

## Smrtný případ diareapozitivního hemolyticko–uremického syndromu vyvolaného enterohemoragickým *Escherichia coli* O26

**A fatal case of diarrhea-associated hemolytic-uremic syndrome caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26**

Monika Marejková, Jakub Zieg, Jiří Dušek, Květa Bláhová, Petr Petráš

### Souhrn • Summary

V příspěvku je uvedena stručná kazuistika diarea-pozitivního hemolyticko-uremického syndromu u dvouleté dívky, který skončil úmrtím pacientky. Původcem bylo enterohemoragické *Escherichia coli* (EHEC) O26 s produkcí Shiga toxinu 2. V článku je zdůrazněno, že toto vážné onemocnění mohou, kromě nejčastěji uváděného sérotypu *E. coli* O157:H7, vyvolat i kmeny dalších séroskupin: O26, O111, O103 a O145. V NRL pro *E. coli* a shigely SZÚ jsme za ideálních okolností schopni zjistit přítomnost EHEC do 24, resp. do 48 hodin.

*We report a fatal case of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome (HUS) in a 2 year-old girl, caused by enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) O26 producing Shiga toxin (Stx) 2. This case demonstrates that in addition to E. coli O157:H7 which is the most common cause of HUS, strains of other serogroups (O26, O111, O103, O145) can also cause this severe disease. Stool specimens from patients with suspected EHEC infections should be sent to NRL for E. coli and Shigellae at NIPH for molecular and phenotypic detection of stx/Stx that is feasible within 24–48 h.*

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2009; 18(6): 212–214.

**Klíčová slova:** enterohemoragické *E.coli* (EHEC), Shiga toxin, hemolyticko-uremický syndrom (HUS)  
**Keywords:** enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Shiga toxin, hemolytic uremic syndrome (HUS)

Patogenní kmeny *Escherichia coli* mohou být původci vážných střevních i extraintestinálních onemocnění. Mezi ně patří Shiga toxin-produkující *E.coli* (STEC). Používá se i označení Verotoxin-produkující *E. coli* (VTEC), zatímco od původního označení „Shiga-like toxin“ se ustoupilo. Podskupina vysoce virulentních STEC kmenů, které vyvolávají závažná lidská onemocnění, se označuje jako enterohemoragické *E. coli* (EHEC). Tyto kmeny produkují, kromě Shiga toxinů (Stx1, Stx2 a jejich subtypy), které jsou hlavními faktory virulence, i další faktory virulence, především adheziny intimin a EHEC hemoliziny.

EHEC vyvolávají hemoragické kolitidy s krvácením ve střevě, většinou bez teploty či pouze s nízkou teplotou (< 38 °C). Onemocnění mohou přibližně v 5–7 % případů gradovat do velmi závažného klinického stavu vyžadujícího hospitalizaci a ve výjimečných případech končících i smrtí pod dg. hemolyticko-uremický syndrom (HUS). Forma HUS s prodromálním stadiem průjmu se označuje diarea-pozitivní (D+) HUS. Onemocnění se projevuje triádou klinických příznaků: mikroangiopatická hemolytická anemie s nálezem schistocytů (poškozené erythrocyty) v nátěru z periferní krve, trombocytopenie a akutní selhání ledvin.

Prvé sporadické a epidemické případy byly zaznamenány v USA a Kanadě a týkaly se především sérotypu

*E. coli* O157:H7. Tento sérotyp je nejznámějším, ale zdaleka ne jediným. Ve světové literatuře se v současné době uvádí **pět séroskupin EHEC nejčastěji izolovaných od pacientů s HUS: O157, O26, O111, O103 a O145** [1].

Rezervoárem kmenů O157:H7 i non-O157 je na prvním místě hovězí dobytek. Vehikulem jsou masné a mléčné výrobky bez tepelného zpracování, eventuálně fekálně kontaminovaná a nedostatečně omytá zelenina a ovoce. Další způsoby přenosu zahrnují kontakt s infikovanými osobami a zvířaty (přímý přenos kontaminovanými rukama). Zdrojem může být i fekálně kontaminovaná voda, ať pitná či např. v bazéncích.

V České republice je frekvence záchytu EHEC nízká, řádově desítky případů za rok. Důvodem je jednak to, že tato onemocnění nejsou povinně hlášena a dále je to vysoce pravděpodobně důsledek nedostatečné diagnostiky (většina laboratoří rutinně diagnostiku EHEC neprovádí!). Toto je zřejmě ze skutečnosti, že ve všech sousedních zemích, kde se diagnostika EHEC provádí rutinně u všech pacientů s průjmem nebo alespoň u všech pacientů s krvavým průjmem a HUS (např. Německo, Francie, Rakousko, Dánsko, Belgie), je frekvence záchytu těchto kmenů daleko vyšší.

