

les **Evénements**
de l'Année en Médecine **2012**

27 Janvier 2012, Pavillon Dauphine, Paris

4 cas d'infection à ECEH Centre-Alsace, été 2011

Laurent SOUPLY¹, Christelle FENNINGER¹, Isabelle GRAWAY¹, Rémy HELLER¹, Chantal LEMBLE², Dominique DE BRIEL¹

¹: *Service de Microbiologie, Hôpitaux Civils de Colmar*

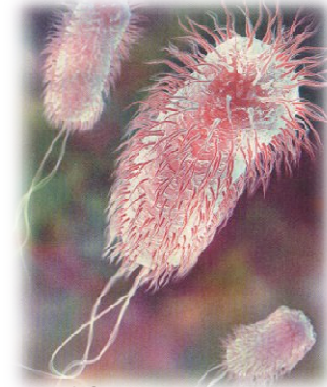
²: *Laboratoire de Biologie, Hôpital de Sélestat*



HOPITAUX CIVILS
DE COLMAR

Taxonomie

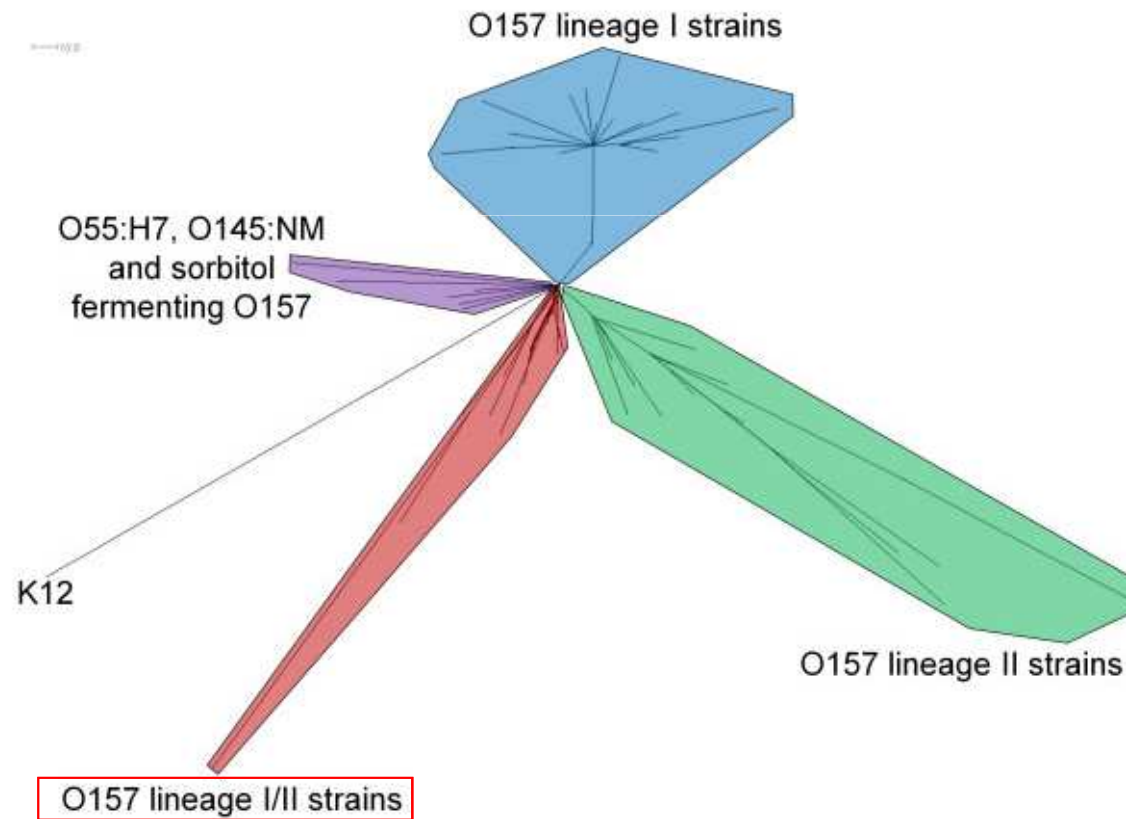
- Différents pathogènes d'*E. coli* impliqués dans des infections intestinales (Levine *et al.* J Inf Dis, 1987) et extra-intestinales (Pohl *et al.* J Med Microb, 1993) chez l'homme :
 - ECEP : *E. coli* entéro-pathogène
 - ECET : *E. coli* entéro-toxinogène
 - ECEI : *E. coli* entéro-invasif
 - ECEA : *E. coli* entéro-aggrégant
 - **ECEH : *E. coli* entéro-hémorragique**
 - = STEC : *E. coli* producteur de shigatoxines
 - = VTEC : *E. coli* producteur de vérotoxines
 - = *Shigella dysenteriae* : du point de vue taxonomique, *E. coli* est à considérer comme *Shigella dysenteriae*
- Plus de 200 sérotypes ECEH différents recensés
- Plus de 170 antigènes O et 50 antigènes H connus
- **Sérotipe O157:H7** (hétérogénéité génétique des souches)
- **Sérotypes non-O157**: O26, O48, O91, O103, O104, O111, O113, O118, O128, O145, O146



