήκευσης και φιλοξενίας των ζώων πρέπει να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται μετά από την χρήση τους και πριν την επόμενη χρήση από άλλη παρτίδα ζώων καθώς υπάρχει κίνδυνος για επιμόλυνση ακόμα και μέσω των δερμάτων των ζώων. Η χρήση του χλωριωμένου νερού (1 ppm) ή με 1,0% χλωριούχο κετυλοπυριδίνιο (CPC) μειώνει σημαντικά τον επιπολασμό του STEC O157:H7 ακόμα και σε δύσκολες επιφάνειες του χώρου.

Η εφαρμογή αυτών των βημάτων μπορεί να μειώσει το άγχος των ζώων, την παραγωγή κοπράνων, την πιθανή έκχυση του γαστρεντερικού περιεχομένου και τη μόλυνση του σφαγείου κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας.

Τα δέρματα των ζώων και ιδιαίτερα των βοοειδών αποτελούν ιδιαίτερη πηγή μόλυνσης στα σφάγια και τα επίπεδα STEC στα δέρματα κατά τη σφαγή αποτελούν καλό προγνωστικό δείκτη μόλυνσης του κρέατος ακόμα και μετά την επεξεργασία (FAO and WHO 2022). .

Για την αποφυγή μόλυνσης του σφαγείου και των ζώων από κάποιο μολυσμένο δέρμα είναι κρίσιμη η ταξινόμηση κάποιων ζώων ή και ολόκληρης παρτίδας ως 'βρώμικα' με σκοπό τη φύλαξη του για μείωση κινδύνου μικροβιακής μόλυνσης. Με τη σειρά τους οι μεταποιητές και χειριστές του κρέατος μπορούν να εφαρμόσουν μια σειρά από παρεμβάσεις που βασίζεται στο πλύσιμο των βοοειδών με νερό, οξονισμένο ή

ηλεκτρολυμένο που με προσθήκη χημικών ουσιών μπορεί να μειώσει την ορατή μόλυνση του δέρματος .

Έπειτα από τη σφαγή του ζώου για να μειωθεί η τυχόν διασπορά μόλυνσης από το στέλεχος STEC προτιμάται να γίνονται πλύσεις με νερό σε διάφορες θερμοκρασίες σε όλη την επιφάνεια του σφαγείου πριν το στάδιο της ψύξης. Η θερμοκρασία που επιτυγχάνεται στην επιφάνεια του σφαγείου σε συνδυασμό με την πίεση και τον όγκο του νερού παίζουν καθοριστικό ρόλο στις ανάλογες μικροβιακές μειώσεις που θα προκληθούν. Η εφαρμογή ζεστού νερού έναντι κρύου νερού σε ένα σφάγιο μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα έναν λευκασμένο αποχρωματισμό του κρέατος ο οποίος εξαφανίζεται μετά την ψύξη (FAO and WHO 2022).

Διαδικασίες ελέγχου ασφάλειας κρεάτων

Αρχικά πρέπει να γίνεται άμεση ψύξη του προϊόντος μετά την σφαγή του ώστε να διασφαλίζεται η σωστή θερμοκρασία του κρέατος. Η θερμοκρασία του σφαγμένου κρέατος πρέπει να μην υπερβαίνει τους 3°C ενώ των παραπροϊόντων τους 7°C, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις που τα σφαγεία συνδέονται με τις εγκαταστάσεις ψύξης συνίσταται η κοπή του κρέατος κατά την διάρκεια της ψύξης για περισσότερη ακρίβεια και ασφάλεια. Για να εγκριθεί η μεταφορά του κρέατος η θερμοκρασία του πρέπει να φτάσει σε αυτή που καθορίζεται για νωπό ή κατεψυγμένο προϊόν και να παραμείνει σταθερή κατά τη μεταφορά του. Τέλος , ο μέγιστος χρόνος αποθήκευσης που μεσολαβεί από την διαδικασία σφαγής μέχρι την διαδικασία παραγωγής για τον κιμά δεν πρέπει να ξεπερνάει τις έξι ημέρες, ενώ στην περίπτωση βόειου κρέατος αποστεωμένου και συσκευασμένου σε κενό αέρος δεν πρέπει να υπερβεί τις δεκαπέντε μέρες (European Food Safety Authority (EFSA) 2014).

Διαδικασίες ελέγχου ασφάλειας πουλερικών

Στην περίπτωση των πουλερικών η θερμοκρασία ψύξης δεν πρέπει να ξεπερνάει τους 4°C ενώ η θερμοκρασία αυτή είναι σημαντικό να παραμένει σταθερή πριν την μεταφορά όσο και κατά τη διάρκεια αυτής. Στην περίπτωση του συκωτιού των πουλερικών που προορίζονται για παραγωγή φουά-γκρα η θερμοκρασία μπορεί να υπερβαίνει τους 4°C υπό τον όρο ότι η μεταφορά πραγματοποιείται σύμφωνα με τις ορίζουσες απαιτήσεις από την αρμόδια αρχή που περιλαμβάνουν κυρίως σαν κρίσιμο σημείο το χρονικό διάστημα μεταφοράς στις 2 ώρες. Ο μέγιστος χρόνος αποθήκευσης

των πουλερικών προϊόντων είναι μόλις τρεις ημέρες (European Food Safety Authority (EFSA) 2014).

