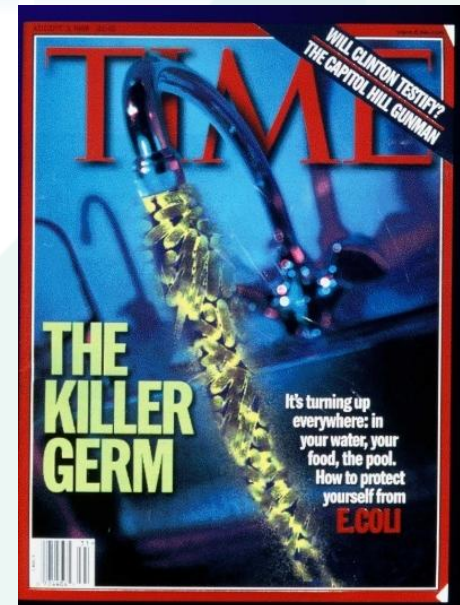


Diagnostic différentiel et prise en charge du  
syndrome hémolytique urémique et du  
purpura thrombotique thrombocytopénique  
(PTT)

# Aspects microbiologiques



Julie Descy  
Microbiologie  
clinique, CHU de Liège  
23 mai 2013



# SHU

Anémie hémolytique (non-immune)

Thrombocytopénie

Insuffisance rénale aiguë

90%

## SHU typique / D+ SHU

*(associé à une diarrhée)*

*E.coli* producteurs de shigatoxines (STEC)

*(+ Shigella dysenteriae sérotype 1)*

10%

## SHU atypique / D- SHU

*(sans prodrome diarrhéique)*

Etiologies infectieuses:

*S.pneumoniae*

*+ Etiologies non infectieuses ou indéterminées*

# Escherichia coli



*Theodor Escherich*  
 Discovered *E. coli* bacteria  
 in the year 1885

- Ordre des Enterobacteriales
- Famille des *Enterobacteriaceae*
- Genre des *Escherichia*
  - 5 espèces:
    - *E.coli*
    - *E.albertii*
    - *E.fergusonii*
    - *E.hermanii*
    - *E.vulneris*

- Commensal de l'intestin de l'Homme et des animaux
  - Espèce aéro-anaérobie facultative quantitativement la plus importante de la flore digestive (  $10^6$ - $10^9$  bact./g de selles)
- 1<sup>er</sup> germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales
- 4 groupes phylogéniques principaux (A, B1, B2 et D)
  - *E.coli* commensaux et responsables de diarrhées => A et B1
  - *E.coli* responsables de pathologies extra-intestinales => B2 et D

- ✓ Infections urinaires (ECUP)
- ✓ Méningites néonatales (sérotypage K1)
- ✓ Bactériémies
- ✓ Infections respiratoires
- ✓ Infections intra-abdominales
- ✓ etc.

# Structures des entérobactéries

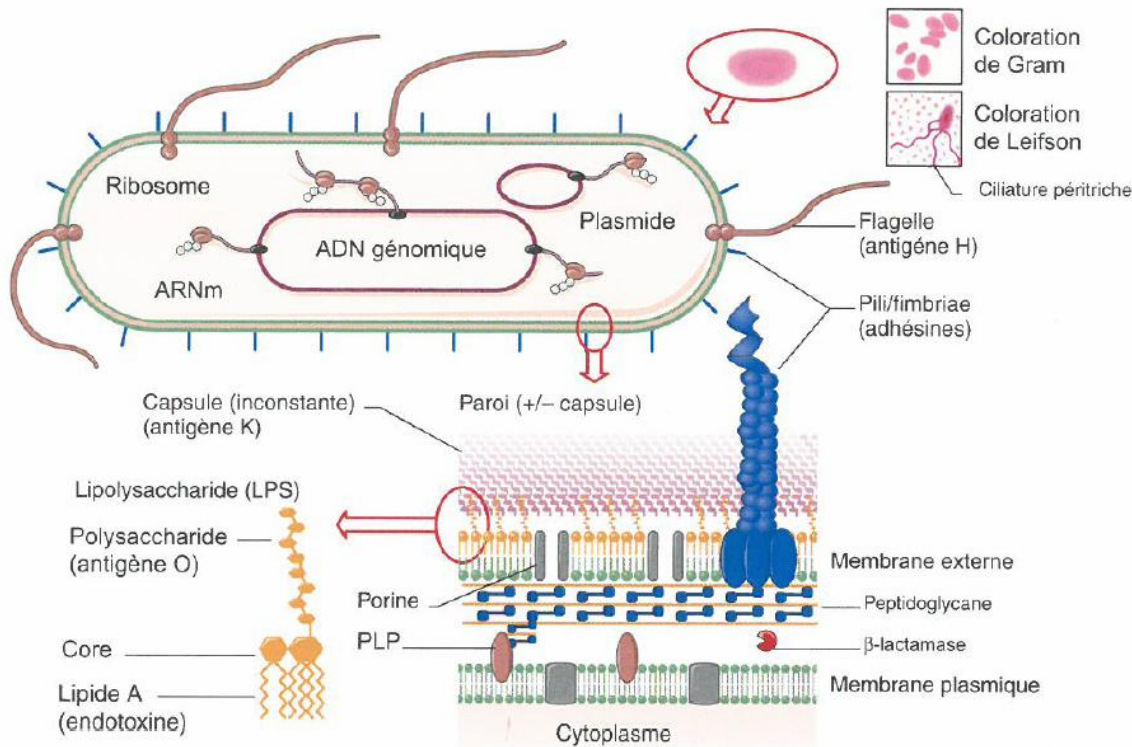


Fig. 31.3. – Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae.

Ag O = LPS

Ag H = Flagelle

Ag K = Capsule

Exemples

*E.coli* O104:H4

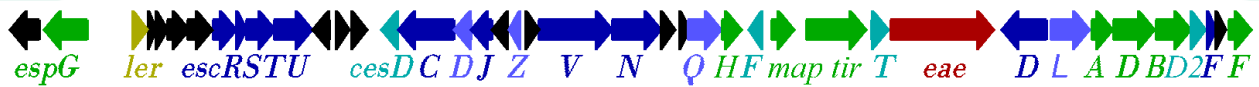
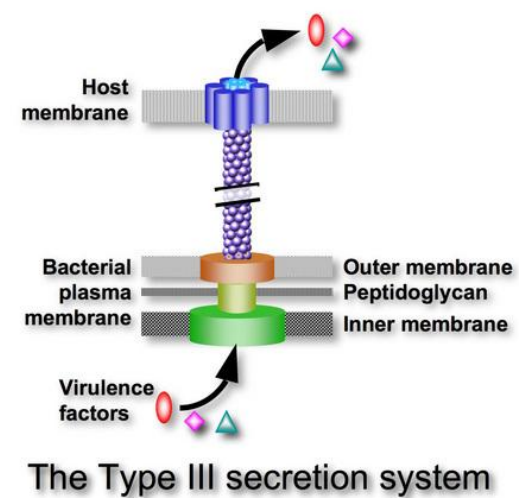
*E.coli* O 157 :H7

*E.coli* O 157 :NM

*K.pneumoniae* K1

# *E.coli* et pathogénicité

- Ce sont les facteurs de virulence qui définissent la pathogénicité
  - Adhésines: pili/fimbriae de différents types, intimine
  - Capsules: protection vis-à-vis de la phagocytose
  - Toxines
    - Endotoxines: lipide A
    - Hémolysines, entérohémolysines
    - Toxines AB: Shigatoxine, par exemple
      - Excrétion via T3SS (type III secretion system) qui permet à la toxine de passer à travers les membranes internes et externes de la bactérie ET d'être injectée directement à l'intérieur de la cellule cible
- « Clone-dépendant » et non « Espèce-dépendant »
- Support génétique: plasmides, transposons, bactériophages, chromosomes (« pathogenicity islands »)





**TABLEAU 31-5**

Pathovars des <i>Escherichia coli</i> intestinaux entérovirulents.						
Nom	Acronymes français (anglais)	Pathologie	Sérogroupe(s) O associés	Facteurs de virulence	Support génétique	Principes d'identification
<i>E. coli</i> entéro-pathogène	ECEP (EPEC)	Epidémies de diarrhées infantiles aqueuses fébriles	26, 55, 86, 111, 114, 119, 124, 125, 126, 127, 128, 142	intimine (attachement-effacement)	locus LEE (gènes <i>eae</i> , <i>tir</i> )	sérotypage (kit commercialisé)
				fimbriae BFP (adhésion)	plasmide pEAF (gène <i>bfp</i> )	PCR des gènes <i>eae</i> ou <i>bfp</i>
<i>E. coli</i> entéro-hémorragique	ECEH (EHEC, STEC)	Colites hémorragiques sporadiques ou épidémiques, SHU*, PTT**	157, 26, 111	intimine (attachement-effacement) Shigatoxines STX1 et STX2 Entérohémostase	locus LEE (gènes <i>eae</i> , <i>tir</i> ) phages (gènes <i>stx1</i> , <i>stx2</i> ) plasmide pO157 (gène <i>ehxA</i> )	sérotypage (kit commercialisé) PCR des gènes <i>stx1</i> et <i>stx2</i>
<i>E. coli</i> entéro-toxinogène	ECET (ETEC)	Diarrhées infantiles aqueuses (tiers monde), « Tourista »	6, 8, 15, 20, 25, 27, 63, 78, 80, 85, 115, 128, 139, 148, 153, 159, 167	C.F.A. (adhésion), entérotoxines ST (thermostable) et LT (thermolabile)	plasmidique (gènes <i>cfa</i> , <i>est</i> , <i>elt</i> )	PCR des gènes <i>est</i> et <i>elt</i>
<i>E. coli</i> entéroinvasif	ECEI (EIEC)	Syndromes dysentériques	28, 29, 124, 136, 143, 144, 152, 164, 167	invasines <i>Ipa</i> , <i>inter cell spread</i> , entérotoxine ShET2	plasmide pINV (locus <i>ial</i> : gènes <i>ipa</i> , <i>icsA</i> )	kératite du cobaye (test de Sereny), PCR de détection du plasmide pINV
<i>E. coli</i> entéro-aggrégatif	ECEAg (EAggEC)	Diarrhées infantiles persistantes (tiers monde)	3, 4, 7, 9, 15, 21, 51, 55, 59, 77, 86, 91, 92, 106, 111, 126, 127	fimbriae AAF (adhésion), entérotoxines EAST, Pet	plasmide pAA (gène <i>aaf</i> )	
<i>E. coli</i> à adhésion diffuse	ECAD (DAEC)	Rôle pathogène discuté	4, 15, 28, 44, 50, 55, 69, 75, 86, 125, 126, 127, 128	adhésines Afa, AIDA		

