

E. coli producteurs de shigatoxines (STEC) : définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC)

Hubert Brugère (1,2) (h.brugere@envt.fr), Frédéric Auvray (3), Patricia Mariani-Kurkdjian (4), Lisa A. King (5), Estelle Loukiadis (6)

(1) Inserm, UMR1043, Toulouse, France

(2) Université de Toulouse, INP-École nationale vétérinaire de Toulouse, France

(3) Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, France

(4) Laboratoire associé au Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella*, Paris, France

(5) Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

(6) Université de Lyon, VetAgro Sup, Laboratoire national de référence pour les STEC, Marcy-l'Étoile, France

Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des agents pathogènes responsables d'infections humaines aux manifestations cliniques variées. Celles-ci vont de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique et au syndrome hémolytique et urémique (SHU). Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez les jeunes enfants. Les principaux modes de transmission des STEC à l'Homme sont la consommation d'aliments et d'eaux contaminés, la transmission interhumaine et le contact avec des animaux porteurs (bovins en particulier). Si tous les STEC ne sont pas pathogènes pour l'Homme, certaines souches dénommées *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables d'infections humaines graves. Cinq sérotypes dominants d'EHEC ont été recensés jusqu'à présent en Europe (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 et O145:H28), mais il existe un grand nombre d'autres sérotypes de STEC plus rarement impliqués dans des cas humains ou des épidémies. Ce fut le cas très récemment du sérotype O104:H4, responsable de deux épidémies en Allemagne et en France.

Cet article a pour objet de définir les propriétés des souches EHEC, avec une attention particulière aux principaux sérotypes responsables d'infections humaines. Cet article résumera l'état actuel des connaissances sur les divers éléments pouvant concourir à la virulence des STEC et à leur dangerosité pour l'Homme.

Mots clés

STEC, EHEC, SHU, facteurs de virulence, shigatoxines, *stx*, *eae*

Abstract

Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC): definitions, virulence and properties of enterohaemorrhagic (EHEC) strains
Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) are enteropathogens causing human infections with a broad spectrum of clinical outcomes. These range from watery diarrhoea to haemorrhagic colitis and the haemolytic uraemic syndrome (HUS). HUS is the leading cause of acute renal failure in young children. Transmission of STEC to humans occurs through consumption of contaminated food or water and through direct contact from person to person or from infected animals (cattle in particular). Although not all STEC are pathogenic for humans, some strains named enterohaemorrhagic E. coli (EHEC) however are responsible for severe illnesses. Five major EHEC serotypes have been identified until now in Europe (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 and O145:H28), but a large number of other STEC serotypes that are less frequently involved in human cases or outbreaks are also known. This was the case recently of serotype O104:H4 that caused two HUS outbreaks in Germany and France.

The aim of this article was to define the properties of EHEC strains, with a particular focus on the major serotypes causing human diseases. This paper will summarize the current state of knowledge about the diverse STEC attributes that may contribute to their virulence and pathogenic potential for humans.

Keywords

STEC, EHEC, HUS, virulence factors, *Shiga toxins*, *stx*, *eae*

Depuis leur première identification en 1982 [1], les épidémies et les cas sporadiques de colite hémorragique, de syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant ou de micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte, provoqués par les *Escherichia coli* (*E. coli*) entérohémorragiques ou EHEC (*Enterohaemorrhagic E. coli*), sont devenus une préoccupation de santé publique importante dans plusieurs régions du monde. Les infections causées par les EHEC constituent un problème majeur en raison de l'extrême sévérité des manifestations cliniques qu'elles peuvent générer. Le SHU est en effet la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant de moins de 3 ans. La létalité varie de 3 à 5 % et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme [2,3].

Un cas isolé (ou sporadique) de SHU ou d'infection à EHEC est défini comme un cas sans lien épidémiologique (regroupement dans le temps, dans l'espace, par activité ou exposition à risque commune) avec d'autres cas de SHU ou d'infection à EHEC.

Un épisode de cas groupés de SHU ou d'infections à EHEC liés à une source de contamination commune est suspecté devant :

- au moins deux cas de SHU dans un délai d'un mois dans une même famille, une même collectivité (crèche, école, maison de santé)

ou toute autre situation commune aux patients (par exemple, participation à un même événement) ;

- un cas de SHU associé à des cas de diarrhée dans son entourage dans les 15 jours précédant le début du SHU ;
- un nombre de cas de SHU ou d'infections à EHEC anormalement élevé regroupés dans le temps et sur une zone géographique donnée.

On parle d'épidémie quand un épisode de cas groupés touche plusieurs foyers familiaux ou des collectivités (dans lesquels il peut n'y avoir qu'un seul cas) à une échelle géographique plus large. Leur étude montre que seuls certains sérotypes d'EHEC semblent plus souvent associés aux épidémies de SHU et d'infections à EHEC, on parle alors de souches EHEC « majeures ».

La compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC est indispensable à l'évaluation du risque pour la santé publique lié à la présence de ces bactéries pathogènes, en particulier dans les denrées alimentaires. Les différents facteurs de virulence connus à ce jour ont été décrits dans l'avis Afssa du 27 mai 2010 et il convient de souligner que leur support génétique joue un rôle majeur dans l'évolution des EHEC et l'émergence de nouveaux clones pathogènes pour l'Homme [4].

