



Dr. Rolf Steinmüller  
Neogen Corporation  
Auchincruive Ayr KA6  
5HW Scotland UK  
E-Mail: r.steinmueller  
@neogeneurope.com

## Nr. 4 April 2010

*Escherichia coli* ist ein Mikroorganismus mit vielen Facetten: Einerseits natürlicher Bewohner des menschlichen und tierischen Darmtrakts, andererseits können die Bakterien großen Schaden anrichten, sobald sie den Darm verlassen und in andere Organe gelangen. Außerdem existieren *E. coli*-Varianten, die nicht Teil der Darmflora sind und, wenn sie mit der Nahrung aufgenommen werden, zu schweren Erkrankungen führen. Außerhalb des Darmtraktes gilt *E. coli* als Indikator für Fäkalverunreinigung von Trinkwasser und Lebensmitteln. Darüber hinaus spielt das Darmbakterium eine wichtige Rolle in der gentechnischen Forschung und Praxis (vgl. [1]).

# Escherichia coli (Teil 1)

## Enterobakterien und coliforme Bakterien

### 1 Einleitung

Taxonomisch gehört *E. coli* zur Familie der Enterobakterien (vgl. Abschnitt 3). Wie alle Vertreter der Enterobacteriaceae ist *E. coli* ubiquitär verbreitet und ein Teil der kommensalen Flora bei warmblütigen Organismen. Das Darmbakterium gehört somit auch beim Menschen zum Bestandteil einer gesunden Darmflora [2].

Ursprünglich trugen die Bakterien den Namen „*Bacterium coli commune*“. Der Gattungsname *Bacterium* deutet auf die morphologische Gestalt des Prokaryoten hin (*bakterion*, griech. Stäbchen), *coli* hingegen auf dessen bevorzugten Lebensraum, den Dickdarm (Colon). 1919 wurde die Gattung zu Ehren ihres Entdeckers, Dr. Theodor ESCHERICH (1857–1911), einem deutsch-österreichischen Kinderarzt, von Sir Aldo CASTELLANI und Albert J. CHALMERS mit dem Widmungsnamen *Escherichia* versehen [3]. ESCHERICH, welcher diese Bakterienspezies im Jahre 1885 aus dem Stuhl von Säuglingen isolierte, trug maßgeblich dazu bei, die Ursachen für Durchfallerkrankungen und Harnwegsinfektionen zu bestimmen. Dank seiner Pionierarbeit wissen wir heute, dass die natürliche Darmflora

des Menschen, die unter anderem vor Krankheitserregern schützt, aus vielen Mikroorganismen besteht. Zu seiner Zeit stuft ESCHERICH das Bakterium als „harmlosen Schmarotzer“ in der Normalflora des Darms ein. Jedoch zeigte sich bereits Anfang des vergangenen Jahrhunderts, dass es neben ungefährlichen *E. coli* auch solche mit krankmachenden Eigenschaften gibt.

Aufgrund ihres Lebensraumes im Gastrointestinaltrakt von Mensch und Tier und durch ihre ubiquitäre Verbreitung besitzt *E. coli* im Bereich der Lebensmittelhygiene neben seiner Bedeutung als gesundheitlich bedenklicher Keim auch als Markerorganismus im Sinne eines Index- bzw. Indikatororganismus für eine fäkale Kontamination bzw. für eine unhygienische Prozessführung eine gewichtige Rolle [4].

### 2 Charakterisierung des Erregers

*Escherichia coli* ist ein stäbchenförmiges Bakterium, das zu den gramnegativen nicht sporenbildenden Bakterien gehört. Es ist gleichzeitig der wichtigste sowie bekannteste Vertreter der Gattung *Escherichia*.

*E. coli* gehören zur Familie der *Enterobacteriaceae* und sind gramnegative, fakultativ anaerobe, sporenlöse, Oxidase-negative und Katalase-positive stäbchenförmige Bakterien (◆ Tabelle 1) mit einer Breite von 1,1–1,5 µm und einer Länge von 2,0–6,0 µm [4]. Die meisten Stämme sind durch ihre peritriche (umlaufende) Begeißelung beweglich und bilden eine Kapsel aus. Allerdings existieren daneben auch unbewegliche Stämme [5].