2.6.2 Στρατηγικές ελέγχου επεξεργασίας για STEC στο γάλα και στα προϊόντα του

Ο έλεγχος του STEC κατά την πορεία της γαλακτοκομικής παραγωγής μπορεί να επιτευχθεί συνολικά με ένα σύνολο μέτρων που καταλαμβάνουν ολόκληρη την τροφική αλυσίδα. Ο βέλτιστος συνδυασμός αυτών των μέτρων απομένει να καθοριστεί και χρειάζεται περισσότερη έρευνα για την καλύτερη αξιολόγηση του επιπολασμού και των αριθμών κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας αλλά και της αποτελεσματικότητας των μέτρων ελέγχου για την ανάπτυξη αναγνωρισμένων μεθόδων που οδηγούν σε φθηνές και γρήγορες αναλύσεις (Farrokh et al. 2013).

Στις μεθόδους επεξεργασίας σημαντικό ρόλο παίζει η βακτοφυγοκέντρηση, μια διαδικασία κατά την οποία διαχωρίζονται οι διάφοροι μικροοργανισμοί και σπόρια από το γάλα λόγω των διαφορών τους στην πυκνότητα. Η μέθοδος της βακτοφυγοκέντρησης χρησιμοποιείται αρκετά στη γαλακτοβιομηχανία με σκοπό την εξάλειψη βακτηριακών σπορίων, αλλά η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το ιξώδες, επομένως το γάλα πρέπει να θερμανθεί στους 55–60 °C για να μειωθεί το ιξώδες πριν από την εκκίνηση της διαδικασίας. Η βακτηριακή απομάκρυνση καταστρέφει το 90-99% των βακτηριακών σπορίων στο γάλα, αλλά η αποτελεσματικότητά της στην απομάκρυνση των βλαστικών κυττάρων είναι λιγότερο συνεπής καθώς αντίστοιχα μπορεί να καταστρέψει τα εντεροβακτηρίδια και επομένως τα στελέχη STEC σε ποσοστό 72%. Η επεξεργασία με διπλή βακτοφυγοκέντρηση συναντά ποσοστό επιτυχίας σε τύπους της *E.coli* 95% στους 54,4 °C (FAO and WHO 2022).

Η χρήση της μεθόδου της ακτινοβόλησης των τροφίμων είναι μια μη θερμική επεξεργασία η οποία έχει τη δυνατότητα να μειώσει σε μεγάλο βαθμό το φορτίο παθογόνων στο νωπό γάλα και παράλληλα να αυξήσει την ασφάλεια του προϊόντος. Η εγκατάσταση όμως ενός συστήματος ακτινοβόλησης σε μια μονάδα είναι ιδιαίτερα δαπανηρή και οι καταναλωτές δεν έχουν την επιθυμία να αγοράσουν κάποιο προϊόν στο οποίο αναγράφεται ότι είναι ακτινοβολημένο και ως είναι πιο ασφαλές από άποψη ποιοτικής ασφάλειας.

Στην περίπτωση της παρασκευής τυριών από νωπό γάλα υπάρχει η δυνατότητα χρήσης προστατευτικών βακτηριακών καλλιέργειών οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξάλειψη των παθογόνων μικροοργανισμών στα τυριά. Ωστόσο, ελάχιστες προστατευτικές καλλιέργειες διατίθενται στην αγορά για την παραγωγή τυριού, υπογραμμίζοντας πως με τη μη σωστή χρήση τους μπορεί να επηρεαστεί η δραστηριότητα της επιθυμητής χλωρίδας τυριού, οι καλλιέργειες εκκίνησης, τα βακτήρια ωρίμανσης, οι ζυμομύκητες και μούχλες, γεγονός που επηρεάζει μέχρι και την αισθητηριακή ποιότητα του προϊόντος (FAO and WHO 2022).