Dans cet article, nous nous attacherons à mieux définir différents termes utilisés pour identifier les *E. coli* entérohémorragiques tout en précisant l'état des connaissances sur les divers éléments pouvant concourir à leur virulence et leur dangerosité pour l'Homme.

Pathogénie des EHEC

Les EHEC, un des pathovars intestinaux de l'espèce *E. coli*

Bacille à coloration de Gram négative, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, mesurant de 2 à 4 µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 µm, *E. coli* est une bactérie normalement présente parmi la microflore digestive de l'Homme et des animaux à sang chaud. Mais certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes car elles ont acquis des facteurs de virulence. Sur la base des signes cliniques observés chez les malades, les souches d'*E. coli* pathogènes sont regroupées en pathovars (ou pathotypes) parmi lesquels les EHEC.

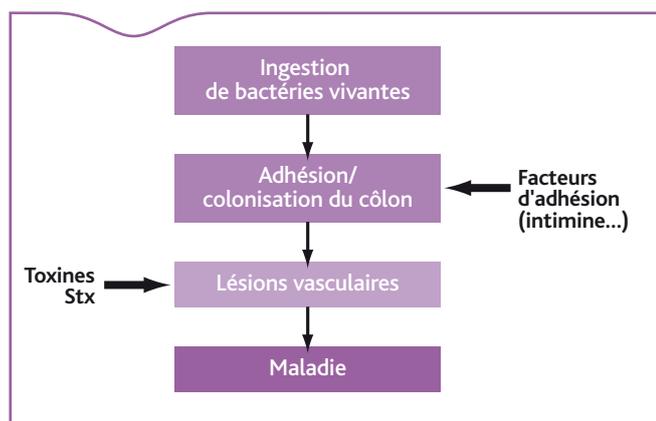


Figure 1. Étapes de l'infection par les EHEC chez l'Homme
Figure 1. Stages of EHEC infection in humans

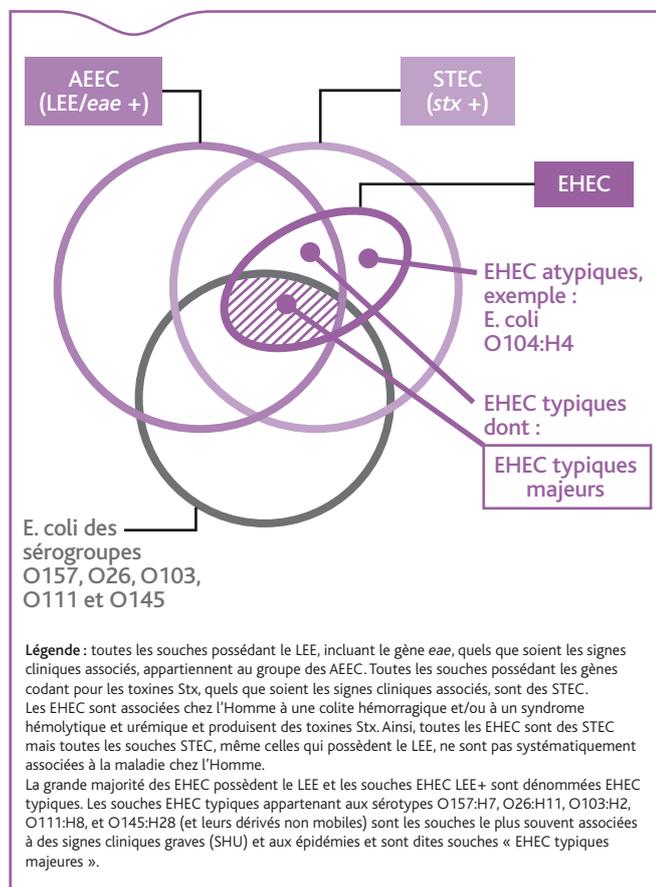


Figure 2. AEEC, STEC et EHEC (d'après [4])
Figure 2. AEEC, STEC and EHEC (based on [4])

Les souches d'*E. coli* pathogènes intestinaux sont capables de se multiplier, de persister dans le tractus digestif en contournant les défenses immunitaires de l'hôte, et d'induire des dommages cellulaires. Ces souches ont développé différents modes d'interaction avec leur hôte se traduisant par des signes cliniques variés, pouvant être accompagnés de complications extra-digestives.

Le pathovar EHEC est responsable de troubles variés allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un SHU chez l'enfant ou une MAT chez l'adulte. Il est distinct du pathovar EPEC (pour *Enteropathogenic E. coli*) qui est responsable de diarrhée sévère, principalement chez les enfants de moins de 12 mois dans les pays en voie de développement [5,6].

Les EHEC produisent des shigatoxines

Les EHEC se caractérisent par la production et la libération de toxines, les shigatoxines (encore appelées vérotoxines). Chez le malade, ces toxines traversent l'épithélium intestinal avant de rejoindre la circulation sanguine et atteindre des récepteurs spécifiques, les récepteurs glycolipidiques Gb3 (globotriosyl céramide 3) qui se trouvent à la surface des cellules endothéliales. Elles entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques et induisent des lésions de l'endothélium vasculaire (Figure 1), principalement intestinal, rénal et cérébral, ce qui explique les manifestations cliniques avec complications rénales ou neurologiques [7].

