

Studijní materiál – speciál č. 118

Únor 2011

***Escherichia coli* O157**

Hugh Pennington

Lancet, Vol. 376, October 23, 2010, s. 1428 – 1435

Volně přeložil a zkrátil MUDr. Vladimír Plesník

Úvodem

Escherichia coli O157 je nejznámější ze všech patogenních kmenů *E coli*, označovaných někdy jako enterohemorhagické, nebo kmeny produkující Shiga toxin či verocytotoxin. Prvé epidemie vyvolávané *E coli* O157 se objevily v Oregonu a Michiganu (USA) roku 1982. Byly izolovány od nemocných, kteří po konzumaci hamburgerů z jednoho restauračního řetězce měli průjemy s krví a silné křeče v břiše. Je nepravděpodobné, že by dříve podobné epidemie unikly hlášení. Pátrání ve sbírkách kultur mikrobu USA, založených v USA roku 1973, v Kanadě a ve Spojeném Království roku 1978, objevilo jen osm izolátů *E coli* O157 uložených do sbírek před rokem 1982. Šest pocházelo z Kanady, po jednom z USA a UK. *E coli* O157 je nový patogen, k jeho prvnímu epidemickému výskytu v UK došlo roku 1983, na evropském kontinentu byl prvně izolován 1987 v Belgii, poprvé 1990 v Africe a 1993 na Novém Zélandu.

Hlavním faktorem virulence je tvorba nejméně jednoho Shigatoxinu. Velmi užitečným ukazatelem pro identifikaci bakterie je neschopnost většiny kmenů fermentovat sorbitol. Analýzy genomů kmenů *E coli* vedly k vypracování modelu jejich evoluce. Podle něj kmen *E coli* O157 se postupně vyvinul z netoxického, sorbitol fermentujícího předchůdce, příbuzného *E coli* O55:H7, patogenního klonu nalézaného při kojeneckých průjmech. Tento předek má lokus pro geny umožňující těsnou vazbu bakterie na střevní sliznici. Prvým evolučním krokem byla akvizice Shigatoxinu 2 (Stx2). Dalším byl přeskok somatického antigenu kmene O55 na kmen O157 a získání velkého plasmidu virulence, p O157. Následně došlo ke ztrátě schopnosti fermentovat sorbitol a k získání dalšího toxinu – Shigatoxinu 1 (Stx1).

Dominantní úlohu při změnách genomu mají bakteriofágy, umožňující rychlé nabytí i ztrátu genů fágu. Získání genů horizontálním přenosem nebo duplikací a jejich ztráta při delecii je 140x častější než bodové mutace vlastních genů. Porovnávaly se změny jednoho nukleotidu ze stabilní oblasti genomu starších a současných O157 kmenů, izolovaných během třiceti let na třech kontinentech od lidí, dobytčat a z potravin. Ukázalo se, že základ genomů současných kmenů je téměř identický. Tento projev omezené možnosti dnešní evoluce svědčí o nedávném vzniku kmenů O157 a o dvou typech jejich mutací: (1) mutace přispívající k selekci kmenů výrazně adaptovaných na dobytek (přirozeného hostitele), což umožňuje častější přenos na lidi; (2) zvláštní mutace

evoluční dynamiky u jedné skupiny kmenů, nepatogenních v prostředí, kde se běžně vyskytují, ale v jiném prostředí mohou škodit. Příkladem jsou uropatogenní kmeny *E coli*, běžně přítomné v lidském střevě, které se stávají po zavlečení do močových cest zvláště svízelnými patogeny.

Zdroje *E coli* O157

Člověk je jen slepým článkem v koloběhu *E coli* O157. Zdrojem jsou přežvýkavci, zejména dobytek a ovce, pro které je tato bakterie nepatogenní. Ale na rozdíl od dlouhodobého nosičství *Salmonella typhi*, nosičství *E coli* O157 nebylo u lidí zjištěno. Průměrná doba vylučování u skupiny německých dětí o průměrném věku 3,6 roku, majících průjem nebo hemoragickou kolitidu, byla 13 dnů (rozpětí 2-62 dnů), nebo 21 (5-124) dnů u dětí s hemolyticko-uremickým syndromem (HUS), které však byly sledovány podrobněji a citlivými metodami detekce agens. Často dochází k mezilidskému přenosu. Přehled 90 epidemií z Británie, Irska, Skandinávie, Kanady, USA a Japonska ukázal, že asi 20 % epidemií vzniklo následkem sekundárního šíření. Déle trvající přenos v postižených kolektivech však byl velmi vzácný.

