

AKTUALITY

LATEST NEWS

Velká německá epidemie vyvolaná shigatoxigenním kmenem *Escherichia coli* O104:H4 a jeden importovaný případ v České republice

A large outbreak caused by a Shiga toxinogenic *Escherichia coli* O104:H4 strain in Germany and one imported case in the Czech Republic

Monika Marejková, Hana Roháčová, Marie Reisingerová, Petr Petráš

Souhrn • Summary

Na začátku května 2011 vypukla v Německu velká epidemie hemoragických kolitid a hemolyticko-uremického syndromu, vyvolaná shigatoxigenním kmenem *E. coli* O104:H4. Tento vysoce virulentní kmen spojuje v sobě vlastnosti enteroagregativních a enterohemoragických *E. coli*. Na infekčním oddělení pražské Fakultní nemocnice na Bulovce byla hospitalizována s hemoragickou kolitidou americká turistka, která se vrátila ze severního Německa. V její stolici byl prokázán epidemický kmen *E. coli* O104:H4. Jedná se tedy o importovaný případ z velké německé epidemie.

Early in May 2011, a large outbreak of hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome caused by a Shiga toxin-producing Escherichia coli O104:H4 strain occurred in Germany. This highly virulent strain shares the characteristics of both enteroaggregative and enterohemorrhagic E. coli. An American traveller to northern Germany with hemorrhagic colitis was admitted to the Department of Infectious Diseases of the Bulovka University Hospital in Prague. Her stools were positive for the epidemic strain of Escherichia coli O104:H4. It was an imported case, associated with the large German outbreak.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2011; 20(5): 170–173.

Klíčová slova: německá epidemie *E. coli* O104:H4; EHEC, EA_ggEC, HUS

Keywords: German outbreak of *E. coli* O104:H4, EHEC, EA_ggEC, HUS

V Německu vypukla 2. května velká epidemie gastrointestinálního onemocnění a hemolyticko-uremického syndromu (HUS) vyvolaná shigatoxigenním kmenem *Escherichia coli* (STEC). Na počátku byla jako původce označována, podle charakteru onemocnění, enterohemoragická *E. coli* (EHEC). Ke dni naší uzávěrky (29. 6.) bylo zaznamenáno 4055 postižených, 885 (21,8 %) s těžkým průběhem nemoci, tj. s HUS a 48 (1,2 %) případů úmrtí [1]. Je to dosud druhá největší epidemie vyvolaná STEC na světě a největší co do počtu pacientů s HUS. Další zvláštností je, že v dosavadní historii onemocnění HUS obvykle postihovalo nízké věkové skupiny, nebo starší lidi a pacienty s oslabenou imunitou. V této epidemii se jedná většinou o střední věkové skupiny, a především o ženy.

Bakterie *Escherichia coli* patří k nejznámějším mikroorganismům, byla popsána v roce 1885 vídeňským lékařem a bakteriologem Theodorem Escherichem jako „Bacterium coli commune“ a po jeho smrti (letos od ní uplynulo 100 let) byla po něm pojmenována. *E. coli* je běžnou součástí střevní mikroflóry u zdravých lidí. Člověku je prospěšná, produkuje řadu látek, které brání rozšíření patogenních bakterií (koliciny) a podílí se i na tvorbě některých vitamínů (K).

E. coli může být ale i etiologickým agens a vyvolat velice vážné onemocnění. Dostane-li se mimo střevní trakt, je patogenem vždy, časté jsou především infekce močových cest.

E. coli, které jsou patogenní ve střevu, se obvykle rozdělují do 6 skupin:

- 1. EPEC** – enteropatogenní *E. coli* (v užším slova smyslu) – původci především průjmů u novorozenců a dětí do dvou let.
- 2. ETEC** – enterotoxigenní *E. coli* – nejčastější bakteriální příčina průjmů v rozvojových zemích a „cestovatelských“ průjmů cholerového typu (křeče, zvracení).
- 3. EIEC** – enteroinvazivní *E. coli* – vyvolávají krvavé průjmy s horečkou shigelového typu, spíše u dospělých.
- 4. DAEC** – difúzně adherentní *E. coli* – další původci „cestovatelských“ vodnatých průjmů se zvracením.
- 5. EA_ggEC** – enteroagregativní *E. coli* – patogen, který vyvolává „cestovatelské“ vodnaté průjmy bez zvracení

a dlouhotrvající průjmová onemocnění nejčastěji u dětí žijících především asijských zemích s nízkou úrovní hygieny. Rezervoárem je člověk, přenos je hlavně orálně-fekální. Hlavním faktorem virulence jsou agregativní adhezenční fimbrie AAF, kódované genem *agg*.