Deux classes de shigatoxines, Stx1 et/ou Stx2, peuvent être produites, elles sont codées par les gènes *stx1* et *stx2*.

Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* est appelée *E. coli* producteur de shigatoxine ou STEC (pour Shiga toxin-producing *E. coli*) ou encore VTEC (pour Verotoxin-producing *E. coli*). Les EHEC constituent un sous-groupe des STEC, ce sont les souches de STEC pathogènes pour l'Homme [8].

Les EHEC colonisent le tube digestif du malade

EHEC « typiques »

La plupart des souches EHEC ont la possibilité de provoquer des lésions dites « d'attachement et d'effacement » (A/E) des cellules de la muqueuse de l'iléon distal et du côlon, notamment par l'intermédiaire d'une protéine de membrane, l'intimine. Ces souches sont appelées EHEC « typiques ».

Les lésions A/E sont caractérisées par une adhésion intime des bactéries aux entérocytes [9]. Elles résultent de l'action combinée de protéines codées par un ensemble de gènes, dont le gène *eae* codant pour l'intimine, regroupés dans un îlot de pathogénicité, le LEE (pour *Locus of enterocyte effacement*) [10].

L'ensemble des souches d'*E. coli* possédant le LEE peuvent être regroupées sous le terme d'AEEC (pour *Attaching and effacing E. coli*, voir Figure 2). Les EHEC typiques font partie des AEEC et les EPEC constituent un autre sous-groupe des AEEC, responsables de diarrhée sévère chez l'Homme, comme décrit ci-dessus.

EHEC « atypiques »

Le terme d'EHEC « atypiques » est utilisé pour désigner des souches EHEC qui ne possèdent pas le gène *eae* et ne produisent donc pas de lésion d'attachement et d'effacement (Figure 2). La colonisation du tube digestif étant une étape majeure de la physiopathologie des EHEC, les souches atypiques possèdent donc d'autres mécanismes d'adhésion à la muqueuse colique. De nombreuses adhésines potentielles ont été décrites (cf. infra) mais leur implication véritable dans la pathogénie de ces souches reste néanmoins à préciser.

Les EHEC sont transmises par voie orale

Les principaux modes de transmission des infections à EHEC à l'Homme sont la consommation d'aliments contaminés, la transmission de personne à personne, l'ingestion d'eau contaminée et le contact avec des animaux porteurs et excréteurs de ces bactéries (notamment les bovins) [2,8].

Les ruminants domestiques, et plus particulièrement les bovins, sont les principaux réservoirs de STEC dans leur tube digestif. Ce sont des porteurs sains, ils participent à la contamination de l'environnement par les bactéries présentes dans leurs fèces. Dans une moindre mesure, d'autres animaux d'élevage ou des animaux sauvages, dont certains gibiers, peuvent également être porteurs sains de STEC. Les études réalisées chez les bovins montrent qu'en fonction des élevages, de 20 à 80 % des animaux peuvent être porteurs de STEC (recherche des gènes *stx* dans les matières fécales), mais le sérotype majeur *E. coli* O157:H7 n'est isolé que chez peu d'animaux (0 à 3 %) [1,11].

La persistance de souches de STEC dans les cheptels est due au portage digestif par les animaux et à la contamination par contact d'animal à animal, mais aussi à la contamination des sols (prairies, champs) et des eaux superficielles à partir des déjections animales ou d'engrais de ferme contaminés (fumiers, lisiers) épandus pour fertiliser les terres agricoles (Figure 3). Les aliments (herbe, fourrages) et l'eau d'abreuvement des animaux peuvent ainsi être contaminés. Les STEC peuvent survivre pendant plusieurs semaines dans l'environnement de la ferme (tels que les sédiments d'abreuvoir, les fèces ou le fumier sur le sol).

Différents végétaux consommés par l'Homme peuvent être contaminés par des STEC, soit par les fumures obtenues à partir d'animaux contaminés, soit quand de l'eau contaminée est utilisée pour l'irrigation.

Du fait des possibilités de leur transmission, directe ou indirecte, des réservoirs animaux à l'Homme, ces bactéries doivent être considérées comme des agents zoonotiques. La transmission directe est possible par contact avec des animaux porteurs et excréteurs ou avec leurs déjections, mais aussi de personne à personne (transmission interhumaine féco-orale). La principale voie de transmission est indirecte par consommation d'aliments d'origine animale ou végétale et d'eau de boisson contaminés par un environnement souillé, le plus souvent par les matières fécales d'animaux infectés, mais il ne faut pas écarter le risque associé aux eaux usées issues des activités humaines quand ces dernières ne sont pas ou sont insuffisamment épurées avant leur rejet dans l'environnement. Aux États-Unis, les études épidémiologiques montrent que la consommation d'aliments contaminés, la transmission de personne à personne, l'ingestion d'eau contaminée et le contact avec les animaux (notamment les bovins) représentent respectivement 66 %, 20 %, 12 % et 2 % des modes de contamination ayant pu être identifiés [12].

Les EHEC « majeurs » sont les plus fréquemment impliqués dans les cas humains

L'analyse des données épidémiologiques mondiales montre qu'un nombre important de sérotypes d'EHEC (plus de 200) est associé à

l'apparition de symptômes cliniques sévères chez l'Homme, comme la colite hémorragique ou le SHU. Cependant, en complément du sérotype O157:H7 qui est le plus fréquemment retrouvé (64 % des cas de SHU en Europe entre 2002 et 2006), seul un nombre restreint de sérotypes a été régulièrement associé à des épidémies (Tableau 1).