\* Syndrome hémolytique et urémique SHU

\*\* Purpura thrombotique thrombopénique PTT

# EHEC, STEC ou VTEC?

- STEC = VTEC

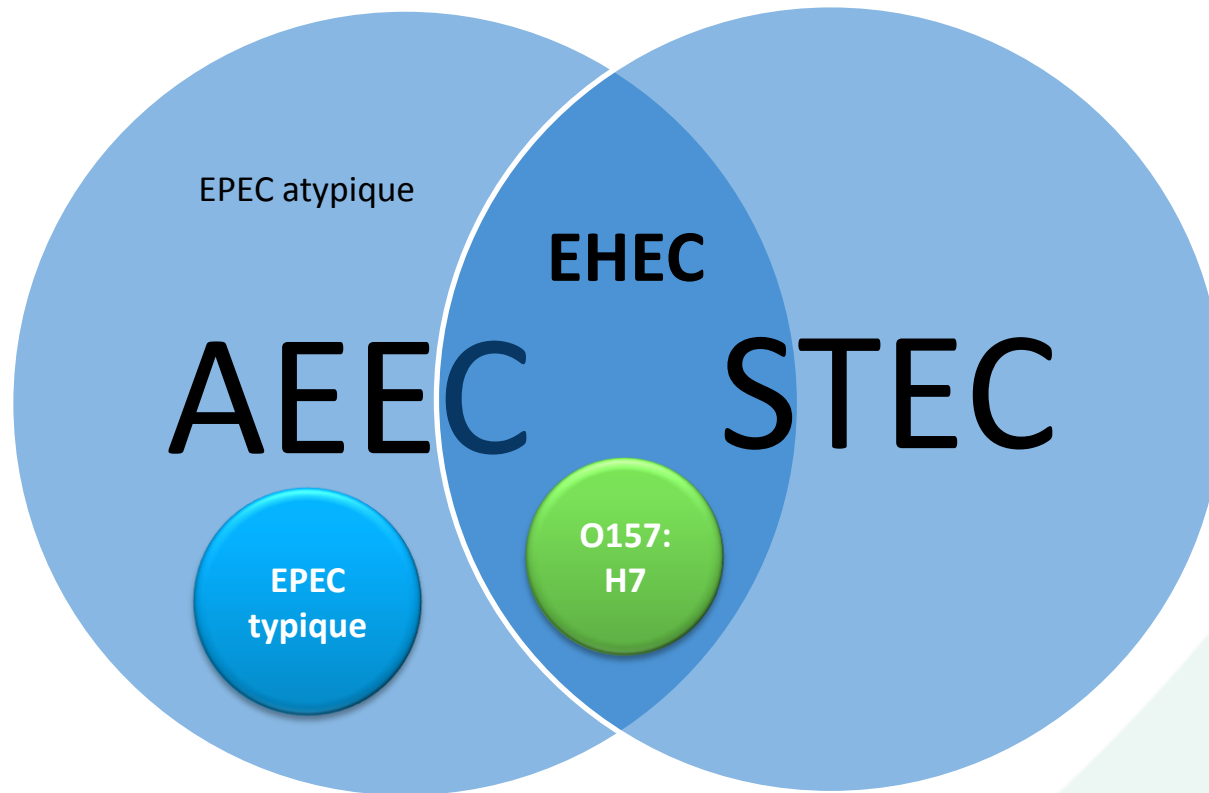
- Shigatoxin E.coli = Vero(cyto)toxin E.coli

- Toxines *Stx1*, *Stx2* et *Stx2-variant* = VT-1, VT-2 et VT-2 variant
- *Stx1*: structure et fonction similaire à la toxine produite par *Shigella dysenteriae* 1

- Infections de sévérité variable: diarrhée aqueuse, diarrhée sanglante, colite hémorragique, SHU, décès



# EHEC = STEC + protéines d'attachement-effacement

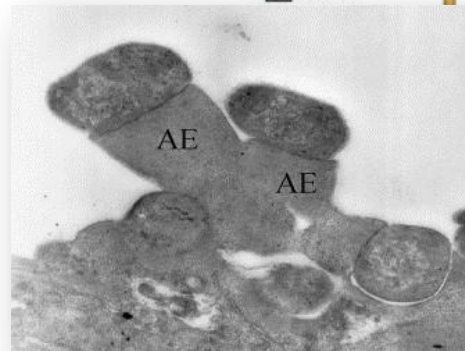
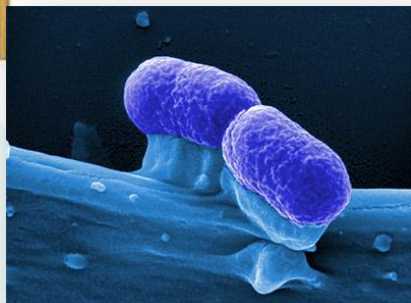
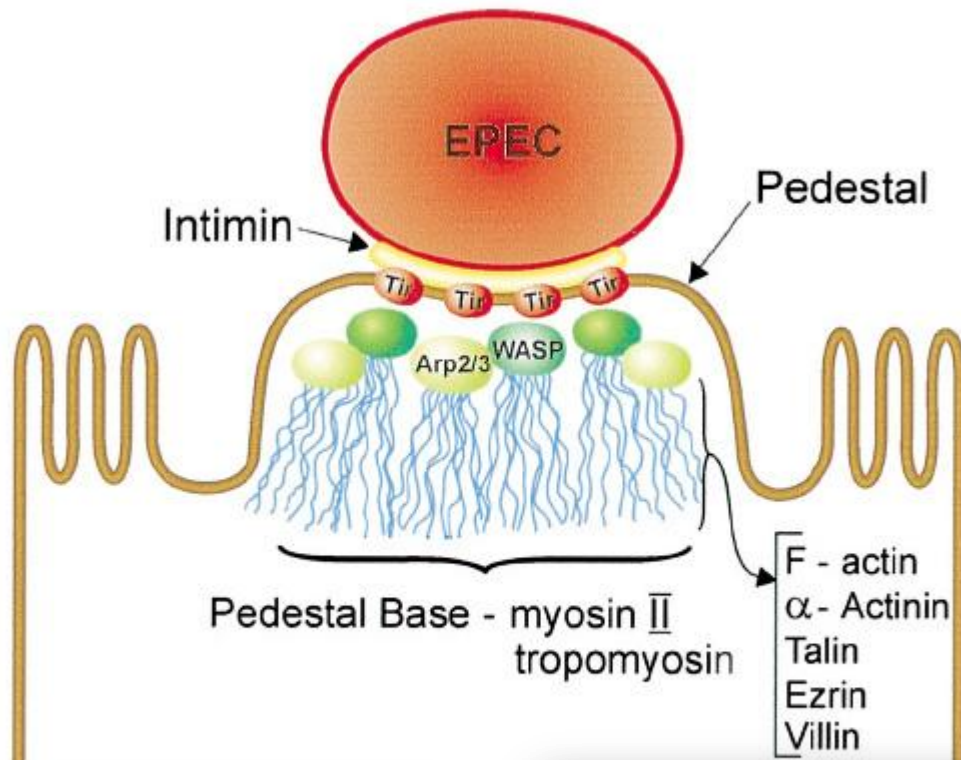


Adapté de Mandell,  
Douglas, and  
Bennett's Principles  
and Practice of  
Infectious Diseases  
–Elsevier 6<sup>th</sup> Ed

**EHEC: Plus d'épidémies, plus de complications, plus pathogènes que STEC non-EHEC**

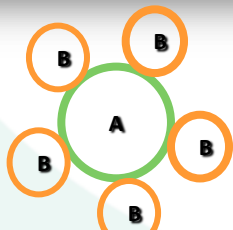
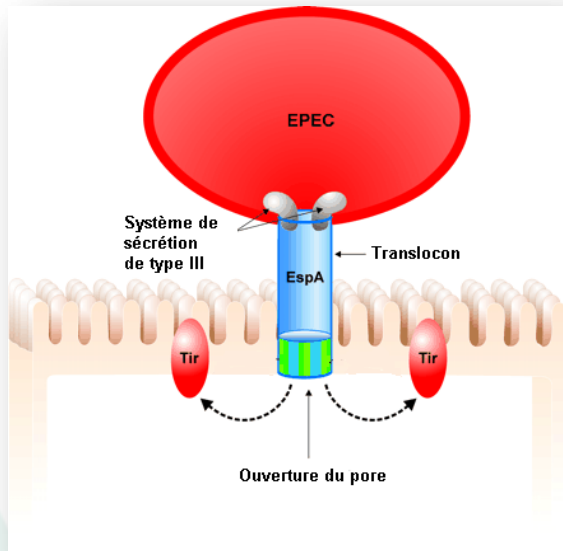
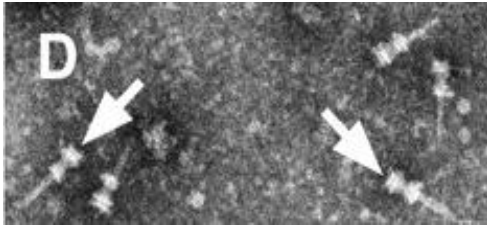


# Lésions d'attachement et effacement



- Effacement – destruction des microvillosités de l'épithélium intestinal (colon et caecum)
- Condensation de l'actine cellulaire → piédestal
- Adhésion étroite par l'intermédiaire de l'intimine (gène *eae*)

# Shigatoxines dans le SHU



Gb3  
(globotriosyl céramide)

