

Atypický hemolyticko-uremický syndrom komplikovaný infekcí enterohemoragickou *Escherichia coli* O157:H7

Atypical hemolytic uremic syndrome complicated by infection with enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7

Monika Marejková, Petra Klimešová, Jan Papež, Renata Ciupek, Ivana Šafránková, Jana Kostková, Eva Tomčová, Martina Bielaszewska

Souhrn • Summary

V příspěvku popisujeme případ těžkého diarea-pozitivního hemolyticko-uremického syndromu (D+ HUS) spojeného s infekcí enterohemoragickou *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 produkující Shiga toxin 2c. Pacient, 4,5letý chlapec, byl hospitalizován s diagnózou atypický HUS (aHUS) na podkladě deficitu/mutace CD46/MCP (membránový proteinový kofaktor). Jedná se tedy o vzácnou koincidence aHUS s infekcí EHEC O157:H7. EHEC O157:H7 byla izolována ze vzorku stolice pacienta pomocí optimalizovaného diagnostického postupu dostupného v Národní referenční laboratoři (NRL) pro *E. coli* a shigely, Státní zdravotní ústav (SZÚ) Praha, zatímco rektální výtěr od pacienta odebraný ve stejný den a vyšetřený pomocí běžného postupu byl na *E. coli* O157 negativní. Tato skutečnost jasně zdůrazňuje nutnost vyšetřovat u pacientů s již rozvinutým HUS co největší množství materiálu (tj. vzorek stolice, ne rektální výtěr) a použít selektivní, citlivé a specifické diagnostické metody. Takový přístup zvyšuje pravděpodobnost záchytu EHEC ve vzorku z pozdního odběru, kdy je agens ve stolici vzhledem ke sníženému až minimálnímu kvantu těžko prokazatelné. Protože odlišení D+ HUS a aHUS je důležité z hlediska terapeutického, apelujeme na lékaře, aby zasílali stolice od pacientů s HUS na průkaz EHEC do NRL pro *E. coli* a shigely, SZÚ Praha, kde jsou příslušné diagnostické metody k dispozici. Tato kazuistika ukazuje, že ačkoliv velmi vzácně, případy HUS s koincidence genetického podkladu aHUS a infekce EHEC se mohou vyskytnout a v důsledku kombinovaného poškození endotelu mohou mít velmi závažný klinický průběh.

The authors present a case of severe diarrhea-positive hemolytic uremic syndrome (D+HUS) in a 4.5-year-old boy associated with infection by enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) O157:H7 producing Shiga toxin 2c. The patient was admitted to the hospital with atypical HUS (aHUS) based on CD46/MCP (membrane cofactor protein) deficiency/mutation. This case thus represents a rare coincidence of aHUS and EHEC O157:H7 infection. EHEC O157:H7 was isolated from the patient's stool sample using an optimized diagnostic procedure available in the National Reference Laboratory (NRL) for E. coli and Shigella, National Institute of Public Health (NIPH), Prague, while a rectal swab from the patient collected on the same day and analyzed by the routine procedure tested negative for E. coli O157. This finding clearly demonstrates the need to analyze in patients with already developed HUS as much specimen as possible (i.e., stool sample, not rectal swab) and to use selective, sensitive, and specific diagnostic methods. Such an approach increases the probability of EHEC detection in late samples where the detection of the agent is difficult because of its reduced or minimum amount. Since it is crucial from the therapeutic point of view to differentiate D+ HUS from aHUS, we encourage the physicians to refer stool samples from HUS patients to the NRL for E. coli and Shigella, NIPH, Prague where appropriate diagnostic methods are available. This case report illustrates that, although rare, cases of genetically based aHUS co-occurring with EHEC infection can appear and can have a very severe clinical course due to combined endothelial damage.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2019; 28(6): 222–225

Klíčová slova: Enterohemoragické *Escherichia coli* (EHEC), *E. coli* O157:H7, hemolyticko-uremický syndrom (HUS), D+ HUS, atypický HUS, laboratorní diagnostika, epidemiologické šetření