Karmali et coll. ont classé les sérotypes de STEC dans cinq sérotypotypes (de A à E; Tableau 2) en fonction (i) de l'incidence relative des sérotypes dans les infections humaines, (ii) de leur fréquence d'implication dans des épidémies, et (iii) de leur association ou non avec des symptômes cliniques sévères [13].

Parmi les EHEC typiques, les souches les plus fréquemment impliquées aujourd'hui dans les épidémies ont été définies par l'Anses comme souches « EHEC typiques majeures » [4]. Elles appartiennent aux cinq sérotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7 et leurs dérivés non mobiles. Par ailleurs, elles appartiennent aux sérotypotypes A et B définis par Karmali.

Parmi les EHEC « atypiques » il faut citer les cas d'infections à EHEC dues à des souches du sérotype O91 ou encore O104, dont la souche O104:H4 responsable de deux épidémies en Allemagne et en France en 2011 et dont l'étude épidémiologique a montré qu'elles étaient associées à la consommation, après leur germination, de graines de fenugrec contaminées (Tableau 1) [14,15].

Avancée des connaissances relatives à la caractérisation de la virulence des EHEC

La liste des facteurs de virulence et des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC n'est pas encore complètement connue. En effet, bien que la production de toxine Stx et la colonisation de la muqueuse colique soient nécessaires, elles ne sont pas suffisantes pour induire la maladie chez l'Homme. De nombreux autres facteurs de virulence potentiels ont été décrits. La ou les combinaisons des facteurs de virulence impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC restent encore à déterminer, et l'un des défis majeurs des études de caractérisation moléculaire des souches isolées, notamment dans les aliments, reste la distinction des souches STEC non pathogènes pour l'Homme des véritables souches EHEC.

Les shigatoxines (Stx)

Les shigatoxines sont les principaux facteurs de virulence des EHEC. La famille des Stx regroupe l'ensemble des toxines présentant une structure similaire (hexapeptides de type A1B5) et une activité biologique proche. Sur la base de leur différence de toxicité *in vitro* et *in vivo*, de séquence en acides aminés ou de séquence nucléotidique des gènes *stx*, deux

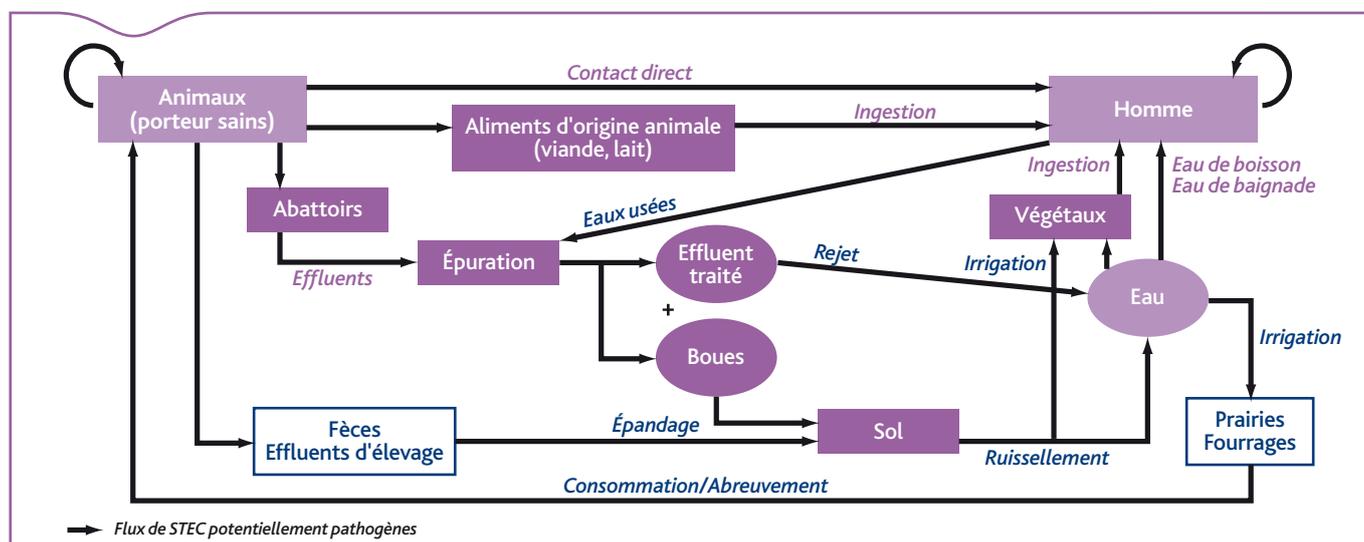


Figure 3. Flux de STEC et voies de contamination de l'Homme par des EHEC (d'après [2])

Figure 3. STEC dissemination and contamination pathways to humans by EHEC (based on [2])

grands types de shigatoxines, Stx1 et Stx2, et de nombreux variants (Stx1a à Stx1c, et Stx2a à Stx2g) ont été identifiés [21].