Taxonomie

Cladogramme des 3 lignées génétiques d'*E. coli* O157:H7

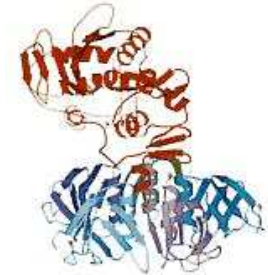
modélisation mathématique obtenue à partir de 6 méthodes de génotypage



Virulence

- **Shiga-like toxines Stx = Vérotoxines**

- Codées par un opéron *stx* porté par un bactériophage lambda intégré dans le chromosome des souches ECEH
- **Stx 1** : 3 nucléotides soit 1 aa de différence avec la shigatoxine produite par *Shigella dysenteriae*
- **Stx 2** : 50 à 60 % homologie avec Stx 1, Stx2c la plus virulente
- Nombreux variants, virulence et toxicité différentes
- Production de Stx après colonisation de la muqueuse intestinale
- Traversée de l'épithélium intestinal
- Transport (globules rouges, polynucléaires neutrophiles) jusqu'aux organes cibles (récepteur Gb3 : globotriosylcéramide, glycolipide membranaire spécifique) : cellules endothéliales vasculaires (côlon), glomérules rénaux, cellules du SNC
- Inhibition de la synthèse protéique par liaison à EF2 (elongation factor 2), apoptose cellulaire, nécrose tissulaire
- Action directe supplémentaire sur les cellules épithéliales coliques



Shiga Toxin

Virulence (suite)

- **Facteurs d'adhésion : intimine**

- Gène *eae* code une adhésine : l'intimine, nombreux variants
- Récepteur cellulaire Tir (protéine produite et sécrétée par la bactérie, enchassé dans la membrane des cellules cibles)
- Rôle dans la colonisation du tube digestif
- Lésions d'attachement et d'effacement des microvillosités des entérocytes



- **Entérohémolysine: hlyA**

- Opéron
- 90 % des souches EHEC, en particulier les sérotypes O157, O26, O111 produisent hlyA
- Lyse des érythrocytes : libération hème et hémoglobine captés par EHEC, favorisant sa croissance

Epidémiologie

Epidémies

- 1982: USA, 2 épidémies sévères (Oregon et Michigan) - hamburgers - O157 :H7
- 1993: Washington - hamburgers - 501 malades - 45 SHU - 3 décès
- 1996: Japon - radis blanc - 9451 malades - 12 décès
- 1996: Ecosse - viande de bœuf - 137 malades - 10 décès
- 2011: Allemagne – graines germées - O104:H4
 - sérotype déjà décrit dans le pays en 2001 (sans BLSE CTX-M 15)
 - contamination humaine
 - cas sporadiques très majoritaires
 - efficacité de dépistage par les services vétérinaires français (sauf végétaux)

Données de l'ARS Alsace (26/05 – 18/07/2011)

- 17 déclarations: 5 enfants < 15 ans
 - 4 SHU (2 chez des adultes)
- 1 souche liée au cluster de Lille
- 3 souches non typables différentes des cas allemands et lillois
- 2 souches shiga- (identification en Alsace, pas d'envoi au CNR)
- 7 souches shiga+ invalidées par le CNR
- 2 souches non envoyées au CNR
- 2 souches → *Campylobacter* spp.