Key words: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), *E. coli* O157:H7, hemolytic uremic syndrome (HUS), D+ HUS, atypical HUS, laboratory diagnosis, epidemiological investigation

ÚVOD

Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) je onemocnění patřící do skupiny trombotických mikroangiopatií [1], které je klinicky charakterizováno triádou hemolytická anémie, trombocytopenie a akutní renální selhání [1, 2]. Nejčastější

formou HUS, vyskytující se především u dětí, je typický nebo diarea-pozitivní HUS (D+ HUS), který se rozvíjí jako komplikace průjmového onemocnění vyvolaného enterohemoragickými *Escherichia coli* (EHEC) [3, 4]. V patogenezi D+ HUS hrají rozhodující roli Shiga toxiny (Stx), hlavní faktory virulence EHEC [5], které jsou produkovány v tlustém střevě, vstřebávají se do krevního oběhu a poškozují endotel kapilár ledvinných glomerulů, střeva a centrálního nervového systému inhibicí proteosyntézy [2–5].

Nejčastějším EHEC sérotypem vyvolávajícím D+ HUS je O157:H7, ale často jsou izolovány též séro skupiny O26, O103, O111 a O145 [6–9] označované spolu s O157 jako „top 5“ EHEC. Rezervoárem EHEC jsou domácí zvířata, především skot, ale i ovce, kozy, prasata, koně a drůbež [10–15]. K přenosu infekce na člověka dochází konzumací kontaminovaných potravin (nejčastěji syrového či

nedostatečně tepelně upraveného masa, špatně omyté zeleniny, nepasterovaného mléka), kontaminované vody nebo přímým kontaktem se zvířaty či s infikovaným člověkem [3, 12-14, 16, 17]. Infekční dávka EHEC je nízká, 10–100 bakterií [17]. Mortalita D+ HUS je 3–5 % a u asi 25 % přeživších se vyskytnou pozdní následky ve formě proteinurie, hypertenze, snížení glomerulární filtrace a chronického selhání ledvin vedoucího až k transplantaci [4, 18, 19].

Mikrobiologická diagnostika infekce EHEC u pacientů s HUS je komplikována skutečností, že množství EHEC ve stolici pacienta po začátku prodromálního průjmu rychle klesá a v době rozvoje HUS, což je asi týden po začátku průjmu [2, 4], už může být velmi malé [20]. Při použití běžných postupů pro mikrobiologické vyšetření stolice (tj. užití rektálního výtěru jako výchozího materiálu, inokulace vzorku na pevné plotny bez předchozího pomnožení v pomnožovacím médiu pro *E. coli*) je proto pravděpodobnost záchytu kmene EHEC, stejně jako detekce genů kódujících Stx, nízká [21]. Pro zvýšení pravděpodobnosti průkazu infekce EHEC u pacientů s HUS zavedla proto Národní referenční laboratoř (NRL) pro *E. coli* a shigely, Státní zdravotní ústav (SZÚ) Praha, optimalizovaný diagnostický postup, který kombinuje zvýšení kvantity výchozího materiálu (tj. vyšetření vzorku stolice, ne rektálního výtěru) s využitím selektivních a citlivých metod ke specifickému průkazu EHEC [9].

Na rozdíl od D+ HUS, další forma HUS označovaná jako atypický HUS (aHUS), tvořící asi 10 % všech případů HUS, není spojená s infekcí EHEC [22]. Je to skupina onemocnění heterogenní etiologie, většinou způsobená dysregulací alternativní cesty aktivace komplementu, často na genetickém podkladě [22]. Nejčastěji jsou mutace v genech pro komplementární faktor H a I a v genech kódujících některé proteiny na povrchu endotelu, jako je membránový proteinový kofaktor (MCP) či trombomodulin [22]. aHUS je velmi závažné onemocnění s vysokým rizikem trvalého poškození ledvin a s vysokou mortalitou [22].