Le type de variant refléterait à la fois l'origine des souches (moutons, porcs), leur phylogénie, mais aussi leur pouvoir pathogène. Les études épidémiologiques ont montré que Stx2 est plus souvent associée à une maladie grave chez l'Homme que Stx1 [22]. D'autre part, parmi les variants de Stx2, Stx2a et Stx2c semblent plus souvent être produits par des souches EHEC associées à des cas d'infection sévère chez l'Homme (colite hémorragique, SHU) [23].

Les gènes *stx* sont portés par des prophages c'est-à-dire par des génomes de phages intégrés dans le chromosome des souches EHEC [24]. Des prophages codant pour les toxines Stx ont été identifiés chez *E. coli* mais aussi chez *S. dysenteriae* type 1, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* ou *S. flexneri*. Plusieurs études ont montré que les gènes *stx* pouvaient être transmis au sein de la population d'*E. coli* [24; 25]. Ces transferts horizontaux seraient ainsi à l'origine du très grand nombre observé de sérotypes de STEC (plus de 400 répertoriés).

Certains facteurs exogènes, tels que les rayons UV ou des antibiotiques comme la mitomycine C, peuvent déclencher un cycle lytique chez une bactérie lysogène, se traduisant par l'excision de l'ADN du phage hors du chromosome bactérien et par la production de particules phagiques pouvant alors infecter d'autres souches bactériennes. Le

cycle lytique conduit ainsi, d'une part, à la perte du phage et donc du gène *stx* par la bactérie porteuse et, d'autre part, au transfert (ou « transduction ») de ce dernier vers d'autres bactéries, appelé « conversion lysogénique » [26]. La conversion de souches d'*E. coli* a été démontrée *in vitro* mais aussi *in vivo*, dans le tractus gastro-intestinal de souris, de ruminants ou d'humains [27]. Les bactériophages joueraient donc un rôle dans le pouvoir pathogène des souches EHEC mais aussi dans la dissémination de facteurs de virulence au sein de la population d'*E. coli*. Ainsi, le transfert des gènes *stx* au sein de la population d'*E. coli* pourrait être un phénomène fréquent et favoriser l'émergence de nouvelles souches EHEC pathogènes pour l'Homme. Chez l'Homme, des données cliniques obtenues à partir de patients atteints de SHU suggèrent que des souches EHEC sont susceptibles de perdre leur phage *stx* au cours de l'infection. Un nombre non négligeable (23 %) de souches d'*E. coli* O157:H7 issues de multiples sources (bovine, aviaire et environnementale) s'est avéré également ne pas posséder de gènes *stx*.

D'autre part, bien que non formellement démontrée à l'heure actuelle, l'acquisition de phage *stx* par des souches commensales de la flore intestinale de l'Homme (voire par des souches possédant déjà certains facteurs de virulence) suite à l'ingestion d'une souche STEC, paraît probable.

Tableau 1. Épidémies à EHEC survenues depuis 2006 et publiées dans la littérature internationale (d'après [4])

Table 1. EHEC outbreaks occurred since 2006 and published in the international literature (based on [4])

Sérogroupe/sérotipe	Pays (année)	Mode de transmission*	Nombre de cas	Référence
O104:H4 stx2	France (2011)	Alimentaire (graines germées de fenugrec)	15	[14]
O104:H4 stx2	Allemagne (2011)	Alimentaire (graines germées de fenugrec)	3 816	[15]
O145:H28 stx1 eae	Norvège (2009)	Personne à personne (crèche)	16	[16]
O157	Angleterre (2009)	Contact avec des animaux de ferme (ferme pédagogique)	36	Cité dans [4]
O157: H- stx1 stx2 eae	Pays-Bas (2008-2009)	Alimentaire (viande de bœuf crue)	20	Cité dans [4]
O157	États-Unis (2008)	Alimentaire (viande de bœuf)	99	[17]
O111	États-Unis (2008)	Alimentaire (aliment non précisé)	341	[18]
O157:H-	États-Unis (2008)	Alimentaire (lait cru)	14	[19]
O157:H-	États-Unis (2007)	Contact avec des animaux de ferme (ferme pédagogique)	7	Cité dans [4]
O157:H- stx1 stx2 eae	Pays-Bas ; Islande (2007)	Alimentaire (salade verte)	50	Cité dans [4]
O26:H11 stx1 stx2 eae	Danemark (2007)	Alimentaire (saucisse de viande bovine biologique)	20	Cité dans [4]
O26 stx2 eae / O145 stx1 eae	Belgique (2007)	Alimentaire (glace au lait pasteurisé)	12	Cité dans [4]
O157 stx1 stx2	Angleterre (2007)	Alimentaire (sandwich au poulet et herbes)	12	Cité dans [4]
O157:H7 stx2	États-Unis (2006)	Alimentaire (salade verte)	77	[20]
O157:H7 stx1 stx2	Japon (2006)	Contact avec des animaux de ferme (ferme laitière)	4	Cité dans [4]
O157:H7 stx2	États-Unis (2006)	Alimentaire (épinards)	205	Cité dans [4]
O103 stx1	Japon (2006)	Personne à personne (crèche)	8	Cité dans [4]
O103:H25 stx2	Norvège (2006)	Alimentaire (saucisse de viande ovine)	17	Cité dans [4]
O26:H11 stx1	Japon (2006)	Personne à personne (crèche)	6	Cité dans [4]

* Mode de transmission déterminé selon des preuves microbiologiques et épidémiologiques ou uniquement épidémiologiques.