Řada studií se zabývala prevalencí *E coli* O157 u dobytka. Byly zjištěny velké rozdíly mezi výsledky studií. V chovech dojnic prevalence stanovená vyšetřováním jejich trusu kolísala od 0,2 % do 48,8 %. V USA (prevalence mezi telaty 0,4-40,0 %) a v Kanadě, Itálii, Japonsku a v Británii (prevalence u telat (1,7-48,8 %) bylo nosičství častější u telat než u krav a jalovic. Prevalence byla vyšší v teplém než chladném období roku. *E coli* O157 může být také u ovcí a prasat. V jedné studii z Británie je roku 2003 našli ve střevním obsahu 4,7 % jatečných krav, 0,7 % ovcí a 0,3 % prasat. Nosičství mezi kravami je proměnlivé, liší se jak podle farem, tak podle aktuální situace od vysokých až do nulových hodnot. V téže době existují chovy krav, mezi nimiž nejsou nosiči a jiné chovy, kde je řada zvířat vylučujících *E coli* O157 v trusu. Většinou je počet vylučovaných bakterií nízký, je však asi 20 % tzv. supervylučovatelů, exkretujících mnohem větší počty *E coli* O157. U nich bývá kolonizována sliznice střeva v blízkosti rekto-análního přechodu, která je hustě prostoupená mízními uzly. Přítomnost těchto zvířat ve stádě je spojena s vysokou prevalencí nosičství, protože dochází k přenosu na zvířata chovaná ve společné ohradě. Mezi rizikové faktory zvyšující počty vylučovaných bakterií patří stelnost krávy a stres při přepravě a odstavení od tele. Kupodivu vlivy prostředí, včetně množství vody a krmiva, vylučování bakterií neovlivňovaly.

Přenos *E coli* O157

Výsledky rozboru 90 mikrobiologicky potvrzených epidemií z Británie, Irska, Dánska, Norska, Finska, USA, Kanady a Japonska, které byly zjištěny během let 1982-2006, ukázaly, že k přenosu potravinami došlo u 42,2 % epidemií, mlékárenskými výrobky u 12,7 %, přímým stykem se zvířaty u 7,8 %, vodou u 6,7 %, nepřímým stykem v prostředí u 2,2 % a nezjištěný přenos byl u

28,09 % epidemií. Mnoho potravin a mlékárenských výrobků bylo vektory, např. hamburgery z hovězího masa, křehčené stejky, řezy kebabu, mražená jídla z kuřecího, vepřového a hovězího masa, salámy, nakládaná zvěřina, sýry, mléko, máslo, jogurt, zmrzlina, jablečná šťáva, hrozny, salát, kyselé zelí, špenát, ředkvičky, melouny a další. Seznam těchto vektorů stále roste. Např. konzumace cukroví upečeného z baleného polotovaru těsta těsně souvisela s epidemií, která roku 2009 postihla několik států v USA. Prokázáno bylo 72 případů infekce *E coli* O157, z toho 10 případů HUS. Vodní epidemie vznikaly jak při rekreaci (jezera, rybníky, veslařské a plavecké tratě), tak následkem požití vody (obecní a soukromé studny, prameny, zřídla) nebo ledu. Epidemie následkem přímého či nepřímého styku s dobyt看em se objevovaly na farmách, zemědělských výstavách, při místních slavnostech, při dnech otevřených dveří na rančích a táborech. Dosud největší taková epidemie byla v Anglii, kde během září a října 2009 bylo hlášeno 78 nemocných a u 17 z nich vznikl HUS. U laboratorních pracovníků byly zaznamenány různé profesionální infekce.