V tomto sdělení referujeme o případě atypického HUS na podkladě deficitu/mutace CD46/MCP komplikovaného infekcí EHEC O157:H7, kdy **optimalizovaný diagnostický postup** umožnil izolovat infekční agens, které nebylo prokázáno běžnými mikrobiologickými postupy.

STRUČNÝ PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

Pacient je 4,5letý chlapec s dlouhodobými obtíživými obtížemi v anamnéze. V listopadu 2018 byl hospitalizován na Klinice dětských infekčních nemocí FN Brno pro opakované zvracení s febriliemi. V prosinci 2018 prodělal bronchitidu a varicelu, v červnu 2019 pátou dětskou nemoc.

22. 6. 2019 se objevují první obtíže současného onemocnění. Chlapec byl malátný, polehával, stěžoval si na bolesti břicha, teplotu neměl, ale bylo mu stále zima.

24. 6. začal zvracet (zvracel celkem 3×), průjem neměl, spíše zácpu.

25. 6. byl ráno pro zhoršení obtíží (opakované zvracení) vyšetřen praktickou lékařkou pro děti a dorost, která mu aplikovala injekci proti zvracení (Degan). Při vyšetření *per rectum* odešla řídká stolice. Byl vyšetřen CRP s negativním

výsledkem. Po příjezdu domů chlapec dále zvracel, měl 4× řídkou stolici, stěžoval si na bolesti břicha i po vyprázdnění. Po celou dobu byl bez teplot.

25. 6. odpoledne byl pro nelepšící se stav hospitalizován na Klinice dětských infekčních nemocí FN Brno. Při příjmu byl subfebrilní až febrilní, v odběrech byly prokázány nízké zánětlivé parametry, lehká elevace kyseliny močové, jinak laboratoř bez hrubých patologií. Během hospitalizace dochází k postupnému rozvoji vodnatého průjmu, někdy s příměsí vláken krve.

26. 6. byl pro intenzivní bolesti břicha proveden ultrazvuk břicha, kde byl zjištěn obraz kolitidy, lem tekutiny parakolicky. Chirurgické konzilium vyloučilo náhlou příhodu břišní.

Podávána symptomatická terapie (dieta, Domperidon, Enticon, Tasectan, Novalgin, infuzní roztoky), ale i přesto stav trvá.

28. 6. byly proto provedeny kontrolní odběry, kde je zřejmá trombocytopenie (trombocyty $49 \times 10^9/l$), anémie (hemoglobin 99 g/l), v krevním nátěru přítomny schistocyty. Dále je patrná elevace D-dimerů, iritace pankreatu, elevace kreatininu (179 $\mu\text{mol/l}$) a urey (13,9 $\mu\text{mol/l}$), přetrvávají nízké zánětlivé parametry. Na ultrazvuku břicha je výrazný nález na kolon, zjištěna tekutina v dutině břišní, zvýšená echogenita obou ledvin. Po konzultaci s chirurgy byl proveden RTG břicha, zjištěna snížená pasáž.

28. 6. byl pacient přeložen pro suspektní HUS na jednotku intenzivní péče Pediatrické kliniky FN Brno. Od přijetí byl ve vážném stavu odpovídajícím progredující trombotické mikroangiopatii postihující kromě ledvin i výrazně slinivku břišní, játra a střevo. Ze začátku hospitalizace byl přechodně podáván bikarbonát sodný pro metabolickou acidózu. Po celou dobu přetrvává oligo/anurie, kličková diuretika (Furosemid 40 mg, i.v.) jsou bez efektu, proto omezen příjem tekutin. Pro krevní tlak v pásmu hypertenze bylo první dva dny hospitalizace podáváno antihypertenzivum ze skupiny blokátorů kalciového kanálu (Cordipin retard 20 mg v dávce 3× denně ¼ tbl.). Ke snížení hladiny kyseliny močové byl jednorázově podán Fasturtec v dávce 3 mg. Před zavedením dialyzačního katetru byla jednorázově podána 1 ampule (250 mg) Dicynone a jeden trombonáplav. Hypokalcémie vedla k podání Ca carbonicum. Pro nárůst sérové amylázy byla vysazena strava a zahájeno podávání semiparenterální výživy (glukóza a aminokyseliny).