Σημαντική παράμετρος που οδηγεί στην αναστολή ανάπτυξης στελεχών STEC κατά την παρασκευή τυριού είναι η ταχεία οξίνιση και η υψηλή θερμοκρασία καθώς με τη διαδικασία της όξινης πήξης σε $\text{pH} < 4,5$ για 24 ώρες με τη ταυτόχρονη παραγωγή γαλακτικού οξέος παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των STEC O26, O103, O145 και O157 και μειώνεται σημαντικά οι συγκεντρώσεις τους κάτω από τα όρια απαρίθμησης. Για την παρασκευή σκληρών και εξαιρετικά σκληρών τυριών, εφαρμόζονται θερμοκρασίες μαγειρέματος $53\text{ }^\circ\text{C}$ ή και υψηλότερες που αποσκοπούν στην απομάκρυνση του νερού από τους κόκκους του τυροπήγματος με σκοπό τη μείωση πιθανώς πληθυσμού STEC. Στην περίπτωση των μαλακών τυριών το αντίστοιχο ρόλο αναλαμβάνει η διαδικασία της ωρίμανσης κατά την οποία μπορεί να μειωθεί αισθητά το ποσοστό της STEC (FAO and WHO 2022).

2.6.3 Στρατηγικές ελέγχου για STEC στα υπόλοιπα τρόφιμα

Η αξιολόγηση κινδύνου σε φρέσκα προϊόντα όπως τα φρούτα και τα λαχανικά μπορεί να γίνει συστηματικά και με κάποια ορθολογικότητα στις περισσότερες περιπτώσεις, αλλά οι περισσότερες εκτιμήσεις τείνουν να είναι ασαφείς λόγω της μερικής ταυτότητας ή του αβέβαιου ρόλου των πιθανών παραγόντων λοιμογόνου δράσης που ανιχνεύονται. Για αυτό το λόγο ακόμα πιο κρίσιμη καθίσταται η δυνατότητα λήψης έγκαιρων δεδομένων για τη λήψη αποφάσεων εκτίμησης κινδύνου για προϊόντα μικρής διάρκειας ζωής όπως είναι τα φρέσκα αυτά προϊόντα (Feng 2014). Καθώς η μόλυνση στα φρούτα και στα λαχανικά στο μεγαλύτερο ποσοστό προέρχεται από μολυσμένο νερό και μολυσμένο έδαφος οι στρατηγικές ελέγχους μόλυνσης σε αυτή την οικογένεια τροφίμων βασίζεται στις διαδικασίες εφαρμογής προγραμμάτων καθαρισμού και ελέγχου του αρδευτικού συστήματος και εκπαίδευσης του χειριστή των προϊόντων.

2.6.4 Προσωπική ευθύνη πρόληψης μόλυνσης από STEC

Ο άνθρωπος σε γενικό πλαίσιο έτσι και στην προκειμένη περίπτωση έχει εκτός των άλλων μεγάλο μερίδιο προσωπικής ευθύνης και υγιεινής.

Έμποροι και χειριστές τροφίμων

Οι έμποροι ως σωστά εκπαιδευμένοι και γνώστες θα πρέπει να παρέχουν στους πελάτες και στο ευρύ κοινό τις ειδικές οδηγίες που χρειάζονται για τη χρήση προσυσκευασμένων τροφίμων, για παράδειγμα, οδηγίες μαγειρέματος ή αναθέρμανσης. Καθώς έχουμε ήδη αναφέρει πως τα τρόφιμα έχουν την ικανότητα να μολυνθούν σε οποιοδήποτε στάδιο κατά την παραγωγή τροφίμων, οι υπεύθυνοι επιχειρήσεων τροφίμων και οι υπεύθυνοι παραγωγής αυτών είναι υποχρεωμένοι να κατανοούν τους κινδύνους που συνδέονται με τα τρόφιμα που παράγουν και να εφαρμόζουν καλή υγιεινή σε αυτά και στο χώρο του εργοστασίου ανά πάσα στιγμή (CHONG 2022).

Καταναλωτές

Οι καταναλωτές είναι κρίσιμο να ελέγχουν και να ακολουθούν τις οδηγίες μαγειρέματος ή αναθέρμανσης που αναγράφονται στη κάθε συσκευασία του προϊόντος. Στην περίπτωση κατεψυγμένων προϊόντων συνίσταται για την ασφαλή τους κατανάλωση το σωστό μαγείρεμα τους με τη θερμοκρασία του πυρήνα να φτάνει στους 75°C (CHONG 2022). Το νωπό κρέας αν δεν προορίζεται για άμεσο μαγείρεμα εντός λίγων λεπτών πρέπει να τοποθετείται στο ψυγείο ή στην κατάψυξη και να μην μένει ποτέ σε θερμοκρασία δωματίου καθώς αυξάνονται οι πιθανότητες ανάπτυξης βακτηρίων (Iowa Department of Public Health 2018). Οι ειδικοί τονίζουν τη κατανάλωση παστεριωμένου γάλακτος, χυμού και μηλίτη έναντι των νωπών. Στους κανόνες ορθής προσωπικής υγιεινής, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η αρκετά συχνή και σωστή πλύση των χεριών ειδικά ύστερα από τη χρήση της τουαλέτας, αλλαγής πάντας ή επαφής με το ίδιο το τρόφιμο.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η *Escherichia coli* που παράγει Shiga-toxins (STEC) είναι μια από τις πιο σημαντικές αιτίες πρόκλησης διαρροϊκής νόσου, αιμορραγικής κολίτιδας, και διαφόρων άλλων μετα-διαρροϊκών επακόλουθων με πιο βασικό να αποκαλείται το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο HUS. Το καθοριστικό χαρακτηριστικό της STEC είναι η παραγωγή εξωκυτταρικών τοξινών Stx1 και Stx2 (Moxley 2021). Ανάμεσα σε 100 συνολικά ορότυπους που έχουν ανακτηθεί από επιστημονικές έρευνες και ερμηνείες, οι ορότυποι O157:H7 και O157:H αντιπροσωπεύουν την πλειονότητα των απομονώσεων που σχετίζονται με ανθρώπινη και ζωική νόσο. Η νόσος που μπορεί να προκληθεί από στελέχη STEC έχει παγκόσμιο αντίκτυπο και έχει αναφερθεί και από τις 6 κατοικημένες ηπείρους (Bryan et al. 2015).