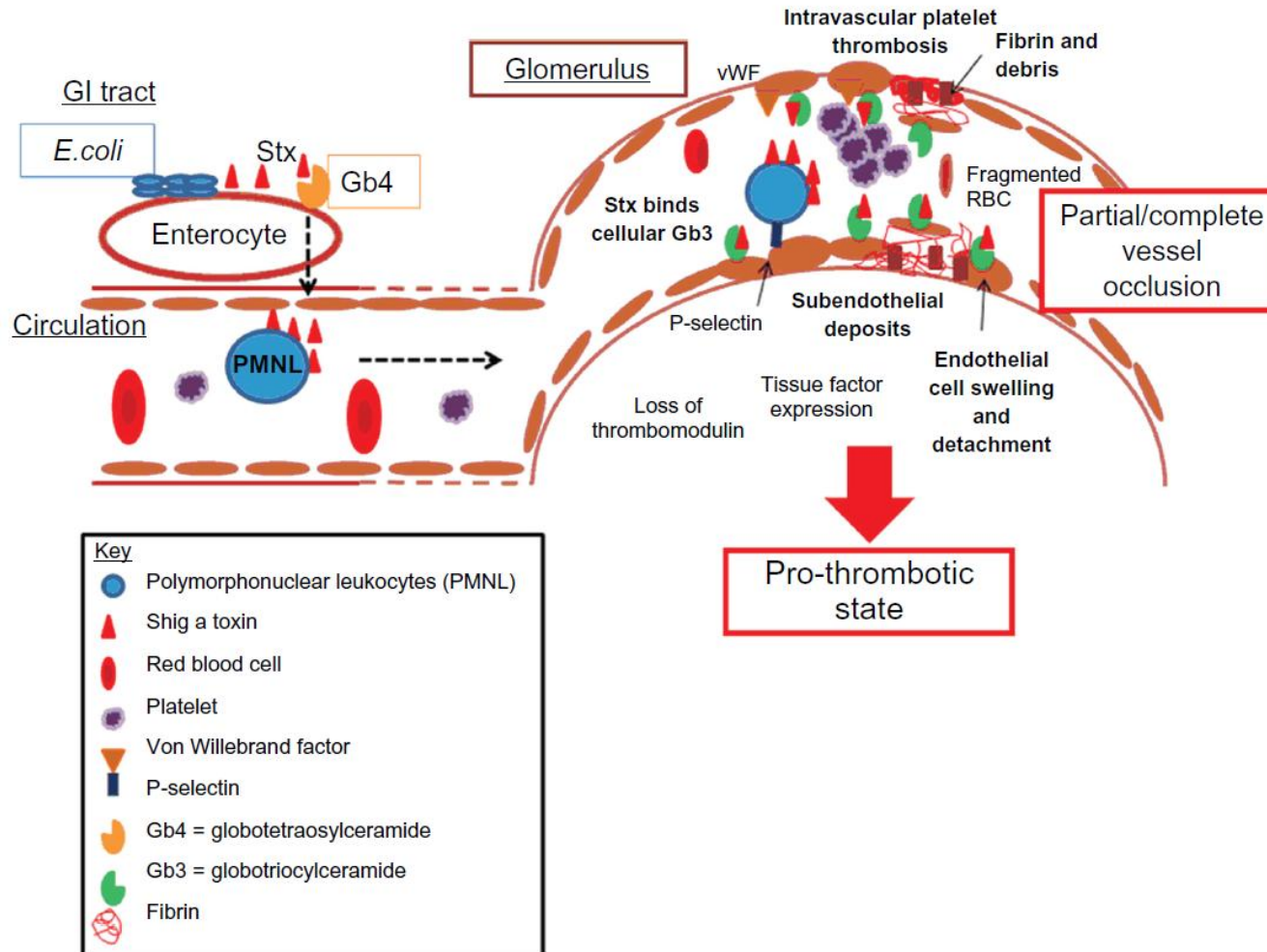
## Récepteurs glycolipidiques Gb3 (globotriosylcéramide)

- À la surface des entérocytes et des capillaires du tube digestif
- **Rein**
  - Localisation différente chez l'adulte et l'enfant (<glomérules) (Lingwood, *Nephron*, 1994)
- Pancréas, cerveau, foie, cœur, cellules hématopoïétiques

→ Mort par arrêt de la synthèse protéique (+ apoptose)

→ Dommage au niveau de l'endothélium vasculaire

# Shigatoxines dans le SHU



“ ...shigatoxin may lead to an acquired form of complement dysfunction and activation contributing to the disease process.”

Keir *et al*, Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies . Drug Design, Development and Therapy 2012:6

# Shigatoxines dans le SHU

- Stx1: virtuellement identique à la toxine produite par *Shigella dysenteriae* de type 1 (99%)
- Stx2: haut degré de similarité avec Stx1 (58%)
  - Variants Stx2: Stx2a, Stx2c, Stx2d, Stx2e et Stx2f
- STEC peuvent produire Stx1, ou Stx2 ou les 2
  - SHU plus fréquemment associé à la présence de Stx2 (seul ou avec Stx1) que Stx1 (1)

(1) Soborg et al. A verocytotoxin-producing E. coli outbreak with a surprisingly high risk of haemolytic uraemic syndrome, Denmark, September-October 2012. Euro Surveill. 2013 Jan 10;18(2).

# STEC: Acquisition de l'infection

## Contamination

- Viande de bœuf crue ou mal cuite
  - + Produits laitiers non pasteurisés, aliments souillés par de l'eau contaminée par des matières fécales (graines germées, cidre de pomme, légumes, ...)
- De personne à personne
  - Crèche, école
  - Maison de repos
  - Au sein d'une même famille





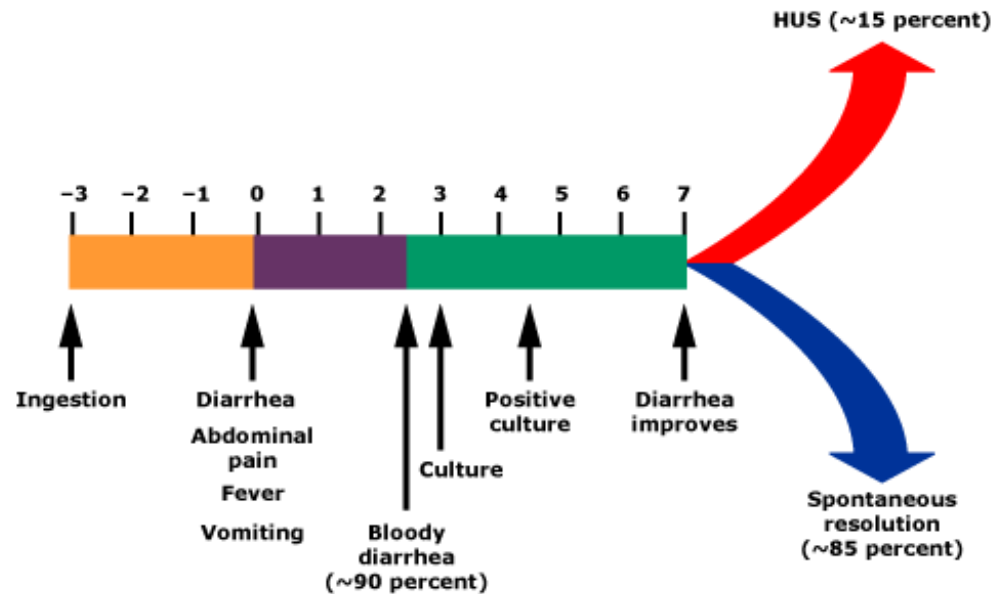
## Infection digestive

- Dose infectante faible  
(*<100 bactéries*)
- Incubation 3-4 j
- Crampes, diarrhée aqueuse
- Progression possible vers diarrhée sanglante
- Vomissements (1/2)
- Fièvre (1/3)
- Résolution spontanée après 1 semaine
- Complications: invagination, prolapsus rectal, SHU

## SHU

- 90% des SHU chez l'enfant sont Stx-associés
- 5 à 9 jours après le début des symptômes GI (apparition brutale)
- Enfants de moins de 5 ans
- Prodrome gastro-intestinal sévère
  - 20-25% des patients n'ont pas présenté de prodrome de diarrhée sanglante
- Mortalité: 1-2%
- Séquelles rénales: 30%
- Facteurs prédictifs de sévérité: âge < 2 ans, prodrome digestif sévère, leucocytose élevée et anurie précoce

## Progression of E coli O157:H7 infections in children



About three days after ingestion of the organism, the patient develops diarrhea, abdominal pain, fever, and vomiting. The diarrhea becomes bloody one to three days later, rarely on the first day. In 80 to 90 percent of infected children with positive cultures, visible blood is present in the stools. When bloody diarrhea first develops, the patient has a normal platelet count, creatinine concentration, and packed-cell volume, with no red-cell fragmentation. However, if studies of the coagulation and fibrinolytic systems are done early in the illness, there is evidence that thrombin generation is increased, fibrin deposition is occurring, and plasminogen activation is suppressed.

HUS: hemolytic uremic syndrome.

*Reproduced with permission from: Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing Escherichia coli and haemolytic uremic syndrome. Lancet 2005; 365:1073. Copyright ©2005 Elsevier.*

- **0,2 – 4 cas /100.000 habitants/an**
- Plus importante en **dessous de l'âge de 5 ans (5,5 cas /100.000/an)**
- Hémisphère nord: corrélation entre la distance par rapport à l'équateur et le nombre de cas de Stx-SHU (exception: Ecosse)
- Hémisphère sud → incidence la + élevée de SHU: en Argentine (10,5 cas/100.000/an)
- Populations rurales > urbaines
  - Exposition plus importante au bétail, à leurs excréments
  - USA: Taux d'Ac anti-LPS O157 plus élevé dans les populations rurales qu'urbaines
- En été et en automne
- Cas sporadiques ou épidémies

Tarr et al, SHIGA-TOXIN-PRODUCING ESCHERICHIA COLI AND HAEMOLYTIC URAEMIC SYNDROME. Lancet. 2005 Mar 19-25;365(9464):1073-86.

Gould *et al.* Epidemiology of shiga toxin-producing e. Coli. *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE* volume 10, number 5, 2013.

