

Augmentation inattendue du nombre de déclarations d'infections à *E. coli* entéro-hémorragique ces derniers mois en Suisse : influence des nouvelles méthodes de PCR multiplexe employées pour le diagnostic primaire?

(données : état au 5 novembre 2015)

La plupart des souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*) sont non pathogènes, mais certaines variantes peuvent provoquer des maladies intestinales ou extra-intestinales parfois sévères. Les *E. coli* entéro-pathogènes sont actuellement subdivisées en huit groupes (EPEC, ETEC, EIEC, EAEC, DAEC, EDTEC, NTEC et STEC), les plus importants étant, du point de vue de l'hygiène alimentaire, les *E. coli* producteurs de shigatoxine (STEC) aussi appelés *E. coli* producteurs de vérotoxine (VTEC), ou encore – quand il s'agit d'isolats d'origine humaine – les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC). Les STEC, décrits pour la première fois en 1982 aux Etats-Unis sous le nom de «emerging foodborne pathogens», ont provoqué depuis, dans les pays européens, aussi bien des flambées que des atteintes sporadiques isolées.

Outre la production d'une ou de plusieurs shigatoxines codées par des phages (stx : groupe stx1 et groupe stx2), on décrit pour les STEC toute une série d'autres facteurs de virulence et de pathogénicité (p. ex. l'intimine : gène eae, et l'entérohémolysine : gène ehxA). Comme les autres souches de *E. coli*, les souches de STEC peuvent être subdivisées en sérotypes en fonction d'un schéma antigénique reposant sur l'antigène O (antigènes de surface O1 à O186) et l'antigène H (antigènes de flagelle H1 à H56).

Clinique

Certains individus sont porteurs sains de STEC, mais ceux-ci peuvent aussi provoquer diverses atteintes allant de la gastro-entérite avec diarrhée aqueuse ou hémorragique jusqu'à, dans les cas graves, la colite hémorragique. Ces atteintes évoluent parfois, surtout chez les enfants de moins de 5 ans, vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) susceptible de mettre la vie en danger. A l'exception de la variante à maladie de l'œdème (Stx2e), les shigatoxines se lient à des récepteurs, les globotriaosylcéramides (Gb3), situés à la surface des cellules eucaryotes, tandis que le Stx2e se lie aux récepteurs globotetraosylcéramides (Gb4). On trouve de nombreux ré-

cepteurs Gb3 principalement au niveau des reins, en particulier dans le cortex rénal, là où débutent les lésions du SHU. La fibrine se dépose lors du passage du sang dans les glomérules, ce qui réduit l'apport sanguin au niveau du rein et peut entraîner une insuffisance rénale. On trouve aussi des lésions thrombo-emboliques dans la microcirculation cérébrale et pancréatique.

Isolats cliniques

Les souches de STEC qui provoquent des infections chez l'homme font partie du grand groupe des sérotypes O:H, dont le nombre ne cesse d'augmenter. La plupart des flambées et des cas sporadiques de colite hémorragique et de SHU étaient associés, en particulier aux Etats-Unis, au Canada et au Japon, au sérotype O157:H7. Mais des maladies humaines tout aussi sévères, en particulier en Europe, en Australie et en Amérique du Sud, ont été décrites en association avec des STEC non-O157, par ex. O26:H11/H-, O103:H2 et O145:H-. Pour évaluer dans quelle mesure les souches sont pathogènes pour l'être humain, il est nécessaire de préciser les gènes des shigatoxines (groupe stx1, groupe stx2) et d'autres facteurs de virulence (p. ex. l'intimine : gène eae et l'entérohémolysine : gène ehxA), en plus du sérotype, à partir des souches isolées. Les souches de STEC O157 et non-O157 identifiées chez des patients présentant des symptômes sévères ont souvent un spectre de virulence caractéristique : elles appartiennent généralement au sous-type stx2 et sont eae-positives. Par ailleurs, il est important de relever le profil des facteurs de virulence dans les souches de STEC isolées, car les produits de PCR provenant de cultures mixtes ou d'échantillons originaux ne permettent pas d'attribuer les différents facteurs de virulence à des souches bactériennes spécifiques.