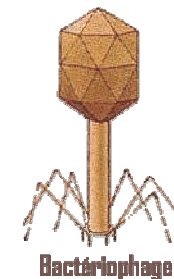
Epidémiologie

Répartition géographique:

- **SHU liés à O157:** France (86%), Italie (42%), Danemark (56%), Allemagne et Autriche (57%), USA (90%)
- **non-O157** majoritaires au Brésil, Australie
- **Principaux sérotypes non-O157 en France:** O26, O145, O55, O111, O128

Virulence des sérotypes:

- Sérotypes non-O157: épidémiologie peu étudiée
 - peu ou non recherchés au laboratoire
 - O157: seul sérotype soumis à la réglementation européenne
 - co-infections O157 / non-O157
- groupes de clones **différents**
- acquisition **indépendante** de gènes par des éléments génétiques mobiles (transposons, plasmides, bactériophages)
- facteurs de virulence **similaires** (*stx1* et 2, etc.)

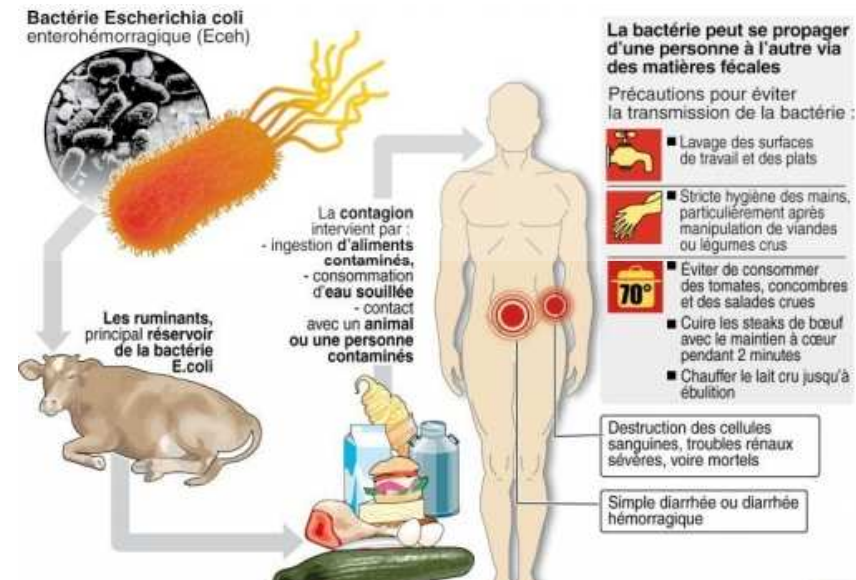


SHU

- 0,67 / 100 000 enfants de moins de 15 ans
- 2 / 100 000 enfants de moins de 2 ans

Transmission

- **Réservoir:** ruminants (5 à 20% de portage)
- **Modes de transmission:**
 - Alimentaire (66%): viande hachée, lait cru, végétaux, ustensiles, etc.
 - Interhumaine (20%)
 - Eau contaminée (12%)
 - Contact direct avec animaux (2%)
(Griffin *et al.* ASM, 1998)
- **Période à risque:** été
- **Dose infectieuse faible:** <30 bactéries
- **Incubation:** 3 à 8 jours
- **Durée d'excrétion d'ECEH:** 1 semaine