Od 30. 6. byla pro trvalou retenci tekutin prováděna hemodialýza 1 denně (2 hod., ultrafiltrace 200 ml/hod., celkem 400 ml). Hladina ADAMTS13 je 58 %, vyloučena trombotická trombocytopenická purpura.

2. 7. byla zahájena biologická léčba anti-C5 protilátkou (eculizumab, Soliris® 600 mg, i.v.) pro podezření na atypický HUS na podkladě zjištění deficitu/mutace CD46/MCP. Současně byla nasazena ATB profylaxe (Ospen 400 000 IU/5 ml, 3× denně, p.o.) a dle doporučení infektologa zahájeno očkování proti meningokokům (Nimenrix 0.5 ml, i.m.). Téměř denně podávány transfuze erymasy pro opakované anemizace v krevním obraze. V kontrolním ultrazvuku je nález pleurálních výpotků, hepatomegalie, ascitu, postižení kolon, ultrazvuk skrota s nálezem prosáknutí měkkých tkání (hydrokély). Hladina

laktátdehydrogenázy postupně narůstá (34,8; 49,1; 59,2; 101,3; 114,8; 121,6 $\mu\text{kat/l}$).

5. 7. dochází k rozvoji tachy/dyspnoe, poslechově chrůpky bilaterálně, po hemodialýze dochází k další progresi. Proto byl pacient přeložen na Kliniku dětské anesteziologie a resuscitace FN Brno, kde je hospitalizován dosud s diagnózou D59.3, v.s. hemolyticko-uremický syndrom primární, na podkladě deficitu/mutace CD46/MCP.

MIKROBIOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA

Stolice pacienta k průkazu EHEC byla odebrána 28. 6. 2019. Dne 11. 7. byl doručen vzorek stolice do NRL pro *E. coli* a shigely, SZÚ Praha. V NRL byla stolice zpracována s užitím optimalizovaného postupu na průkaz EHEC u pacientů s HUS [9]. Stolice byla nejprve pomnožena v Hajna bujónu, a to jednak bez novobiocinu a jednak s novobiocinem (5 hod., při 37 °C, na třepačce). Stolice pomnožená v Hajna bujónu s novobiocinem byla dále, pro dosažení selektivní koncentrace EHEC patřících k „top 5“ séro skupinám, analyzována metodou imunomagnetické separace (IMS) s užitím magnetických částic sensibilizovaných protilátkami proti „top 5“ O antigenům (Dynabeads anti-*E. coli* O26, Dynabeads anti-*E. coli* O103, Dynabeads anti-*E. coli* O111, Dynabeads anti-*E. coli* O145, Dynabeads anti-*E. coli* O157) (Dyna). Alikvoty kultury po pomoci v Hajna bujónu bez a s novobiocinem a každý z 5 typů dynabeads po provedení IMS byly následně vyočkovány na krevní agar a selektivně-diagnostické půdy pro záchyt EHEC jako je sorbitol McConkey agar (SMAC), SMAC s cefiximem a teluritem (CT-SMAC) a enterohemolyzinový agar.

Po inkubaci přes noc byl pozorován masivní nárůst sorbitol-nefermentujících kolonií na SMAC a CT-SMAC a kolonií obklopených úzkou neúplnou hemolýzou (typická pro produkci EHEC hemolyzinu) na enterohemolyzinovém agaru. Pro screening narostlých směsných kultur na přítomnost EHEC byl hustý nárůst z každé čtveřice ploten stažen do 1 ml fyziologického roztoku a následně extrahována DNA, která byla použita jako templát pro PCR na průkaz genů *stx*₁ a *stx*₂ kódujících dva hlavní typy Stx, *eae* kódujícího adhezín intimin, EHEC-*hlyA* kódujícího EHEC hemolyzin, *rfb*_{O157} kódujícího antigen O157 a *wzy*_{O26} kódujícího antigen O26.

