

## Rodinný výskyt enterohemoragického *Escherichia coli* O145:H28

### *Detection of enterohemorrhagic Escherichia coli O145:H28 in a family*

Monika Marejková, Květa Bláhová, Jiří Dušek, Petr Petráš

#### Souhrn • Summary

V příspěvku je uvedena stručná kazuistika hemolyticko-uremického syndromu (HUS) po prodromálním průjmu u dvouletého chlapce. Původcem byl enterohemoragický kmen *Escherichia coli* O145:H28 s produkcí Shiga toxinu 2. Stejný kmen byl zjištěn i u matky a 7letého bratra pacienta, kteří byli asymptomatickými nosiči. Jedná se o první záchyt EHEC tohoto sérotypu jako etiologického agens HUS v České republice.

*A brief case report of diarrhea-positive hemolytic-uremic syndrome (HUS) in a two-year-old boy is presented. The causative agent was an enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) O145:H28 strain producing Shiga toxin 2. Identical strains were isolated from stool samples of the patient's mother and seven-year-old brother who were asymptomatic carriers. This is the first report of EHEC O145:H28 as a cause of HUS in the Czech Republic.*

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2010; 19(10): 300–302.

**Klíčová slova:** enterohemoragické *E.coli* (EHEC), Shiga toxin, hemolyticko-uremický syndrom (HUS), EHEC O145:H28

**Keywords:** enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Shiga toxin, hemolytic uremic syndrome, EHEC O145:H28;

#### ÚVOD

Enterohemoragická *E. coli* (EHEC), patogenní skupina Shiga toxin-produkujících *E. coli* (STEC), jsou celosvětovými původci hemoragické kolitidy a klasického (tj. diarrhea-associated) hemolyticko-uremického syndromu (HUS). HUS je velice závažné systémové onemocnění, které je nejčastější příčinou akutního selhání ledvin v dětském věku a je potenciálně smrtelné (smrtnost 3–5 %). I v případě uzdravení zanechává onemocnění asi u 30 % pacientů trvalé následky, především v podobě hypertenze a chronického renálního selhání, které u části pacientů vede až k nutnosti renální transplantace [1].

Shiga toxiny (Stx) jsou hlavní virulenní faktory EHEC. Existují 2 hlavní typy Stx : Stx1 a Stx2; v rámci těchto hlavních typů se dále rozlišuje několik subtypů, z nichž pouze některé jsou, na základě epidemiologických studií, signifikantně spojeny se schopností kmenů vyvolat HUS [2, 3]. Klinicky nejdůležitější a celosvětově rozšířený EHEC sérotyp je *E. coli* O157:H7, který je nejčastějším původcem sporadických onemocnění, především HUS, a vyvolal řadu rozsáhlých epidemií [4, 5]. Kmeny tohoto sérotypu se vyznačují, oproti většině kmenů *E. coli*, neschopností fermentovat sorbitol a neprodukují enzym beta-glukuronidázu.

Kromě EHEC O157:H7 existuje několik dalších EHEC sérotypů, které jsou často izolovány od pacientů s HUS a hemoragickou kolitidou na celém světě [1]. Jsou to především: O26:H11/H- (nepohyblivé kmeny),

O103:H2, O111:H8/H-, O145:H28/H-, a sorbitol-fermentující (SF) O157:H- (posledně jmenované kmeny byly zatím identifikovány pouze v Evropě a vyvolaly několik rozsáhlých epidemií HUS v Německu [6, 7] a ve Skotsku [8]. V České republice byly SF EHEC O157:H- poprvé izolovány před více než 10 lety, a to jako původci sporadických případů HUS a rodinné epidemie s případy HUS a průjmů [9, 10].

EHEC O145 patří k nejčastějším non-O157 séroskupinám EHEC spojovaných s průjmem a HUS v Evropě [11, 1]. Je jednou z šesti séroskupin EHEC, které byly poprvé izolovány od pacientů s HUS v letech 1980-1983 v Kanadě prof. Karmalim a jeho spolupracovníky [12].

V České republice existuje dlouhodobá tradice průka- zu infekcí vyvolaných EHEC. Již v r. 1988, tj. pouhých 5 let po první literární zprávě o *E. coli* O157:H7 v USA, byla v České republice identifikována první menší epidemie HUS v České Lípě. Tato epidemie zahrnovala 5 případů HUS u dětí od 4 do 20 měsíců, včetně jednoho úmrtí. EHEC O157:H7 byly izolovány ze stolic pacientů [13].

