



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Afssa – Saisine n° 2010-SA-0031

Saisine liée n° 2008-SA-0122

Maisons-Alfort, le 27 mai 2010

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes,  
précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008.**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

### 1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le lundi 11 janvier 2010 par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'avis relatif à la révision de la définition des STEC<sup>1</sup> pathogènes, précisée par l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008, si les données scientifiques acquises en France ou dans d'autres pays depuis 2008 l'imposent.

### 2. CONTEXTE

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) familiale ayant entraîné un cas de SHU et un cas de diarrhée concomitant est survenue début 2009. Des steaks hachés surgelés, consommés non cuits à cœur, ont été mis en cause. L'analyse microbiologique d'un steak haché non encore consommé provenant du même conditionnement a révélé la présence d'*E. coli* O123:H2 (*stx2+*, *eae+*), sérotype mis en évidence pour la première fois par le système de surveillance français.

La définition des STEC pathogènes est à caractère temporaire, comme précisé dans l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008 et rappelé dans la saisine. Cette définition devait pouvoir être actualisée, si nécessaire, au regard des nouvelles observations cliniques et données d'investigations épidémiologiques.

L'objectif du présent avis est donc d'apporter des éléments de réponse sur ce sérotype d'*E. coli* rarement identifié dans les cas humains, puis d'élargir la réflexion aux connaissances scientifiques acquises depuis la parution en 2008 de la définition par l'Afssa des STEC pathogènes, en vue d'une éventuelle révision.

### 3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective du dossier a été réalisée par le CES « Microbiologie », le 11 mai 2010, sur la base d'un rapport initial préparé par le groupe de travail « EHEC EPEC 2010 ».

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

<sup>1</sup> STEC : *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines

## 4. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé «Microbiologie» dont les éléments sont présentés ci-dessous :

### 4.1. Rappel de l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008

L'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008 précisait :

« A ce jour, les souches STEC pathogènes, aussi nommées dans le corps du texte « EHEC typiques majeurs », peuvent être définies selon les critères génétiques suivants :

EHEC O157:H7 = *rfbE*<sub>O157</sub>, *flic*<sub>H7</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-gamma, (OI#122).

EHEC O26:H11 = *wzx*<sub>O26</sub>, *flic*<sub>H11</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-bêta, (OI#122).

EHEC O145:H28 = *ihp1*<sub>O145</sub>, *flic*<sub>H28</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-gamma, (OI#122).

EHEC O103:H2 = *wzx*<sub>O103</sub>, *flic*<sub>H2</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-epsilon, (OI#122).

EHEC O111:H8 = *wbd1*<sub>O111</sub>, *flic*<sub>H8</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-thêta, (OI#122).

Les formules antigéniques sont détaillées car l'appartenance à un sérotype (O26, par exemple) ne peut préjuger à elle seule de la pathogénicité des souches.

Il faut souligner le caractère temporaire de la définition proposée. Celle-ci devra être révisée en fonction des nouvelles observations cliniques, des résultats d'investigations épidémiologiques, en fonction des résultats des projets de recherche et du développement de méthodes fines. ».

Dans le contexte de l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008, la définition des souches STEC pathogènes ne portait que sur les EHEC typiques majeurs. L'Afssa a estimé nécessaire de mieux préciser, dans le présent avis, les termes employés dans cette définition.

### 4.2. Critères de définition des *E. coli* pathogènes pour l'Homme

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 au niveau des cellules du tube digestif. Néanmoins, ces souches ont développé différents modes d'interaction avec leur hôte se traduisant par des signes cliniques de gravité variable, pouvant être accompagnés de complications extra-digestives.

#### 4.2.1. Selon le contexte clinique : EPEC / EHEC

En médecine humaine, sur la base des signes cliniques observés chez les patients, les souches d'*E. coli* pathogènes sont classées en « *pathovars* », parmi lesquels on distingue les EPEC et les EHEC.

Le pathovar EPEC (pour « *Enteropathogenic E. coli* ») est responsable de diarrhée sévère, principalement chez les enfants de moins de 12 mois dans les pays en voie de développement (Kaper, Nataro *et al.* 2004; Levine 1987).

Le pathovar EHEC (pour « *Enterohaemorrhagic E. coli* »), est responsable de troubles variés allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant ou une micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte.

Ces deux pathovars distincts sont donc définis sur la base de symptômes cliniques humains bien différents.

#### 4.2.2. Selon le patrimoine génétique de la souche

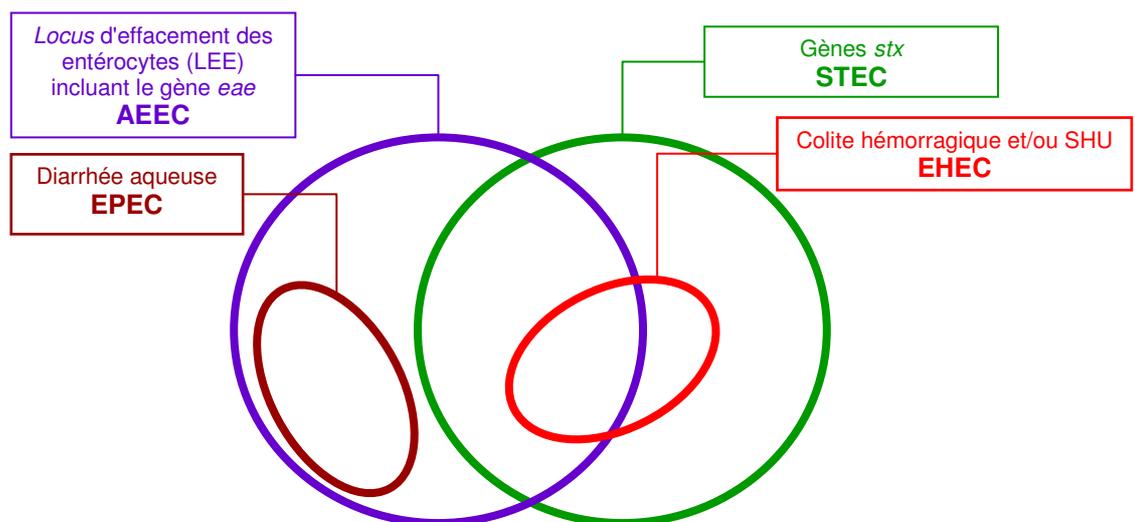
- **AEEC / STEC**

D'un point de vue histopathologique, les symptômes liés aux infections dues aux EPEC sont associés à des lésions caractéristiques des cellules de la muqueuse intestinale : les lésions d'attachement et d'effacement (A/E). Ces lésions A/E sont caractérisées par une adhésion intime des bactéries aux entérocytes (Nataro and Kaper 1998). Elles résultent de l'action combinée de protéines codées par des gènes, dont le gène *eae*, regroupés dans un îlot de pathogénicité, le LEE pour « locus of enterocyte effacement » (McDaniel, Jarvis *et al.* 1995). L'ensemble des souches possédant le LEE peuvent être regroupées sous le terme d'AEEC pour « *Attaching and effacing E. coli* » (Figure 1a). Les EPEC sont le sous-groupe des AEEC responsables de diarrhée sévère chez l'Homme, comme décrit ci-dessus.