Druhy potravin, které se podílely na epidemiích *E coli* O157, souvisely s místními potravinovými zdroji, kulinářskou úpravou surovin a se zvyklostmi distribuce jídel. Dosud největší zaznamenaná epidemie vznikla v městě Sakai v Japonsku roku 1996. Hlášeno bylo 7966 nemocných (2764 mikrobiologicky prokázaných, 106 s HUS), kteří snědli ve škole na přesnídávku ředkvičkový salát.

Epidemiím infekcí *E coli* O157 často předchází velké lijáky, mající za následek kontaminaci zdrojů pitné vody vodou spláchnutou z polí hnojených kravskou mrvou, nebo z pastvin dobytka.

Laboratorními nálezy podložená data naznačují, že incidence infekcí *E coli* O157 se v jednotlivých státech velmi liší. Rozdíl je však ovlivněn tím, kolik vzorků stolice pacientů je zasláno k vyšetření, metodami jejich vyšetření i opakovanými odběry u již laboratorně prokázaných případů infekce. Běžně se nesleduje výskyt symptomatických nákaz *E coli*.

V roce 2006 činila incidence infekcí *E coli* O157 v evropských zemích na 100 000 osob 2,1 v Anglii a Walesu, 2,87 v Irsku a 4,7 ve Skotsku, ale 0,43 v Německu a 0,8 ve Francii. V Kanadě dosáhla incidence roku 2004 kolem 4 a v USA roku 2006 kolem 1,6. Incidence všech shigatoxin produkujících mikrobů, včetně *E coli* O157, byla v Japonsku za období od dubna 1999 do října 2004 2,4. Velké mezistátní rozdíly také existují v podílu izolátů tvořících verocytotoxin, k nimž patří *E coli* O57: pohybují se od 99,6 % v UK, přes 93,7 % (Kanada), 74,3 % (USA) až po 30,5 % v Německu, kde jsou běžné seroskupiny O137, O26, O91, O145 a sorbitol fermentující kmeny seroskupiny O157. Tyto kmeny *E coli* O157 byly také zjištěny v České republice, Rakousku, Finsku, Skotsku a v Austrálii. V Austrálii má velký vliv na zdraví obyvatel seroskupina O111, kdežto na Novém Zélandu převládá O157.

Jsou také velké rozdíly v postižení jednotlivých oblastí států. Vyšší riziko nákazy do jisté míry koreluje s životem v oblastech s vysokým počtem kusů

skotu na obyvatele. Různé terénní studie ukázaly, že incidence onemocnění lidí je větší ve venkovských oblastech, kde jsou velké chovy skotu a ovcí, než v městech. Ve Švédsku zjistili, že incidence onemocnění enterohemoragickými kmeny *E coli* je signifikantně vyšší u lidí bydlících v blízkém okolí farem.

Přenos mezi lidmi byl mnohokrát zjištěn u dětí navštěvujících mateřskou školkou nebo jiné zařízení pro děti předškolního věku, dále v ústavech pečujících o osoby s poruchami hybnosti, učení a s demencí. K přenosu v rodinách dochází nejčastěji u kontaktů ve věku 1-4 roky a 15-34 roky. Podle pozorování v epidemiích se zdá, že ke vzniku nákazy a k onemocnění stačí velmi malá infekční dávka *E coli* O157. K ověření tohoto pozorování a k bližšímu určení velikosti dávky by však bylo třeba pokusů na lidech.

Nemoci vyvolávané *E coli* O157

Spektrum infekce *E coli* O157 sahá od bezpříznakového až po smrtelný průběh. Většina informací o obrazu nemoci byla získána při epidemiích. Potíž je v tom, že průběh řady onemocnění nebyl řádně dokumentován a publikován, prošetřování epidemií se liší co do úplnosti zjišťovaných dat a počtu ohrožených osob. Různé cesty přenosu při epidemiích jsou příčinou, že některé skupiny osob jsou zastoupeny častěji, nebo málokdy. Epidemie se také mezi sebou liší závažností průběhu nemoci, frekvencí komplikací, včetně té nejzávažnější – hemolyticko-uremického syndromu, což souvisí s virulencí kmene *E coli* O157 vyvolávajícího epidemii.