Tableau 2. Classification des sérotypes de STEC en sérotypotypes (d'après [13])

Table 2. Classification of STEC serotypes in seropathotypes [based on [13]]

Sérotypotype	Incidence relative	Implication dans des épidémies	Association avec les SHU ou les colites hémorragiques	Sérotypes
A	Élevée	Fréquente	Oui	O157:H7, O157:NM*
B	Modérée	Non fréquente	Oui	O26:H11, O103:H2, O111:H8/NM, O121:H19, O145:NM
C	Faible	Rare	Oui	O91:H21, O104:H21, O113:H21, et autres sérotypes
D	Faible	Rare	Non	Multiples sérotypes
E	Non humain**	n.a.	n.a.	Multiples sérotypes

* NM : non mobile. ** Sérotypes de STEC isolés chez les animaux mais jamais associés à des infections humaines.

n.a.: non applicable.

Cas d'une souche AEEC (*stx-eae+*) appartenant à l'un des cinq sérotypes d'EHEC majeurs et isolée d'un bouillon de culture positif pour la recherche des gènes *stx*

Au laboratoire, au cours de la recherche de souches STEC potentiellement hautement pathogènes dans les aliments, des bouillons d'enrichissement peuvent donner une réponse positive pour la recherche des gènes *stx* par une technique moléculaire, et ne permettre d'isoler que des souches AEEC *stx-* ayant toutes les caractéristiques génétiques des souches EHEC typiques majeures recherchées hormis le gène *stx*.

À l'heure actuelle, les données disponibles sont encore insuffisantes pour établir un véritable profil de risque microbiologique associé à la présence de ces AEEC particuliers dans les aliments. Il n'est pas possible de déterminer si une souche d'AEEC isolée d'un aliment testé *stx*-positif par PCR correspond à un *E. coli* n'ayant jamais acquis de phage *stx* ou bien à une souche STEC ayant perdu un phage *stx* au cours de l'étape d'isolement. Il n'est pas non plus possible d'identifier, parmi les souches d'AEEC, celles qui seraient susceptibles d'acquérir un phage *stx* et de se convertir en STEC. Il est donc nécessaire d'initier des travaux pour étudier ces phénomènes.

Les facteurs d'adhésion

L'intimine

La colonisation du tube digestif est une étape majeure de la physiopathologie des EHEC. Chez les EHEC typiques, elle est caractérisée par le développement de lésions d'attachement-effacement (A/E) des entérocytes, résultant de l'action combinée de protéines codées par des gènes regroupés dans le LEE. Le gène *eae* est un des principaux gènes conservés au sein du LEE et code pour l'intimine, une protéine de la membrane externe bactérienne impliquée dans l'adhésion étroite de la bactérie à l'entérocyte. Plusieurs variants d'intimine ont été identifiés. Ces différents variants seraient impliqués dans le tropisme cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène des EHEC.

Ainsi, certains variants (intimines *gamma* et *epsilon*) semblent être plus spécifiquement exprimés par des souches EHEC. Cette association n'est pas stricte puisque ces variants, comme la plupart des autres variants, sont également retrouvés chez des souches EPEC ou des souches non pathogènes (souches d'origine animale non associées à la maladie chez l'Homme ou souches d'autres espèces bactériennes) [28]. Cependant, certains variants semblent associés à certains sérotypes d'EHEC: *eae-gamma* avec O157:H7 et O145:H28, *eae-bêta* avec O26:H11, *eae-epsilon* avec O103:H2 et *eae-thêta* avec O111:H8.

Autres facteurs d'adhésion

Les souches LEE-négatives sont en général non pathogènes, mais certaines d'entre elles ont cependant été associées à des SHU (EHEC atypiques). Ces souches atypiques possèdent donc d'autres facteurs d'adhésion permettant une colonisation de la muqueuse colique aussi efficace que l'A/E.

Cas de la souche *E. coli* O104:H4 associée à deux épidémies en Allemagne et en France en 2011

La souche *E. coli* O104:H4 associée à ces épidémies présente une association peu commune de caractéristiques propres d'une part aux souches de STEC/EHEC et d'autre part aux souches d'*E. coli* entéroagrégatives (EAEC ou EAggEC pour *Enteroggregative E. coli*) [29]. En effet, elles possèdent la capacité de produire la toxine Stx2a, et la capacité à adhérer à la muqueuse intestinale avec un profil d'adhésion agrégative [14,5]. L'adhésion agrégative des EAEC décrite sur des cellules HEp-2 en culture et sur les cellules épithéliales de l'iléon terminal et du côlon chez l'Homme est due à des fimbriae AAF (pour *Aggregative adherence fimbriae*) dont l'expression est régulée par le gène *aggR* présent sur le plasmide de virulence pAA des EAEC [6]. L'infection par une souche EAEC est en général associée à une diarrhée aqueuse souvent persistante, le plus souvent chez les enfants dans les pays en voie de développement ou chez des malades atteints du sida.

L'association de facteurs de virulence des EAEC et des STEC a rarement été décrite pour des souches d'*E. coli* isolées chez l'Homme. Cependant, les facteurs d'adhésion plasmidiques des EAEC ont été auparavant mis en évidence chez des souches EHEC LEE-négatives O111:H2 lors d'une épidémie de SHU survenue en France en 1995 [30].