Des *loci* homologues au LEE ont été retrouvés chez d'autres bactéries pathogènes, capables de produire des lésions A/E, notamment chez certains EHEC (Kaper, Nataro *et al.* 2004).

Les EHEC sont également capables d'induire des lésions de l'endothélium vasculaire, principalement intestinal, rénal et cérébral (O'Loughlin and Robins-Browne 2001). Ces lésions résultent de l'action de toxines, les shigatoxines (Stx), codées par les gènes *stx* portés par des bactériophages. Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* est dénommée STEC pour « *Shiga toxin-producing E. coli* ». Les EHEC constituent un sous-groupe des STEC (Figure 1a) (Caprioli, Morabito *et al.* 2005; Levine 1987).

**Figure 1a : Système de classification actuel des EPEC/EHEC/STEC/AEEC.**



(Voir légende Figure 1c)

- **EHEC typiques / EHEC atypiques**

Les souches EHEC dites « typiques » possèdent le gène *eae* et provoquent des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) aux cellules intestinales de l'iléon distal et du côlon.

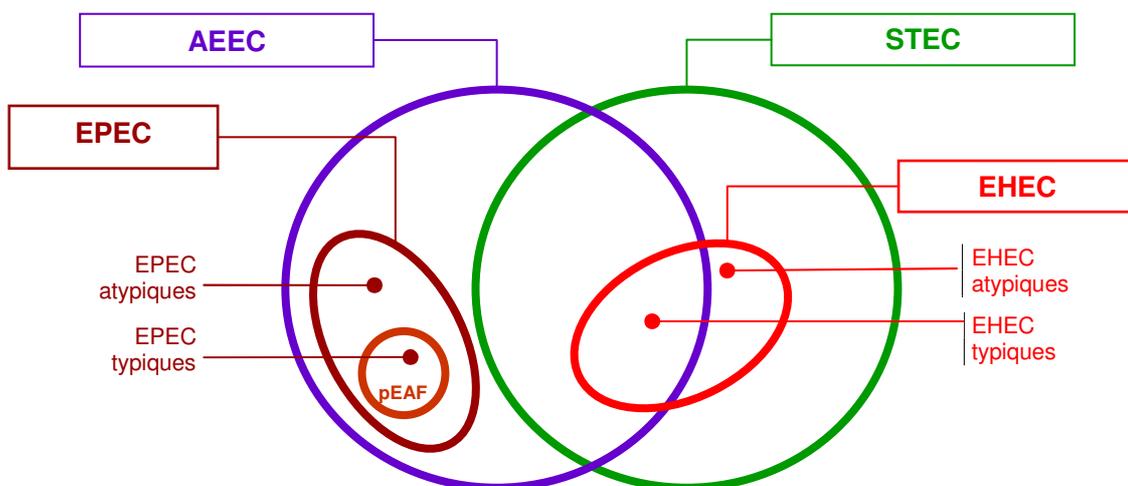
Le terme d'EHEC « atypiques » est utilisé pour désigner des souches qui ne possèdent pas le gène *eae* et ne produisent donc pas de lésion d'attachement et d'effacement (Nataro and Kaper 1998) (Figure 1b). La colonisation du tube digestif étant une étape majeure de la physiopathologie des EHEC, les souches 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.

- **EPEC typiques / EPEC atypiques**

Les souches EPEC dites « typiques » présentent un mode d'adhésion caractéristique sur les cellules épithéliales en culture, dit « *d'adhésion localisée* » (présence de micro-colonies, agrégats bactériens, fixées sur des zones limitées de la surface cellulaire). Cette adhésion localisée est associée à la présence d'un plasmide EAF (pour « *EPEC adhesion factor* ») codant en particulier pour les *pili* BFP (pour « *bundle-forming pilus* »). Les *pili* BFP permettraient l'adhésion initiale des EPEC typiques aux cellules de la muqueuse de l'intestin grêle.

Les souches EPEC qui ne possèdent pas de plasmide EAF sont dites « atypiques » (Trabulsi, Keller *et al.* 2002) (Figure 1b), d'autres mécanismes d'adhésion initiale restent néanmoins à préciser pour ces souches.

**Figure 1b : EHEC typiques et atypiques / EPEC typiques et atypiques**



(Voir légende Figure 1c)

#### 4.2.3. Selon les sérotypes et leur fréquence d'implication dans les cas humains : EHEC majeurs

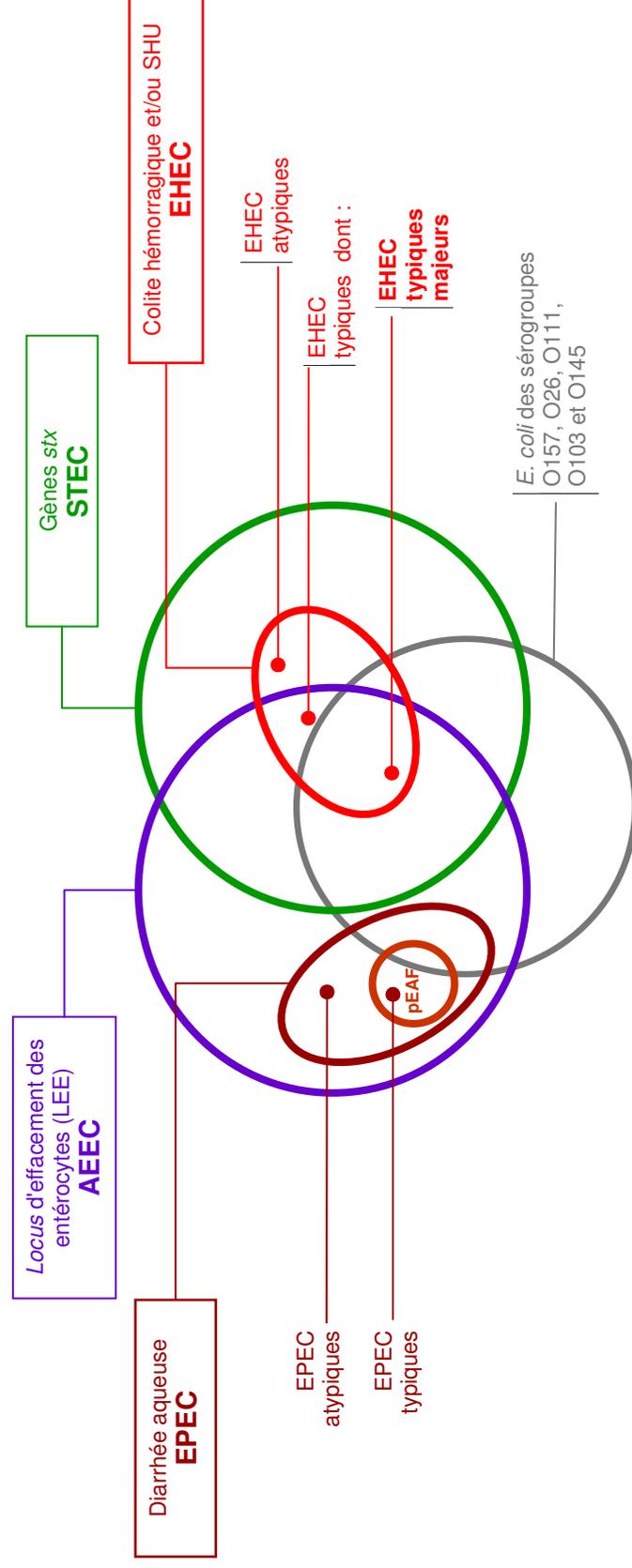
L'analyse des données épidémiologiques mondiales montre qu'un nombre important de sérotypes d'EHEC (plus de 200) est associé à l'apparition de symptômes cliniques sévères chez l'Homme comme la colite hémorragique ou le SHU (Karmali, Mascarenhas *et al.* 2003).