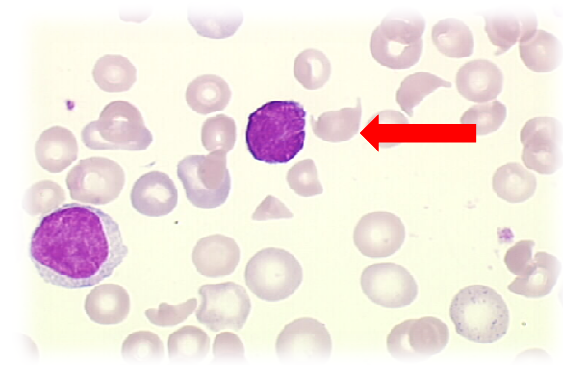
Recommandations particulières pour les producteurs de graines germées

Indications dans le Code d'usages en matière d'hygiène pour les fruits et les légumes frais à l'annexe concernant la production des graines germées (document CAC/RCP/53-2003)



Clinique

- **Colite hémorragique** : diarrhée aqueuse, selles sanglantes
- **SHU = Syndrome Hémolytique et Urémique** :
 - Anémie hémolytique micro-angiopathique :
 - ↓ Hb , ↓ **Haptoglobine** , ↑ LDH, présence de schizocytes
 - ↑ Orosomucoïde,
 - Thrombocytopénie : ↓ plaquettes
 - Insuffisance rénale aiguë : ↑ urée ↑ créatinine



- **Affections neurologiques** :
 - ✓ Œdème cérébral ou microthrombi vasculaires (infarctus cérébral)
 - ✓ Rares, principale cause de décès

Traitement

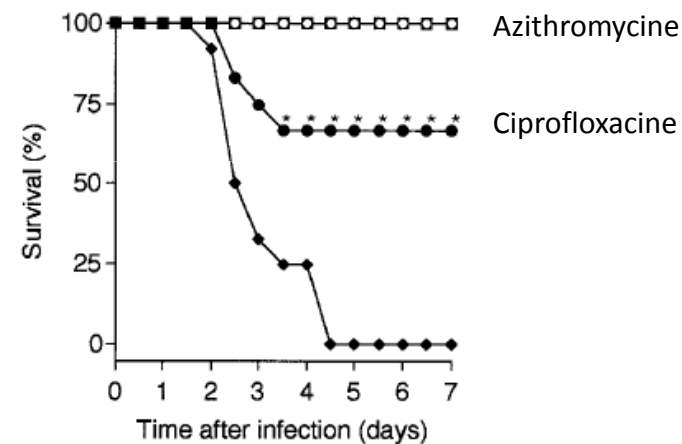
- **Eviter:** antibiotiques, ralentisseurs du transit, AINS