Cette association non habituelle de facteurs de virulence appartenant à différents pathotypes d'*E. coli* semble conférer aux souches un très haut potentiel de virulence.

Autres exemples

Plusieurs adhésines potentielles ont été décrites chez des souches EHEC atypiques comme par exemple l'adhésine Saa (*STEC autoagglutinating adhesin*).

De nombreuses protéines susceptibles de jouer un rôle dans la colonisation du tube digestif par les EHEC ont été décrites, aussi bien chez des souches EHEC atypiques que typiques. Cependant leur implication dans la pathogénie des souches reste encore à démontrer.

Autres facteurs de virulence potentiels

D'autres facteurs de virulence potentiels, codés par des gènes présents sur le chromosome et/ou sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages ou îlots de pathogénicité), ont été décrits chez les souches EHEC.

Ils regroupent:

- des toxines, telles que l'entérohémolysine (Ehx), l'entérohémolysine thermostable EAST1, la cytotoxine subtilase (SubAB), les cyclomodulines CDT (pour *Cytolethal Distending Factor*) et Cif (pour *Cycle inhibiting factor*);
- des protéases, telles que la sérine protéase EspP, la catalase peroxydase KatP, la métalloprotéase StcE;
- des systèmes de captation du fer, notamment le sidérophore codé par l'îlot de pathogénicité HPI (pour *High Pathogenicity Island*);
- des systèmes de résistance à l'acidité gastrique;
- des uréases;
- des protéines de fonction inconnue telles que les effecteurs Nle (pour « No,5n LEE-encoded effector »).

La liste de ces facteurs de virulence potentiels ne cesse de s'allonger mais, à ce jour, leur rôle respectif dans la pathogénie des EHEC n'est pas démontré.

Cas particulier des « O Islands »

Les O Islands (OI) correspondent à des îlots ou segments génétiques présents dans le génome des EHEC (dont *E. coli* O157:H7) mais absents du génome des *E. coli* non pathogènes [21]. Au total, 177 îlots ont été identifiés, dont certains contiennent des facteurs de virulence potentiels, d'où leur qualification d'îlots de pathogénicité. Certains îlots regroupent des gènes codant pour des effecteurs de type III appelés *nle*. La distribution des gènes *nle* au sein des îlots est variable d'une souche à l'autre, et l'on remarque que plus les îlots contiennent de gènes *nle* (c'est-à-dire plus ils sont complets), plus la maladie associée aux souches qui les contiennent est grave. Cette observation est valable pour trois îlots de pathogénicité: OI-57, OI-71 et OI-122 [13; 31]. Au total, 14 gènes *nle* ont été identifiés comme étant plus fréquemment présents dans des souches EHEC que dans des souches STEC n'ayant jamais provoqué d'épidémie ou de SHU. De plus, ces gènes contribuent de manière additive à la virulence (« effet dose ») puisque les souches à l'origine soit de SHU soit d'épidémies contiennent un nombre plus élevé de gènes *nle* que les souches non virulentes.

Conclusion

Les shigatoxines et l'intimine constituent les deux protéines majeures impliquées dans le pouvoir pathogène des EHEC dits « typiques », même si tous les variants de Stx ou de l'intimine ne semblent pas présenter la même toxicité ou la même spécificité pour l'Homme.

Néanmoins, plusieurs autres facteurs encore inconnus ou mal déterminés semblent intervenir dans le pouvoir pathogène des EHEC et, notamment, d'autres facteurs d'adhésion aux cellules intestinales dans le cas des EHEC « atypiques ». De plus, bien que les caractéristiques des souches responsables d'infections humaines, en particulier l'ensemble des facteurs de virulence exprimés, soient probablement déterminantes, le processus infectieux des EHEC est multifactoriel et dépend aussi de facteurs liés à l'hôte.

S'agissant des souches isolées chez l'Homme, l'analyse des données épidémiologiques montre que certains sérotypes d'*E. coli* entérohémorragiques sont plus fréquemment associés à une maladie grave et aux épidémies. Dans la majorité des cas, ces sérotypes présentent des caractéristiques moléculaires particulières, celles des EHEC typiques majeurs, bien que d'autres sérotypes puissent être plus rarement isolés lors d'infections humaines comme l'ont montré les épidémies associées à la souche EHEC atypique O104:H4 en 2011.

S'agissant d'une souche STEC isolée hors d'un contexte clinique chez l'Homme, comme par exemple lors de l'examen bactériologique d'un aliment, il n'est pas possible de dire avec certitude que cette souche est pathogène pour l'Homme en l'état actuel des connaissances [4,32].

Il convient cependant de considérer que la souche peut être :

- potentiellement pathogène quand elle présente les caractéristiques d'un EHEC typique (possession des gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae*);
- potentiellement hautement pathogène quand elle présente :
 - soit les caractéristiques d'un EHEC typique majeur (possession des gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae* et appartenance à l'un des cinq sérotypes suivants et leurs dérivés non mobiles : O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 et O111:H8),
 - soit les caractéristiques d'un EHEC atypique particulier impliqué dans de graves épidémies, comme par exemple la souche EHEC O104:H4 responsable des épidémies en Allemagne et en France à la fin du printemps 2011.