a dosud nejzávažnější

6. STEC – shigatoxigenní *E. coli*.

STEC (používá se i zkratka VTEC – verotoxigenní *E. coli*, dříve se používalo označení „Shiga-like“ toxigenní) jsou producenty Shiga toxinu 1 a/nebo 2, který je velice podobný Shiga toxinu kmenů *Shigella dysenteriae* I – původců bacilární úplavice. Existuje asi 250 sérotypů, které jeden, nebo oba Shiga toxiny produkují [2].

Z nich část, v poslední době se uvádí až 40 % sérotypů, může u člověka způsobit vážné onemocnění: hemoragickou kolitidu (krvácivý průjem) a hemolyticko-uremický syndrom (anemie, trombocytopenie a postižení ledvin). Pak už se nejedná pouze o střevní infekci, ale dochází k systémovému onemocnění, které může být i život ohrožující. Kmeny, které tato onemocnění vyvolávají, se označují **EHEC** – enterohemoragické *E. coli*. EHEC jsou podskupinou STEC. Mimo schopnost produkovat Shiga toxin – jsou vybaveny dalšími faktory virulence, které jim umožňují úspěšně napadat svého hostitele – pacienta. Jsou to hlavně adhezenční faktor intimin a EHEC-hemolysin. Další důležitou vlastností EHEC je nízká infekční dávka. Podobně jako u shigel se u některých sérotypů udává minimální hodnota 10–100 bakterií, které stačí k vyvolání infekce. Přenos je nejčastěji alimentární (dostatečně tepelně neopracovaným masem, mlékem, zeleninou i kontaminovanou pitnou vodou). Možný je i přenos z člověka na člověka (při nedodržování základních pravidel hygieny).

Prvé sporadické případy i epidemie onemocnění EHEC byly zaznamenány v USA a v Kanadě v 80. letech minulého století. Často to bylo z hamburgerů – v USA se používá označení „hamburgerová“ nemoc. První epidemie byly vyvolány sérotypem *E. coli* O157:H7. Ten je nejznámější, ale zdaleka ne jediný. V literatuře se uvádí těchto pět nejčastějších séroskupin: O157, O26, O111, O103 a O145 [3].

Situace v České republice

V České republice je frekvence zachytu EHEC infekcí nízká. Od roku 2006 bylo v NRL pro *E. coli* a shigely zaznamenáno 25 případů tohoto onemocnění (průjem, krvavý průjem, hemolyticko-uremický syndrom), kdy byla jako příčina potvrzena EHEC. Ve Zprávách CEM jsme prezentovali dva případy HUS v srpnu 2007 [4]. Jednalo se o tříletou dívku s těžkým průběhem onemocnění, 21denní anu-

rií, kdy byla nutná i dialyzační terapie. Původcem byla EHEC NSF O157:H7 s produkcí Shiga toxinu 2. Druhým pacientem byl 8měsíční chlapec, který byl s diagnózou HUS hospitalizován, shodně jako první případ, na Pediatrické klinice FN Motol. Anurie u něho trvala 7 dní, 12 dní byl dialyzován. Etiologickým agens byla EHEC O111:NM, produkující oba typy Shiga toxinů 1 a 2.

V dalším sdělení jsme referovali o těžkém průběhu HUS vyvolaném EHEC O26:H11 s produkcí Shiga toxinu 2 u dvouleté dívky [5]. Dívka po velice těžkém průběhu onemocnění, přes veškerou intenzivní snahu lékařů, po týdnu hospitalizace zemřela. Potvrdil se fakt z literatury, že kmeny EHEC s produkcí Shiga toxinu 2 jsou obvykle původci závažnějších průběhů onemocnění. U Shiga toxinu 2 se udává mnohonásobně větší toxicita, než u typu 1.