- **Symptomatique:**

- Réhydratation
- Dialyse
- Transfusions culots GR
- Transfusions plaquettes

- **Azithromycine:**

inhibition de synthèse toxinique



Ohara *et al.* Antimicrob Agents Chemotherapy, 2002

- **Eculizumab:**

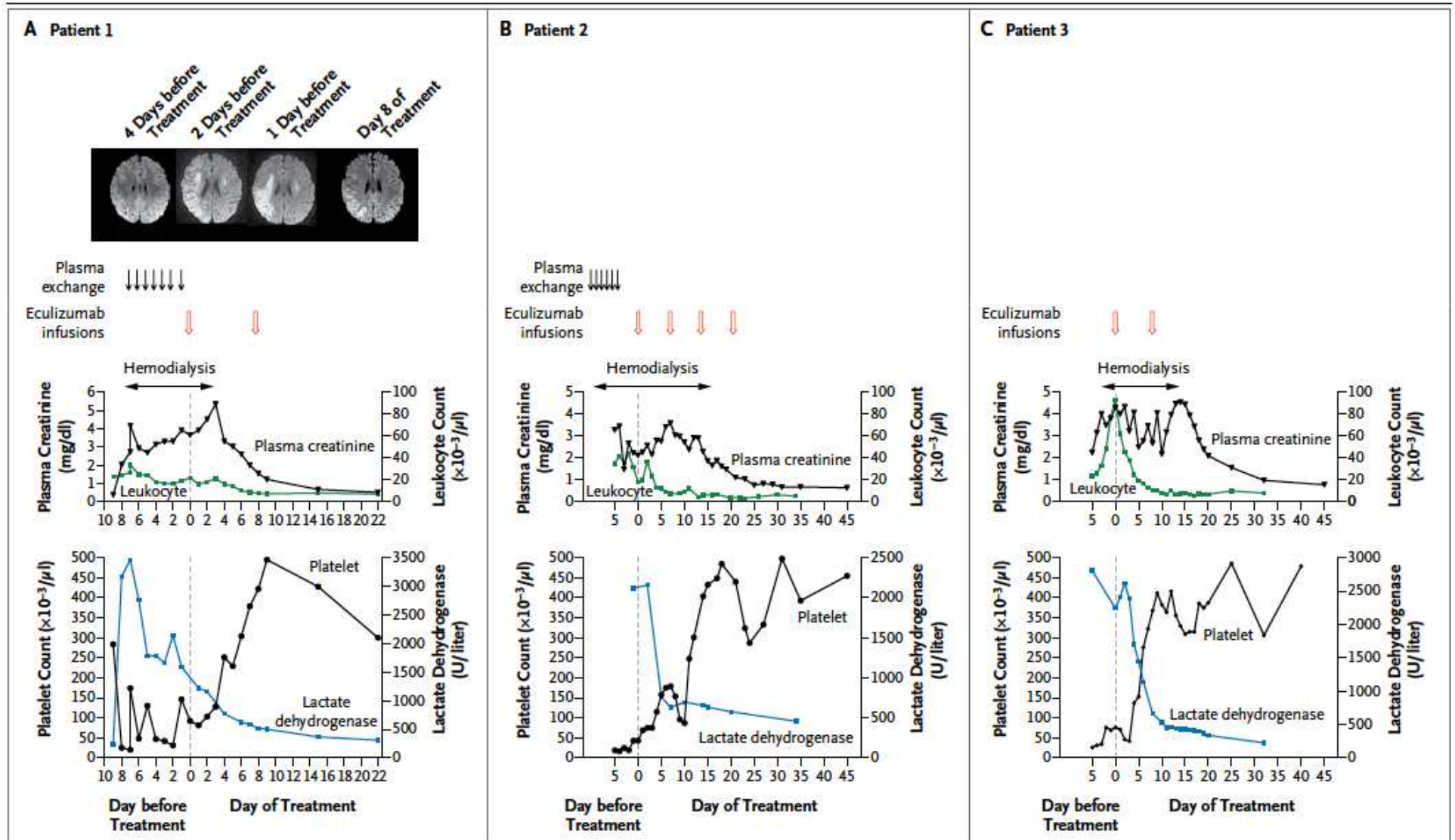
anticorps monoclonal bloquant la formation du complément (C5 → C5a et C5b)

AMM: HPN (2007)

Sensibilité aux infections à *Neisseria* : vaccination, antibioprophylaxie

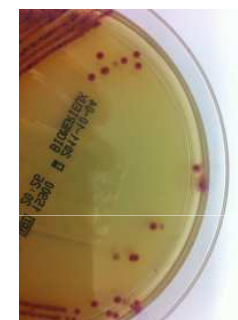


Eculizumab administré chez 3 enfants présentant un SHU à ECEH
(Lapeyraque *et al.* NEJM, Juin 2011)



Diagnostic bactériologique aux HCC

- Demande motivée du clinicien
- Selles ou écouvillon rectal (disponibilité)
- Kit de détection immuno-chromatographique (R-Biopharm, Germany!) de la souche O157 et des Stx1/Stx2
- **J0** : ensemencement d'une noix de selles sur une gélose chromogène :
 - reconnaissance d'*E. coli* (colonies roses)
- **J0** : ensemencement d'une noix de selle dans un bouillon d'enrichissement à la mitomycine C (24h, 37° C) :
 - augmentation de la production du phage lambda, donc de Stx
- **J1** : test à partir du bouillon d'enrichissement des selles
 - Si positif : envoi des selles au CNR, mise en bouillon des colonies (pool, colonies isolées)
- **J2** : test à partir du bouillon d'enrichissement des colonies (pool, colonies isolées)
 - Si positif : envoi des souches au CNR
- Antibiogramme non pratiqué (en intention de traiter, CMI azithromycine)
- **Résultats finaux : 2 à 3 jours**