Stejnými PCR byly testovány jednotlivé kolonie typické morfologie izolované ze selektivně-diagnostických půd. Ty byly současně potvrzeny jako *E. coli* pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie (Microflex LT, Bruker Daltonics) a sérotypovány sklíčkovou aglutinací (antiséra Denka Seiken). H7 antigen byl potvrzen restriční analýzou *fliC* genu amplifikovaného PCR [9]. Těmito postupy byl ze stolice pacienta izolován kmen *E. coli* O157:H7, který byl pozitivní na *stx*₂ (ale ne *stx*₁), *eae* a EHEC-*hlyA* geny; *stx*₂ gen byl dále subtypován pomocí restriční analýzy a specifické PCR jako *stx*_{2c}. Produkce Stx2c byla potvrzena testem reverzní pasivní aglutinace (VTEC-RPLA, Denka Seiken), kde supernatant kmene reagoval s anti-Stx2 reagens v titru > 1:40.

Výsledek vyšetření shigatoxigenity a nálezu kmene EHEC O157 byl nahlášen zadavateli a Krajské hygienické stanici Jihomoravského kraje se sídlem v Brně dne 12. 7. 2019.

Za důležitou z hlediska diagnostického považujeme skutečnost, že rektální výtěr od tohoto pacienta odebraný ve stejný

den jako stolice vyšetřená v NRL (t.j. 28. 6. 2019) a vyšetřený v jiné laboratoři pomocí běžného postupu pro mikrobiologické vyšetření stolice, byl na *E. coli* O157 negativní.

EPIDEMIOLOGICKÉ ŠETŘENÍ

Epidemiologické šetření na objasnění možného zdroje nákazy a cesty přenosu bylo provedeno pracovníky Krajské hygienické stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně dne 15. 7. 2019, a to s rodiči nemocného a s registrující praktickou lékařkou pro děti a dorost. Šetření ukázalo, že rodina používá pouze vodu z veřejného vodovodu, pití vody z jiného zdroje vylučuje. Chlapec konzumuje pouze pasterizované mléčné výrobky. Čerstvé ovoce a zeleninu chlapec zcela odmítá, konzumuje je jen ve formě pasterizovaných džusů a „kapsiček“ z obchodní sítě. V době před onemocněním nekonzumoval žádné netepelně zpracované masné výrobky, hamburgery, ani grilované maso. Rodina žije v rodinném domku na vesnici, avšak nechovají žádná domácí zvířata a nemají vlastní hospodářství. Kontakt dítěte s domácími zvířaty mimo domov, drůbeží a jinými ptáky rodiče negují, stejně jako návštěvu ZOO, farmy nebo stáji. Dítě se nekoupalo v přírodních zdrojích ani v biotopech. Zajímavé bylo zjištění, že v bezprostřední blízkosti bydliště pacienta se nachází statek, kde jsou chováni koně a k hnojení okolních polí se používá chlévská mrva. Ačkoliv koně z dotčeného statku na *E. coli* O157 zatím vyšetření nebyli, v literatuře byli koně popsáni jako rezervoár *E. coli* O157, a tedy možný zdroj infekce pro člověka [13, 14]. Významná je také informace o přítomnosti velkého množství much v domácnosti pacienta a skutečnost, že dítě si hrálo s plácačkou na mouchy. Zde se nabízí možná cesta přenosu, protože v zahraniční literatuře byly mouchy domácí popsány jako přenašeči *E. coli* O157 v prostředí farem a nepřímo z dobytka na potraviny [23, 24].