V našem souboru 25 kmenů EHEC se nejčastěji vyskytují *E. coli* O26:H11, NSF (sorbitol-nefermentující) O157:H7 a O111:NM. Do teď to byly vše děti maximálně do 5 let věku, což bylo i v souladu s literaturou.

Epidemický kmen *E. coli* O104:H4

Současná rozsáhlá epidemie, která přesáhla hranice Německa (postižení jsou z dalších 13 evropských států), ba dokonce se dostala i přes Atlantik (nemocní byly nahlášené z USA a Kanady – vesměs se vrátili z pobytu v Německu) je výjimečná také vysokým počtem případů s těžkým průběhem, tj. hemolyticko-uremickým syndromem. Zároveň dosud to bývalo v epidemiích vyvolaných kmeny EHEC okolo 10–15 %, v současnosti je to téměř 25 % ! A další zvláštností je, že postižení jsou ve velké většině osoby starší dvaceti let a převážně ženy.

Původcem je kmen *E. coli* O104:H4. Je to vzácný sérotyp, ale nijak nový. V literatuře jsou popsány 2 sporadické výskyty onemocnění včetně charakteristik kmene: jeden v Německu [6] a jeden v Korei [7]. V materiálech ECDC jsou zmíněny ještě další případy, ale jen z epidemiologických hlášení.

Epidemický kmen nemá geny kódující adhezenční faktor intimin a EHEC-hemolysin, což jsou vedle Shiga toxinu dva další faktory virulence u kmenů EHEC, ale zato nese gen pro agregativní adhezenční fimbrie AAF. Ty mu umožňují intenzivní adhezi na buňky střevního epitelu a následný snadný průnik Shiga toxinu. Spolu s vysokou infekčností budou zřejmě toto hlavní důvody, proč *E. coli* O104:H4 vyvolala tak obrovskou epidemii s tak závažným průběhem. I tato kombinace důležitých faktorů virulence byla již popsána, mají ji oba kmeny z publikovaných případů v Německu a ve Finsku a též např. kmen EAggEC/STEC O111:H2, který vyvolal menší epidemii HUS u 5 dětí v roce 1992 ve Francii [8, 9].

Podle podrobné analýzy několika vědeckých pracovišť, ale především mikrobiologů v Konziliární laboratoře pro HUS na Univerzitě v německém Münsteru [10] vyšlo najevo, že *E. coli* O104:H4 je vlastně enteroagregativní *E. coli*, tedy EAggEC, která převzala do svého genomu informaci o produkci Shiga toxinu 2. (Gen *stx2* je na bakteriofágu, tedy snadno přenositelný.) Měl by být tedy epidemický kmen označován EAggEC/STEC. (V naší laboratoři jej označujeme „enteroagregativní-hemoragická“ *E. coli* = „EAHEC“).

Díky výborné a nezištné spolupráci s doc. Martinou Bielaszewskou z UK Münster jsme měli velice brzo informace o vlastnostech epidemického kmene a tak jsme se mohli na laboratorní diagnostiku této nebezpečné bakterie připravit. Jednoduchý návod jsme urychleně dali i na webové stránky SZÚ-CEM [http://www.szu.cz/tema/prevence/aktualizovana-informace-nrl-pro-e-coli-a-shigely-k].

Tak se nám podařilo i zachytit a následně pomocí genotypových i fenotypových metod potvrdit dosud jediný izolát epidemického kmene „EAHEC“ O104:H ze stolice americké pacientky v Česku.

Importovaný případ hemoragické kolitidy v ČR, vyvolaný epidemickým kmenem „EAHEC“ O104:H4 – stručná kazuistika

Na Kliniku infekčních, parazitárních a tropických nemocí FN na Bulovce byla přeložena z Nemocnice na Františku 62letá žena, americká turistka, která před týdnem přijela ze severního Německa, kde opakovaně jedla saláty z čerstvé zeleniny. Týden měla průjmy (až 30x denně), prvních 5 dní vodnaté bez příměsí krve, poslední dva dny již s příměsí čerstvé krve. Pacientka se cítila celkově vyčerpaná, udávala obtížné močení, horečku neměla.