V epidemiích s velkým počtem postižených byly nalezeny asymptomatické infekce, těchto pozorování je však málo. Neznáme podíl zdravých osob vylučujících *E coli* O157, takže frekvenci bezpříznakových nákaz nelze blíže určit. K typickým příznakům gastroenteritidy vyvolávané *E coli* O157 patří bolest břicha, průjem s počátkem bez příměsí krve ale po 1-4 dnech s krví, pět a víc průjmových stolic za den před hospitalizací a chybění horečky. Údaje získané během let 2007-8 z Evropy, kde je běžný výskyt kmenů non-O157, ukazují, že krvavé průjmy bývají častější (39 % případů) u infekcí *E coli* O157, než u jiných kmenů (7 % případů).

Asi u 10-15 % pacientů s infekcí *E coli* O157 vznikne za 5-13 dnů po začátku průjmů hemolyticko-uremický syndrom. Jen u mála lidí je začátek infekce bezpříznakový. Podle definice HUS začíná akutním selháváním ledvin, projevujícím se oligurií až anurií, vysokou koncentrací urey a kreatininu v séru, poklesem trombocytů pod $15 \times 10^9 /L$ a mikroangiopatickou hemolytickou anémii s poklesem hemoglobulinu pod 10 g/dL a nálezem fragmentovaných erytrocytů v periferní krvi. HUS bývá častější u dětí mladších pěti let. Ve Skotsku bylo od ledna 2003 do prosince 2009 hlášeno 180 případů HUS. Z toho 53 % bylo léčeno peritoneální dialýzou, hemodialýzou, nebo hemofiltrací. Celkem 48 % zpočátku vyzdravělo a bylo propuštěno domů. U 13 % došlo k trvalému poškození funkce ledvin, 7 % zůstalo závislých na hemodialýze, 4 % měla neurologické následky a 4 % zemřela. Mimo poškození ledvin se objevil vzestup

enzymů pankreatu a otoky, nekróza stěny střeva, rhabdomyolýza, poškození myokardu a asi u 25 % případů došlo k poškození CNS s křečemi, obrnou a komatem. Úmrtí obvykle nastalo následkem závažných komplikací mimo systém ledvin.

Žádný způsob terapie HUS není lepší než obvyklá podpurná léčba, spočívající v kontrole vodní a elektrolytové rovnováhy, dialýze, kontrole hypertenze nebo v transfuzi krve.

Diagnostika a ošetřování nálezů *E coli* O157

Rozhodující je včasná diagnostika. Brzká izolace nemocného od sourozenců podstatně omezí sekundární přenos. Rozvoj selhání ledvin s oligurií a s anurií podporuje pozdní zahájení náhrady intravenosního objemu tekutin. Čím dříve je začato epidemiologické šetření epidemie, tím časněji lze zavést represivní protiepidemická opatření.

K průkazu *E coli* O157 slouží kultivace na selektivní, indikátorové půdě (MacConkey se sorbitem, nebo tentýž agar obsahující cefixim a telurit). Kolonie narostlé za 24 hodin mají průměr 2-3 mm a jsou bezbarvé. K identifikaci se užívá aglutinace specifickým antisérem. Ke zvýšení citlivosti kultivace při epidemii, nebo při vyšetřování potravin, se užívají obohacené půdy a imunomagnetická separace perliček, majících na povrchu nanosenou protilátku. Zpětná diagnostika se někdy dělá podle stanovení hladiny protilátek vůči lipopolysacharidu. V Británii mají v Londýně a v Edinburgu referenční laboraře, které pomocí fagotypizace a elektroforézy v pulsním poli blíže určují jednotlivé izolované kmeny. Převládá několik fagotypů, lepší diferenciaci umožňuje zmíněná elektroforéza, která se často užívá při vyšetřování epidemií.

Faktory virulence (značně zkráceno)

V patogenezi průjmů s krví a HUS má hlavní úlohu produkce shigatoxinu. Kmeny *E coli* O157 mohou tvořit dva rozdílné shigatoxiny, kódované bakteriofágem. Stx1 je velmi podobný toxinu 1 typu, který produkuje *Shigella dysenterie*. Stx2 je geneticky a imunologicky odlišný při 55-60% podobnosti genetických a aminokyselinových sekvencí. Tvorba Stx2 a varianty Stx2c (která často provází Stx2) těsně koreluje se vznikem krvavých průjmů a HUS.