Typische *E. coli*-Stämme zeigen eine negative Voges-Proskauer-(VP-)Reaktion (ein Farbttest zur Bakterien-Typisierung) und fehlende Citratverwertung. Etwa 94–97 % der *E. coli*-Stämme bilden das Enzym Glucuronidase und spalten die fluorogene Substanz 4-Methylumbelliferyl-β-D-glucuronid (MUG). Mit Ausnahme einer Studie, bei der 4 % humaner *E. coli* sich als Glucuronidase-negativ erwiesen, lag bei allen anderen Untersuchungen der Anteil Glucuronidase-positiver *E. coli* immer oberhalb von 90 % [6]. Jedoch zeigt der Verotoxinbildner *E. coli* O157:H7

#### Glossar:

**Verotoxin =**  
Ein Toxin, das die Proteinsynthese bei Eukaryonten hemmt. Hierauf wird in Teil 2 des Beitrages noch eingegangen

eine fehlende Glucuronidaseaktivität. Hingegen ist *Escherichia coli* das einzige gramnegative Stäbchen unter den Enterobacteriaceen, das auch eine positive Indolreaktion zeigt [7]. Der **Indoltest** ist aus diesem Grund zur Bestätigung von *E. coli* essenziell.

*E. coli* lässt sich auf einfachen Nährmedien leicht kultivieren. Glukose, Laktose und andere Zucker werden abgebaut, dagegen können Harnstoff und Citrat nicht verwertet werden. Schwefelwasserstoff wird nicht gebildet. Als fakultativ anaerobe Mikroorganismen besitzen die Keime die Fähigkeit, Energie sowohl durch Atmung als auch durch „Gemischte Säuregärung“ zu gewinnen. Die Generationszeit des Keimes beträgt unter optimalen Bedingungen circa 20 min. In einem Minimalmedium aus Mineralsalzen mit der Kohlenstoffquelle Glukose benötigt das Darmbakterium hingegen circa 60 Minuten, um seine Biomasse zu verdoppeln. Der Wachstumsbereich liegt zwischen 4 und 46 °C. Das Wachstumsoptimum liegt bei 37 °C („mesophile Bakterien“) [8].

## Vorkommen

Das Darmbakterium *E. coli* gehört der physiologischen Darmflora von Mensch und nahezu allen Säugetieren an. Ausnahmen sind Meerschweinchen und Chinchillas. Darüber hinaus kommt der

Keim mit Ausnahmen (Sittiche und Papageien) auch bei Vögeln vor [4].

Natürlicher Lebensraum ist der Dickdarm (Colon). Im Zustand eines Gleichgewichtes zwischen verschiedenen Mikroorganismen im Verdauungstrakt (die sog. **Eubiose**), der für die Gesundheit charakteristisch ist, beträgt der *E. coli*-Keimzahlgehalt  $10^4$  bis  $10^9$  KbE/g (KbE = koloniebildende Einheit). Damit stellen die Bakterien maximal 1 % der Darmflora und werden somit der Begleitflora zugeordnet [5].

Die weite Verbreitung des Keimes in der Umwelt steht in Zusammenhang mit dessen Ausscheidung über den Kot und seiner hohen Tenazität (lat. *tenacitas*, Festhalten) in feuchtem und halbtrockenem Milieu. Die im Darm vorkommenden Stämme lassen sich in *residente*, also permanent vorhandene, und *transiente*, nur vorübergehend den Verdauungskanal besiedelnde Stämme differenzieren.