Byla v počáteční fázi dehydratace, měla mírně zvýšené zánětlivé parametry (CRP 23,3 mg/l). renální parametry byly opakovaně v normě.

Pacientka byla léčena symptomaticky (rehydratována – infuze, Smecta, Lactobacilus, Degan, No-SPA, Kanavit).

Klinický stav se pozvolna upravil a pacientka byla po čtyřech dnech hospitalizace v celkově dobrém stavu propuštěna do domácího léčení. Bylo jí doporučeno, aby po návratu do vlasti navštívila lékaře ke kontrole krevního obrazu i renálních parametrů.

Bakteriologické vyšetření

Vodnatá (téměř čirá) stolice byla ihned dopravena do NRL pro *E. coli* a shigely SZÚ-CEM.

Po pěti hodinách pommožení v Hajna bujónu byla suspenze inokulována na standardní půdy pro střevní bakterie a na selektivní: ESBL agar, SMAC agar, CT-SMAC agar a enterohemolysinový agar (speciální půda pro diagnostiku kmenů s produkcí EHEC-hemolysinu. Po 16hodinové kultivaci byl zřejmý masivní, téměř homogenní nárůst typických gram-negativních bakterií na všech půdách. Výrazný nárůst byl zejména na ESBL půdě, kde narostly krásně modře zbarvené asi 2 mm velké kolonie (viz obrázek).

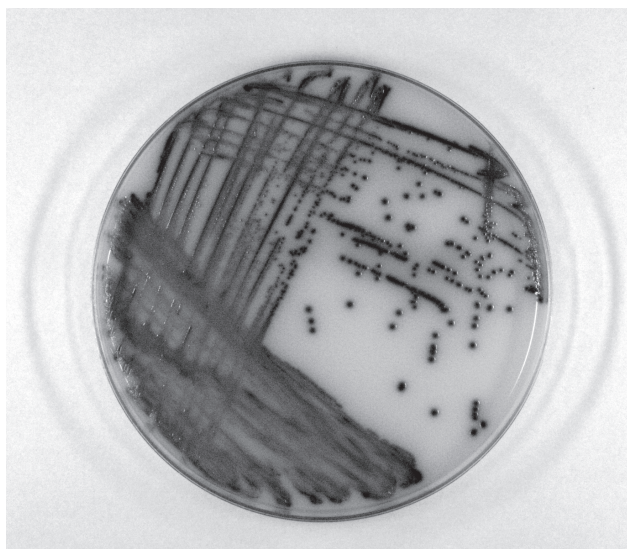
Byla provedena multiplex reakce PCR, která potvrdila, že izolovaný kmen má vlastnosti shodné s vlastnostmi uváděnými u epidemického kmene *E. coli* O104:H4.

Tj. především gen pro produkci Shiga toxinu 2, pro agregativní adhezenční fimbrie AFF, gen kódující somatický antigen *rfbO104* a gen pro bičíkový antigen *fliCH4*.

Následně byl fenotypově potvrzen sklíčkovou aglutinací somatický O104 i bičíkový H4 antigen a reverzní latexovou aglutinací byla zjištěna produkce Shiga toxinu 2.

„EAHEC“ O104:H4 je biochemicky klasická *Escherichia coli*, tj. gram-negativní tyčinka, laktóza pozitivní,

Obrázek: EPIDEMICKÝ KMEN „EAHEC“ O104:H4 NA SELEKTIVNÍ CHROMOGENNÍ PŮDĚ PRO ESBL POZITIVNÍ BAKTERIE



glukuronidáza a indol pozitivní. Je enormně pohyblivá a lze velice dobře aglutinovat již z plotny monovalentním antisérem O104 (Staten Serum Institute, Dánsko). Roste dobře na všech běžných půdách pro střevní bakterie. V podobě sorbitol pozitivních, růžových kolonií roste na speciálních půdách pro EHEC, tj. SMAC agaru a CT-SMAC agaru. Epidemický kmen produkuje širokospektrovou beta-laktamázu ESBL, takže je rezistentní k celé řadě antibiotik. To ale pomáhá v laboratorní diagnostice při jeho záchytu: „EAHEC“ O104:H4 roste velice dobře na selektivních půdách pro záchyt ESBL pozitivních kmenů – viz obrázek.