Keir *et al.*, Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies. *Drug Design, Development and Therapy* 2012:6

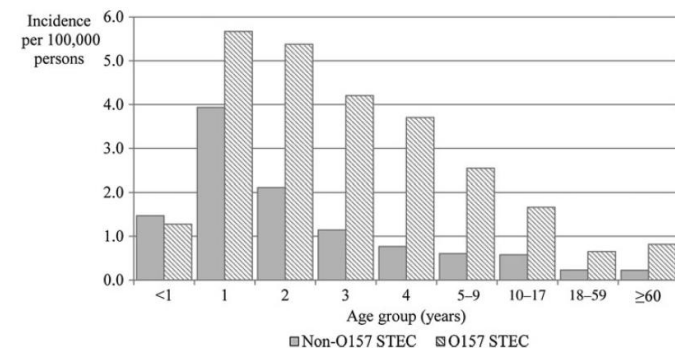
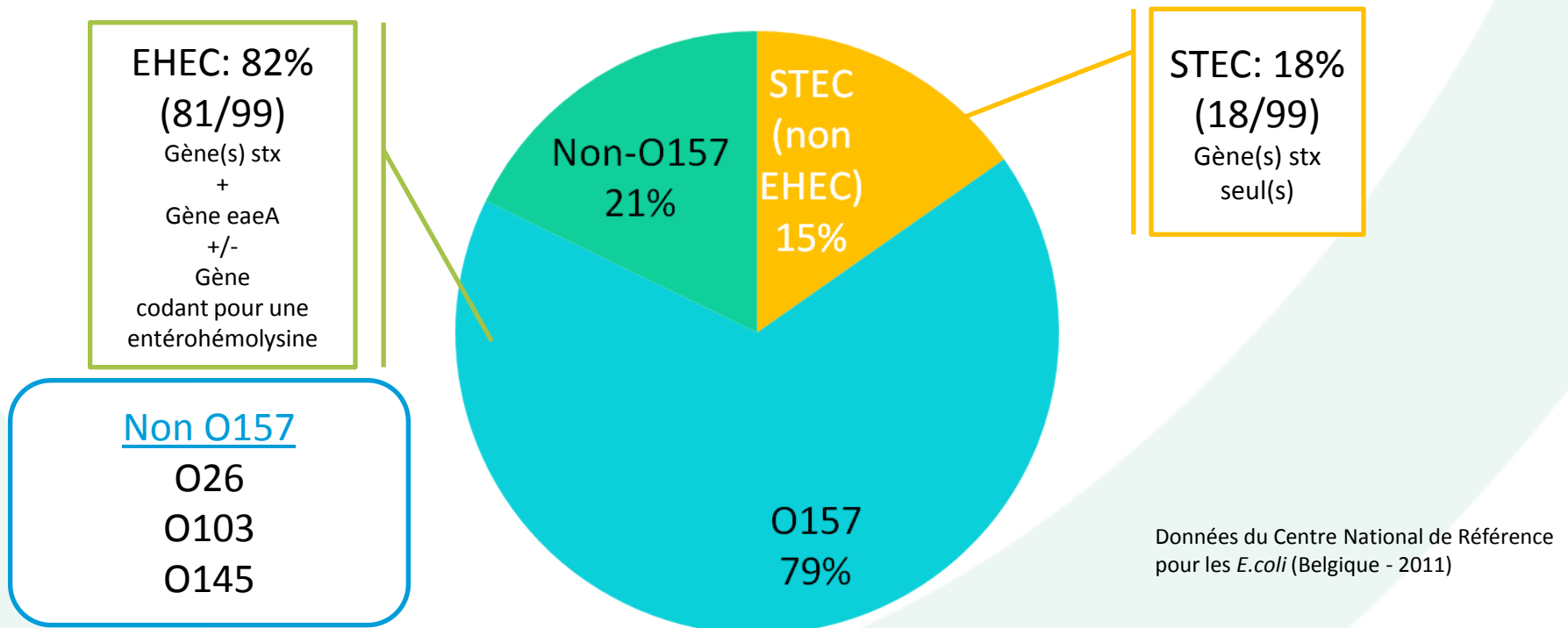


FIG. 3. Incidence of non-O157 and O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) infections reported by the 10 FoodNet sites, by age group, 2000–2010.

# Répartition sérotypique des STEC en Belgique

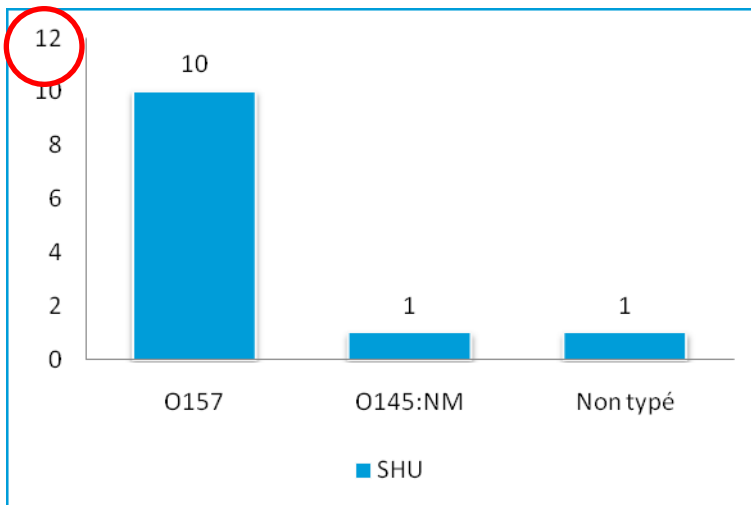
- + de 40 sérotypes décrits
  - O157:H7, O157:NM, O26:NM, O26:H11, O103:H2, O104:H21, O111:NM, O111:H2, O111:H8, O113:H21, O118:H2, O121:H19, O145:NM
- 5 séropathotypes: A (O157), B (O26, O111, O145, O103), C, D et E (sérotypes rencontrés chez l'animal)



# EHEC et SHU

Belgique, 2011: **12%** des STEC/EHEC responsable de SHU – Enfants <15 ans (Pas d'épidémie) (1)

Danemark, épidémie à EHEC O157:H7 en automne 2012: **62%** de SHU (8/13) – Age moyen : 14 ans (3-68 ans) (2)



- 8 enfants: < 8 ans
- 4 enfants: 9-15 ans

(1) Données du Centre National de Référence pour les *E.coli* (Belgique - 2011)

## TABLE

Verocytotoxin-producing *E. coli* O157 cases and proportion of haemolytic uraemic syndrome by toxin profile, Denmark, 1 January 1997–31 July 2012 (n=212)

Toxin profile	Total number of cases	Number of HUS cases	Proportion of HUS
<i>eae + vtx1a</i>	8	0	0
<i>eae + vtx1a + vtx2c</i>	85	0	0
<i>eae + vtx2c</i>	31	1	3%
<i>eae + vtx2a + vtx2c</i>	45	11	24%
<i>eae + vtx2a</i>	37	11	30%
<i>eae + vtx1a + vtx2a</i>	6	2	33%

HUS: haemolytic uraemic syndrome.

(2) Soborg et al. A verocytotoxin-producing *E. coli* outbreak with a surprisingly high risk of haemolytic uraemic syndrome, Denmark, September-October 2012. *Euro Surveill.* 2013 Jan 10;18(2).



# *E.coli* O104:H4

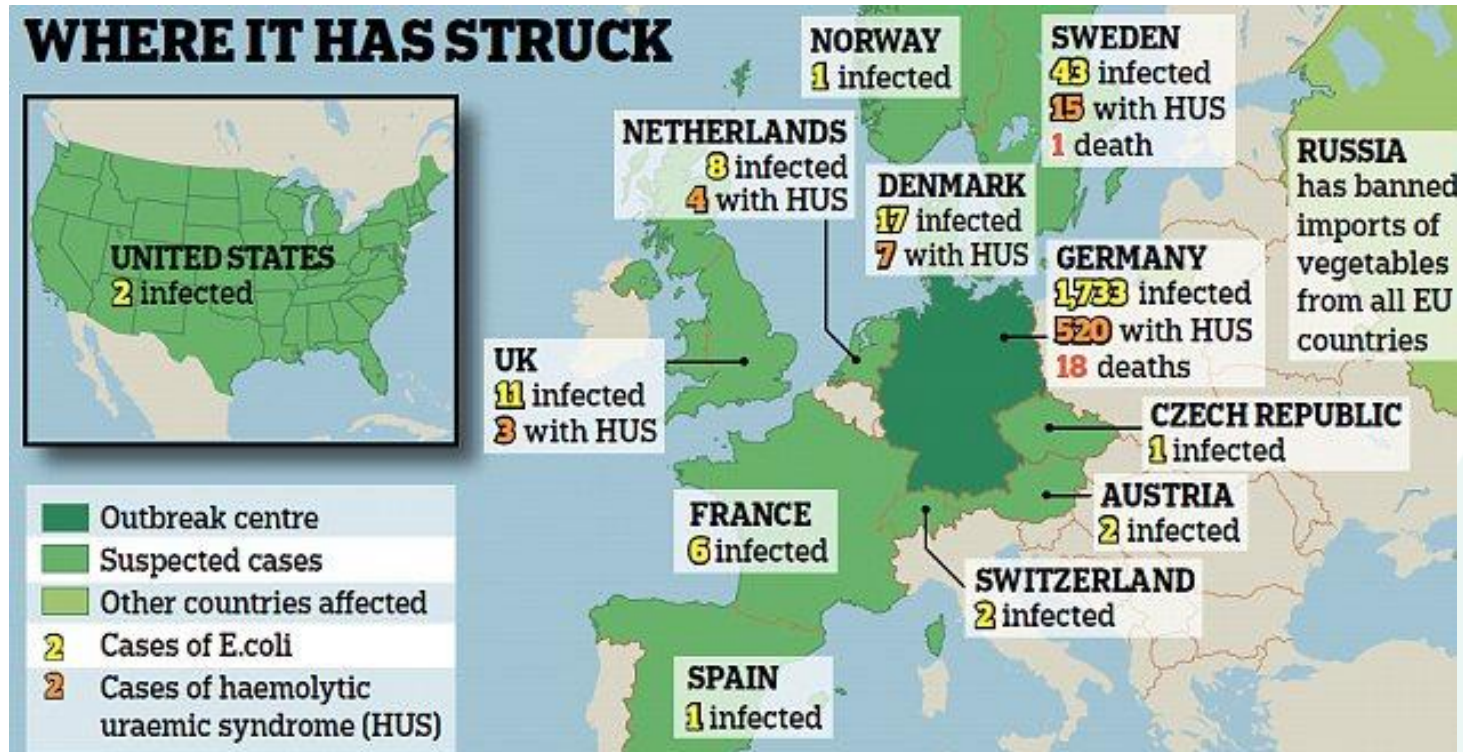


## « La plus large épidémie d'EHEC décrite à ce jour »

- Mai 2011: début de l'épidémie en Allemagne
- 4320 cas de diarrhée glairo-sanglante, 850 SHU, 126 décès
- Incubation: 7-9 jours
- 88% d'adultes (> 17 ans)
  - Femmes: 2/3 cas
  - Enfants: la plupart > 10 ans
- 25 % des patients infectés ont développé un SHU

Mariani-Kurkdjian P *et al.* Escherichia coli O104:H4: a hybrid pathogen. Arch Pediatr. 2012 Nov;19 Suppl 3:S97-100.