	C	T2 (Shigatoxines)	T1 (O 157)	Résultat
Cas n°1			Pas de bandes	Souche d'ECEH productrice de Shigatoxine
Cas n°2		Pas de bandes		Souche O157 non productrice de Shigatoxine
Cas n°3				Souche O157 productrice de Shigatoxine
Cas n°4		Pas de bandes	Pas de bandes	Négatif

	Stx1/Stx2	O157
Sensibilité	85 %	90,9 %
Spécificité	98,7 %	98,5 %

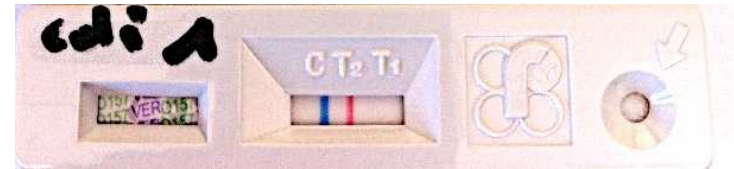
Matrice de performance : 159 échantillons
-selles
-souches de références (!)...

Diagnostic bactériologique au CNR

- **Recherche par PCR du gène *iudA*** codant la bêta-glucuronidase de *E. coli*
- **Sérotypage par agglutination** à l'aide d'antisérums dirigés contre les sérotypes O157, O26, O111, O103, O145, O104
- **Typage moléculaire** par PCR spécifique des sérotypes lorsque les souches ne sont pas sérotypables par agglutination
- **Détection par PCR des gènes de pathogénicité *stx*, *eae* et *hlyA***, sur souches isolées ou directement sur les selles
- Résultats obtenus en 4 à 5 jours (sauf si saturation...)

Cas cliniques

- **Patient 1** (F, 77 ans) à l'admission le 18/05/11 :
 - Clinique : AIT, méléna (plusieurs selles + dont certaines normales!), micro angiopathie thrombotique, IRA
 - Biologie : SHU
 - HCC : souche non O157 Stx+
 - CNR : souche non typable Stx2+



- **Patient 2** (H, 60 ans) à l'admission le 05/06/11 :
 - Clinique : vomissement, diarrhées sanglantes
 - Biologie : pas de SHU le 05/06/11, SHU le 09/06/11
 - HCC : souche non O157 Stx+
 - CNR : souche non groupable Stx2+ hlyA+

Cas cliniques (suite)

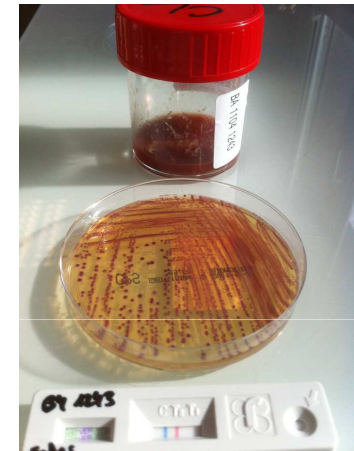
- **Patient 3** (H, 26 ans) à l'admission le 06/06/11:
 - Clinique : diarrhées sanglantes
 - Biologie : pas de SHU
 - Sélestat et HCC : souche non O157 Stx+
 - CNR : souche non groupable Stx2+
- **Patient 4** (F, 3 ans) à l'admission le 18/07/11:
 - Clinique : diarrhées sanglantes, vomissements
 - Biologie : SHU
 - HCC : une souche O157 Stx+ et une souche non O157 Stx+
 - CNR :