Analýza různých forem jednoho nukleotidu na lokusu 96, provedená u více než 500 kmenů *E coli* O157 izolovaných od nemocných, umožnila je rozčlenit do osmi specifických genetických linií – *clades*. Kmeny získané roku 2006 v US při epidemiích, kdy vektorem byl špenát a hlávkový salát (275 případů, 157 hospitalizovaných), patřily k 8. linii. Linie 1, 2 a 3 zahrnují kmeny z japonské epidemie v městě Sakai r. 1996 a z amerických epidemií v roce 1982 a 1993 s přenosem hamburgery. Ukázalo se, že pacienti s infekcí působenou 8. linií *E coli* O157 bylo nutno hospitalizovat mnohem častěji než při nákaze jinými liniemi. Informace z Německa a ze Skotska naznačují, že nákaza kmeny O157, které fermentují sorbitol, častěji vede k progresi nemoci do HUS.

Prevence infekcí *E coli* O157 a její efekt

Závažnost onemocnění vyvolaného *E coli* O157 a dalšími kmeny *E coli* produkujícími verocytotoxin, včetně jejich dlouhodobých následků, si vyžaduje nákladnou léčbu. Finančně náročná je také péče o rekonvalescenty. Mimo zdravotních důvodů je proto účinná prevence žádoucí i z ekonomického hlediska.

Prošetřování epidemií prokazuje význam preventivních opatření tím, že odhaluje jejich nedodržování. Chyby při pasterizaci mléka a při manipulaci s pasterizovaným mlékem zapříčinily v letech 1994 a 1999 dvě velké epidemie v Anglii a ve Skotsku. Nedostatečné tepelné opracování mletého masa v hamburgerech, selhání chlorace vody z městského vodovodu, křížící se provoz v jídelnách rychlého občerstvení, umožňující přímou i nepřímou kontaminaci jídel syrovým masem, to byly příčiny vzniku dalších epidemií. Roku 2000 došlo ve Skotsku k epidemii mezi táborníky (20 případů). Ukázalo se, že tábor byl na pozemku kontaminovaném trusem ovcí. Táborníci, kteří si před jídlem umývali ruce, byli 9x méně často nemocní než ti, kteří si ruce neumyli. Avšak i když si lidé ruce myjí, často mytí jen odbývají.

Analýza nebezpečí pomocí kritických kontrolních bodů (HACCP- hazard analysis critical control points) je všeobecně uznávaný systém zabezpečování mikrobiologicky nezávadné potravy. Tento systém byl vypracován v 60. letech 20. století Národním úřadem pro letectví a kosmonautiku (NASA) spolu s dalšími odborníky za účelem přípravy zdravotně nezávadných jídel pro kosmonauty. Pak se začal užívat ve velkých podnicích, na amerických jatkách a jinde. Řetězce podniků rychlého občerstvení po epidemiích *E coli* O157 zvýšily na základě zkušeností získaných systémem teploty zpracování mletého hovězího masa. Nedostatky v respektování zásad HACCP měly za následek vznik dalších epidemií. Je ještě třeba značného úsilí k univerzálnímu prosazení systému také v menších podnicích a v malých obchodech.

Není žádná metoda, která by u přežvýkavců docílila podstatného a trvalého snížení nosičství, nebo množství vylučovaných bakterií *E coli*. Byla však vyvinuta nadějná vakcína. Prokáže-li se její účinnost pak její využívání v USA může být podpořeno hlavně z komerčních důvodů: americké ministerstvo zemědělství prohlásilo roku 1994 přítomnost *E coli* O157 v mletém hovězím za nežádoucí. Tato politika nulové tolerance měla za následek vracení velkých dodávek masa, což bylo senzační sousto pro veřejné sdělovací prostředky.