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 (EFSA 2007).

C'est pourquoi, sur la base des données disponibles en 2008, l'Afssa a défini des EHEC « majeurs », c'est-à-dire les plus fréquemment impliqués dans les épidémies. Ces souches appartiennent aux sérotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7 et leurs dérivés non mobiles (Afssa 2008) (Figure 1c). Ce sont toutes des EHEC typiques.

Le sérotype O123:H2, mis en évidence pour la première fois par le système de surveillance français en 2009, lors de la caractérisation de la souche EHEC responsable d'une toxico-infection alimentaire collective familiale avec un cas de SHU et un cas de diarrhée concomitant, n'est pas aujourd'hui considéré comme « majeur ».

Figure 1c : Diagramme de Venn illustrant le système de classification actuel des EPEC/EHEC/STEC/AEEC à partir des signes cliniques et des facteurs de virulence associés aux souches d'*E. coli* [d'après (Naylor, Gally et al. 2005)]. Les surfaces des disques et intersections ne sont pas proportionnelles à la prévalence des différents types d'*E. coli*.



**Légende :** Toutes les souches possédant le LEE, incluant le gène *eae*, quels que soient les signes cliniques associés, appartiennent au groupe des AEEC. Toutes les souches possédant les gènes codant pour les toxines Stx, quels que soient les signes cliniques associés, sont des STEC. Les souches EPEC sont associées à une diarrhée aqueuse chez l'Homme et sont définies comme des souches possédant le LEE et ne produisant pas de toxine Stx. Sur la base de la présence du plasmide pEAF, on distingue les souches EPEC typiques des souches dites EPEC atypiques. Les EHEC sont associées chez l'Homme à une colite hémorragique et/ou à un syndrome hémolytique et urémique et produisent des toxines Stx. La grande majorité des EHEC possèdent le LEE et les souches EHEC LEE+ Stx+ sont dénommés EHEC typiques. Ainsi, toutes les EHEC sont des STEC mais toutes les souches STEC, même celles qui possèdent le LEE, ne sont pas systématiquement associées à la maladie chez l'Homme. Les souches EHEC typiques appartenant aux sérotypes O157:H7, O26:H11, O111:H8, O103:H2 et O145:H28 (et leurs dérivés non mobiles) sont les souches les plus souvent associées à des signes cliniques graves (SHU) et aux épidémies et sont dites souches « EHEC typiques majeures ». EPEC : « Enteropathogenic *E. coli* » ; EHEC : « Enterohaemorrhagic *E. coli* » ; STEC : « Shiga toxin-producing *E. coli* » ; AEEC : « Attaching and effacing *E. coli* » ; LEE : « Locus of enterocyte effacement » ; pEAF : plasmide codant pour le facteur EAF « EPEC adhesion factor » ; *stx* : Gènes codant pour les Shiga-toxines ; SHU : syndrome hémolytique et urémique.

#### 4.2.4. Classification des STEC selon Karmali et al. (2003)

Comme précisé dans l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008, Karmali et collaborateurs ont classé les sérotypes de STEC dans cinq séropathotypes (de A à E ; Tableau A) 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 (Karmali, Mascarenhas *et al.* 2003; Konczy, Ziebell *et al.* 2008). Les EHEC typiques majeurs définis par l'Afssa en 2008 appartiennent aux séropathotypes A ou B (Tableau A). Du fait de sa très faible incidence dans les cas humains, le sérotype O123:H2, mis en évidence pour la première fois dans le cadre d'une TIAC familiale survenue début 2009 en France, appartient au séropathotype C.

Tableau A : Classification des sérotypes de STEC en séropathotypes (Karmali, Mascarenhas *et al.* 2003)

Séropathotype	Incidence relative	Implication dans des épidémies	Association avec les SHU ou les colites hémorragiques	Sérotypes
A	Elevée	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 et jamais associés à des infections humaines.

n.a., non applicable.

### 4.3. Actualisation des connaissances scientifiques

Les connaissances acquises depuis la parution de l'avis Afssa du 15 juillet 2008 et provenant, d'une part, de l'étude des nouvelles infections à EHEC décrites en France et à l'étranger, et, d'autre part, des résultats de la recherche scientifique, sont nécessaires pour juger de l'opportunité de modifier la définition des EHEC typiques majeurs.

#### 4.3.1. Les principaux sérogroupes responsables des infections à EHEC

- **En France**

##### Données provenant de la surveillance nationale du SHU pédiatrique

Les données de surveillance française du SHU (1996-2006), citées dans l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008, ont mis en évidence la prédominance du séro groupe O157 (83% des cas) parmi les SHU avec infection à EHEC confirmée. Plusieurs sérogroupes non-O157 ont également été mis en évidence dans les cas de SHU pendant cette période : O26, O103, O145, O91, O111 et O55. Une confirmation microbiologique ou sérologique a été possible pour 75% et 78% des cas de SHU identifiés par la surveillance en 2007 et 2008 respectivement.

Le Tableau B présente une actualisation des données de surveillance exploitées dans l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008. Ces données de surveillance montrent que le sérotype O157 est toujours majoritairement isolé, même si la prévalence de celui-ci est moins élevée en 2007 et 2008 au regard de la période 1996-2006 (Tableau B).

Les proportions cumulées de SHU avec isolement d'une souche EHEC appartenant aux sérogroupes O26, O55, O91, O145, O103 et O111 en 2007 et 2008 sont respectivement de 18% et 16% et donc légèrement supérieures à celle observée sur la période 1996-2006 (14%) (Tableau B).

Comme noté dans l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008, la proportion de sérogroupes non-O157 identifiés dans les cas de SHU avec infection à EHEC confirmée avait augmenté ces dernières années en passant de 10% (période 1996-2001) à 23% (période 2002-2006). En cumulant les données de 2002 à 2008, cette proportion est de 26%. Cette augmentation peut être expliquée en partie par l'amélioration des techniques d'identification des sérogroupes EHEC non-O157 depuis le début de la surveillance en 1996.