Ve Zprávách CEM jsme prezentovali dva případy onemocnění HUS v srpnu 2007 [2]. Jednalo se o třiletou dívku s těžkým průběhem onemocnění, 21denní anurií, byla nutná dialyzační léčba. Při propuštění přetrvávala renální reziduální symptomatologie (mikroskopická hematurie, proteinurie). Etiologickým agens byl sorbitol-negativní, enterohemoragický kmen *E. coli* O157:H7, produkující Shiga toxin (Stx) 2. Druhým pacientem byl

8měsíční chlapec, který byl s diagnózou HUS hospitalizován rovněž na Pediatrické klinice FN Motol. Anurie trvala 7 dní, 12 dní byl chlapec dialyzován. Pacient byl propuštěn po 5 týdnech v dobrém klinickém stavu. Původcem byl EHEC O111:NM, produkující oba typy Shiga toxinů, Stx1 a Stx2.

V tomto příspěvku referujeme o těžkém průběhu onemocnění HUS vyvolaném enterohemoragickým *E. coli* O26:H11 u dvouleté dívky, které bohužel skončilo smrtí pacientky.

## STRUČNÝ PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

Dvouletá zdravá dívka byla dva měsíce před uváděným případem krátce hospitalizovaná pro popáleninu pravé dlaně a před 3 týdny prodělala 2týdenní gastroenteritidu. Po týdenním zlepšení se objevila kašovitá stolice a pacientka mnohokrát zvracela a přestala močit.

- **9. 6.** Ve 21.00 byla dívka hospitalizována na JIP Pediatrické kliniky ve FN Motol už s podezřením na HUS. Při přijetí byla bledá, lehce hyperhydratovaná, v krevním obraze anemie, trombocytopenie a vyšší schistocyty. V biochemii hyperazotémie, elevace renálních parametrů, LD, bilirubinu a známky metabolické acidózy. Byla zahájena symptomatická léčba, podávání diuretik.
- **10. 6.** Pacientce byl zaveden dialyzační centrální žilní katétr. Dívka byla prakticky anurická, denní výdej moči byl pouze 50 ml.
- **11. 6.** Pro progresi renální insuficience a anurii byla provedena hemodialýza a pro anemii podáno 200 ml erymasy.
- **12. 6.** Ráno byla patrná porucha vědomí, pouze minimální reakce na bolestivý podnět. Provedeno EEG při kterém byly zjištěny známky edému mozku. Při neurologickém vyšetření bylo shledáno výrazné zhoršení s přetrvávající poruchou vědomí. Z laboratorních parametrů bylo výrazné zvýšení urey, kreatininu, další pokles hemoglobinu a přetrvávající trombocytopenie. Během další hemodialýzy ke zlepšení stavu nedošlo. Bylo provedeno CT mozku s nálezem incipientního edému mozku. Dívka byla přeložena na Anesteziologicko-resuscitační kliniku, kde byla zahájena umělá plicní ventilace a kontinuální metoda k čištění krve s pomalým průtokem dialyzačního roztoku (CVVHD).
- **13. 6.** Stav pacientky stabilizovaný, pokles renálních parametrů na zavedené léčbě, přetrvává anurie. Dítě dále ventilováno bez nutnosti oběhové podpory, stabilní na zavedené eliminační léčbě.
- **14. 6.** Zhoršení klinického stavu pacientky, výrazná laboratorní aktivita základního onemocnění – LD, d-dimery, vzestup zánětlivých parametrů. Přetrvává anurie. Zahájeno podávání antibiotik a Fraxiparinu.
- **15. 6.** Po přechodném klinickém zlepšení další progresse závažného stavu, náhle nastává těžká hypertenze pravděpodobně centrálního původu.
- **16. 6.** Vzhledem k progresi CNS symptomatologie provedeno kontrolní CT mozku, kde zjištěna progresse edému mozku. Dále trvá oběhová nestabilita. **Ve večerních hodinách exitus.**

## LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Stolice pacientky byla odeslána do NRL pro *E. coli* a shigely SZÚ. Byly inokulovány klasické půdy pro střevní bakterie a selektivní půdy sorbitol MacConkey (SMAC) agar, selektivní SMAC s cefiximem a teluritem (CT-SMAC) pro screening kmenů *E. coli* O157:H7 a enterohemolyzinový agar pro záchyt kmenů s produkcí EHEC hemolyzinu (EHEC-Hly). Tyto kmeny jsou po inkubaci přes noc (18–24 h) obklopeny na enterohemolyzinovém agaru relativně úzkou zónou **neúplné** hemolýzy (která je podstatně slabší než hemolýza vyvolaná alfa hemolyzinem!). Většina sérotypů EHEC vyvolávajících těžká onemocnění včetně HUS (t.j. O157:H7, O26:H11, O111:H8, O103:H2, O145:H28/H25) exprimuje EHEC-Hly na enterohemolyzinovém agaru.

Po 20hodinové kultivaci byl prokázán na všech použitých půdách masivní nárůst v podstatě monokultury kmene *E. coli*. Na SMAC agaru byl pozorován nárůst sorbitol-pozitivních, růžových kolonií, který vylučoval podezření na přítomnost nejznámější EHEC *E. coli* O157:H7.

Skříčkovou aglutinací EHEC-Hly-pozitivních kolonií z enterohemolyzinového agaru bylo zjištěno *E. coli* sérotypu O26:H11.