# *E.coli* O104:H4... La Belgique épargnée



Pas une zoonose → transmission interhumaine et alimentaire  
(contamination de graines germées par des matières fécales  
d'Homme)

# Source identifiée?

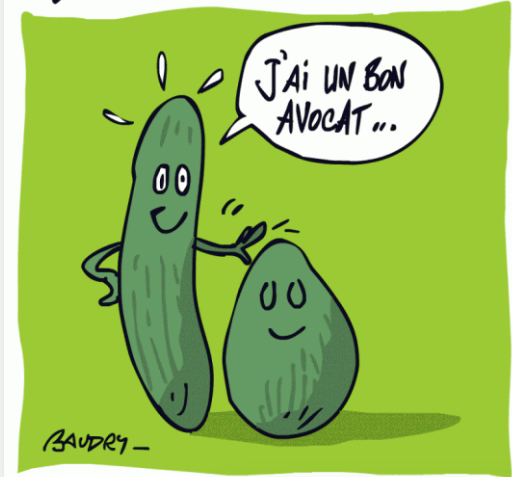


25 mai 2011



10 juin 2011

LE CONCOMBRE  
ESPAGNOL DISCULPÉ.



LE CONCOMBRE ESPAGNOL  
LAVÉ DE TOUT SOUPÇON...

MA... YÉ  
L'AVAÏT DIT!



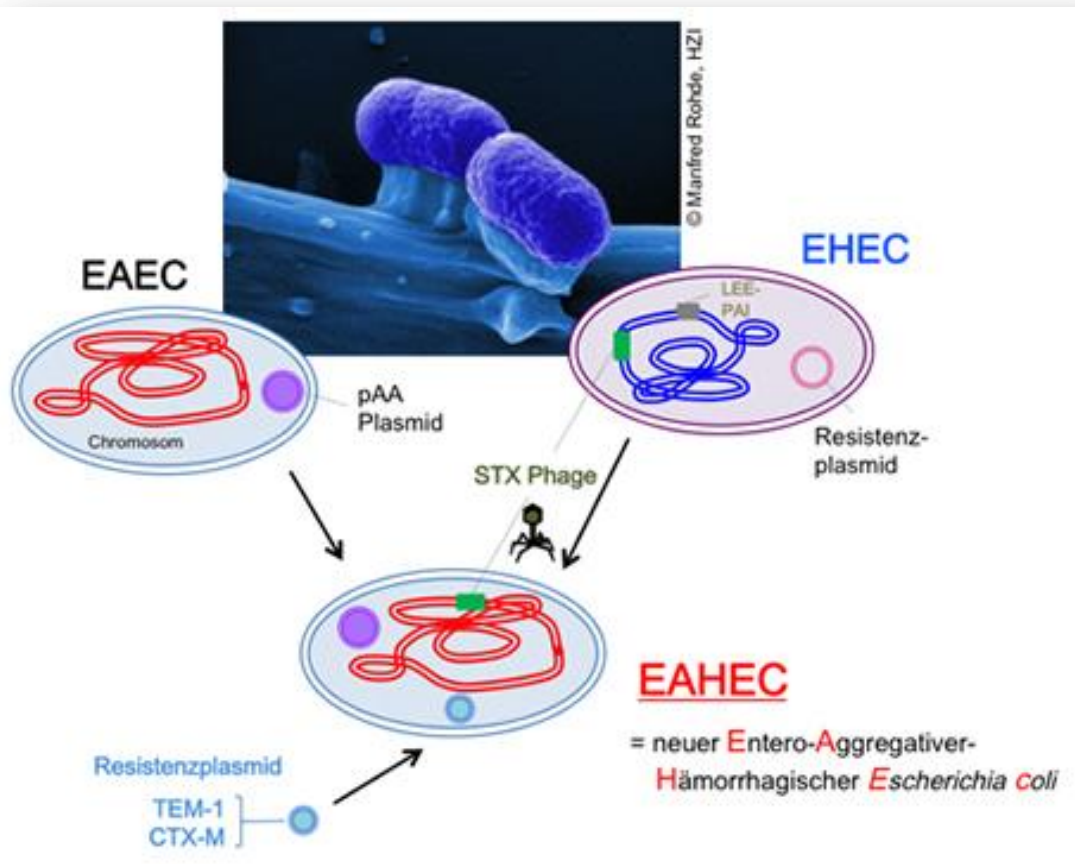
LE LOSER DU MOIS

JE SUIS  
PRODUCTEUR  
DE  
CONCOMBRES  
ET  
DE GRAINES  
GERMÉES





## *E.coli* O104:H4... Un pathogène hybride



- Shigatoxine 2 (variant vtx 2a)
- Fimbriae d'adhésion aggrégative (AAF)
- Facteurs de virulence d'*E.coli* extra-intestinaux (EXPEC)
- BLSE de type CTX-M15

# Diagnostic microbiologique du D+SHU

## Prélèvements

- Coproculture (*ou frottis anal*)
  - MAX 4-6 jours après le début des prodromes digestifs
- (Urine)

Nécessité d'identifier, de sérotyper et/ou de mettre en évidence les shigatoxines à partir des colonies suspectes

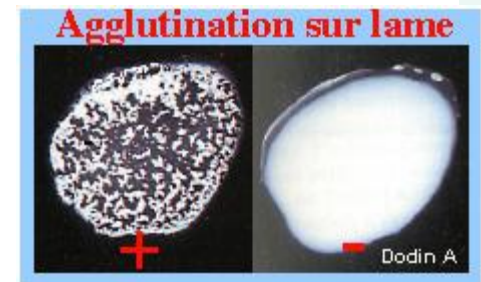
## Mise en culture

- Enrichissement des selles en eau peptonée (4-6h à 37°C)
- Inoculation sur gélose sélective: SMAC /CT- SMAC/Chromagar O157
  - Mise en évidence des *E.coli* O157:H7 (sorbitol -)
- Inoculation sur gélose « WSBA-Ca » (*washed sheep blood agar supplemented with calcium*)
  - Mise en évidence des *E.coli* O157 et non O157 (entérohémolysine +)



# Recherche des toxines et des antigènes O

- À partir de selles - bouillons d'enrichissement – colonies (isolées ou non) *(variable selon la méthode et le fabricant)*
- Immuno-chromatographie (Stx 1 et 2)
- Immunoassays
  - Antigènes O157 +/- O111 et O26
  - Shiga-toxines
- Agglutination sur billes de latex ou en tube
  - Antigènes O157 +/- O145, O128, O111, O103, O91, O26



A partir d'une selle, la détection d'un STEC (antigène ou shigatoxine) par un test rapide doit être poursuivie par la mise en culture de cette selle afin de caractériser l'*E.coli* dans un but de Santé publique

# Gènes de virulence par PCR

## Detection of Diarrhegenic *Escherichia coli* by Use of Melting-Curve Analysis and Real-Time Multiplex PCR<sup>∇</sup>

Chase E. Guion,<sup>1</sup> Theresa J. Ochoa,<sup>1,2</sup> Christopher M. Walker,<sup>1</sup>  
Francesca Barletta,<sup>2</sup> and Thomas G. Cleary<sup>1\*</sup>

TABLE 2. Primers for multiplex real-time PCR for diarrhegenic *E. coli* genes<sup>a</sup>

Gene	Orientation <sup>b</sup>	Primer sequence (5'→3')	Final concn (μM)	Amplicon size (bp)	Amplicon $T_m$ (mean ± SD)	Source or reference
<i>eaeA</i>	F	ATGCTTAGTGCTGGTTTAGG	0.56	248	83.4 ± 0.08	29
	R	GCCTTCATCATTTTCGCTTTC	0.56			
<i>aggR</i>	F	CGAAAAAGAGATTATAAAAATTAAC	0.44	100	77.2 ± 0.26	This study
	R	GCTTCCTTCTTTTGTGTAT	0.44			
<i>daaD</i>	F	TGAACGGGAGTATAAGGAAGATG	0.50	444	93.2 ± 0.38	This study
	R	GTCCGCCATCACATCAAAA	0.50			
<i>ipaH</i>	F	GTTCCCTTGACCGCCTTTCGATACCGTC	0.04	619	90.9 ± 0.15	24
	R	GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	0.04			
<i>stIa</i>	F	TTTCCCCTCTTTTAGTCAGTCAA	0.26	159		
<i>stIb</i>	F	TGCTAAACCAGTAGAGTCTTCAAAA	0.26	138	80.6 ± 0.23	This study
<i>st</i>	R	GCAGGATTACAACAATTACAGCAG	0.26			
<i>stx<sub>1</sub></i>	F	CTGGATTTAATGTCGCATAGTG	0.12	150	87.0 ± 0.13	15
	R	AGAACGCCCACTGAGATCATC	0.12			
<i>stx<sub>2</sub></i>	F	GGCACTGTCTGAAACTGCTCC	0.08	255	89.1 ± 0.34	
	R	TCGCCAGTTATCTGACATTCTG	0.08			
<i>lt</i>	F	TCTCTATGTGCATACGGAGC	0.36	322	85.8 ± 0.18	26
	R	CCATACTGATTGCCGCAAT	0.36			

<sup>a</sup>  $T_m$  data are based on evaluation of 90 diarrhegenic *E. coli* strains. EPEC strains are *eaeA* positive and *stx* negative; STEC strains are usually *eaeA* positive and *stx<sub>1</sub>* and/or *stx<sub>2</sub>* positive; EAEC strains are *aggR* positive; DAEC strains are *daaD* positive; EIEC strains are *ipaH* positive; ETEC strains are *st* and/or *lt* positive.

<sup>b</sup> F, forward; R, reverse.