Les 5 sérogroupes inclus dans la définition des EHEC typiques majeurs définis par l'Afssa en 2008 ont été impliqués dans 95% et 80% des cas de SHU à EHEC confirmés sur les périodes 1996-2006 et 2007-2008, respectivement (Tableau B).

Une souche d'EHEC a pu être isolée de 23 (31%) et 43 (27%) cas de SHU identifiés, respectivement en 2007 et 2008. Un sérotype ou un sérotype a été établi pour 17 (74%) des souches isolées des cas de SHU en 2007 et 37 (86%) en 2008 (Tableau B). Vingt-six pourcent des souches isolées en 2007 et 14% en 2008 sont donc restées non-sérotypables, même après la réalisation pour certaines d'entre elles d'un typage moléculaire par le Centre national de référence (CNR) « *E. coli* et *Shigella* ».

Le sérotype O157 était majoritaire parmi les souches isolées en 2007 et 2008 [43% et 65% respectivement (Tableau C)] comme c'était le cas pour la période 1996-2006 (67%). Ce sérotype représentait 58% des souches sérotypables en 2007 et 75% en 2008 par rapport à 77% pour la période 1996-2006. Des sérogroupes ne figurant pas sur la liste des souches EHEC typiques majeures définie par l'Afssa en 2008 représentaient 23% des souches isolées et typées en 2007 et 16% en 2008 (tableau C). Le sérotype O121:H19 représentait 7% des souches typées pendant la période 2007-2008 (Tableau C).

Cent pour cent des souches d'EHEC isolées de cas de SHU en 2007 et 2008 possédaient le gène de virulence *stx2* (97% pour la période 1996-2006). La proportion de souches d'EHEC typiques isolées, possédant le gène de virulence *eae*, est stable en 2007 (89%) et 2008 (90%) par rapport à la période 1996-2006 (93%).

**Tableau B : Sérogroupes d'EHEC les plus prévalents, identifiés par sérologie ou par culture dans les cas de SHU pédiatriques en France, 1996-2008 (source : données InVS)**

Sérotype	1996-2006	2007	2008
	%	%	%
O157	83	58	69
O26	6	7	7
O145	2	4	5
O103	3	5	2
O111	1	2	0
O91	1	0	1
O55	1	0	1
O121	0	5	1

Tableau C : Sérogroupes et sérotypes des souches d'EHEC isolées des cas de SHU pédiatrique identifiés en France en 2007 et 2008.

Sérogroupe/ Sérotipe*	2007		Sérogroupe/ Sérotipe*	2008	
	N	%		N	%
O5:H18	1	4	O26	5	12
O26	3	13	O26:H11	1	2
O121:H19	3	13	O101:H33	1	2
O157:H7	1	4	O121:H19	1	2
O157	9	39	O145:H2	1	2
NST**	6	26	O157:H7	10	23
			O157	18	42
			NST**	6	14
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>100</b>	<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>100</b>

\* Le sérogroupe (ou le sérotipe) a été obtenu par agglutination avec le panel de sérums utilisés par le CNR pour les *E. coli* et *Shigella* et son laboratoire associé ou déterminé par un typage moléculaire de la souche au CNR.

\*\* Non-sérotypable selon les méthodes précédemment décrites

#### Données provenant du CNR pour les *E. coli* et *Shigella* et de son laboratoire associé

Les souches, analysées par le CNR et son laboratoire associé, sont adressées lors d'une suspicion d'infection à EHEC ou parfois EPEC chez un enfant ou un adulte. Les souches sont envoyées sur la base du volontariat et, de ce fait, aujourd'hui la collection des souches CNR ne peut être considérée comme représentative de l'ensemble des souches impliquées dans des cas humains. Pour une meilleure caractérisation des EHEC, il est donc fortement souhaitable d'encourager les laboratoires à transmettre au CNR ou son laboratoire associé l'ensemble des souches isolées dans les cas de SHU.

Entre 2007 et 2009, le CNR et son laboratoire associé ont reçu des souches d'*E. coli* à expertiser pour 1796 patients. Parmi ces souches, 231 (12,9%) possédaient au moins un gène *stx* (souche STEC). Parmi les 231 souches STEC, des renseignements cliniques étaient disponibles pour 191 souches (82,7%) avec pour 134 cas (70,2%) un SHU (forme adulte incluse : MAT). La répartition des sérogroupes/sérotypes des souches isolées dans les 134 cas de SHU est présentée dans le tableau placé en annexe de cet avis.

Les souches EHEC mises en évidence dans les cas de SHU possèdent majoritairement le gène *eae* (79,1%) mais 20,9% des souches restent des EHEC atypiques (*eae* négatives) qui possèdent probablement un autre mécanisme d'adhésion ou un LEE partiel (Annexe).

Quarante-quatre pourcent des souches EHEC appartiennent au sérogroupe O157, et 14% au sérogroupe O26 (Annexe). Le pourcentage d'EHEC non sérotypables reste important (20,1%). Ces souches n'entraînent pas une agglutination avec les sérums disponibles au CNR, et les méthodes moléculaires utilisées (*rfb*-RFLP pour l'antigène O et séquençage du gène *fliC* pour l'antigène H) montrent l'apparition de nouveaux profils et de nouvelles séquences plus ou moins proches de celles présentes dans les bases de données mais ne permettant pas une interprétation fiable.

- **En Europe**

La surveillance européenne des infections à EHEC est coordonnée par l'*European Centre for Disease Control* depuis 2007. Les Etats membres de l'Union Européenne (UE) ainsi que certains pays hors de l'UE (Norvège, Islande et Lichtenstein) transmettent chaque année des données sur les infections à EHEC identifiées dans leurs pays. Les données européennes pour les années 2006, 2007 et 2008 mettent en évidence une prédominance du sérotype O157 en Europe. Ce sérotype représente 48% des infections humaines confirmées en 2006, 53% en 2007 et 54% en 2008 (EFSA 2009; EFSA 2010). Comme en France, les sérotypes non-O157 les plus prévalents en Europe en 2006, 2007 et 2008 étaient les sérotypes O26 (4,5% en moyenne), O103 (2,7 % en moyenne), O145, O91 et O111 (1% en moyenne chacun). D'autres sérotypes non-O157 ont également été identifiés comme à l'origine des cas humains à l'échelon européen pendant cette période mais avec une fréquence généralement inférieure à 1% (O44, O86, O113, O117, O119, O124, O128, O146) (EFSA 2009; EFSA 2010).

Une limite importante pour l'interprétation des données européennes est le regroupement des souches classées comme non-sérotypées avec des souches considérées non-sérotypables. Ceci rend cette catégorie de données, qui représente respectivement 29% et 26% des données de 2007 et 2008, ininterprétable.