Παρόλο που τα τελευταία χρόνια έχει εντατικοποιηθεί η καθαριότητα, η υγιεινή και οι διαδικασίες εφαρμογής HACCP στις βιομηχανίες παραγωγής τροφίμων και φαίνεται να έχουν μειωθεί σε σημαντικό βαθμό οι πιθανότητες μόλυνσης, η εξάλειψη στελεχών της Shiga-toxin producing *Escherichia coli* παραμένει μία δύσκολη διαδικασία για τα προϊόντα. Οι δυσκολίες αυτές αφορούν κυρίως την αξιολόγηση της εμφάνισης της STEC ενώ οι διαθέσιμες αναλυτικές μέθοδοι στοχεύουν κυρίως στην ανίχνευση των οροομάδων ή δεικτών λοιμογόνου δράσης, όπως την ιντιμίνη, τις τοξίνες Shiga, και τη εντεροαιμολυσίνη που σχετίζονται με στελέχη που προκάλεσαν στο παρελθόν κρούσματα μόλυνσης από STEC (Farrokh et al. 2013).

Με τις κατάλληλες πρακτικές χειρισμού και στρατηγικές ελέγχου σε επίπεδο παραγωγής μπορεί να αποφευχθεί πιθανή διασπορά του μικροοργανισμού ενώ με τα σύγχρονα προγράμματα καταγραφής της αποτελεσματικότητας αυτών μειώνεται η έκθεση του ανθρώπινου οργανισμού στη λοιμογόνο δράση της STEC. Οι συνεχείς βελτιώσεις στις μεθοδολογίες ανίχνευσης στελεχών της STEC και η τυποποίηση μιας επίσημης συγκεκριμένης μεθοδολογίας αποτελεί μια μεγάλη πρόκληση για τον επιστημονικό κλάδο.

Επίσης, σημαντική κρίνεται η εφαρμογή και καταγραφή προγραμμάτων επιδημιολογικής επιτήρησης με την αξιολόγηση του επιπολασμού στελεχών της STEC που έχουν την δυνατότητα να αποτελέσουν αίτια διάφορων τροφογενών νοσημάτων και HUS.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Amézquita-López, Bianca A., Marcela Soto-Beltrán, Bertram G. Lee, Jaszemyn C. Yambao, and Beatriz Quiñones. 2018. "Isolation, Genotyping and Antimicrobial Resistance of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli." *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 51(4):425–34. doi: 10.1016/J.JMII.2017.07.004.
- Andreoletti, Olivier, Dorte Lau Baggesen, Declan Bolton, Patrick Butaye, Paul Cook, Robert Davies, Pablo S. Fernandez Escamez, John Griffin, Tine Hald, Arie Havelaar, Kostas Koutsoumanis, Roland Lindqvist, James McLauchlin, Truls Nesbakken, Miguel Prieto Maradona, Antonia Ricci, Giuseppe Ru, Moez Sanaa, Marion Simmons, and John Sofos. 2014. "Scientific Opinion on the Public Health Risks Related to the Maintenance of the Cold Chain during Storage and Transport of Meat. Part 2 (Minced Meat from All Species)." *EFSA Journal* 12(7):3783. doi: 10.2903/J.EFSA.2014.3783.
- Audrey Segura. 2017. "Transmission Electron Micrograph of *E. Coli* ." Retrieved November 16, 2021 (https://www.researchgate.net/figure/Transmission-electron-micrograph-of-E-coli-BG1-The-strain-BG1-is-a-rod-shaped-bacteria_fig1_320308266).
- Bagel, Arthur, and Delphine Sergentet. 2022. "Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli and Milk Fat Globules." *Microorganisms* 10(3). doi: 10.3390/MICROORGANISMS10030496.
- Balestracci, Alejandro. 2021. "Diagnostic Sensitivity of Extended Renal and Hematologic Criteria to Define Hemolytic Uremic Syndrome." *Arch Argent Pediatr* 119(4):238–44. doi: 10.5546/aap.2021.eng.238.
- Balière, C., A. Rincé, D. Thevenot, and M. Gourmelon. 2015. "Successful Detection of Pathogenic Shiga-Toxin-Producing Escherichia Coli in Shellfish, Environmental Waters and Sediment Using the ISO/TS-13136 Method." *Letters in Applied Microbiology* 60(4):315–20. doi: 10.1111/lam.12386.
- Bardasi, Lia, Roberta Taddei, Lucia Nocera, Matteo Ricchi, and Giuseppe Merialdi. 2015. "Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli in Meat and Vegetable Products in Emilia Romagna Region, Years 2012-2013." *Italian Journal of Food Safety* 4(1):33–35. doi: 10.4081/IJFS.2015.4511.
- Beutin, Lothar, and Patrick Fach. 2014. "Detection of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli from Nonhuman Sources and Strain Typing." doi: 10.1128/microbiolspec.EHEC-0001-2013.
- Bloch, Sylwia K., Agnieszka Felczykowska, and Bożena Nejman-Faleńczyk. 2012. "Escherichia Coli O104:H4 Outbreak-Have We Learnt a Lesson from It?"
- De Boer, E., and A. E. Heuvelink. 2000. "Methods for the Detection and Isolation of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli." *Journal of Applied Microbiology* 88(S1):133S-143S. doi: 10.1111/J.1365-2672.2000.TB05341.X.
- Boisen, Nadia, Angela R. Melton-Celsa, Anne Marie Hansen, Tonia Zangari, Mark A. Smith, Lisa M. Russo, Flemming Scheutz, Alison D. O'Brien, and James P.