# Quand le diagnostic microbiologique est négatif...

- Sérodiagnostic
  - Ac anti-LPS (antigène O): élévation significative du titre entre 2 sérums
  - Patient atteints de SHU, avec un diagnostic microbiologique négatif (délai entre diarrhée et SHU)
    - Ac en principe présent lors de l'apparition du SHU → si résultat négatif: contrôler la sérologie 15 jours plus tard
  - Études épidémiologiques

Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 61B:40–44 (2004)

## **Technical Innovation**

### **Flow Cytometry Detection of Shiga Toxins in the Blood From Children With Hemolytic Uremic Syndrome**

Pier Luigi Tazzari,<sup>1</sup> Francesca Ricci,<sup>1</sup> Domenica Carnicelli,<sup>2</sup> Alfredo Caprioli,<sup>3</sup> Alberto E. Tozzi,<sup>4</sup> Gianfranco Rizzoni,<sup>4</sup> Roberto Conte,<sup>1</sup> and Maurizio Brigotti<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale, Ospedale S. Orsola-Malpighi, Bologna, Italy

<sup>2</sup>Dipartimento di Patologia Sperimentale, Università di Bologna, Italy

<sup>3</sup>Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

<sup>4</sup>Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italy

## En pratique, beaucoup de problèmes...

- Dépistage de toutes les selles/selles sanglantes?
- Gélose SMAC: que *E.coli* O157:H7 (?)
- Détection des shiga-toxines < selles puis mise en culture pour isoler le STEC
  - Combien de colonies à tester avant de trouver le STEC? (*min. 3*)
- Technique d'enrichissement (IMS)?
- Aucun remboursement pour la détection de STEC O157

# ... une solution

## CNR pour les *E.coli* producteurs de verotoxines/ shigatoxines

### CENTRE DE RÉFÉRENCE POUR *E. COLI* PRODUCTEURS DE VEROTOXINES/SHIGATOXINES (VTEC/SIEC)

FORMULAIRE A RENOYER AVEC L'ÉCHANTILLON AU CENTRE DE RÉFÉRENCE :  
 Prof. Dr. D. Piérard  
 UZ Brussel - Microbiologie en Ziektenhygiëne  
 Laarbeeklaan 101, 1050 Jette  
 Tél. : 02 4775000  
 E-mail : labomicro@uzbrussel.be

#### IDENTIFICATION DU LABORATOIRE QUI ENVOIE L'ÉCHANTILLON

Nom du responsable : .....  
 Nom du laboratoire : .....  
 Service : .....  
 Adresse : .....  
 Code postal + localité : .....  
 Tél. : ..... Fax : .....  
 Adresse email : .....

#### CADRE RÉSERVÉ AU CENTRE DE RÉFÉRENCE

##### INFORMATIONS CLINIQUES

Le patient a-t-il été hospitalisé :  oui  non  
 Issue :  décédé date de décès : .....  
 encore malade  guéri  inconnu  
 Manifestations gastro-intestinales :  oui  non  
 Date de début des symptômes : .....  
 - Diarrhée  oui  non  
     o Si oui, sanglante ?  oui  non  
 - Douleurs abdominales  oui  non  
 pas de manifestations gastro-intestinales  
 autres, donner des détails : .....

Syndrome urémique hémolytique :  oui  non

Date de début des symptômes : .....

Donner les valeurs biologiques les plus anormales :

- Insuffisance rénale aiguë :  oui  non  
     o Cr at nine sanguine : unit  : .....  
     o Clearance de la cr at nine : unité : .....  
 - Anémie hémolytiques microangiopathique :  oui  non  
     o Hémoglobine : unit  : .....  
     o Présence de schistocytes :  oui  non  
 - Thrombocytopénie  
     o Plaquettes : unité : .....  
 Autres complications, donner des détails .....

##### INFORMATIONS EPIDEMIOLOGIQUES

Cas isolé :  oui  non  inconnu  
 Cas regroupés :  oui  non  inconnu  
 Si oui, donner des détails : .....  
 Le patient a-t-il séjourné récemment en dehors de son domicile (en Belgique ou à l'étranger) pendant les 12 jours qui ont précédé les symptômes gastro-intestinaux :  oui  non  inconnu  
 Si oui, dans quel pays ou région : .....

#### RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PATIENT

Nom (initiales/autre code) : .....  
 Sexe :  H  F  inconnu  
 Date de naissance (ou âge) : .....  
 Code postal/Localité : .....  
 Nationalité : .....

#### RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ÉCHANTILLON

**Selles**  
 Numéro d'identification : .....  
 Date de prélèvement : .....  
 Nature :  selles ( chantillon préféré)  
 Frottis anal (uniquement en cas de SHU)  
 Autres : .....  
 Matériel envoyé :   chantillon de selles fraiches  
 réisolement primaire de matières fécales sur gélose entérique.  
**Souche**  
 Numéro d'identification : .....  
 Date d'isolement : .....  
 Nature de l'échantillon d'où la souche a été isolée : .....  
**Serum**  
 Numéro d'identification : .....  
 Date de prélèvement : .....  
 Un premier échantillon a-t-il été examiné ?  oui  non  
 Si oui : Référence : .....  
 Date : .....

### RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ÉCHANTILLON

Selles

sanglantes

Numéro d'identification : .....

Date de prélèvement : .....

Nature :  selles ( chantillon préféré)  
 Frottis anal (uniquement en cas de SHU)  
 Autres : .....

Matériel envoyé :   chantillon de selles fraiches  
 réisolement primaire de matières fécales sur gélose entérique.

Souche

Numéro d'identification : .....

Date d'isolement : .....

Nature de l'échantillon d'où la souche a été isolée :

Serum

Numéro d'identification : .....

Date de prélèvement : .....

Un premier échantillon a-t-il été examiné ?  oui  non

Si oui : Référence : .....

Date : .....

## Recommendations for Diagnosis of Shiga Toxin--Producing *Escherichia coli* Infections by Clinical Laboratories

**TABLE 1. Comparison of laboratory testing strategies for Shiga toxin--producing *Escherichia coli* (STEC)**

Testing method*	O157 STEC confirmed within 24 hrs	O157 STEC isolate obtained within 24 hrs	Shiga toxin--negative variants of O157 STEC detected	Sorbitol-fermenting variants of O157 STEC detected	All STEC serotypes detected within 24 hrs	Shiga toxin--positive sample available for isolation of STEC within 24 hrs	Comments
Simultaneous culture for O157 STEC and nonculture assay for Shiga toxin	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	<ul style="list-style-type: none"> <li>Recommended practice</li> </ul>
Nonculture assay for Shiga toxin followed by culture for O157 STEC if Shiga toxin assay is positive	No	No	No	Yes	Yes	Yes	<ul style="list-style-type: none"> <li>Delays detection and isolation of O157 STEC</li> <li>Delays forwarding of Shiga toxin--positive broths for isolation of non-O157 STEC</li> <li>Misses O157 STEC that are not actively expressing toxin or have lost Shiga toxin genes</li> </ul>
Nonculture assay for Shiga toxin with rapid submission to public health laboratory	No	No	No	Yes	Yes	Yes	<ul style="list-style-type: none"> <li>Delays detection and isolation of O157 STEC</li> <li>Misses O157 STEC that are not expressing toxin or have lost Shiga toxin genes</li> </ul>
Culture for O157 STEC	Yes	Yes	Yes	No	No	No	<ul style="list-style-type: none"> <li>Misses sorbitol-fermenting variants of O157 STEC</li> <li>Misses non-O157 STEC</li> </ul>

\* Performance characteristics reflect use of nonculture assays for Shiga toxin with overnight enrichment broths or growth from the primary isolation plate. Enrichment broths are strongly recommended for the routine diagnostic testing of fecal specimens with nonculture Shiga toxin tests. Because stool specimens can contain inhibitors and might have few target organisms, the sensitivity of nonculture Shiga toxin tests when performed directly on stool specimens is generally insufficient to reliably exclude infection with the target organism (Source: Cornick NA, Jelacic S, Ciol MA, Tarr PI. *Escherichia coli* O157:H7 infections: discordance between filterable fecal Shiga toxin and disease outcome. *J Infect Dis* 2002;186:57-63.)



Conservation  
+4°C, max 1 semaine  
(idéalement dans les 24h,  
sans réfrigération)

Selles

Culture  
sur gélose  
SMAC

Tous les  
jours

PCR  
« STX »

NEG

Typage pour les sérogroupes O et H  
+  
PCR pour les facteurs de virulence  
majeurs: **Stx1, Stx2, Stx2 variants,**  
**intimine, entérohemolysine, gènes aggR**  
**et aaiC** (< *E. coli* entéroaggrégatif)

**Positive:**  
examen  
individuel des  
colonies  
(PCR « STX »)

70%

30%

PAS de  
colonie  
individuelle  
identifiée

### Sérologie

**Ac anti-*E.coli*** O26, O103, O111, O121, O145, O157

# STEC: déclaration obligatoire

- Toute présomption de STEC doit être **envoyée au CNR**
  - Confirmation
  - Caractérisation
  - Surveillance épidémiologique
- Infection à STEC => maladie à déclaration obligatoire, **par le laboratoire demandeur et par le clinicien**



The screenshot shows the MATRA website header with the logo and navigation links: Accueil, Fiches, Contacts, Flash. Below the header is a red-bordered box with the following text:

**Déclaration obligatoire des maladies transmissibles** | Accueil | Fiches | Contacts | Flash

ATTENTION : Plusieurs clusters de cas d'oreillons touchent actuellement différentes provinces de la Belgique. Les oreillons sont à déclaration obligatoire. Pour plus d'informations, la cellule d'inspection d'hygiène de la FWB est à votre disposition via le 070/246 046 ou par mail (surveillance.sante@cfwb.be)

**Liste des maladies à déclaration obligatoire**

La sévérité de la maladie, l'absence de moyen thérapeutique, le potentiel épidémique implique une prise de mesures de prévention et de contrôle qui impose une déclaration obligatoire dès suspicion clinique des pathologies suivantes :

- Botulisme
- Choléra
- Coqueluche
- Diphtérie
- Fièvre hémorragique virale
- Infection à E. coli EHEC : syndrome hémolytique urémique
- Infection invasive à méningocoque
- Listériose
- Peste
- Poliomyélite (paralysie flasque aigue)
- Rage
- Rougeole
- SARS
- Toxi Infection Alimentaire Collective
- Variole
- Tout autre problème infectieux à présentation particulière

# Place des antibiotiques

- Revue des études relevantes (10)
  - Pas de différence significative avec/sans ATB: 6/10
  - Effet bénéfique des ATB: 1/10
  - Augmentation du risque de SHU avec ATB: 3/10
- **Libération massive de shigatoxines**
  - ATB bactéricides (vs bactériostatiques)
  - Lyse bactérienne
  - Induction de l'expression des gènes *stx* (bactériophages)
    - Clone-dépendante
    - ATB-dépendant: quinolones surtout (pas avec **macrolides, fosfomycine et carbapénèmes**)
- **Délai d'administration**
  - Précoce: ≤ 2 jours
- **Utilisation des ATB non recommandée**

Keir *et al.* Drug  
Design,  
Development and  
Therapy 2012:6

## « Pistes » de traitements:

### Infusions/Echanges plasmatiques

*“No evidence indicates that plasma infusion or exchange therapies improve outcome of Stx-induced HUS”*