Die Besiedlung des Gastrointestinaltraktes des Säuglings (bzw. Jungtiers) mit *E. coli* beginnt unmittelbar nach der Geburt [9, 10]. Dem Bakterium kommt daher als Erstbesiedler des Darms eine wichtige physiologische Bedeutung zu. *E. coli* dient, obwohl er selbst nur in geringer Zahl vorhanden ist, als Wegbereiter für die Ansiedlung obligater Anaerobier. Diese sind, ebenso wie *E. coli*, für die normale Verdauung verantwortlich (z. B. Abbau von Gallensäuren,

Bilirubin, kurzkettiger Carbonsäuren) oder als Produzent von Vitamin K, sodass der Mikroorganismus auch als Therapeutikum gegen Darmstörungen eingesetzt wird (z. B. Mutaflor) [2]. *E. coli* spielt eine wesentliche Rolle bei der Abwehr der Ansiedlung von gesundheitlich bedenklichen Mikroorganismen im Verdauungstrakt [11].

Allerdings können einige der als Kommensalen in der Darmflora vorkommenden Stämme auch als fakultativ pathogene Krankheitserreger in Erscheinung treten. Unter bestimmten Umständen verursachen sie extraintestinale Infektionen, wie Harnwegsinfektionen, Septikämien sowie Meningitiden. *E. coli* gilt als häufigster Erreger bakterieller Infektionen beim Menschen. 70–80 % der akuten, sowie 40–50 % der chronisch-persistierenden Harnwegsinfektionen werden durch Vertreter dieser Spezies ausgelöst. Es existieren auch obligat pathogene *E. coli*-Stämme, zu denen die instestinalen Infektionserreger gehören (Teil 2 des Beitrages).

Basierend auf unterschiedlichen Virulenzprofilen und damit einhergehender klinischer Symptomatik lassen sich mindestens neun Pathogruppen unterscheiden [2]. Ursache für die genetische und phänotypische Variabilität und Pathogenität dieser Bakterien ist ihre Neigung zum horizontalen Genaustausch [12–14].

*E. coli* wird gemäß dem „modifizierten Kaufmann-Schema“ nach ihren über 170 Oberflächen(O)-, circa 100 Kapsel (K)- und 56 Geißel(H)-Antigenen in verschiedene Serovare eingeteilt [2]. Diese Typisierung ist für epidemiologische Zwecke, zur Identifizierung pathogener Stämme oder zur Abgrenzung pathogener von apathogenen Stämmen derselben Enterobacterien-Spezies von Bedeutung. Die O-Antigene sind Seitenketten der Lipopolysaccharide (LPS) der äußeren Membran, bei den K-Antigenen handelt es sich um Kapselpolysaccharide und die aus Protein bestehenden Flagellen bilden die H-Antigene. Durch Kombination der Antigene lassen sich über 2000 Serovare (Serotypen) identifizieren.

### Taxonomie

Familie	Enterobacteriaceen
Gattung	<i>Escherichia</i>
Art	<i>Escherichia coli</i>

### Eigenschaften

Gramfärbung	Grampositiv
Endosporen	Keine
Sauerstoffverhalten	Fakultativ anaerob
Zellform	Stäbchen
Begeißlung	peritrich
Metabolismus	Abbau von Glukose (mit Gasbildung), Laktose und Mannit, Indolbildung, eine negative Voges-Proskauer-(VP-)Reaktion und fehlende Citratverwertung

### Besonderheiten

Darmbakterium, pathogene Stämme, Indikatorkeim, molekularbiologischer Modellorganismus

Tab. 1: *E. coli* Steckbrief (modifiziert nach [15])

Die pathogenen *E. coli*-Stämme sind nur durch ihre spezifischen Pathogenitätseigenschaften von den *E. coli*-Stämmen der normalen Stuhlflora zu unterscheiden. Sie werden als Pathovaren der Art *E. coli* bezeichnet.

### 3 *E. coli* in der Systematik der Enterobacteriaceae

Unter dem Begriff Enterobacteriaceae werden verschiedene gramnegative, Oxidase-negative Stäbchen-Bakterien zusammengefasst, die hauptsächlich im Darm von Menschen und Tieren, aber auch in der Umwelt (Boden, Wasser) vorkommen. Alle fermentieren Glukose und reduzieren Nitrat zu Nitrit.