Souběžně se prováděl dvěma metodami průkaz Shiga toxinů. Fenotypový průkaz pomocí metody reverzní pasivní latexové aglutinace (RPLA, set VTEC Denka Seiken) potvrdil produkci Stx 2. Tento výsledek byl potvrzen metodou PCR průkazem genu *stx*<sub>2</sub>. Kromě toho byl prokázán gen *eae* kódující adhezenční faktor intimin a gen EHEC-*hlyA* pro EHEC hemolyzin. Průkazem genu *O26wzy* byla i geneticky potvrzena i séroskupina O26.

Bakteriologické vyšetření tak identifikovalo EHEC O26:H11 jako etiologické agens letálního případu HUS.

Protože se jedná o mikroba ze seznamu vysoce rizikových agens a toxinů (VRAT), bylo informováno příslušné protiepidemické oddělení orgánu ochrany veřejného zdraví (OOVZ). To zajistilo odběry stolic rodinných příslušníků a dále odběry kozího trusu z farmy, která byla vytipována jaká možný zdroj infekce.

Metodou imunomagnetické separace (IMS) se dále podařilo zachytit a následně postupy klasické mikrobiologie i molekulárně-biologickými metodami prokázat stejný kmen EHEC O26:H11 u dvou sester zemřelé dívky a jednoho z příbuzných. Všechny 3 osoby byly asymptomatické nosiči, bez klinických příznaků průjmovitého onemocnění. Ostatní vzorky byly na toto agens negativní.

## ZÁVĚR

Sérotyp *E. coli* O26:H11 patří po nejznámějším EHEC O157:H7 celosvětově k nejčastěji uváděným původcům D+ HUS. V tabulkách kmenů EHEC z let 1965 – červen 2008, které byly zaslány do naší laboratoře z českých případů EHEC onemocnění, se oba sérotypy dělí o 1. místo s počtem 17 izolátů.

Potvrdila se informace z literatury, že kmeny STEC s produkcí Stx 1 nebo s kombinací obou toxinů Stx 1 +

Stx 2 zpravidla způsobují onemocnění méně závažného průběhu, zatímco u pacientů s těžkým průběhem HUS jsou obvykle nalézáni výluční producenti Stx 2 [3].

Izolace kmene EHEC ze stolice pacientů s hemoragickou kolitidou, či HUS je rozhodujícím kritériem pro určení kauzálního vztahu takových kmenů k danému onemocnění. Při podezření na EHEC infekci je vhodné poslat stolicí pacienta (nejčastěji se jedná o děti do 5 let věku) přímo do NRL pro *E. coli* a shigely SZÚ, kde jsme schopni v optimální situaci zjistit přítomnost EHEC do 48 hodin od doručení stolice. V případě zaslání izolovaného kmene můžeme sdělit výsledek (přítomnosti *stx* genu/produkce Stx, předběžně i séroskupinu) do 24 hodin.

V NRL pro *E. coli* a shigely nově zavádíme **metodu imunomagnetické separace (IMS)** pro skrínig primokultur stolic od pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem na přítomnost EHEC séroskupin O157, O26, O111, O103, O145. V primokulturách následně provádíme průkaz *stx* genů (dále genů *eae*, *EHEC-hlyA*, ad.) metodou PCR. Izolované kmeny EHEC jsou sérotypovány a pomocí molekulárně-biologických metod dále subtypovány.

Standardizace metody IMS vyžaduje ověření na reprezentativním počtu stolic. Proto budeme vděční za posílání stolic od pacientů (především s krvavým průjmem) s podezřením na diareapozitivní hemolyticko-uremický syndrom.

#### PODĚKOVÁNÍ

Autoři děkují doc. MUDr. Martině Bielaszewske, Ph.D. z Institut für Hygiene and Konsiliarlaboratorium für Hämolytisch-Urämisches Syndrom, Universitätsklinikum, Münster, Německo, za kritickou diskusi během přípravy rukopisu.

#### LITERATURA

- [1] Bielaszewska M, Köck R, Friedrich AW, Eiff von C, Zimmerhackl LB, Karch H, Mellmann A. Shiga toxin-mediated hemolytic hemolytic uremic syndrome: time to change the diagnostic paradigm? *PLoS ONE* 2007; 2(10) e1024. doi:10.1371/journal.pone.0001024.
- [2] Marejková M, Dědičová D, Vašáková M, Zieg J, Fencl F, Bláhová K, Petráš P. Dva případy diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolaného enterohemoragickými kmeny *E. coli* O157 a O111. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16(8): 366–368.
- [3] Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, et al. *Escherichia coli* harboring shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *The Journal of Infectious Diseases* 2002; 185: 74–84.

*Ing. Monika Marejková  
RNDr. Petr Petráš, CSc.  
NRL pro E. coli a shigely SZÚ*

*MUDr. Jakub Zieg  
doc. MUDr. Jiří Dušek, CSc.  
doc. MUDr. Květa Bláhová, CSc.  
Pediatrická klinika FN Motol, Praha*