### Inhibiteurs du complément (eculizumab)

*“Some patients with Stx-HUS demonstrate evidence of complement activation”*

### Ac monoclonaux anti-Stx

*“Among newer treatments for eHUS, development of Stx-neutralizing monoclonal antibodies is the most advance”*

Bitzan M *et al.* Treatment of typical (enteropathic) hemolytic uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost.* 2010 Sep;36(6):594-610

Vaccination: Agir à la source en vaccinant le bétail afin de réduire le portage des STEC au niveau digestif



DNA vaccine encoding the major virulence factors of Shiga toxin type 2e (Stx2e)-expressing *Escherichia coli* induces protection in mice

Wenkai Ren<sup>a,c</sup>, Rui Yu<sup>b</sup>, Gang Liu<sup>a,d,\*</sup>, Nengzhang Li<sup>c</sup>, Yuanyi Peng<sup>c,\*\*</sup>, Miaomiao Wu<sup>a</sup>, Yulong Yin<sup>a,\*\*\*</sup>, Yinghui Li<sup>a</sup>, Andrew A. Fatufe<sup>a</sup>, Teijun Li<sup>a</sup>



Efficacy of a vaccine and a direct-fed microbial against fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in a randomized pen-level field trial of commercial feedlot cattle

Charley A. Cull<sup>a</sup>, Zachary D. Paddock<sup>a</sup>, T.G. Nagaraja<sup>a</sup>, Nora M. Bello<sup>b</sup>, Abram H. Babcock<sup>c</sup>, David G. Renter<sup>a,\*</sup>

# D-SHU et Pneumocoque

- 5-15% des SHU chez l'enfant
  - 40% des SHU atypiques
- Enfants < 2 ans
- 3-13 jours après une infection pneumococcique
- Le + souvent associé à des pneumonies sévères (avec épanchements pleuraux, empyème)
  - Mais aussi secondaire à une méningite (mortalité + élevée)
- Évolution clinique plus longue et sévère; séquelles à long terme plus importantes qu'avec D+SHU

## Rôle clé de la NEURAMINIDASE

- Exposition de l'Ag de Thomsen-Friedenreich (=Ag T: cryptoantigène) à la surface des GR, plaquettes, glomérules et hépatocytes
  - Réaction avec des IgM préformées anti-T (*Ac froids*)
  - Polyagglutination, hémolyse, lésions endothéliales
- **Désialylation du site de fixation du facteur H, un inhibiteur de la voie alterne du complément**
- Autres organismes produisant la neuraminidase: *Capnocytophaga canimorsus*, Influenza A

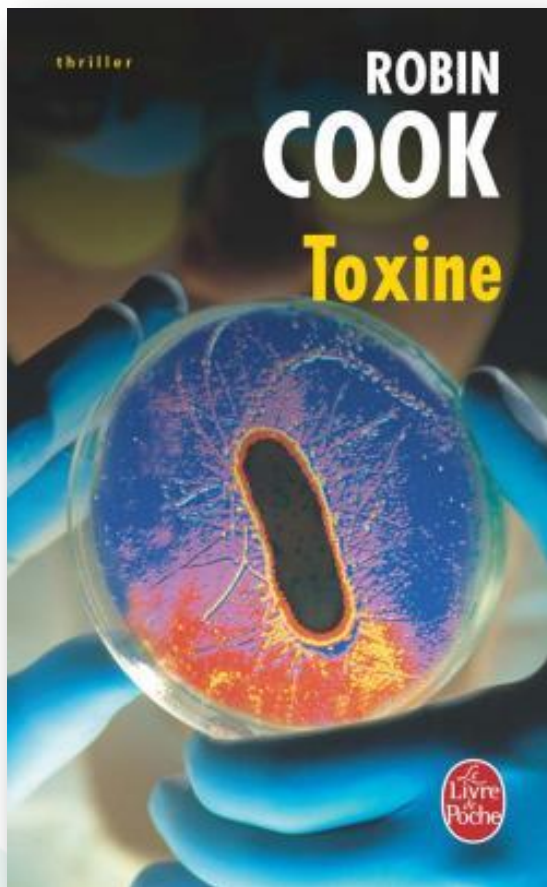


**D+SHU**  
**« Take-home  
message »**



- STEC: 90% des causes de SHU
  - Enfants <5 ans
  - Cas sporadiques, épidémies d'origine alimentaire
  - Shigatoxines produites par EHEC O157:H7 mais pas seulement!
    - EHEC + virulents que STEC
    - Virulence dépend du type de toxine (Stx2a>Stx2>Stx1)
  - Diagnostic microbiologique/sérologique → envoi au CNR (UZ Brussels)
    - Déclaration obligatoire
  - Usage des antibiotiques controversé
- Autres causes microbiologiques de SHU
  - *S.dysenteriea* de type 1
  - Infections urinaires à EHEC/STEC
  - Pneumocoque (+ Influenza A)

# Merci de votre attention...



## Résumé

A priori, ce n'était qu'une banale intoxication alimentaire, qu'avait contractée la petite Becky en mangeant un hamburger-frites dans son fast-food préféré. Mais à l'hôpital, Kim Reggis, son père, lui-même médecin, a très vite compris que c'était plus grave. La viande contenait une toxine mortelle. Et l'état de Becky ne cesse d'empirer...

Alors commence le combat d'un homme en révolte. D'indice en indice, remontant les filières, Kim va débrouiller l'écheveau de pratiques frauduleuses, appuyées sur des complicités qui s'étendent des abattoirs industriels aux plus hautes instances des ministères. Avec l'aide de Marsha, une jeune inspectrice de l'Agriculture, il va tout tenter pour contrecarrer les agissements d'une industrie alimentaire devenue pire qu'une mafia...

Un roman aux résonances très actuelles, signé par le maître incontesté du thriller médical, auteur entre autres de *Risque mortel* et de *Contagion*.





# Plan

- Etiologies infectieuses du SHU

- E.coli O157:H7 et autres EHEC : 90%

- Background et nomenclature

- Pathogénèse

- Diarrhée

- SHU: typical, classical, or diarrhea-associated HUS, D+ HUS,

- » D+ HUS: aussi pour infection à STEC autre que diarrhée (urine), et diarrhée à *Shigella dysenteriae* serotype 1

- Diagnostic microbiologique

- epidemiologie

- Place de l'antibiothérapie?

- Prévention

- Autres: atypical, nondiarrhea-associated HUS, D- HUS, or sporadic HUS

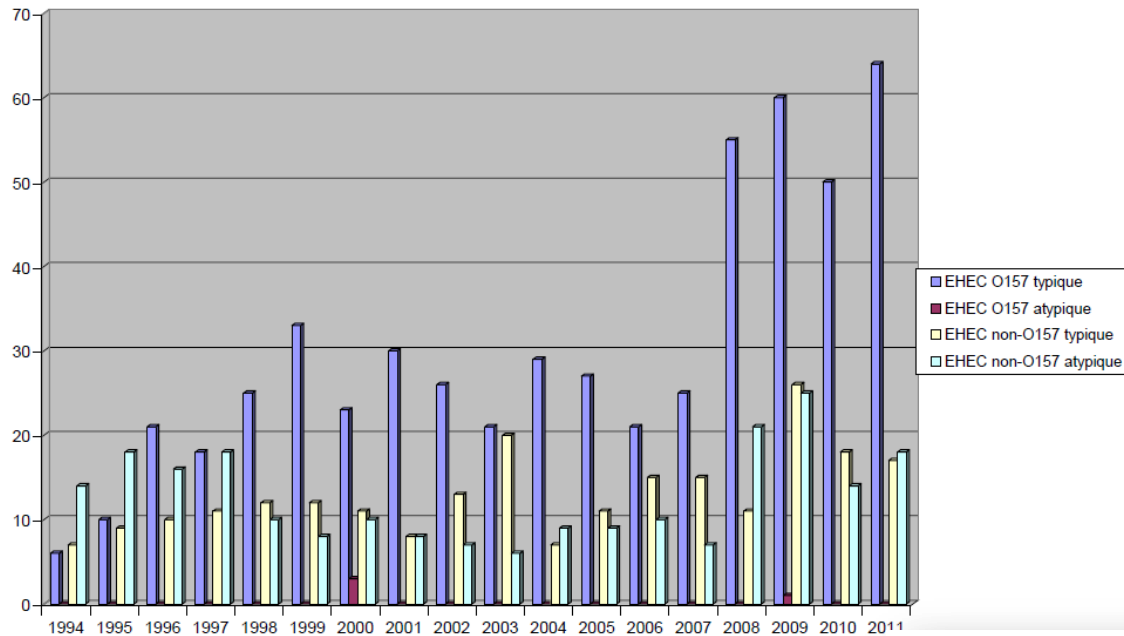
- *Streptococcus pneumoniae*: 5%, plus sérieux en terme de morbidité/mortalité - pneumonie avec empyème, méningite– neuraminidase bactérienne

- Neuraminidase cleaves sialic acid on the cell glycocalyx, resulting in the exposure of the Thomsen-Friedenreich antigen (T antigen) on red blood cells, platelets, and glomeruli. The T antigen is recognized by a natural IgM antibody, a normal plasma constituent, which leads to polyagglutination of patients' red cells and hemolysis. However, two observations argue against an important role for the T antigen. First, the IgM is a cold antibody and is therefore unlikely to cause agglutination in vivo. Second, T antigen can be detected in approximately half of children with invasive pneumococcal disease without HUS and is not found in children with pneumococcal associated-HUS

- HIV: its incidence in the post-highly active antiretroviral therapy (HAART) era appears to be declining



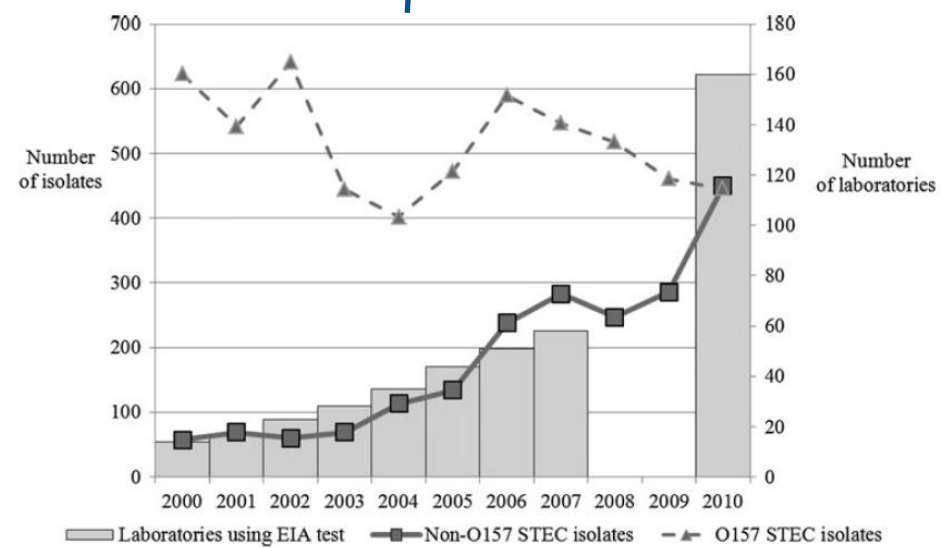
Figure 1 : *E. coli* : nombre d'isolats O157 et non-O157 typiques et atypiques (N; 1994-2011)