ZÁVĚR

EHEC O157:H7 patří k nejčastějším původcům D+ HUS u dětí [3, 4, 6]. V České republice je druhým nejčastějším sérotypem izolovaným od pacientů s D+ HUS, za EHEC O26:H11 [9]. Případ HUS spojeného s infekcí EHEC O157:H7 popisovaný v tomto sdělení je zajímavý z několika důvodů:

- 1) Pacient, od kterého byl kmen izolován, měl diagnózu atypický HUS, a to na podkladě deficitu/mutace CD46/MCP. Jedná se tedy o případ koincidence aHUS primárně způsobeného MCP mutací a infekce EHEC O157:H7. I když případ infekce EHEC O157:H7 u pacienta s aHUS v literatuře dosud popsán nebyl, Fang a spol. [25] referují o případu fatálního HUS s multiorgánovým selháním u pacienta s kombinací MCP mutace a infekce EHEC O26:H11. Podle autorů Stx produkovaný kmenem EHEC O26 zhoršil poškození endotelu spuštěné MCP mutací, což mělo za následek velmi těžký, fatální průběh HUS, který pro tento typ mutace není typický [22]. Tato hypotéza vysvětluje i těžký průběh HUS u našeho pacienta. Klinici i mikrobiologové by si tedy měli být vědomi toho, že ačkoliv velmi vzácně, případy HUS s koincencí genetického podkladu aHUS a současné infekce EHEC se mohou vyskytnout a v důsledku kombinovaného poškození endotelu mohou mít velmi závažný průběh.
- 2) Z hlediska mikrobiologického je důležité zjištění, že zatímco kmen EHEC O157:H7 byl izolován ze vzorku stolice pomocí optimalizovaného diagnostického postupu pro průkaz

EHEC u pacientů s HUS zavedeného v NRL pro *E. coli* a shigely, SZÚ Praha, rektální výtěr od pacienta odebraný ve stejný den a vyšetřený pomocí běžného postupu byl na *E. coli* O157 negativní. Tato skutečnost jasně **zdůrazňuje nutnost vyšetřovat u pacientů s již rozvinutým HUS co největší množství materiálu** (tj. vzorek stolice, ne rektální výtěr) **a použít selektivní, citlivé a specifické diagnostické metody**, což v kombinaci zvyšuje pravděpodobnost záchytu v pozdním odběru (cca týden po začátku prodromálního průjmu), kdy lze očekávat značně snížené množství agens na hranici prokazatelnosti. Protože odlišení D+ HUS od aHUS je rozhodující pro volbu správné terapie, je třeba, aby stolice od pacientů s HUS na průkaz EHEC byly zaslány do NRL pro *E. coli* a shigely, SZÚ Praha, kde jsou vhodné diagnostické postupy k dispozici.

3) Možnost koní jako potenciálního zdroje infekce a much jako vektorů přenosu, kterou naznačilo epidemiologické šetření, by bylo vhodné ověřit mikrobiologickým vyšetřením.

Poděkování

Autoři děkují Jůli Kseničové z NRL pro *E. coli* a shigely za technickou spolupráci.