- Nataro. 2019. "The Role of the AggR Regulon in the Virulence of the Shiga Toxin-Producing Enteroaggregative Escherichia Coli Epidemic O104:H4 Strain in Mice." *Frontiers in Microbiology* 10(August):1–11. doi: 10.3389/fmicb.2019.01824.
- Bruyand, M., P. Mariani-Kurkdjian, M. Gouali, H. de Valk, L. A. King, S. Le Hello, S. Bonacorsi, and C. Loirat. 2018. "Hemolytic Uremic Syndrome Due to Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Infection." *Medecine et Maladies Infectieuses* 48(3):167–74. doi: 10.1016/J.MEDMAL.2017.09.012.
- Bryan, Allen, Ilan Youngster, and Alexander J. McAdam. 2015. "Shiga Toxin Producing Escherichia Coli." *Clinics in Laboratory Medicine* 35(2):247–72. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.004>.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). 2020. "Escherichia Coli in Flour - Sources, Risks and Prevention." (004):1–28. doi: 10.17590/20200120-102303.
- Canpolat, Nur, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı, and Hastalıkları Anabilim Dalı. 2015. "Hemolytic Uremic Syndrome." doi: 10.5152/tpa.2015.2297.
- Castro, Vinicius Silva, Ricardo César Tavares Carvalho, Carlos Adam Conte-Junior, and Eduardo Eustáquio Souza Figueiredo. 2017. "Shiga-Toxin Producing Escherichia Coli: Pathogenicity, Supershedding, Diagnostic Methods, Occurrence, and Foodborne Outbreaks." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(6):1269–80. doi: 10.1111/1541-4337.12302.
- CHONG, Dr. Ken. 2022. "Understanding STEC: A Significant Food Safety Issue." *196th Issue*. Retrieved November 28, 2022 (https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fs_f_196_01.html).
- Centre for Food Safety Understanding STEC: A Significant Food Safety Issue , 2022
- Cole, Marsha R., Min Li, Ravirajsinh Jadeja, Bilal El-Zahab, Daniel Hayes, Jeffery A. Hobden, Marlene E. Janes, and Isiah M. Warner. 2012. "Minimizing Human Infection from Escherichia Coli O157:H7 Using GUMBOS." doi: 10.1093/jac/dkt010.
- Conway, Edward M. 2015. "HUS and the Case for Complement." *Blood* 126(18):2085–90. doi: 10.1182/BLOOD-2015-03-569277.
- David Greenwood, Richard Slack, John Peutherer, and Mike Barer. 2010. *IATPIKH MIKPOBIOΛOΓIA*.
- Eklund, Marjut, Kirsikka Leino, and Anja Siitonen. 2002. "Clinical Escherichia Coli Strains Carrying Stx Genes: Stx Variants and Stx-Positive Virulence Profiles." *Journal of Clinical Microbiology* 40(12):4585. doi: 10.1128/JCM.40.12.4585-4593.2002.
- Erickson, Marilyn C., and Michael P. Doyle. 2007. "Food as a Vehicle for Transmission of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli." *Journal of Food Protection* 70(10):2426–49. doi: 10.4315/0362-028X-70.10.2426.