Belgique

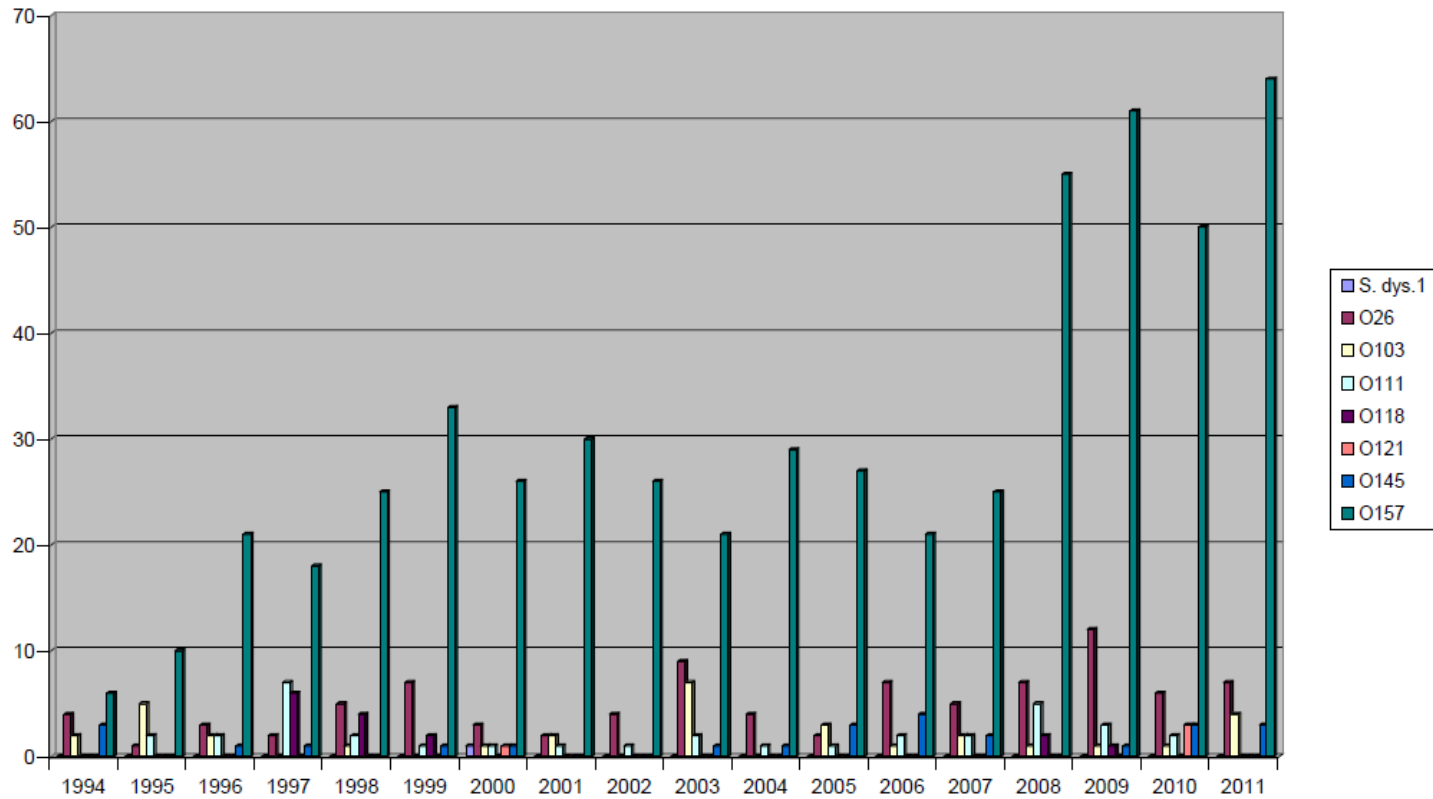
USA

“ As more laboratories implement culture-independent testing for the Shiga toxins, the number of non-O157 STEC reported will continue to increase(Hoefer et al., 2010).”



# Sérotype et virulence

Figure 2 : *E. coli* : évolution des sérogroupes O les plus virulents (N; 1994-2011)

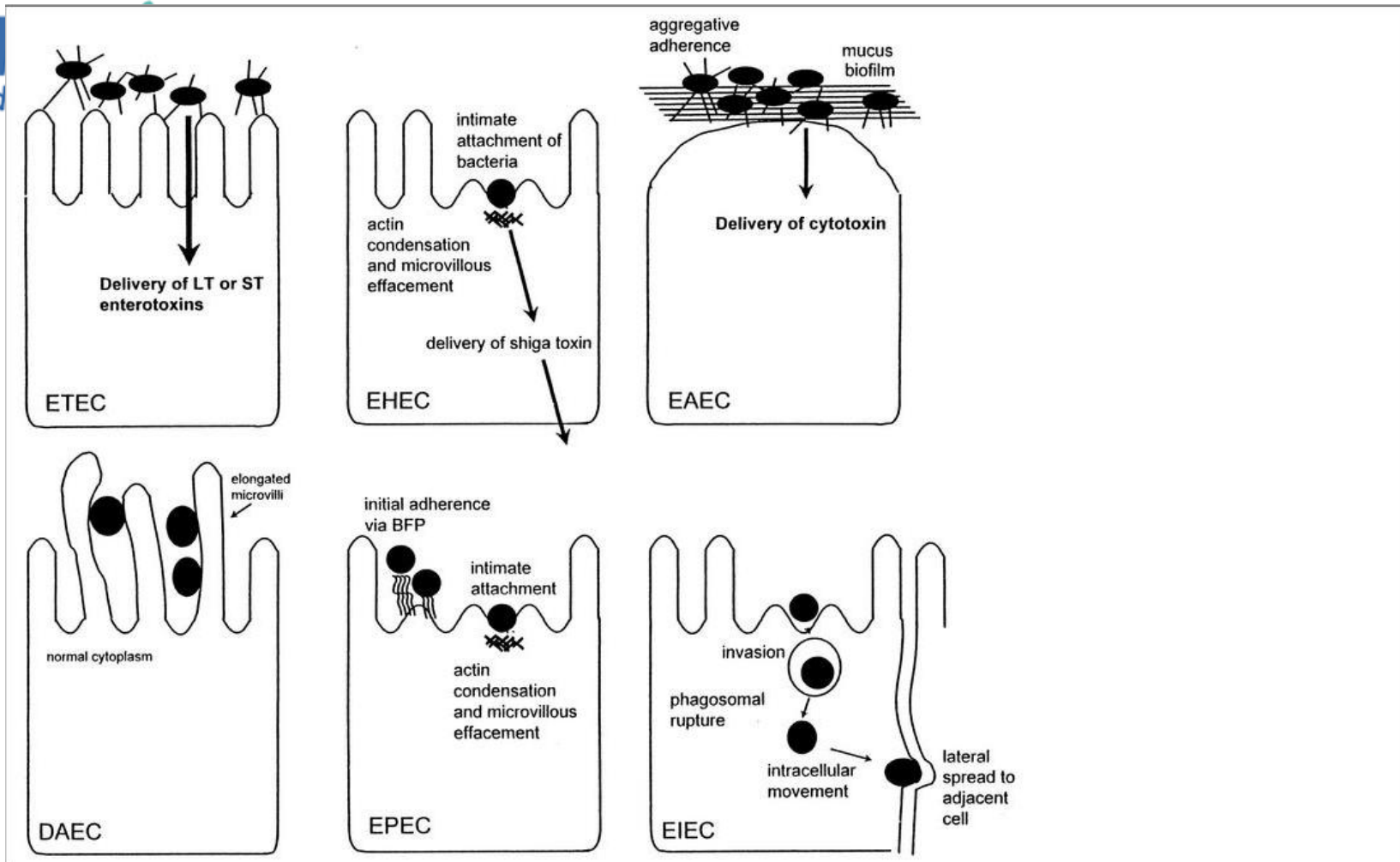


Données du Centre National de Référence pour les *E. coli* (Belgique - 2011)

## Etude épidémiologique réalisée aux USA (FoodNet) entre 2000 et 2010

### Comparaison des infections à STEC O157 et STEC non-O157

- The incidence of non-O157 STEC infections increased from 0.12 per 100,000 population in 2000 to 0.95 per 100,000 in 2010. This increase correlated with an increase in the number of clinical laboratories performing culture-independent (EIA) testing for Shigatoxin (correlation coefficient = 0.94,  $p < 0.001$ ).
- Patients with non-O157 STEC infection were less likely to be hospitalized than those with O157 (14% versus 43%,  $p < 0.001$ ).
- Among O157 STEC cases, 33 deaths (0.6%) were reported, compared with two deaths (0.1%) among those with non-O157 STEC infection ( $p = 0.0042$ ).
- Bloody diarrhea was reported more frequently by those with O157 infection (85 versus 55%,  $p < 0.001$ ).
- 11% of persons with O157 STEC infection developed physician-diagnosed HUS, compared with 1% of those with non-O157 STEC infection ( $p < 0.001$ ).
- Patients with isolates that had Stx2 were more likely to be hospitalized than those that had isolates with Stx1 only (38% versus 12%,  $p < 0.001$ ). All cases of HUS occurred among patients with isolates that had Stx2.



Pathogenic schemes of diarrheagenic *E. coli*. The six recognized categories of diarrheagenic *E. coli* each have unique features in their interaction with eukaryotic cells. Here, the interaction of each category with a typical target cell is schematically represented. It should be noted that these descriptions are largely the result of *in vitro* studies and may not completely reflect the phenomena occurring in infected humans. See the text for details.

Nataro JP, Kaper JB. **Diarrheagenic Escherichia coli**. Clin Microbiol Rev. 1998 Jan;11(1):142-201.