Les sérotypes O157, O26, O103, O111 et O145 représentent 63% des infections humaines à EHEC identifiées à l'échelon européen pendant la période 2007-2008 (EFSA 2009; EFSA 2010). En 2008, ces cinq sérotypes représentaient 23% des infections identifiées en Allemagne, 39% en Autriche, 42% en Suède, 60% aux Pays-Bas, 69% en Belgique et 99% au Royaume Uni (EFSA 2010). Parmi ces pays, les infections à STEC sont à déclaration obligatoire en Allemagne, Autriche, Suède, et aux Pays-Bas (ECDC 2009)

#### 4.3.2. Cas groupés d'infections à EHEC

- **En France**

Depuis la parution de l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008, 12 épisodes de cas groupés d'infections à EHEC confirmés ont été identifiés entre 2007 et 2009 par le système de surveillance du SHU (3 en 2007, 4 en 2008 et 5 en 2009). Ces épisodes ont tous eu lieu dans un contexte familial et comprenaient soit un cas de SHU avec une ou plusieurs personnes présentant des symptômes évocateurs d'une infection à EHEC dans l'entourage, soit 2 cas de SHU au sein d'une même famille.

Une souche d'EHEC a été isolée pour 9 des 12 épisodes de cas groupés ; les souches isolées possédaient l'un des quatre profils suivants: O157:H7 *stx2 eae* (N=6), non sérotypable *stx2 eae* (N=1), O26 *stx2 eae* (N=1), et O123:H2 *stx2 eae* (N=1). Trois épisodes ont été confirmés par sérologie (O157).

Une source de contamination a été identifiée pour un seul des 12 épisodes : la consommation de viande hachée de bœuf non cuite à cœur pour la TIAC à EHEC O123:H2 en 2009. Le sérotype O123:H2 est très rarement décrit comme source d'infections cliniques dans la littérature. Cet épisode représente la première mise en évidence de ce sérotype dans un cas de SHU pédiatrique notifié par la surveillance en France. Il représente également la première description d'un épisode de cas groupés dû à ce sérotype.

Aucune épidémie à EHEC n'a été identifiée par la surveillance des cas de SHU pédiatriques depuis les épidémies survenues en 2005 (O157:H7 et O26:H11-O80:H2).

- **Hors France**

Les cas groupés survenant dans un contexte familial ne font habituellement pas l'objet d'une publication. Une revue des épidémies à EHEC survenues depuis 2006 et publiées a mis en évidence l'implication des sérotypes O157, O103, O26 et O145 en Europe, aux Etats-Unis et au Japon (Tableau D). Ces épidémies ont été associées, soit microbiologiquement soit épidémiologiquement, aux modes classiques de transmission des EHEC (personne à personne, alimentaire et par contact direct avec des animaux de ferme) (Tableau D).

Le sérotype et le profil complet de gènes de virulence n'a pas été publié pour toutes les souches d'EHEC isolées lors de ces épidémies récentes, ce qui rend une comparaison avec les EHEC typiques majeurs, définis par l'Afssa en 2008, difficile pour certaines. Parmi les épidémies récentes publiées, une seule est attribuée à une souche de sérotype O103:H25 ne figurant pas dans la liste des EHEC typiques majeurs définis par l'Afssa en 2008 (Tableau D).

Tableau D : Nouvelles épidémies à EHEC survenues et publiées dans la littérature internationale, depuis la parution de l'avis Afssa du 15 juillet 2008.

Sérogroupe/sérotype STEC	Pays (Année)	Mode de transmission*	Nombre de cas	Référence
O157	Angleterre (2009)	Contact avec des animaux de ferme (ferme pédagogique)	36	(Wise 2009)
O157 : H- stx1 stx2 eae	Pays Bas (2008-9)	Alimentaire (viande de bœuf crue)	20	(Greenland, de Jager <i>et al.</i> 2009)
O157:H-	Etats-Unis (2007)	Contact avec des animaux de ferme (ferme pédagogique)	7	(Centre for Disease Prevention and Control 2009)
O157:H- stx1 stx2 eae	Pays Bas-Islande (2007)	Alimentaire (salade verte)	50	(Friesema, Sigmundsdottir <i>et al.</i> 2008)
O157 stx1 stx2	Angleterre (2007)	Alimentaire (sandwich au poulet et herbes)	12	(Whittaker, Sopwith <i>et al.</i> 2009)
O157:H7 stx1 stx2	Japon (2006)	Contact avec des animaux de ferme (ferme laitière)	4	(Muto, Matsumoto <i>et al.</i> 2008)
O157:H7 stx2	Etats Unis (2006)	Alimentaire (épinards)	205	(Uhlich, Sinclair <i>et al.</i> 2008)
O103 stx1	Japon (2006)	Personne à personne (Crèche)	8	(Muraoka, Okazaki <i>et al.</i> 2007)
O103:H25 stx2	Norvège (2006)	Alimentaire (sauce de viande ovine)	17	(Schimmer, Nygard <i>et al.</i> 2008)
O26:H11 stx1 stx2 eae	Danemark (2007)	Alimentaire (sauce de viande bovine bio)	20	(Ethelberg, Smith <i>et al.</i> 2009)
O26 stx2 eae / O145 stx1 eae	Belgique (2007)	Alimentaire (glace au lait pasteurisé)	12	(De Schrijver, Buvens <i>et al.</i> 2008)
O26:H11 stx1	Japon (2006)	Personne à personne (Crèche)	6	(Sonoda, Tagami <i>et al.</i> 2008)

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

#### 4.3.3. Avancée des connaissances relatives à la caractérisation moléculaire 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 non pathogènes de celles devant être considérées comme pathogènes, parmi les STEC. A la lumière des nouvelles connaissances disponibles depuis la parution de l'avis Afssa du 15 juillet 2008, l'ensemble des données disponibles concernant les facteurs de virulence ont été ré-analysés.

- **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 A<sub>1</sub>B<sub>5</sub>) et une activité biologique proche (Afssa 2008). 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 grands types de shigatoxines, Stx1 et Stx2, et de nombreux variants Stx1 ou Stx2 ont été identifiés (Afssa 2008).

Le type de variant reflèterait à la fois l'origine des souches (moutons, porcs), leur phylogénie, mais aussi leur pouvoir pathogène (Afssa 2008). Les gènes *stx* sont portés par des phages intégrés dans le chromosome (ou prophages) des souches EHEC (Herold, Karch *et al.* 2004). 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* (Herold, Karch *et al.* 2004). Ces phages peuvent insérer leur ADN dans le chromosome de la bactérie hôte au niveau d'un site préférentiel unique, variable selon le type de phage (Schmidt 2001) mais d'autres sites d'intégration secondaires ont également été décrits (Herold, Karch *et al.* 2004; Serra-Moreno, Jofre *et al.* 2007). Peu de sites d'intégration des phages portant des gènes *stx* sont connus à ce jour mais de nombreux sites potentiels ont été identifiés dans le chromosome d'*E. coli* (Hayashi, Makino *et al.* 2001). Plusieurs études ont montré que les gènes *stx* pouvaient être transmis au sein de la population d'*E. coli* (Herold, Karch *et al.* 2004; Imamovic, Jofre *et al.* 2009; Muniesa and Jofre 2000). Ce phénomène est d'ailleurs fréquent chez de nombreuses souches EHEC appartenant à des sérotypes divers mais également chez d'autres *Enterobacteriaceae* comme les *Citrobacter* sp. (Schmidt, Montag *et al.* 1993) ou les *Enterobacter* sp. (Paton and Paton 1996). La conversion de souches d'*E. coli* a été démontrée *in vitro* (Imamovic, Jofre *et al.* 2009; Muniesa and Jofre 2000; Watarai, Sato *et al.* 1998) mais aussi *in vivo*, dans le tractus gastro-intestinal de souris (Acheson, Reidl *et al.* 1998), de ruminants (Cornick, Helgerson *et al.* 2006) ou d'homme (Bielaszewska, Prager *et al.* 2007). 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.