	stx1	stx2	eae	hlyA
0157	+	+	+	+
026	-	+	+	+



Pièges à éviter

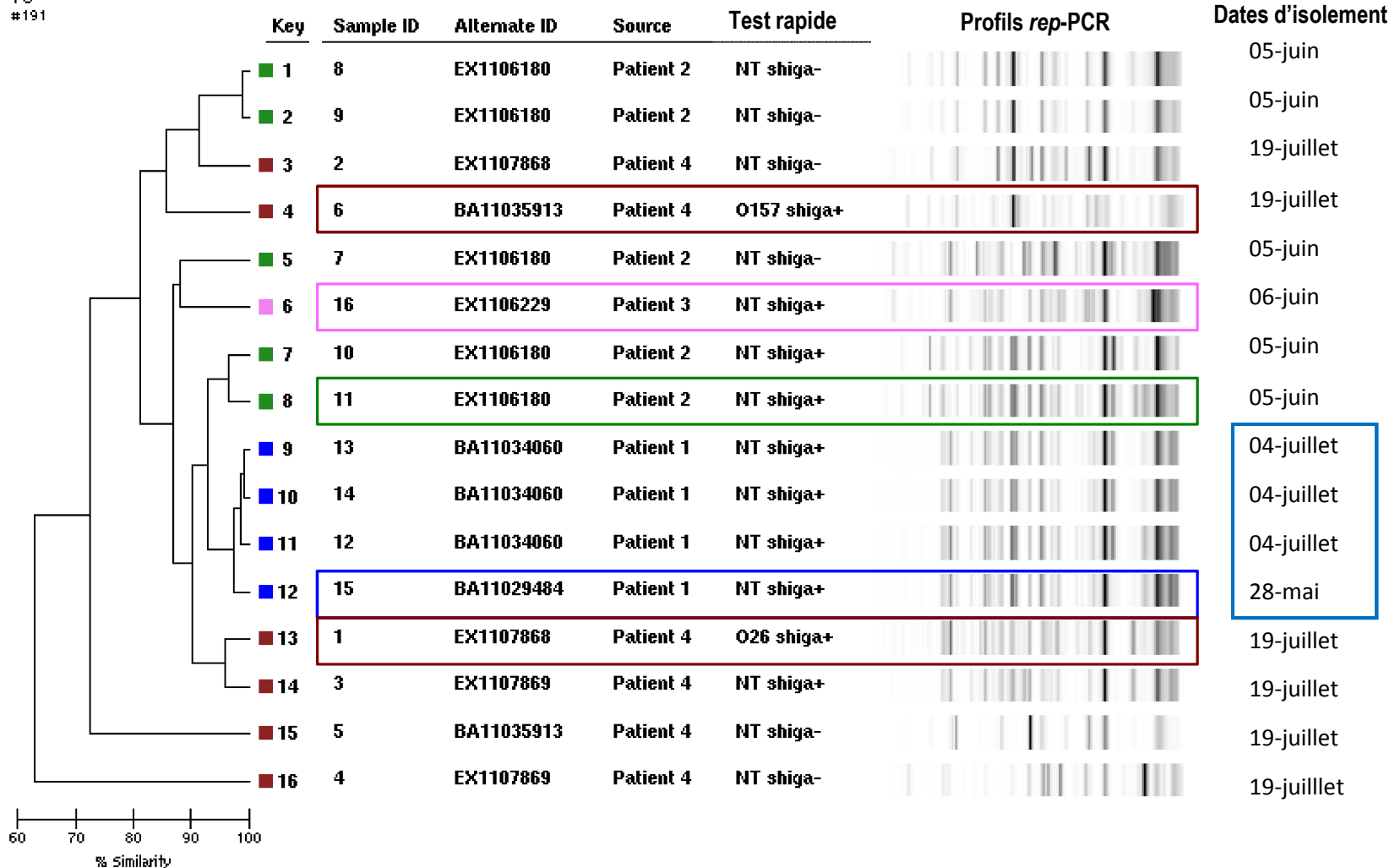
- **Données cliniques pertinentes et orientées**
 - Pas de recherche systématique **Point- Counterpoint.** Berra Y. et Marcon MJ. JCM, Juillet 2011
 - Eviter le zèle du bactériologiste ...
- **Colonisation sans symptômes :**
 - Diversité : souches, facteurs de virulence
 - Spécificité d'hôte : âge, immunité, acidité gastrique, thérapeutique (ATB, IPP, ralentisseur de transit) Karmali *et al.* Kidney, 2009
 - Réservoir
- **Eviter antibiothérapie :** favorise la libération de Stx
- **Sensibilité/spécificité des tests :**
 - ✓ Gélose Sorbitol : O157 et non O157 sorbitol +
 - ✓ Faux + des selles hémorragiques : *Campylobacter* et *Salmonella* spp.
 - ✓ Recommandations SFM (REMIC 2010): la PCR
 - ✓ Un ECEH peut en cacher un autre : prise en charge patient inchangée mais marqueur épidémiologique intéressant
- **Difficulté d'émettre des recommandations (santé publique) :**
 - ✓ En France, absence de surveillance épidémiologique des infections gastro-intestinales chez adulte (difficultés ARS)
 - ✓ Depuis 1996 : surveillance des infections dues aux EHEC sur les données de recensement des SHU chez les enfants < 15 ans, néphrologues pédiatres volontaires