Další hromadný výskyt HUS, 4 případy onemocnění u dětí od 10 měsíců do 3 let, byl zaznamenán v létě r. 1995 v okresech Teplice a Ústí nad Labem. Jako způsob přenosu infekce bylo identifikováno pití nepasterizovaného mléka od kozy, která vylučovala v trusu EHEC O157:H7 [14]. Prospektivní studie na zjištění role EHEC jako etiologických agens lidských onemocnění v České republice, prokázala, že EHEC jsou původci 13 % případů hemoragického průjmu a 82 % případů klasického HUS u dětí. Nejčastěji identifikovanými sérotypy EHEC v České republice jsou O157:H7 a O26:H11, ale často se vyskytují i O55:H- a O111:H8/H- [15]. Podle výsledků NRL pro *E. coli* a shigely SZÚ bylo v České republice za poslední 4 roky jako původce HUS nejčastěji identifikováno EHEC O26:H11/NM [16].

Problematika infekcí vyvolaných EHEC zůstává ak-

tuální i v současné době. V posledních dvou letech jsme v NRL pro *E. coli* a shigely registrovali 3 menší rodinné epidemie. Nejzávažnější, kdy došlo na následky infekce EHEC O26:H11 k úmrtí dvouleté dívky, jsme publikovali v tomto časopise [17].

V tomto příspěvku referujeme o těžkém průběhu onemocnění (HUS) dvouletého chlapce, kterého se podařilo zachránit. **Etiologickým agens bylo EHEC O145:H28 s produkcí Shiga toxinu 2.** Stejný kmen byl izolován od matky a 7letého bratra pacienta, kteří byli asymptomatickými nosiči.

## PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

Pacientem byl téměř dvouletý dosud zdravý chlapec, s negativní rodinnou anamnézou. 14 dní před projevy nemoci prodělal jeho otec průjemové onemocnění.

Od 4. 9. 2009 měl opakovaně zelené průjemové stolice, nezvracel, byl afebrilní. Přechodně se stav spontánně upravil, od 13. 9. však začal zvracet, ve stolici se objevila příměs krve, byl neklidný, horečka až 39 °C, odeslán na infekční oddělení FN Bulovka. Zde již apatický, méně močil, při základním laboratorním vyšetření zjištěna leukocytóza 15,7 x 10<sup>9</sup>/l, anémie (Hb: 87,0 g/l), trombocytopenie (77 x 10<sup>9</sup>/l), elevace hodnot jaterních enzymů (5,73 ukat/l, ALT: 2,26 ukat/l), hodnota urey: 30,61 mmol/l, kreatininu: 235 umol/l, hyperkalémie (6,18 mmol/l). S diagnózou D+ hemolyticko-uremický syndrom byl 14. 9. odeslán k další léčbě na Pediatrickou kliniku FN v Motole.

Při přijetí byl chlapec somnolentní, nicméně spolupracující, eutrofický, anikterický, vcelku přiměřeně hydratovaný, na kůži nártů a předloktí byly patrné drobné petechie. Močil minimálně, 30 ml/24 hodin. Výsledky laboratorních vyšetření identické, navíc v krevním obraze 33 promile schistocytů, sérová hodnota LDH 46 ukat/l, byl zaveden centrální žilní katétr a akutně zahájena hemodialyzační léčba. Přechodně došlo ke zlepšení neurologického nálezu, pro anemizaci (Hb: 55,0 g/l) nutný krevní převod, rozvoj těžké oligurie až anurie.

18. 9. bylo v NRL pro *E. coli* a shigely ze stolice pacienta prokázáno jako původce onemocnění EHEC O145 s produkcí Shiga toxinu 2.

4. den po přijetí však zhoršení stavu, pacient neklidný, tachykardický, klinicky známky kardiálního selhání s elevací hodnot troponinu, CK-MB. ECHO vyšetření potvrdilo dg. akutní myokarditidy a poměrně rozsáhlou trombózu vycházející z oblasti horní duté žíly a centrálního žilního katétru vedoucí do pravé síně a pravé komory. Byla zahájena léčba heparinem/fraxiparinem, byla nutná suplementace AT III, vasoaktivní podpora dobutaminem, pro rozvíjející se septický stav byla podávána širokospektrá antibiotika. Na očním pozadí prokázáno oboustranné retinální krvácení. Pro nutnost umělé plicní ventilace byl pacient přeložen na anesteziologicko-resuscitační oddělení, kde byl cestou v. femoralis zaveden nový dialyzační katétr a pacient byl převeden z hemodialyzy na kontinuální venovenózní hemodiafiltraci (CVVHD).

Následovně došlo k postupnému zlepšování klinického stavu, 30.9. ECHO vyšetření již bez průkazu trombózy. 2. 10. CVVHD ukončena, nicméně pokračováno v léčbě peritoneální dialýzou, současně nutná korekce hypertenze, hyperfosfatémie a metabolické acidózy.