Zur den Enterobacteriaceae gehören z. B. die Genera *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. Einige sind harmlose Darmbakterien, andere rufen die bekannten Magen-Darm-Erkrankungen oder Infektionen des Urogenital- und Respirationstraktes, Sepsis, Abszesse, lokalisierte Entzündungen von Organen sowie Wundinfektionen hervor [16].

Die **Coliformen Bakterien** sind eine heterogene Gruppe der Enterobakterien, die nicht durch taxonomische, sondern durch gemeinsame biochemische Merkmale definiert ist. Sie umfasst gramnegative, aerobe und fakultativ anaerobe Stäbchen, die Laktose unter Gas- und Säurebildung innerhalb 48 Stunden bei Temperaturen zwischen 30 °C und 37 °C fermentieren. Beispiele sind die Gattungen *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* und *Klebsiella*.

Die Vertreter der Gattung *Escherichia* sind fast universelle Bewohner des Darmtraktes von Menschen und warmblütigen Tieren, obwohl sie keinesfalls die dominanten Mikroorganismen in diesen Lebensräumen darstellen [17]. Neben *E. coli* werden unter dem Genus *Escherichia* im „Bergey's Manual of Determinative Bacteriology“ u. a. *E. fergusonii*, *E. hermannii* und *E. vulneris* aufgeführt [8]. *E. vulneris* und *E. hermannii* füh-

ren gelegentlich zu Wundinfektionen [18]; die klinische Bedeutung von *E. fergusonii* ist bisher ungenügend dokumentiert. Im Jahre 2003 wurde die Spezies *E. albertii* beschrieben, welche aus Stuhlproben von an Diarrhö erkrankten Kindern in Bangladesch isoliert worden war [19].

Die Enterobakterien-Gattungen *Salmonella* (vgl. [20]) und *Escherichia* sind eng miteinander verwandt. Beide Gattungen haben etwa die Hälfte ihrer DNA-Sequenz gemeinsam. Allerdings sind Mitglieder der Gattungen *Salmonella* im Gegensatz zu *Escherichia* meist pathogen, entweder für den Menschen oder für andere warmblütige Tiere. Ebenfalls eng mit *Escherichia* verwandt sind die Shigellen. Die Homologie auf DNA-Ebene beträgt bei einigen *Shigella*-Stämmen 70 bis fast 100 %. Im Gegensatz zu *Escherichia* ist *Shigella* jedoch allgemein humanpathogen. Sie sind in der Lage, schwere Gastroenteritis („Bakterienruhr“) zu verursachen.

### 4 Klinische Bedeutung von *E. coli*

*E. coli* ist als Teil der normalen Darmflora von Mensch und Tier primär kein Krankheitserreger. Grundsätzlich wird daher bei *E. coli* zwischen apathogenen Kommensalen im Darm des Menschen und pathogenen *E. coli* unterschieden. Zu Letzteren gehören sowohl Verursacher intestinaler Infektionen als auch Erreger extraintestinaler Erkrankungen (uropathogene [UPEC], nephropathogene [NPEC] und meningoseptische bzw. septischpathogene *E. coli* [SPEC]).

Derartige Infektionen können entstehen, wenn das Darmbakterium in Körperregionen außerhalb des Darms (extraintestinal) gelangt. **Extraintestinal pathogene *E. coli*** (ExPEC) gehören zu den häufigsten Erregern von Harnwegsinfektionen beim Menschen. Darüber hinaus können sie eine Vielzahl weiterer Erkrankungen wie Pneumonie, Wundinfektion, Neugeborenenmeningitis oder Sepsis hervorrufen. Hierzu verfügen ExPEC über ein breites Repertoire von Pathogenitätsfaktoren

wie Adhäsine, Toxine und Eisenaufnahmesysteme [21].

Weiterhin existieren auch **darmpathogene Stämme**. Diese enterovirulenten *E. coli*-Stämme verursachen regelmäßig intestinale Erkrankungen, z. B. (Reise-) Diarrhö und Enteritis bei Kindern [22], und werden aufgrund der unterschiedlichen Pathogenitätsfaktoren verschiedenen *Pathovaren* zugeordnet.