Situation en Suisse dans le passé

En Suisse, la mise en évidence d'EHEC chez l'être humain doit faire l'objet d'une déclaration depuis 1999. Les sous-types d'EHEC sont déterminés au Centre national de réf-

rence des bactéries entéro-pathogènes et listeria (NENT). Le nombre de déclarations d'EHEC est resté relativement stable ces dernières années (figure 1); une légère augmentation n'a été enregistrée qu'en 2011, associée à une épidémie due à des graines germées contaminées par le sérotype O104:H4 en Allemagne. En Suisse, il ne s'agissait pas de cas associés à des foyers de toxi-infections, mais plutôt d'une sensibilisation massive du corps médical qui a entraîné une multiplication des tests.

Deux études visant à approfondir la caractérisation des isolats cliniques isolés au NENT durant la période 2000-2009 (Käppeli et al. 2011a; Käppeli et al. 2011b) ont montré que, dans le passé, les sérotypes O157:H7, suivis de O26:H11/H-, O103:H2, O121:H19 et O145:H28/H-, étaient les plus fréquents en Suisse, et que sur la base de résultats d'une génotypisation plus poussée des souches, il s'agissait en majorité de cas sporadiques plutôt que de flambées.

Cas déclarés en 2015

On constate en 2015 une augmentation brutale du taux de déclaration des cas d'EHEC (figure 1). Entre janvier et le 30 octobre 2015, il y a eu 2,5 fois plus de cas pour 100 000 habitants que durant la même période de 2014. L'augmentation concerne surtout les enfants de moins de 5 ans, mais elle est visible dans tous les groupes d'âge (figure 2). Par comparaison avec l'année précédente, les hommes sont un peu plus touchés que les femmes (1,3 contre 1,1). De plus, l'exposition avait généralement eu lieu en Suisse, ce qui n'était pas aussi net les années précédentes. Les cas sont distribués de manière homogène dans toute la Suisse, sans flambées locales évidentes. Le taux de déclaration de SHU, en revanche, est resté constant.

Explication de l'augmentation des déclarations d'EHEC

Le NENT a également constaté une augmentation nette des STEC en 2015, mais quelques précisions s'imposent. Depuis 2006, le centre propose aux laboratoires de microbiologie clinique le primo-diagnostic pour cinq pathovars de *E. coli* enté-

ropathogènes : EPEC, ETEC, EIEC, EAEC et STEC. Par rapport aux années précédentes, il n'a constaté aucune augmentation, ou seulement une augmentation minimale, pour les laboratoires qui lui confient les primo-diagnostics depuis longtemps, à l'exception de légères augmentations dues certainement aux températures exceptionnellement élevées de l'été 2015, phénomène qui avait déjà été observé durant la canicule de 2003. Comme pour tous les agents à l'origine de diarrhées bactériennes, la fréquence des cinq pathovars est nettement plus élevée durant les mois d'été que durant la saison froide. En 2003 comme en 2015, il ne s'agissait toutefois pas de flambées, mais d'une augmentation des cas sporadiques, ce qui est confirmé par l'absence d'accumulation de cas dus à des souches présentant les mêmes facteurs de virulence. La canicule de l'été 2015 a été notamment associée à une plus grande fréquence des baignades dans des eaux de surface. Cette association, qui avait été un facteur de risque pour les flambées de cas de SHU durant la canicule 2003, constitue très certainement l'une des explications des cas supplémentaires.