V průběhu dalších 3 týdnů došlo k obnově diurézy, 20. 10. dialyzační léčba ukončena.

Po 7 týdnech hospitalizace pacient propuštěn do domácí péče ve stabilizovaném stavu, kardiálně kompenzovaný, s minimální medikací, dále je však dispenzarizován na Pediatrické klinice FN v Motole.

## LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

17. 9. byla do NRL pro *E. coli* a shigely zaslána stolice dvouletého chlapce s diagnózou HUS k průkazu kmene EHEC.

Vzorek byl inokulován na selektivně-diagnostických půdách sorbitol McConkey agar (SMAC, Oxoid), cefixime-tellurite SMAC (CT SMAC, Oxoid) a enterohemolysin agar (Sifin), které mohou usnadnit identifikaci kmene EHEC ve směsi s další střevní mikroflórou. Na půdách SMAC a CT SMAC jsme pozorovali nárůst červeně zbarvených (sorbitol pozitivních) kolonií. Po 18 hodinách kultivace na enterohemolizinném agaru byla u většiny kolonií zřejmá neúplná (turbidní) zóna hemolýzy typická pro kmene EHEC s produkcí EHEC-hemolyzinu (EHEC-Hly). Vzhledem k negativnímu nárůstu sorbitol-negativních kolonií bylo vyloučeno podezření na přítomnost nejznámějšího sérotypu EHEC - *E. coli* O157:H7 (sorbitol negativní), a vzhledem k produkci EHEC-Hly také podezření na sorbitol fermentující (SF) EHEC O157:NM (většinou neexprimuje EHEC-Hly a neroste na CT SMAC, protože nemá *ter* geny kódující rezistenci k teluritu).

U EHEC-Hly pozitivní kolonie jsme provedli sklíčkovou aglutinaci k průkazu nejčastějších non-O157 séroskupin vyvolávajících HUS, především O26, O91, O111, O103, O113 a O145 [17]. Kmen aglutinoval s antisérem *E. coli* O145 (Sifin).

Metodou reverzní latexové aglutinace (VTEC RPLA, Denka Seiken) byla u izolovaného kmene *E. coli* O145 zjištěna **produkce Shiga toxinu 2 (Stx<sub>2</sub>)**. Tento výsledek jsme konfirmovali PCR průkazem genu *stx<sub>2</sub>*. Z dalších virulencních charakteristik EHEC byl metodou PCR prokázán gen *eae* typický pro kmene EHEC (a též enteropatogenní *E. coli*, EPEC), a dále *terE*, jeden z *ter* genů kódujících rezistenci k teluritu. Z plasmidových charakteristik byl přítomen gen EHEC-*hlyA* kódující produkci EHEC-Hly.

PCR amplifikací *fliC* genu u kmene EHEC O145 a jeho následnou restriční analýzou (*HhaI* – RFLP) byl zjištěn restriční profil *fliC*-RFLP **H28**. Bičkový antigen H28 jsme konfirmovali také fenotypově, metodou sklíčkové aglutinace.

Vyšetřením rektálních výtěrů rodinných příslušníků chlapce (otec, maminka, sedmiletý bratr a pes žijící v domácnosti) byl stejný kmen, tj. EHEC O145:H28 s produkcí Stx<sub>2</sub>, zjištěn také u maminky a bratra. Oba

byli asymptomaticí nosiči, ostatní kontakty na toto agens byly negativní. Zdroj nákazy se nepodařilo zjistit.

## ZÁVĚR

V příspěvku je popsán záchyt enterohemoragického *E. coli* séro skupiny O145 jako původce HUS. Jedná se o první potvrzení kmene EHEC této séro skupiny jako etiologického agens „klasického“ HUS v České republice. Ve světové literatuře jsou případy HUS, kolitid nebo hemoragických kolitid vyvolané EHEC O145 známé již od 80. let [11, 12]. Důvodem, proč u nás nebyly případy infekce EHEC O145 zachyceny (registrovány), může být i fakt, že dosud se pozornost věnovala především nejznámějšímu EHEC O157.

**Znovu bychom chtěli zdůraznit, že ve světové literatuře jsou nejčastěji uváděnými non-O157 EHEC séro skupinami izolovanými od pacientů s HUS O26, O111, O145, O103, O91, O113.**

Popisovaný případ demonstruje fakt, že kmeny EHEC s produkcí Shiga toxinu 2 vyvolávají vážnější onemocnění, zatímco kmeny produkující Shiga toxin 1 (případně kombinaci obou) jsou příčinou infekcí s lehčím průběhem [2, 17, 18].