- Etcheverría, Analía Inés, and Nora Lía Padola. 2013. "Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli: Factors Involved in Virulence and Cattle Colonization." *Virulence* 4(5):366. doi: 10.4161/VIRU.24642.
- European Centre for Disease Prevention and Control. STEC infection. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2020. Stockholm: ECDC; 2022
- FAO, and WHO. 2022. *Control Measures for Shiga Toxin-Producing*.
- Farfan, Mauricio J., and Alfredo G. Torres. 2012. "Molecular Mechanisms That Mediate Colonization of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Strains." *Infection and Immunity* 80(3):903. doi: 10.1128/IAI.05907-11.
- Farrokh, Choreh, Kieran Jordan, Frederic Auvray, Kathleen Glass, Hanne Oppegaard, Sabrina Raynaud, Delphine Thevenot, Robin Condron, Koen De Reu, Alexander Govaris, Klaus Heggum, Marc Heyndrickx, Joerg Hummerjohann, Denise Lindsay, Stephane Miszczycha, Sylvie Moussiegt, Karen Verstraete, and Olivier Cerf. 2013. "Review of Shiga-Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC) and Their Significance in Dairy Production." *International Journal of Food Microbiology* 162(2):190–212. doi: 10.1016/J.IJFOODMICRO.2012.08.008.
- Feng, Peter. 2014. "Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC) in Fresh Produce A Food Safety Dilemma." *Microbiology Spectrum* 2(4). doi: 10.1128/MICROBIOLSPEC.EHEC-0010-2013.
- Franz, Eelco, Angela H. A. M. Van Hoek, Mark Wuite, Fimme J. Van Der Wal, Albert G. De Boer, E. I. Bouw, and Henk J. M. Aarts. 2015. "Molecular Hazard Identification of Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC)." *PLoS ONE* 10(3). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0120353.
- Fu, Shanshan, Xiangning Bai, Ruyue Fan, Hui Sun, Yanmei Xu, and Yanwen Xiong. 2018. "Genetic Diversity of the Enterohaemolysin Gene (EhxA) in Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Strains in China." *Scientific Reports* 8(1). doi: 10.1038/S41598-018-22699-7.
- Gore, Dilip, and Reecha Pandit. 2011. "No Title." *Wikipedia*.
- Haugum, K., L. T. Brandal, B. A. Lindstedt, A. L. Wester, K. Bergh, and J. E. Afset. 2014. "PCR-Based Detection and Molecular Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Strains in a Routine Microbiology Laboratory over 16 Years." *Journal of Clinical Microbiology* 52(9):3156. doi: 10.1128/JCM.00453-14.
- Henderson, Scott T., Pallavi Singh, David Knupp, David W. Lacher, Galeb S. Abu-Ali, James T. Rudrik, and Shannon D. Manning. 2021. "Variability in the Occupancy of Escherichia Coli O157 Integration Sites by Shiga Toxin-Encoding Prophages." *Toxins* 13(7). doi: 10.3390/TOXINS13070433.
- Heredia, Norma, and Santos García. 2018. "Animals as Sources of Food-Borne Pathogens: A Review." *Animal Nutrition* 4(3):250. doi: 10.1016/J.ANINU.2018.04.006.
- Hunt, John M. 2010. "Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC)." *Clinics in*

Laboratory Medicine 30(1):21. doi: 10.1016/J.CLL.2009.11.001.