V souvislosti s velkou německou epidemií byly do NRL pro *E. coli* a shigely zaslány vzorky stolic od dalších 9 pacientů s krvavým průjmem, u kterých bylo podezření, že se mohli tímto epidemickým kmenem nakazit. Všechny už byly na *E. coli* O104:H4 negativní.

Samostatnou otázkou je vehikulum této velké německé epidemie. Poslední indicie ukazují na luštěninové výhonky. Shodný kmen „EAHEC“ O104:H4 byl v těchto vzorcích zachycen, ale pokud je nám známo, nebyly to vzorky potravin odebrané z prodejny, či výroby. V minulosti byly podobné epidemie zaznamenány. Nejrozsáhlejší byla popsána v roce 1996 v japonském Sakai, kdy onemocnělo, podle některých zdrojů, až 10 000 školních dětí. Vehikulem byly ředkvičkové výhonky.

Závěr

Enterohemoragické i enteroagregativní *E. coli* jistě i v budoucnu budou příčinou vážných onemocnění a nelze vyloučit i epidemie. Myslíme si, že v našem státě jsou příslušná epidemiologická, klinická i mikrobiologická pracoviště na tuto situaci připravená a že by k podobné velké epidemii nemělo dojít. V NRL pro *E. coli* a shigely jsme schopni za optimálních podmínek vyšetřit materiál na přítomnost těchto patogenních kmenů *Escherichia coli* do 30 hodin.

Poděkování

Autoři děkují doc. MUDr. Martině Bielaszewské, Ph.D. z Institut für Hygiene und Konsiliarlaboratorium für Hämolytisch-Urämisches Syndrom, Universität Münster, Německo, za intenzivní nezištnou pomoc, kterou nám v hektické době německé epidemie EHEC/HUS poskytovala. Děkujem i naší jediné laborantce, paní Miluši Vašákové a všem kolegům, kteří nám posílají materiál i závěrečné zprávy k případům hemoragických kolitid i D+ hemolyticko-uremického syndromu.

LITERATURA

1. ECDC: Outbreak of Shiga toxin-producing *E. coli* in Germany (29 June 2011, 11:00) dostupné na: <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>
2. ECDC, Outbreak of STEC in Germany (14.6).dostupné na: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1105_TER_Risk_assessment_EColi.pdf
3. Bielaszewska M, Köck R, Friedrich AW, Eiff von C, Zimmerhackl LB, Karch H, Mellmann A. Shiga toxin-mediated hemolytic uremic syndrome: time to change the diagnostic paradigm? *PLoS ONE* 2007; 2(10) e1024. doi: 10.1371/journal.pone.000-1024
4. Marejková M, Dědičová D, Vašáková M, Zieg J, Fencel F, Bláhová K, Petráš P. Dva případy diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolané enterohemoragickými kmeny *Escherichia coli* O157 a O111. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16(8): 366–368.
5. 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.
6. Mellmann A, Bielaszewska M, Kock R, Friedrich AW, Fruth A, Middendorf B, et al. Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(8): 1287–90.
7. Bae WK, Lee YK, Cho MS, Ma SK, Kim SW, Kim NH, et al. A case of hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O104:H4. *Yonsei Med J.* 2006; 47(3): 437–9.
8. Boudailliez B, Berquin P, Mariani-Kurkdjian P, Ilef D, Cuvelier B, Capek I, et al. Possible person-to-person transmission of *Escherichia coli* O111- associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1997; 11(1): 36–9.
9. Morabito S, Karch H, Mariani-Kurkdjian P, Schmid H, Minelli F, Bingen E, et al. Enteroaggregative, shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(3): 840–2.
10. Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens, Peters G, Karch H. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uremic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *THE LANCET infectious diseases*; published online June 23, 2011; DOI:10.1016/S1473-3099(11)70165–7.

Ing. Monika Marejková^{1,2}

RNDr. Petr Petráš, CSc.¹

MUDr. Hana Roháčová, Ph.D.³

MUDr. Marie Reisingerová³

¹ NRL pro *E. coli* a shigely, SZÚ–CEM, Praha

² 3. LF Univerzity Karlovy, Praha

³ Klinika infekčních nemocí IPVZ a FN na Bulovce

Kontakt: monmarej@szu.cz