- **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 (McDaniel, Jarvis *et al.* 1995). Le gène *eae* est un des principaux gènes conservés au sein du LEE (Bertin, Boukhors *et al.* 2004) et code pour l'intimine, une protéine de la membrane externe bactérienne impliquée dans l'adhésion étroite bactérie-entérocyte.

Plusieurs variants d'intimine ont été identifiés (Afssa 2008). Ces différents variants seraient impliqués dans le tropisme cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène des EHEC (Afssa 2008).

Ainsi, certains variants (intimines  $\gamma$  et  $\epsilon$ ) semblent être plus spécifiquement exprimés par des souches EHEC (Fitzhenry, Pickard *et al.* 2002; Oswald, Schmidt *et al.* 2000) mais

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) (Higgins, Frankel et al. 1999; Oswald, Schmidt et al. 2000).

Par ailleurs, certains variants semblent associés à certains sérotypes (Afssa 2008; Beutin, Krause *et al.* 2004).

Néanmoins, cette association n'est pas stricte : un seul et même sérotype peut être associé à différents variants d'intimine (Jores, Rumer *et al.* 2004). De plus, les variants d'intimine n'étant pas recherchés en routine sur les souches EHEC isolées des patients, comme c'est le cas en France, le nombre de souches EHEC étudiées est parfois limité, en particulier pour les sérotypes et les variants les moins fréquents.

- **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.

Plusieurs adhésines potentielles ont été décrites chez des souches EHEC atypiques telles que l'adhésine Saa (pour « *STEC autoagglutinating adhesin* ») des souches O113:H21 isolées en Australie en 1998 (Paton, Srimanote *et al.* 2001) ou les facteurs d'adhésion plasmidiques des souches O111:H2 isolées en France en 1996 (Morabito, Karch *et al.* 1998),

D'autres adhésines potentielles ont également été mises en évidence, aussi bien chez des souches EHEC atypiques que typiques :

- Adhésines fimbriaires :

- \* *fimbriae* Lpf (pour « *long polar fimbriae* ») décrit chez des souches typiques O157:H7 (Torres, 2002) et atypiques O113:H21 (Doughty, Sloan *et al.* 2002) ;

- \* *fimbriae* Sfp (pour « *sorbitol-fermenting EHEC O157 fimbriae* ») mis en évidence uniquement chez des souches typiques O157:HNM fermentant le sorbitol (Brunner, Khan *et al.* 2001; Friedrich, Nierhoff *et al.* 2004; Toma, Martinez Espinosa *et al.* 2004);

- \* protéines codées par les gènes des îlots génomiques OI-1, OI-47, OI-141 et OI-154 (Shen, Mascarenhas *et al.* 2005) mises en évidence chez les souches typiques O157:H7 et O157:HNM ;

- \* *pilus* de type IV décrit chez les souches atypiques O113:H21 et O48:H21 (Srimanote, Paton *et al.* 2002).

- Adhésines non fimbriaires :

- \* protéine Iha (pour « *IrgA homologue adhesin*»), identifiée chez des souches typiques O157:H7 (Tarr, Bilge *et al.* 2000) mais aussi chez des souches atypiques O113:H21 (Schmidt, Zhang *et al.* 2001) ;

- \* adhésine OmpA (pour « *outer membrane protein A* ») décrite chez des souches typiques O157:H7 (Torres and Kaper 2003) ;

- \* adhésine Efa1 (pour « *EHEC factor for adherence* ») décrite chez des souches typiques O111:H- (Nicholls, Grant *et al.* 2000) et O157:H7 (Morabito, Tozzoli *et al.* 2003) ;

- \* protéine ToxB mise en évidence chez des souches typiques (O157 et O26 principalement) (Tatsuno, Horie *et al.* 2001; Tozzoli, Caprioli *et al.* 2005).

Ainsi, de nombreuses protéines susceptibles de jouer un rôle dans la colonisation du tube digestif par les EHEC ont été décrites. 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, sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages ou îlots de pathogénicité) ont été décrits chez les souches EHEC (Croxen and Finlay 2010; Gyles 2007).

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 « *Non 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 (Afssa 2008). Au total, 177 îlots ont été identifiés (Perna, Plunkett *et al.* 2001) 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 (Tobe, Beatson *et al.* 2006). 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 (Coombes, Wickham *et al.* 2008; Karmali, Mascarenhas *et al.* 2003). Au total, 14 gènes *nle* (*nleA*, *nleB*, *nleC*, *nleE*, *nleF*, *nleG*, *nleG2-1*, *nleG2-3*, *nleG5-2*, *nleG6-2*, *nleG9*, *nleH1-2*, *nleH1-1*, et *ent/espL2*) 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 (Coombes, Wickham *et al.* 2008). 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.

Très récemment, une signature génétique composée de 5 gènes (*eae*, *ent/espL2*, *nleB*, *nleE*, et *nleH1-2*) a été proposée pour définir les souches d'EHEC (Bugarel, Beutin *et al.* 2010). Cependant, une certaine réserve doit être émise car la présence de ces cinq gènes a également été rapportée dans des souches STEC appartenant aux sérotypages D et E considérés comme moins pathogènes ou présumés non-pathogènes pour l'Homme (Coombes, Wickham *et al.* 2008).

Les shigatoxines et l'intimine constituent les deux protéines majeures impliquées dans le pouvoir pathogène des EHEC, même si tous les variants de Stx ou d'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. De plus, bien que les caractéristiques de la souche incriminée, 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.

Pour une souche STEC isolée hors d'un contexte clinique chez l'Homme, aujourd'hui le consensus est de considérer qu'elle peut être pathogène si elle possède au moins un gène *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) et le gène *eae*.

## **5. CONCLUSION**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments conclut que l'analyse des données épidémiologiques montre que certains sérotypes d'*E. coli* entérohémorragiques isolés chez l'Homme sont plus fréquemment associés à une maladie grave. Dans la majorité des cas, ces sérotypes présentent des caractéristiques moléculaires particulières telles que décrites dans l'avis de l'Afssa du 15 juillet 2008 comme celles des EHEC typiques majeurs.

La définition des EHEC typiques majeurs de 2008 reste donc valide, bien que d'autres sérotypes ou parfois des EHEC atypiques puissent être plus rarement isolés lors d'infections humaines.