- Ibarra, Cristina, María Marta Amaral, and Marina S. Palermo. 2013. “Advances in Pathogenesis and Therapy of Hemolytic Uremic Syndrome Caused by Shiga Toxin-2.” *IUBMB Life* 65(10):827–35. doi: 10.1002/IUB.1206.
- IFAD. 2018. “*E. Coli*.” Retrieved November 17, 2021 (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>).
- Iowa Department of Public Health. 2018. “(Shiga-Toxin).” Retrieved November 10, 2021 (<https://idph.iowa.gov/cade/disease-information/ecoli>).
- Jadhav, Snehal, Mrinal Bhave, and Enzo A. Palombo. 2012. “Methods Used for the Detection and Subtyping of *Listeria Monocytogenes*.” *Journal of Microbiological Methods* 88(3):327–41. doi: 10.1016/J.MIMET.2012.01.002.
- Joseph, Adrien, Aurélie Cointe, Patricia Mariani Kurkdjian, Cédric Rafat, and Alexandre Hertig. n.d. “Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: A Narrative Review.” doi: 10.3390/toxins12020067.
- Joseph, Adrien, Aurélie Cointe, Patricia Mariani Kurkdjian, Cédric Rafat, and Alexandre Hertig. 2020. “Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: A Narrative Review.” *Toxins* 12(2). doi: 10.3390/TOXINS12020067.
- Kaper, James B., James P. Nataro, and Harry L. T. Mobley. 2004. “Pathogenic *Escherichia Coli*.” *Nature Reviews Microbiology* 2(2):123–40. doi: 10.1038/nrmicro818.
- Karpman, Diana, Sebastian Loos, Ramesh Tati, and Ida Arvidsson. 2017. “Haemolytic Uraemic Syndrome.” *Journal of Internal Medicine* 281(2):123–48. doi: 10.1111/JOIM.12546.
- Koutsoumanis, Kostas, Ana Allende, Avelino Alvarez-Ordóñez, Sara Bover-Cid, Marianne Chemaly, Robert Davies, Alessandra De Cesare, Lieve Herman, Friederike Hilbert, Roland Lindqvist, Maarten Nauta, Luisa Peixe, Giuseppe Ru, Marion Simmons, Panagiotis Skandamis, Elisabetta Suffredini, Claire Jenkins, Sara Monteiro Pires, Stefano Morabito, Taina Niskanen, Flemming Scheutz, Maria Teresa da Silva Felício, Winy Messens, and Declan Bolton. 2020. “Pathogenicity Assessment of Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* (STEC) and the Public Health Risk Posed by Contamination of Food with STEC.” *EFSA Journal* 18(1):1–105. doi: 10.2903/j.efsa.2020.5967.
- Krü, Alejandra, and Paula M. A. Lucchesi. 2015. “Shiga Toxins and Stx Phages: Highly Diverse Entities.” doi: 10.1099/mic.0.000003.
- Lascowski, K. M. S., B. E. C. Guth, F. H. Martins, S. P. D. Rocha, K. Irino, and J. S. Pelayo. 2013. “Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* in Drinking Water Supplies of North Paraná State, Brazil.” *Journal of Applied Microbiology* 114(4):1230–39. doi: 10.1111/JAM.12113.
- Lise A. Trotz-Williams, Nicola J. Mercer. 2012. *Statistical Analysis of Outbreak Questionnaire Data*.

- McCarthy, Siobhán C., Catherine M. Burgess, Séamus Fanning, and Geraldine Duffy. 2021. “An Overview of Shiga-Toxin Producing Escherichia Coli Carriage and Prevalence in the Ovine Meat Production Chain.” *Foodborne Pathogens and Disease* 18(3):147–68. doi: 10.1089/FPD.2020.2861/SUPPL_FILE/SUPP_TABLES2.DOCX.
- Menge, Christian. 2020. “The Role of Escherichia Coli Shiga Toxins in STEC Colonization of Cattle.” *Toxins* 12(9). doi: 10.3390/TOXINS12090607.
- Moxley, Rodney A. 2021. “Special Issue: Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli.” *Microorganisms* 9(1):1–3. doi: 10.3390/MICROORGANISMS9010001.
- Mühlen, Sabrina, and Petra Dersch. 2020. “Treatment Strategies for Infections With Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli.” *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10:169. doi: 10.3389/FCIMB.2020.00169/BIBTEX.
- Muniesa, Maite, Jens A. Hammerl, Stefan Hertwig, Bernd Appel, and Harald Brüssow. 2012. “Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli O104:H4: A New Challenge for Microbiology.” *Applied and Environmental Microbiology* 78(12):4065. doi: 10.1128/AEM.00217-12.
- Nehoya, Kaarina N., Ndinomholo Hamatui, Renatus P. Shilangale, Harris Onywera, Jeya Kennedy, and Lamech M. Mwapagha. 2020a. “Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli in Raw Beef from Informal and Commercial Abattoirs.” *PLOS ONE* 15(12):e0243828. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0243828.
- Nehoya, Kaarina N., Ndinomholo Hamatui, Renatus P. Shilangale, Harris Onywera, Jeya Kennedy, and Lamech M. Mwapagha. 2020b. “Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli in Raw Beef from Informal and Commercial Abattoirs.” *PLoS ONE* 15(12). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0243828.
- Newell, D. G., and R. M. La Ragione. 2018. “Enterohaemorrhagic and Other Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC): Where Are We Now Regarding Diagnostics and Control Strategies?” *Transboundary and Emerging Diseases* 65:49–71. doi: 10.1111/TBED.12789.
- Prakasan, Sreepriya, Parmanand Prabhakar, Manjusha Lekshmi, Binaya Bhusan Nayak, and Sanath Kumar. 2018. “Isolation of Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Harboring Variant Shiga Toxin Genes from Seafood.” *Veterinary World* 11(3):379. doi: 10.14202/VETWORLD.2018.379-385.
- Prieto, Alejandro, Manuel Bernabeu, José Francisco Sánchez-Herrero, Anna Pérez-Bosque, Lluïsa Miró, Christine Bäuerl, Carmen Collado, Mário Hüttener, and Antonio Juárez. 2021. “Modulation of AggR Levels Reveals Features of Virulence Regulation in Enteroaggregative *E. Coli*.” *Communications Biology* 4(1). doi: 10.1038/S42003-021-02820-9.
- Quigley, Lisa, Orla O’Sullivan, Catherine Stanton, Tom P. Beresford, R. Paul Ross, Gerald F. Fitzgerald, and Paul D. Cotter. 2013. “The Complex Microbiota of Raw Milk.” *FEMS Microbiology Reviews* 37(5):664–98. doi: 10.1111/1574-6976.12030.