LITERATURA

- Bláhová K, Malina M, Šuláková T. Trombotické mikroangiopatie – hemolyticko-uremický syndrom a trombotická trombocytopenická purpura. In: Seeman T, Janda J. *Dětská nefrologie*. Praha: Mladá fronta 2015; 311-317.
- Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uremic syndrome. *Lancet* 2005; 365(9464): 1073-1086.
- Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *International Journal of Medical Microbiology* 2005; 295(6-7): 405-418.
- Karnišová L, Fencel F, Marejková M, Malina M, et al. Infekce způsobené Shiga toxin-produkujícími *Escherichia coli* u dětí. *Česko-Slovenská Pediatrie* 2016;71(2): 98-103.
- Melton-Celsa AR. Shiga toxin (Stx) classification, structure, and function. *Microbiology Spectrum* 2014; 2(4): EHEC-0024-2013.
- Gerber A, Karch H, Allerberger F, Verweyen HM, et al. Clinical course and the role of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997–2000, in Germany and Austria: a prospective study. *Journal of Infectious Diseases* 2002; 186(4): 493-500.
- Mellmann A, Bielaszewska M, Koeck R, Friedrich AW, et al. Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Emerging Infectious Diseases* 2008; 14(8): 1287-1290.
- Marejková M, Zieg J, Dušek J, Bláhová K, et al. Smrtelný případ diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolaného enterohemoragickým *Escherichia coli* O26. *Zprávy CEM (SZÚ Praha)* 2009;18(6): 212-214.
- Marejková M, Bláhová K, Janda J, Fruth A, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* as causes of hemolytic uremic syndrome in the Czech Republic. *PLoS One* 2013; 8(9): e73927.
- Čížek A, Alexa P, Literák I, Hamřík J, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle and Norwegian rats from a large-scale farm. *Letters in Applied Microbiology* 1999; 28(6): 435-439.
- Alexa P, Konstantinová L, Zajacová-Šrámková Z. Faecal shedding of verotoxigenic *Escherichia coli* in cattle in the Czech Republic. *Veterinární Medicina* 2011; 56(4): 149-155.
- Bielaszewska M, Janda J, Bláhová K, Minaříková H, et al. Human *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with the consumption of unpasteurized goat's milk. *Epidemiology and Infection* 1997; 119(3): 299-305.
- Trevena WB, Hooper RS, Wray C, Willshaw GA, et al. Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 associated with companion animals. *Veterinary Record* 1996; 138(16): 400.
- Chalmers RM, Salmon RL, Willshaw GA, Cheasty T, et al. Vero-cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in a farmer handling horses. *Lancet* 1997; 349(9068): 1816.
- Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JT, van den Biggelaar FL, van Leeuwen WJ, et al. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *International Journal of Food Microbiology* 1999; 52: 67-75.
- Holme R. Drinking water contamination in Walkerton, Ontario: positive resolutions from a tragic event. *Water Science & Technology* 2003; 47(3): 1-6.
- Tilden JJ, Young W, McNamara AM, Custer C, et al. A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *American Journal of Public Health* 1996; 86(8): 1142-1145.
- Bláhová K, Janda J, Kreisinger J, Matějková E, et al. Long-term follow-up of Czech children with D+ hemolytic-uremic syndrome. *Pediatric Nephrology* 2002; 17: 400-403.
- Rosales A, Hofer J, Zimmerhackl LB, Jungtraithmayr TC, et al. Need for long-term follow-up in enterohemorrhagic *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome due to late-emerging sequelae. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 54(10): 1413-1421.
- Tarr PI, Neill MA, Clausen CR, Watkins SL, et al. *Escherichia coli* O157:H7 and the hemolytic uremic syndrome: importance of early cultures in establishing the etiology. *Journal of Infectious Diseases* 1990; 162(2): 553-556.
- Karch H, Janetzki-Mittmann C, Aleksic S, Datz M. Isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains from patients with hemolytic-uremic syndrome by using immunomagnetic separation, DNA-based methods, and direct culture. *Journal of Clinical Microbiology* 1996; 34(3): 516-519.
- Ryšavá R. Atypický hemolyticko-uremický syndrom a nové možnosti léčby. *Interní Medicina* 2014; 16(1): 22-25.
- Wasala L, Talley JL, Desilva U, Fletcher J, et al. Transfer of *Escherichia coli* O157:H7 to spinach by house flies, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Phytopathology* 2013; 103(4): 373-380.
- Iwasa M, Makino S, Asakura H, Kobori H, et al. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) at a cattle farm in Japan. *Journal of Medical Entomology* 1999; 36(1): 108-112.
- Fang CJ, Fremeaux-Bacchi V, Liszewski MK, Pianetti G, et al. Membrane cofactor protein mutations in atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS), fatal Stx-HUS, C3 glomerulonephritis, and the HELLP syndrome. *Blood* 2008; 111(2): 624-632.

Ing. Monika Marejková, Ph.D.

Mgr. Petra Klimešová

Mgr. Eva Tomčová

doc. MUDr. Martina Bielaszewska, CSc.

Národní referenční laboratoř pro *E. coli* a shigely,

CEM – SZÚ, Praha

MUDr. Jan Papež

Pediatrická klinika,

Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Renata Ciupek

MUDr. Ivana Šafránková

Jana Kostková

Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje

se sídlem v Brně