Gegenwärtig sind mindestens neun *E. coli*-Pathovaren bekannt, von denen fünf als Lebensmittelinfektionserreger von Bedeutung sind [2]. Diese werden in ihrer Gesamtheit auch als **enterovirulente *E. coli*** (EVEC) bezeichnet. Im Einzelnen handelt es sich in der Reihenfolge ihrer Bedeutung um: Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC), enteropathogene *E. coli* (EPEC), enterotoxische *E. coli* (ETEC), enteroaggregative *E. coli* (EaggEC) und enteroinvasive *E. coli* (EIEC).

Unter diesen Pathogruppen stehen aufgrund ihrer Schwere der Erkrankung die **EHEC** im Focus. In besonders schweren Fällen dieser gefürchteten Infektion kann es zu einer Schädigung der Niere und zum Nierenversagen, dem so genannten hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS), kommen. Besonders gefährdet sind Säuglinge, Kleinkinder, ältere und abwehrgeschwächte Menschen. Auf die pathogenen *E. coli*-Typen wird im zweiten Teil des Beitrages ausführlicher eingegangen.

Die gesundheitlich bedenklichen *E. coli* haben weltweit große Bedeutung: In Ländern mit niedrigem Hygienestandard sind ETEC (enterotoxische *E. coli*) nach Angaben der Weltgesundheitsbehörde WHO für jährlich circa 210 Mio. Erkrankungen mit circa 380 000 Todesfällen verantwortlich. Alleine in den Vereinigten Staaten werden die EHEC-Erkrankungen durch *E. coli* O157:H7 mit jährlich 62 000 Fällen sowie 52 Toten angegeben.

Auch bei Tieren sind diese Erreger häufig an Infektionen beteiligt und können zu schwerwiegenden Erkrankungen führen.

## 5 *E. coli* und Lebensmittel

Generell sind mikrobielle Verunreinigungen von Lebensmitteln unerwünscht. Um die Bedeutung einer eventuellen Verunreinigung für den Verbraucher bewerten zu können, werden Markerorganismen, wie *E. coli*, coliforme Bakterien, *Enterobacteriaceae* oder Enterokokken bestimmt. Sie dienen entweder als Index-Organismen, die eine potenzielle Gesundheitsgefährdung anzeigen, oder sprechen als Indikator-Organismen für eine unzureichende Verarbeitungs-, Betriebs- oder Distributions-Hygiene [23]. *E. coli* ist bei Lebensmitteln der am besten geeignete Markerorganismus für eine potenzielle Gesundheitsgefährdung und wird in der Lebensmittelhygiene als wichtiger Indikator-Organismus für fäkale Verunreinigungen innerhalb der Prozessführung eingestuft [24].

Die VERORDNUNG (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel enthält eine detaillierte Auflistung zum Umfang der Untersuchungen auf *E. coli* in Abhängigkeit von der untersuchten Lebensmittelgruppe im Sinne von Prozesshygiene- und Lebensmittelsicherheitskriterien.

Als Anzeige einer Gesundheitsgefährdung eignen sich die Coliformen und *Enterobacteriaceae* als Gruppe weniger. So gehören coliforme Bakterien (abgesehen von *E. coli*) bei vielen Produkten (z. B. Mischsalaten) zur pflanzlichen Normalflora und sind aus diesem Grunde kein geeigneter Indikator einer fäkalen Verunreinigung. Auch wenn dem Nachweis der coliformen Keime nur untergeordneter Wert beigemessen wird, sind dennoch in zahlreichen Lebensmittelspezifikationen und -standards die Coliformen aufgeführt [25].

Nach § 4 Abs. 1 der Trinkwasserverordnung 2001 muss Trinkwasser frei von Krankheitserregern, genusstauglich

und rein sein. Diese Erfordernisse gelten als erfüllt, wenn die allgemein anerkannten Regeln der Technik eingehalten werden; zusätzlich muss den Anforderungen hinsichtlich mikrobiologischer und hygienischer Parameter (§§ 5–7) entsprochen werden.