Une autre explication est à sans doute à chercher du côté de l'évolution technique. Avant, ces cas n'étaient pas déclarés parce qu'on ne les recherchait pas. Il ne s'agit donc pas d'un artefact de la déclaration, mais d'une augmentation du nombre de cas découverts et donc déclarés. En 2014, au moins trois systèmes à base de PCR multiplexe, partiellement ou totalement automatisés, sont arrivés sur le marché ; ces systèmes peuvent mettre en évidence en même temps jusqu'à quinze agents pathogènes différents, bactériens, viraux et parasitaires, et cela indépendamment de toute mise en culture, à partir des prélèvements d'origine réalisés chez les patients (selles par ex.). Citons ici, entre autres, les systèmes BD MAX Enteric Panel (BD Diagnostics, Sparks, MD), Luminex xTAG Gastrointestinal Panel (Luminex Corporation, Austin, TX) et BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel (BioFire Diagnostics, LLC, Salt Lake City, Utah, USA), parmi lesquels au moins deux sont déjà très répandus

Figure 1. **Déclarations d'EHEC et de SHU en Suisse, 1999-2015** (pour chaque année, cas du 1^{er} janvier au 30 octobre)

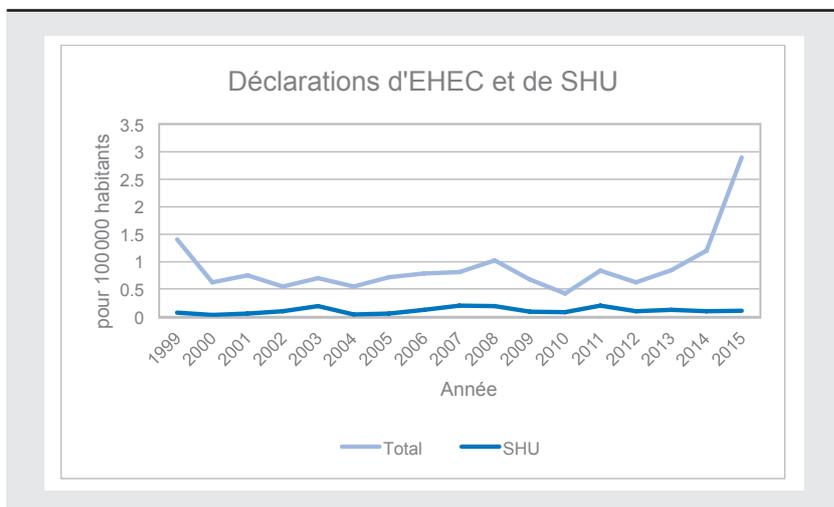
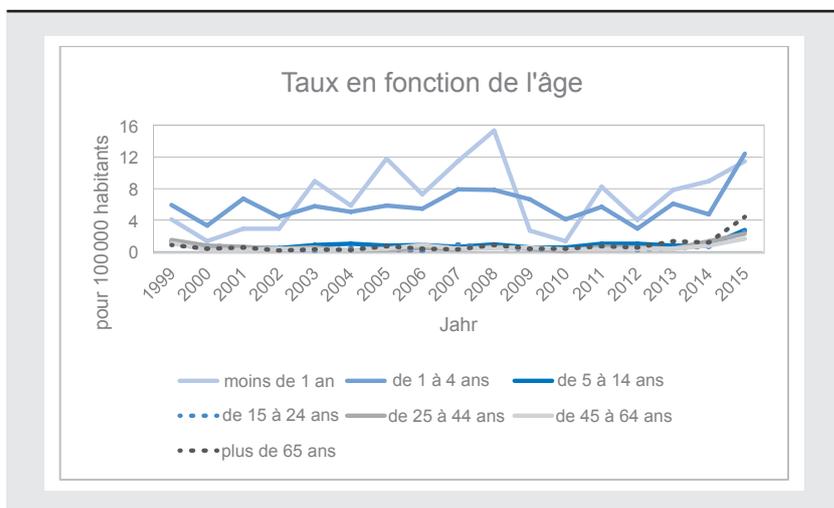


Figure 2. **Taux d'EHEC par âge, en Suisse, 1999-2015** (pour chaque année, cas du 1^{er} janvier au 30 octobre)



en Suisse ou du moins en cours d'essai. Comme les études scientifiques ont affirmé à plusieurs reprises que ces systèmes présentent une sensibilité de détection supérieure à celles des méthodes classiques à base de culture, il n'est pas étonnant que l'incidence augmente, d'autant que la durée nécessaire pour traiter les échantillons est nettement raccourcie par rapport aux cultures, ce qui constitue indéniablement un avantage majeur.