Cependant, l'Afssa souligne que lors de l'examen bactériologique d'un aliment, réalisé en dehors d'un contexte clinique chez l'Homme, c'est bien la mise en évidence des différents facteurs ou marqueurs de virulence au sein d'une même souche qui permet d'estimer son caractère pathogène. En conséquence, il convient de considérer que la souche peut être :

- hautement pathogène quand elle présente les caractéristiques d'un EHEC typique majeur (possession des gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae* et appartenance à un des sérotypes suivants et leurs dérivés non mobiles : O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 et O111:H8),
- pathogène quand elle présente les caractéristiques d'un EHEC typique (possession des gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae*).

**Le directeur général**

**Marc MORTUREUX**

## **MOTS-CLES**

*Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC), *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC), infection gastro-intestinale, syndrome hémolytique et urémique (SHU), épidémie, *Escherichia coli* producteur de shigatoxines (STEC), aliments.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acheson DW, Reidl J, Zhang X, Keusch GT, Mekalanos JJ, Waldor MK (1998) In vivo transduction with shiga toxin 1-encoding phage. *Infect Immun* **66**, 4496-8.
- Afssa (2008) Avis du 15 juillet 2008 relatif aux souches d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme.
- Bertin Y, Boukhors K, Livrelli V, Martin C (2004) Localization of the insertion site and pathotype determination of the locus of enterocyte effacement of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol* **70**, 61-8.
- Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S, Gleier K (2004) Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J Clin Microbiol* **42**, 1099-108.
- Bielaszewska M, Prager R, Kock R, Mellmann A, Zhang W, Tschape H, Tarr PI, Karch H (2007) Shiga toxin gene loss and transfer in vitro and in vivo during enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 infection in humans. *Appl Environ Microbiol* **73**, 3144-50.
- Brunder W, Khan AS, Hacker J, Karch H (2001) Novel type of fimbriae encoded by the large plasmid of sorbitol-fermenting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H(-). *Infect Immun* **69**, 4447-57.
- Bugarel M, Beutin L, Fach P (2010) Low-density macroarray targeting non-locus of enterocyte effacement effectors (nle genes) and major virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): a new approach for molecular risk assessment of STEC isolates. *Appl Environ Microbiol* **76**, 203-11.
- Caprioli A, Morabito S, Brugere H, Oswald E (2005) Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* **36**, 289-311.
- Centre for Disease Prevention and Control (2009) Outbreak of Shiga Toxin--Producing *Escherichia coli* O157 Infection Associated with a Day Camp Petting Zoo --- Pinellas County, Florida, May--June 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **58**, 426-428.
- Coombes BK, Wickham ME, Mascarenhas M, Gruenheid S, Finlay BB, Karmali MA (2008) Molecular analysis as an aid to assess the public health risk of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol* **74**, 2153-60.
- Cornick NA, Helgerson AF, Mai V, Ritchie JM, Acheson DW (2006) In vivo transduction of an Stx-encoding phage in ruminants. *Appl Environ Microbiol* **72**, 5086-8.
- Croxen MA, Finlay BB (2010) Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* **8**, 26-38.
- De Schrijver K, Buvens G, *et al.* (2008) Outbreak of verocytotoxin-producing *E. coli* O145 and O26 infections associated with the consumption of ice cream produced at a farm, Belgium, 2007. *Euro Surveill* **13**.
- Doughty S, Sloan J, Bennett-Wood V, Robertson M, Robins-Browne RM, Hartland EL (2002) Identification of a novel fimbrial gene cluster related to long polar fimbriae in locus of enterocyte effacement-negative strains of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infect Immun* **70**, 6761-9.
- ECDC (2009) Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2009. [http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0910\\_SUR\\_Annual\\_Epidemiological\\_Report\\_on\\_Communicable\\_Diseases\\_in\\_Europe.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0910_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf).
- EFSA (2007) Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from Efsa on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. *The EFSA Journal* **579**, 1-61.
- EFSA (2009) The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the european union in 2007. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/223r.pdf>.
- EFSA (2010) The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the european union in 2008. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1496.pdf>.
- Ethelberg S, Smith B, Torpdahl M, Lisby M, Boel J, Jensen T, Nielsen EM, Molbak K (2009) Outbreak of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection from consumption of beef sausage. *Clin Infect Dis* **48**, e78-81.
- Fitzhenry RJ, Pickard DJ, Hartland EL, Reece S, Dougan G, Phillips AD, Frankel G (2002) Intimin type influences the site of human intestinal mucosal colonisation by enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Gut* **50**, 180-5.

- Friedrich AW, Nierhoff KV, Bielaszewska M, Mellmann A, Karch H (2004) Phylogeny, clinical associations, and diagnostic utility of the pilin subunit gene (sfpA) of sorbitol-fermenting, enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H. *J Clin Microbiol* **42**, 4697-701.
- Friesema I, Sigmundsdottir G, *et al.* (2008) An international outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infection due to lettuce, September-October 2007. *Euro Surveill* **13**.
- Greenland K, de Jager C, Heuvelink A, van der Zwaluw K, Heck M, Notermans D, van Pelt W, Friesema I (2009) Nationwide outbreak of STEC O157 infection in the Netherlands, December 2008-January 2009: continuous risk of consuming raw beef products. *Euro Surveill* **14**.
- Gyles CL (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci* **85**, E45-62.
- Hayashi T, Makino K, *et al.* (2001) Complete genome sequence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and genomic comparison with a laboratory strain K-12. *DNA Res* **8**, 11-22.
- Herold S, Karch H, Schmidt H (2004) Shiga toxin-encoding bacteriophages--genomes in motion. *Int J Med Microbiol* **294**, 115-21.
- Higgins LM, Frankel G, Connerton I, Goncalves NS, Dougan G, MacDonald TT (1999) Role of bacterial intimin in colonic hyperplasia and inflammation. *Science* **285**, 588-91.
- Imamovic L, Jofre J, Schmidt H, Serra-Moreno R, Muniesa M (2009) Phage-mediated Shiga toxin 2 gene transfer in food and water. *Appl Environ Microbiol* **75**, 1764-8.
- Jores J, Rumer L, Wieler LH (2004) Impact of the locus of enterocyte effacement pathogenicity island on the evolution of pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* **294**, 103-13.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* **2**, 123-40.
- Karmali MA, Mascarenhas M, *et al.* (2003) 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* **41**, 4930-40.
- Konczyk P, Ziebell K, *et al.* (2008) Genomic O island 122, locus for enterocyte effacement, and the evolution of virulent verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **190**, 5832-40.
- Levine MM (1987) *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis* **155**, 377-89.
- McDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS, Kaper JB (1995) A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**, 1664-8.
- Morabito S, Karch H, Mariani-Kurkdjian P, Schmidt H, Minelli F, Bingen E, Caprioli A (1998) Enteraggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* **36**, 840-2.
- Morabito S, Tozzoli R, Oswald E, Caprioli A (2003) A mosaic pathogenicity island made up of the locus of enterocyte effacement and a pathogenicity island of *Escherichia coli* O157:H7 is frequently present in attaching and effacing *E. coli*. *Infect Immun* **71**, 3343-8.
- Muniesa M, Jofre J (2000) Occurrence of phages infecting *Escherichia coli* O157:H7 carrying the Stx 2 gene in sewage from different countries. *FEMS Microbiol Lett* **183**, 197-200.
- Muraoka R, Okazaki M, *et al.* (2007) An enterohemorrhagic *Escherichia coli* O103 outbreak at a nursery school in Miyazaki Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis* **60**, 410-1.
- Muto T, Matsumoto Y, Yamada M, Ishiguro Y, Kitazume H, Sasaki K, Toba M (2008) Outbreaks of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infections among children with animal contact at a dairy farm in Yokohama City, Japan. *Jpn J Infect Dis* **61**, 161-2.
- Nataro JP, Kaper JB (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* **11**, 142-201.
- Naylor SW, Gally DL, Low JC (2005) Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine. *Int J Med Microbiol* **295**, 419-41.
- Nicholls L, Grant TH, Robins-Browne RM (2000) Identification of a novel genetic locus that is required for in vitro adhesion of a clinical isolate of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to epithelial cells. *Mol Microbiol* **35**, 275-88.
- O'Loughlin EV, Robins-Browne RM (2001) Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells. *Microbes Infect* **3**, 493-507.
- Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marches O, Caprioli A (2000) Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. *Infect Immun* **68**, 64-71.
- Paton AW, Paton JC (1996) Enterobacter cloacae producing a Shiga-like toxin II-related cytotoxin associated with a case of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* **34**, 463-5.
- Paton AW, Srimanote P, Woodrow MC, Paton JC (2001) Characterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. *Infect Immun* **69**, 6999-7009.
- Perna NT, Plunkett G, 3rd, *et al.* (2001) Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* **409**, 529-33.