Die mikrobiologische Trinkwasseruntersuchung muss grundsätzlich im Kulturverfahren erfolgen. Da der unmittelbare Nachweis, dass Trinkwasser Krankheitserreger enthält, routinemäßig nicht zu führen ist, sind verschiedene Grenz- und Richtwerte für bestimmte „Indikatoren“ festgelegt, die auf ein mögliches Vorhandensein von Krankheitserregern hinweisen. So wird beispielsweise der Nachweis von *E. coli* als direkter Hinweis auf eine stattgefundenen fäkale Verunreinigung gewertet. In diesem Zusammenhang gilt ein Grenzwert von 0/100 ml.

## 6 *E. coli* in der Forschung, Futter- und Lebensmittel- und Pharmaindustrie

Viele Faktoren haben die Nutzung von *E. coli* als „Arbeitspferd“ bei biochemischen, genetischen und physiologischen Untersuchungen gefördert. Das Genom besitzt eine Größe von 4,6 Mega-Basenpaaren und besteht aus über 4000 Genen. Außerdem können auch Plasmide – extrachromosomale, meist ringförmige doppelsträngige DNA-Moleküle von 2- bis 200 kbp Länge – in der Zelle vorkommen [1]. Diese Plasmide können neben der Information für die Bildung von Bakterientoxinen auch Gene für die Ausbildung von Antibiotika-Resistenzen tragen.

Als das am intensivsten physiologisch, biochemisch und genetisch untersuchte Lebewesen hat *E. coli* insbesondere für die großtechnische Herstellung von Aminosäuren wie L-Threonin (15 000 t/Jahr), L-Tryptophan (600 t/Jahr), L-Phenylalanin (12 000 t/Jahr) und L-Tyrosin (150 t/Jahr) für Nahrungs- und Futtermittelzusätze, Geschmacks- und Aromaverstärker und

Kosmetika sowie Infusionslösungen große wirtschaftliche Bedeutung erlangt [26]. Durch klassische oder gentechnische Methoden hergestellte *E. coli*-Stämme werden auch zur Produktion chemischer Derivate als Vorstufen für Industriechemikalien und Pharmaka eingesetzt.

Auch für die rekombinante Produktion pharmazeutischer Proteine wie Insulin, Interferon und Wachstumshormone wurde bisher vor allem *E. coli* eingesetzt [1, 27–29]. Das Bakterium ist derzeit einer der wichtigsten Wirtsorganismen im Rahmen der mikrobiellen Klonierungssysteme der Gentechnik zur Expression heterologer Proteine (z. B. Somatotropin, Insulin, Interferon). Darüber hinaus dient *E. coli* zur Klonierung, DNA-Amplifikation und Expression von Gensequenzen in der Grundlagenforschung.

Die Erkenntnisse an *E. coli* haben letztlich dazu beigetragen, dass wir unsere eigene Genetik besser verstehen. Der Mechanismus der DNA-Replikation etwa ist bei Bakterien und eukaryontischen Zellen (also Zellen mit einem echten Zellkern) sehr ähnlich. Dabei ist es viel einfacher, eine Bakterienzelle genetisch zu manipulieren als eine menschliche, die weitaus komplexer aufgebaut ist. Für *E. coli* wurden sehr viele experimentelle Methoden entwickelt, die das Bakterium noch immer zu einem guten Studienobjekt für grundlegende molekulargenetische Mechanismen machen.

Die Literatur zu diesem Artikel finden Sie im Internet unter [www.ernaehrungs-umschau.de/service/literaturverzeichnis/](http://www.ernaehrungs-umschau.de/service/literaturverzeichnis/)

*Wichtige Glossarbegriffe finden Sie auch in den bisherigen Folgen dieser Mikrobiologie-Serie in Ernährungs Umschau 2008 Heft 8/B29 ff., Heft 10/B37 ff. sowie 2009 Heft 2/B5 ff., Heft 3/B9 ff., Heft 4/B13 ff., Heft 10/B37 ff. und Heft 11/B41 ff.*

*Im zweiten Teil dieses Beitrages wird ausführlicher auf die pathogenen Vertreter dieser Gruppe eingegangen.*