- Richard, Y. 2007. "157 in French Food Samples Using an Immunomagnetic Separation Method and the VIDASTM." *Letters in Applied Microbiology* (1995).
- Riley, L. W. 2014. "Pandemic Lineages of Extraintestinal Pathogenic Escherichia Coli." *Clinical Microbiology and Infection* 20(5):380–90. doi: 10.1111/1469-0691.12646.
- Rogers, Kara, Gloria Lotha, and Aakanksha Gaur. 2007. "Bacteria - Diversity of Structure of Bacteria | Britannica." Retrieved November 17, 2021 (<https://www.britannica.com/science/bacteria/Diversity-of-structure-of-bacteria>).
- Saikia, Bedangshu, Neetu Vashisht, Neeraj Gupta, and Archana Sharma. 2016. "Exchange Transfusion for Neonate with Haemolytic Uremic Syndrome." *SpringerPlus* 5(1). doi: 10.1186/s40064-016-1667-x.
- Sedighian Rad, Hamid, Seyed Latif Mousavi, Iraj Rasooli, Jafar Amani, and Moohamad Reza Jalali-Nadooshan. 2013. "EspA-Intimin Chimeric Protein, a Candidate Vaccine against Escherichia Coli O157:H7." *Iranian Journal of Microbiology* 5(3):244.
- Sheerin, Neil S., Emily Glover, Chantal Loirat, and Assistance Publique. 2019. "Haemolytic Uremic Syndrome: Diagnosis and Management [Version 1; Peer Review: 3 Approved]." 8:1690. doi: 10.12688/f1000research.19957.1.
- Thorpe, Cheleste M. 2004. "Shiga Toxin—Producing Escherichia Coli Infection." *Clinical Infectious Diseases* 38(9):1298–1303. doi: 10.1086/383473.
- Toth, I., M. L. Cohen, H. S. Rumschlag, L. W. Riley, E. H. White, J. H. Carr, W. W. Bond, and I. K. Wachsmuth. 1990. "Influence of the 60-Megadalton Plasmid on Adherence of Escherichia Coli 0157:H7 and Genetic Derivatives." *Infection and Immunity* 58(5):1223–31. doi: 10.1128/iai.58.5.1223-1231.1990.
- Tuttle, Jessica, Michael P. Dogle, Timothy J Barrett, Jox G. Wells, Anin Marie Mcnamara, M. Griffi, Palul R. Cieslak, Sulsan J. Noble, Daniel J. Maxsoni, Lonnie C. Empex, Otto Rav, Gretcheni Legarca, Case Finidinig, Timothy J Barrett, and Patricia M. Griffin. 1997. "Hamburger-Associated Escherichia Coli 0157 : H7 Infection in Las Vegas :." *American Journal of Public Health* 87(2).
- Valilis, Evangelia, Alison Ramsey, Saad Sidiq, and Herbert L. DuPont. 2018. "Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli—A Poorly Appreciated Enteric Pathogen: Systematic Review." *International Journal of Infectious Diseases* 76:82–87. doi: 10.1016/j.ijid.2018.09.002.
- Werber, Dirk, and Flemming Scheutz. 2019. "The Importance of Integrating Genetic Strain Information for Managing Cases of Shiga Toxin-Producing *E. Coli* Infection." *Epidemiology and Infection* 147:e264. doi: 10.1017/S0950268819001602.
- Whitworth, Joe. 2022. *Milk and Cheese Linked to English E. Coli Outbreaks | Food Safety News*.
- Yang, Xi, Hui Sun, Ruyue Fan, Shanshan Fu, Ji Zhang, Andreas Matussek, Yanwen Xiong, and Xiangning Bai. 2020. "Genetic Diversity of the Intimin Gene (Eae)

in Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* Strains in China.”
Scientific Reports 10(1). doi: 10.1038/S41598-020-60225-W.

Zachary D Blount. 2015. “The Unexhausted Potential of *E. Coli*.” *ELife* 4:e05826.
doi: 10.7554/eLife.05826.

ΕΟΔΥ, ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΣΗΣ ΑΠΟ
ΕΝΤΕΡΟΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ (EHEC) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ
2004-2021

ΚΕΕΛΠΝΟ, Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης, Τμήμα
Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης
Νοσημάτων. Επιδημία λοίμωξης από κολοβακτηρίδιο που παράγει Shigatoξίνη
(STEC), Γερμανία, Μάιος 2011

Σπηλιώτης, Βασίλης. 2019. “Παθογόνα Τροφίμων Ενότητα 3: *Escherichia Coli*.”

Σπηλιώτης, Βασίλης, and Ιωάννης Γιαβάσης. 2010. *Μικροβιολογία Τροφίμων*.