- Schimmer B, Nygard K, Eriksen HM, Lassen J, Lindstedt BA, Brandal LT, Kapperud G, Aavitsland P (2008) Outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Norway caused by stx2-positive *Escherichia coli* O103:H25 traced to cured mutton sausages. *BMC Infect Dis* **8**, 41.
- Schmidt H (2001) Shiga-toxin-converting bacteriophages. *Res Microbiol* **152**, 687-95.
- Schmidt H, Montag M, Bockemuhl J, Heesemann J, Karch H (1993) Shiga-like toxin II-related cytotoxins in *Citrobacter freundii* strains from humans and beef samples. *Infect Immun* **61**, 534-43.
- Schmidt H, Zhang WL, Hemmrich U, Jelacic S, Brunder W, Tarr PI, Dobrindt U, Hacker J, Karch H (2001) Identification and characterization of a novel genomic island integrated at selC in locus of enterocyte effacement-negative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun* **69**, 6863-73.
- Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M (2007) Insertion site occupancy by stx2 bacteriophages depends on the locus availability of the host strain chromosome. *J Bacteriol* **189**, 6645-54.
- Shen S, Mascarenhas M, Morgan R, Rahn K, Karmali MA (2005) Identification of four fimbria-encoding genomic islands that are highly specific for verocytotoxin-producing *Escherichia coli* serotype O157 strains. *J Clin Microbiol* **43**, 3840-50.
- Sonoda C, Tagami A, *et al.* (2008) An enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 outbreak at a nursery school in Miyazaki, Japan. *Jpn J Infect Dis* **61**, 92-3.
- Srimanote P, Paton AW, Paton JC (2002) Characterization of a novel type IV pilus locus encoded on the large plasmid of locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. *Infect Immun* **70**, 3094-100.
- Tarr PI, Bilge SS, Vary JC, Jr., Jelacic S, Habeeb RL, Ward TR, Baylor MR, Besser TE (2000) Iha: a novel *Escherichia coli* O157:H7 adherence-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. *Infect Immun* **68**, 1400-7.
- Tatsuno I, Horie M, *et al.* (2001) toxB gene on pO157 of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is required for full epithelial cell adherence phenotype. *Infect Immun* **69**, 6660-9.
- Tobe T, Beatson SA, *et al.* (2006) An extensive repertoire of type III secretion effectors in *Escherichia coli* O157 and the role of lambdoid phages in their dissemination. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 14941-6.
- Toma C, Martinez Espinosa E, Song T, Miliwebsky E, Chinen I, Iyoda S, Iwanaga M, Rivas M (2004) Distribution of putative adhesins in different seropathotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* **42**, 4937-46.
- Torres AG, Kaper JB (2003) Multiple elements controlling adherence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 to HeLa cells. *Infect Immun* **71**, 4985-95.
- Tozzoli R, Caprioli A, Morabito S (2005) Detection of toxB, a plasmid virulence gene of *Escherichia coli* O157, in enterohemorrhagic and enteropathogenic *E. coli*. *J Clin Microbiol* **43**, 4052-6.
- Trabulsi LR, Keller R, Tardelli Gomes TA (2002) Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* **8**, 508-13.
- Uhlich GA, Sinclair JR, Warren NG, Chmielecki WA, Fratamico P (2008) Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates associated with two multistate food-borne outbreaks that occurred in 2006. *Appl Environ Microbiol* **74**, 1268-72.
- Watarai M, Sato T, Kobayashi M, Shimizu T, Yamasaki S, Tobe T, Sasakawa C, Takeda Y (1998) Identification and characterization of a newly isolated shiga toxin 2-converting phage from shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun* **66**, 4100-7.
- Whittaker PJ, Sopwith W, *et al.* (2009) A national outbreak of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 associated with consumption of lemon-and-coriander chicken wraps from a supermarket chain. *Epidemiol Infect* **137**, 375-82.
- Wise J (2009) Outbreak of *E coli* O157 is linked to Surrey open farm. *Bmj* **339**, b3795.

Annexe – Tableau des sérogroupes/sérotypes d'EHEC, identifiés dans les cas de SHU et de micro-angiopathies thrombotiques de l'adulte par le CNR pour les *E. coli* et *Shigella* et son laboratoire associé entre 2007 et 2009.

Sérogroupes/Sérotypes*	Total	2007-2009	
		eae+ (typique)	eae- (atypique)
O157	59	57	2
O26 (dont un O26:H11)	19	19	0
O145 (dont un O145:H2)	2	2	0
O103:H2	1	1	0
O111 (dont un O111:H8 eae+)	2	1	1
O91:H10	1	0	1
O5:H18	1	0	1
O7:R6	1	0	1
O55	1	1	0
O76:H19	1	0	1
O80:H2	1	1	0
O86:F27	1	1	0
O114	1	1	0
O121:H2	1	1	0
O121:H19	8	0	8
O123:H2	1	1	0
O126	1	1	0
O174:H2	1	0	1
O174:H21	4	0	4
NST**	27	19	8
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>106</b>	<b>28</b>

\* Le sérotype (ou le sérotype) a été obtenu par agglutination avec le panel de sérums utilisés par le CNR pour les *E. coli* et *Shigella* et son laboratoire associé ou déterminé par un typage moléculaire de souche au CNR.

\*\* NST : Non sérotypable.