Závěr

E coli O157 je virulentní patogen, jehož skrytými nosiči jsou někteří přežvýkavci. Dojde-li k infekci člověka nelze zabránit jejímu vývoji do hemolyticko-uremického syndromu. Je řada cest fekálně-orálního přenosu, takže prevence infekce vyžaduje mnoho opatření. Některá z nich, jako pasterizace mléka a chlorace pitné vody, účinně chrání velké skupiny obyvatel. Řádné mytí rukou a dodržování zásad správných pracovních postupů, které brání

kontaminaci potravin, však silně závisí na chování lidí. Při tradičních vizuálních kontrolách masa, které se ještě stále užívají na evropských a severoamerických jatkách, nelze odhalit přítomnost této bakterie. Proto jediné očekávané strategie ke snížení rizika a omezení počtu nemocných, které máme při epidemiích k dispozici, jsou protiepidemická opatření, rychlá diagnostika a včasná podpůrná terapie. K podstatnému omezení současného výskytu infekce u lidí může dojít jen podaří-li se také redukovat nosičství této bakterie u přežvýkavců. V některých státech se doporučuje vyhledávání tzv. supernosičů *E coli* O157 ve stádech skotu.

94 citací, kopie u překladatele.

Poznámka překladatele:

Když jsem v polovině roku 1973 nastupoval na konkurzní místo vedoucího protiepidemického odd. KHS Ostrava byla na Karvinsku a na Ostravsku mimořádná epidemiologická situace, která do dneška není zcela objasněna. Máme za to, že to byla v té době největší epidemie HUS na světě. Ovšem z výše uvedeného článku plyne, že „svět“ zná epidemie HUS až od roku 1982 a v Evropě měla být první epidemie v Anglii roku 1983.

Jen stručně shrnu tehdejší nálezy, které jsem podrobněji popsal ve 2. kapitole Eptivalu. V době od 29. 4. do 11. 6. 1973 se objevilo u dětí 17 případů HUS, z nichž 5 skončilo smrtí. Většina (11) dětí onemocněla v intervalu mezi 26.5. – 11.6.1973. Celkem 11 nemocných bylo ve věku 7-12 měsíců, ve věkové skupině 0-6 měsíců a 13-18 měsíců bylo po dvou případech, nejstarší nemocný měl 15 let. Průměrný věk zemřelých činil 10,5 měsíce, u přeživších byl 39,7 měsíce. Obraz a průběh nemoci byl klinikům nový, prvně se objevily informace o tzv. Gasserově syndromu. K objasnění etiologie nemoci bylo prováděno rozsáhlé mikrobiologické, virologické, parazitologické, toxické, ba i akarologické vyšetřování podle doporučení a ve spolupráci s řadou odborníků. Všichni nemocní a většina jejich nejbližších kontaktů měla nejméně dvojí rutinní bakteriologické vyšetření stolice (u nemocných i hemokultury). Nebyly nalezeny ani salmonely, ani shigely. Záchyt podmíněně patogenních mikrobů (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, path. *Coli*) se nelišil od nálezů v jinak zdravé dětské populaci. Nebylo zachyceno žádné virové agens, serologické či toxikologické vyšetření nemělo průkazné výsledky. Bakteriologické a chemické vyšetření potravin podávaných dětem v rodinách, nebo zajištěných ve spádových obchodech (Sunar, ovocné a zeleninové přesnídávky, mléčné výrobky apod. „včetně léků“) také nepřispělo k objasnění možné etiologii nemoci.

Dnes už mohu jen s lítostí napsat, že ve vleku tehdejších představ o nákazách s přírodní ohniskovostí a pro podcenění bakteriologických nálezů, kdy se kultury „nepatogenních *Coli*“ bez další identifikace likvidovaly, uháněli naši parazitologové myši a potkany v bydlíštích pacientů, sbírali roztoče v jejich postelích a my se utápěli ve shánění materiálu k vyšetření, v podávání informací

na všechny Strany a v psaní situačních zpráv. HUS je od té doby tak trochu mou srdeční záležitostí. S úctou a vděkem vzpomínám na všechny, kteří se snažili v této epidemii pomáhat. Po téměř 40 letech je jich už jen pár.