Prezentované onemocnění dvouletého chlapce bylo v soulase i se známou skutečností, že infekce vyvolané EHEC se převážně vyskytují u malých dětí do 5 let věku. Stejný kmen byl zjištěn i u matky a 7letého bratra pacienta, kteří byli pouze asymptomatickými nosiči.

## PODĚKOVÁNÍ

Autoři děkují doc. MUDr. Martině Bielaszewské, Ph.D. z Institut für Hygiene und Konsiliarlaboratorium für Hämolysisch-Urämisches Syndrom, Universität Münster, Německo, za kritickou diskusi během přípravy rukopisu.

## LITERATURA

- [1] Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol.* 2005; 295: 405–418.
- [2] Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, Pulz M, Kuszius T, Ammon A, Karch H. *E. coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: Frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis* 2002; 185: 74–84.
- [3] Bielaszewska M, Friedrich AW, Aldick T, Schurk-Bulgrin R, and Karch H. Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome. *Clin Infect Dis.* 2006; 43: 1160–1167.
- [4] Watanabe H, Wada A, Inagaki Y, et al. Outbreaks of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection by two different genotype strains in Japan. *Lancet* 1996; 348: 831–832.
- [5] CDC - Department of Health and Human Services - *E. coli*: Update on Multi-State Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections From Fresh Spinach, October 6, 2006; Zdroj: <http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.htm>
- [6] Ammon A, Petersen LR, Karch H. A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain of *Escherichia coli* O157:H. *J Infect Dis.* 1999; 179(May): 1274–1277.
- [7] Alpers K, Werber D, Frank C, Koch J, Friedrich AW, Karch H, et al. Sorbitol-fermenting enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H- causes another outbreak of hemolytic uremic syndrome in children. *Epidemiol Infect.* 2009; 137(March): 389–395.
- [8] Pollock KG, Locking ME, Beattie TJ, Maxwell H, Ramage I, Hughes D, et al. Sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157. *Scotland Emerg Infect Dis.* 2010; 16(May): 881–882.
- [9] Bielaszewska M, Schmidt H, Karmali M et al. Isolation and Characterization of Sorbitol-Fermenting Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* O157: H- Strains in the Czech Republic. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(7): 2135–2137.
- [10] Bielaszewska M, Schmidt H, Liesegang A, Prager R, Rabsch W, Tschape H, Cizek A, Janda J, Blahova K, Karch H. Cattle can be a reservoir of sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H- strains and a source of human diseases. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 3470–3473.
- [11] Sonntag AK, Prager R, Bielaszewska M. et al. Phenotypic and Genotypic Analyses of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O145 Strains from Patients in Germany. *J Clin Microbiol* 2004; 42(3): 954–962.
- [12] Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS, and Lior H. The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1985; 151:775–782.
- [13] Lhotová H, Bielaszewska M, Kopalová E, Štolbová M. Haemolyticko-uremický syndrom - mikrobiologické šetření. *Čs epid microb imunol* 1990, 39(1): 13–20.
- [14] Bielaszewska M, Janda J, Bláhová K, et al. Human *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with the consumption of unpasteurized goat's milk. *Epidemiol Infect* 1997; 119: 299–305.
- [15] Bielaszewska M, Janda J. Mikrobiologické aspekty infekce kmeny *E. coli* produkujícími verotoxin u dětí s hemolyticko-uremickým syndromem. *Čs epid mikrob imunol* 1989, 38: 237–244.
- [16] Marejková M, Karpíšková R, Petráš P. Hromadné výskyty enterohemoragického *E. coli* v ČR v průběhu posledních dvou let. Sborník abstraktů: 24. Pečenkovy epidemiologické dny, České Budějovice, 15.–17. 9. 2010, str. 31.
- [17] Marejková M, Zieg J, Dušek J, Bláhová K, Petráš P. Smrtelný případ diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolaného enterohemoragickým *E. coli* O26. *Zprávy EM (SZÚ, Praha)* 2009; 18(6): 212–214.
- [18] Marejková M, Dědičová D, Vašáková M, Zieg J, Fencl F, Bláhová K, Petráš P. Dva případy diareapozitivního hemolytickoureemického syndromu vyvolané enterohemoragickými kmeny *Escherichia coli* O157 a O111. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16(8): 366–368.

Monika Marejková

Petr Petráš

NRL pro *E. coli* a shigely, OML, SZÚ Praha

Květa Bláhová

Jiří Dušek

Pediatrická klinika FN Motol, Praha

Kontakt:

ing. Monika Marejková

monmarej@szu.cz