Etant donné le large spectre d'agents pathogènes couvert par

les systèmes de PCR multiplexe, on devrait trouver, à côté des STEC (mise en évidence du gène stx), une augmentation générale de tous les pathogènes à l'origine des maladies diarrhéiques, en tout cas de ceux qui sont également soumis à la déclaration obligatoire, à savoir *Campylobacter*, salmonelles et shigelles. Or ce n'est pas le cas, ce qui s'explique par le fait qu'il y a encore suffisamment d'infrastructures et de savoir-faire en matière de culture pour confirmer les résultats de la PCR par l'isolation des souches.

Comme 8 % environ des individus sont porteurs sains de STEC faiblement pathogènes (Stephan et al. 1999), l'analyse systématique d'échantillons de selles par PCR multiplexe suffit déjà à entraîner une nette augmentation des PCR positives pour stx. De plus, pour les STEC, l'interprétation des résultats est parfois sujette à caution, car l'isolation par culture des souches de STEC et d'autres *E. coli* entéropathogènes est difficile et elle n'est normalement réalisée que dans un très petit nombre de centres, dont le NENT. Celui-ci ressent bien cette évolution : le nombre d'échantillons de confirmation ainsi que de questions et de demandes de renseignements qu'il reçoit ne cesse d'augmenter depuis novembre 2014 environ.

Conséquences négatives sur l'épidémiologie des pathogènes à transmission alimentaire

Il est certain que les nouvelles techniques de PCR multiplexe présentent des avantages séduisants en termes de rationalisation et de réduction du délai diagnostique. L'épidémiologie des pathogènes à transmission alimentaire a connu ces vingt dernières années un boom inattendu dû à l'apparition de la typisation par les méthodes de génétique moléculaire. De plus, grâce à la mise sur pied, en parallèle, de réseaux internationaux tels que PulseNet et de systèmes d'alerte efficaces comme RASFF, etc., elle a permis d'identifier les sources d'agents pathogènes rapidement et avec une grande certitude scientifique. La sécurité alimentaire a ainsi pu être améliorée malgré l'importance croissante du commerce international. En outre, on cherche actuellement à augmenter encore la précision de la connaissance des clones associés aux flambées, notamment en remplaçant les méthodes établies de génotypisation telles que l'électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE) par des approches basées sur le séquençage du génome entier, dont la capacité de discrimination ne pourra pas être surpassée.

Toutefois, ces nouvelles techniques comportent également un inconvénient de taille qu'il importe de signaler ici. L'enquête épidémiologique relative à un foyer de toxi-infections

repose sur l'isolation des agents pathogènes. Etant donné que les méthodes de PCR multiplexe n'ont pas besoin des cultures, le risque serait de ne plus pratiquer ces dernières et, ainsi, de ne plus confirmer le lien épidémiologique entre les cas et les denrées alimentaires. Par conséquent, si ces méthodes faisaient reculer les cultures, ne serait-ce qu'en partie, l'exploration des flambées serait très limitée, voire impossible. Comme cette évolution doit absolument être évitée, il est important, surtout quand on suspecte l'existence d'une flambée, d'envoyer des échantillons au Centre national de référence (NENT) en vue de l'isolation des germes.

Communication de Herbert Hächler et de Roger Stephan, Centre national de référence pour les bactéries entéropathogènes et listeria (NENT)

Contact:

Office fédéral de la santé publique
Division Maladies transmissibles
Téléphone : 058 463 87 06
epi@bag.admin.ch

Bibliographie:

Käppeli U, Hächler H, Giezendanner N, Beutin L, Stephan R. Human infections with non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Switzerland, 2000-2009. *Emerg Infect Dis.* 2011 Feb;17(2):180-5. doi: 10.3201/eid1702.100909

Käppeli U, Hächler H, Giezendanner N, Cheasty T, Stephan R. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 associated with human infections in Switzerland, 2000-2009. *Epidemiol Infect.* 2011 Jul;139(7):1097-104.

Stephan R, Untermann F. Virulence factors and phenotypical traits of verotoxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from asymptomatic human carriers. *J Clin Microbiol.* 1999 May;37(5):1570-2.