C'est bien la mise en évidence de ces différents facteurs ou marqueurs de virulence au sein d'une même souche qui permet d'estimer son caractère pathogène et d'orienter les mesures de gestion du risque à mettre en œuvre.

Remerciements

Les auteurs de cet article étaient membres du groupe de travail « EHEC-EPEC » de l'Anses. En réponse à la saisine 2010-SA-0031, leurs travaux ont abouti à la rédaction des avis de l'Afssa du 27 mai 2010 et de l'Anses du 11 janvier 2011 relatifs aux EHEC. Ils remercient chaleureusement les autres membres de ce groupe de travail.

Références bibliographiques

- [1] Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med*. 1983; 308(12):681-5.
- [2] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines (STEC). Maisons-Alfort: Afssa; 2003. 220 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC-Ra-STEC.pdf>
- [3] Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. 2005; 365(9464):1073-86.
- [4] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis du 27 mai 2010 relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008. 2010. Maisons-Alfort: Afssa; 2010. 19 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2010sa0031.pdf>
- [5] Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis*. 1987; 155(3):377-89.
- [6] Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2(2):123-40.
- [7] O'Loughlin EV, Robins-Browne RM. Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells. *Microbes Infect*. 2001; 3(6):493-507.
- [8] Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res*. 2005; 36(3):289-311.
- [9] Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11:142-201.
- [10] McDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS, Kaper JB. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92:1664-8.
- [11] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Avis du 10 décembre 2010 relatif aux contaminations microbiologiques des viandes à l'abattoir. Maisons-Alfort: Anses; 2010. 62 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2008sa0308.pdf>
- [12] Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11:603-9.
- [13] Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, et al. Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *J Clin Microbiol*. 2003; 41:4930-40.
- [14] Gault G, Weill FX, Mariani-Kurkdjian P, Jourdan-da Silva N, King L, Aldabe B, et al. Outbreak of haemolytic uraemic syndrome and bloody diarrhoea due to *Escherichia coli* O104:H4, South-West France, June 2011. *Euro Surveill*. 2011; 16(26):pii=19905. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19905>
- [15] Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 2011; 365(19):1771-80.
- [16] Wahl E, Vold L, Lindstedt BA, Bruheim T, Afset JE. Investigation of an *Escherichia coli* O145 outbreak in a child day-care centre-extensive sampling and characterization of *eae*- and *stx1*-positive *E. coli* yields epidemiological and socioeconomic insight. *BMC Infect Dis*. 2011; 11:238.
- [17] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Two multistate outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections linked to beef from a single slaughter facility - United States, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010; 59(18):557-60.
- [18] Calderon VE, Chang Q, McDermott M, Lytle MB, McKee G, Rodriguez K, et al. Outbreak caused by cad-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111, Oklahoma. *Foodborne Pathog Dis*. 2010; 7(1):107-9.
- [19] Guh A, Phan Q, Nelson R, Purviance K, Milardo E, Kinney S, et al. Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clin Infect Dis*. 2010; 51(12):1411-7.
- [20] Sodha SV, Lynch M, Wannemuehler K, Leeper M, Malavet M, Schaffzin J, et al. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with a national fast-food chain, 2006: a study incorporating epidemiological and food source traceback results. *Epidemiol Infect*. 2011; 139(2):309-16.
- [21] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis du 15 juillet 2008 relatif aux souches d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme. Maisons-Alfort: Afssa; 2008. 14 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2008sa0122.pdf>
- [22] Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP, Gyles CL. Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol*. 1999; 37:497-503.

- [23] Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang W-L, Pulz M, Kuczius T, Ammon A, *et al.* *Escherichia coli* harbouring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis.* 2002; 185:74-84.
- [24] Herold S, Karch H, Schmidt H. Shiga toxin-encoding bacteriophages - genomes in motion. *Int J Med Microbiol.* 2004; 294:115-21.
- [25] Muniesa M, Jofre J. Occurrence of phages infecting *Escherichia coli* O157:H7 carrying the Stx2 gene in sewage from different countries. *FEMS Microbiol Lett.* 2000; 183:197-200.
- [26] Schmidt H, Bielaszewska M, Karch H. Transduction of enteric *Escherichia coli* isolates with a derivative of Shiga toxin 2-encoding bacteriophage phi3538 isolated from *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65:3855-61.
- [27] Bielaszewska M, Prager R, Kock R, Mellmann A, Zhang W, Tschape H, *et al.* Shiga toxin gene loss and transfer *in vitro* and *in vivo* during enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 infection in humans. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73(10):3144-50.
- [28] Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marches O, Caprioli A. Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. *Infect Immun.* 2000; 68:64-71.
- [29] Scheutz F, Nielsen EM, Frimodt-Møller J, Boisen N, Morabito S, Tozzoli R, *et al.* Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill.* 2011; 16(24). pii:19889. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19889>
- [30] Morabito S, Karch H, Mariani-Kurkdjian P, Schmidt 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; 36:840-2.
- [31] Coombes BK, Wickham ME, Mascarenhas M, Gruenheid S, Finlay BB, Karmali MA. Molecular analysis as an aid to assess the public health risk of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74:2153-60.
- [32] European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) - Monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. *EFSA Journal.* 2007; 579:1-61. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/579.htm>