Recherche de clonalité (RepPcr, Diversilab, Bmx): rapport de 4 cas

16 souches suspectes isolées et testées chez les 4 patients à partir des selles +

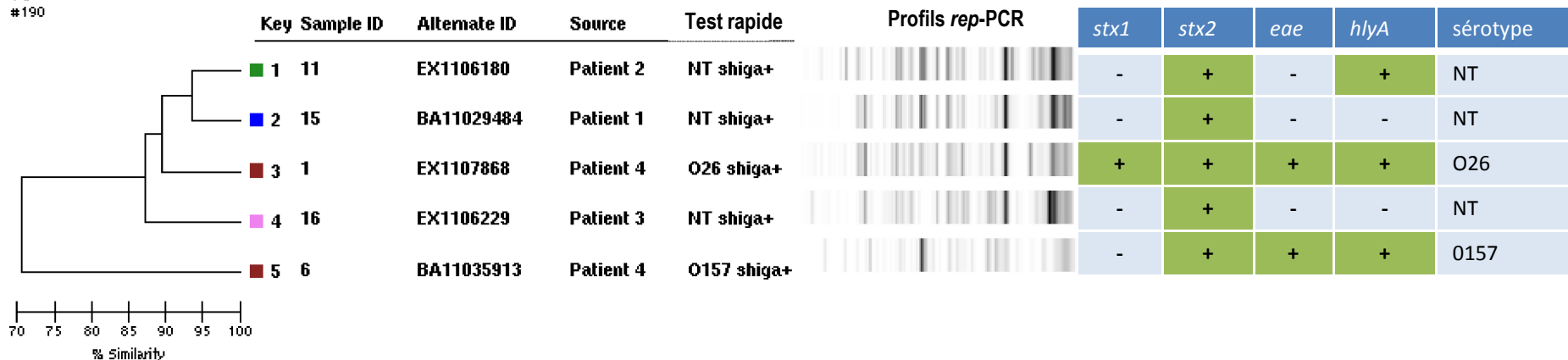
Diversilab v3.4
PC
#191



Recherche de clonalité: rapport de 4 cas (suite)

5 souches non liées mais **productrices de Shiga-toxines** obtenues chez les 4 patients

Diversilab v3.4
PC
#190



- ✓ Les patients 1 et 3 hébergeaient des souches différentes malgré des facteurs de virulence et des données spatio-temporelles d'infection similaires (même ville, même période sauf 1 seul SHU)
- ✓ Le patient 2 rentrait de Turquie (28 mai) - admission au SAU (05 juin) – diarrhées sanglantes depuis plusieurs jours
- ✓ Le patient 4 hébergeait 2 sérotypes d'ECEH : O26 (très majoritaire) et O157
- ➔ **Cas sporadiques:** source indéterminée (non recherchée?), pas de lien entre les souches isolées chez les 4 patients dont l'évolution a été favorable