

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 2 mai 2023

## AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

### relatif à la définition des souches pathogènes d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.  
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.  
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.  
Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).  
Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses a été saisie le 3 juillet 2020 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Demande d'appui relatif à la définition des souches pathogènes d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines ».

---

#### Sommaire

1.	CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE	3
2.	ORGANISATION DE L'EXPERTISE	3
3.	ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES BIORISK	4
3.1.	EHEC et STEC	4
3.1.1.	Shigatoxines	5
3.1.2.	Facteurs de colonisation	7
3.1.3.	Autres facteurs de virulence	9
3.1.4.	Nouveaux marqueurs de virulence des STEC	10
3.1.5.	Modulation de la virulence en fonction des signaux environnementaux	10
3.2.	Revue des classifications des souches pathogènes des STEC	12
3.2.1.	Définition de l'avis de l'Anses 2017	12

3.2.2.	Rapport FAO/OMS (2018)	12
3.2.3.	NACMCF (2019) ( <i>National advisory committee on microbiological criteria for foods, USDA</i> )	13
3.2.4.	Avis du panel BIOHAZ de l'EFSA (2020)	13
3.2.5.	Classification de l'Agence suédoise de sécurité des aliments (2022)	13
3.2.6.	Autres travaux/définitions relatifs à la pathogénicité des STEC	14
3.3.	Bilan et analyse des données épidémiologiques françaises et européennes	14
3.3.1.	Données épidémiologiques françaises (2017-2021)	14
3.3.2.	Données épidémiologiques européennes (2012 – 2019)	25
3.4.	Classification des souches de STEC en fonction des données épidémiologiques françaises	28
3.5.	Contamination des réservoirs animaux et des aliments par les STEC	31
3.5.1.	Méthodes de détection des STEC dans les matrices alimentaires	31
3.5.2.	Prévalence et caractéristiques génétiques des souches isolées dans les aliments en France	32
3.5.3.	État des connaissances sur les sources du sérotype O80:H2	35
3.6.	Analyse des incertitudes	37
3.7.	Conclusions et recommandations du CES BIORISK	39
4.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE	42
	ANNEXE 1. PRESENTATION DES INTERVENANTS	51
	ANNEXE 2. CRITERES UTILISES POUR L'EVALUATION DE LA PATHOGENICITE DES STEC ET MESURES DE GESTION ASSOCIEES A LA DETECTION DES STEC DANS LES ALIMENTS : BILAN DES REPONSES A L'ENQUETE MULTILATERALE EUROPEENNE (MAI 2022) MENEES PAR L'ANSES	55
	ANNEXE 3. SEROGROUPES ET PROFILS DE VIRULENCE (SOUS-TYPES STX, SAA, SUBA) DES SOUCHES STX+ EAE- IMPLIQUEES DANS LES CAS DE DIARRHEE SANGLANTE ADULTES (N = ) (2017-2021)	56
	ANNEXE 4. PROFIL DE VIRULENCE DES SOUCHES IMPLIQUÉES DANS LES INFECTIONS À STEC EN FRANCE (2017-2021)	57
	ANNEXE 5. DONNEES CONCERNANT LES INFECTIONS A STEC REPORTEES PAR 28 PAYS ENTRE 2012 ET 2019 (SOURCE ECDC)	58
	ANNEXE 6. CLASSIFICATION DES SOUCHES DE STEC EN FONCTION DE LEUR FREQUENCE D'IMPLICATION DANS LES CAS D'INFECTION (SHU, DS, DA) ET SELON L'AGE DES PATIENTS EN FRANCE (2017-2021)	62
	ANNEXE 7. PREVALENCE DE CONTAMINATION ET CARACTERISTIQUES DES SOUCHES ISOLEES AU COURS DES PLANS DE SURVEILLANCE DE 2017 A 2021 EN FRANCE	63

## 1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont des souches pathogènes d'*E. coli* responsables de diarrhée ou de colite hémorragique pouvant s'aggraver en syndrome hémolytique et urémique (SHU), surtout chez le jeune enfant, le sujet âgé et/ou immunodéprimé.

L'avis de l'Anses du 18 mai 2017 indique que toute souche d'*E. coli* isolée chez l'Homme ou dans les aliments devrait être considérée comme une EHEC si elle possède les gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae* ou d'autre(s) gène(s) codant un système d'adhésion au tube digestif de l'Homme (Anses 2017). Certains sérotypes d'EHEC sont plus fréquemment associés à une maladie grave (SHU). L'Agence avait établi dans cet avis une classification des souches en fonction de leur risque pour la santé publique en France, selon les critères définis par le panel BIOHAZ de l'EFSA en 2013 (sérotypes et facteurs de virulence) et en se fondant sur les données épidémiologiques françaises et européennes.

En 2018, un groupe d'experts FAO/OMS a proposé un ensemble de critères pour catégoriser les souches d'*E. coli* productrices de shigatoxines (STEC) en fonction du risque de forme clinique sévère (FAO/WHO 2018). Cinq niveaux de risque sont définis sur la base des profils de gènes de virulence. Le groupe conclut que le sérotype ne devrait pas être considéré comme un critère pour prédire la virulence des souches.

En janvier 2020, l'EFSA a publié l'avis du panel BIOHAZ concernant l'évaluation de la pathogénicité des STEC sur la base des données de santé publique disponibles en Europe (EFSA BIOHAZ Panel 2020). Cet avis conclut que toutes les souches de STEC sont pathogènes avec la capacité de causer *a minima* une diarrhée, et que tous les sous-types de STEC peuvent être associés à des maladies sévères chez l'Homme. Le panel BIOHAZ de l'EFSA considère que la classification de la pathogénicité des STEC en fonction des sérotypes et de la présence de facteurs de virulence proposée dans son précédent avis de 2013 n'est plus valide.

L'Anses est saisie pour actualiser voire compléter la définition des souches pathogènes proposée dans l'avis de mai 2017 au vu de l'avis du panel BIOHAZ de l'EFSA (2020), du rapport FAO/OMS (2018) et des autres données et publications récentes qui pourraient alimenter la réflexion.

Les questions posées dans la saisine sont les suivantes :

- « Sur la base des données de santé publique disponibles, quels sont les déterminants de la virulence des souches de STEC ?
- Dans quelle mesure la prise en compte des sous-types du gène *stx* ou de tout autre facteur génétique permettrait-elle de rendre plus discriminante la typologie des souches de STEC proposée dans votre avis de mai 2017 au regard de leur niveau de pathogénicité ? »

## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Évaluation des risques biologiques dans les aliments » (BIORISK) » sur la base d'un rapport initial rédigé par cinq rapporteurs. Les travaux ont été discutés au cours de réunions plénières entre le 24 octobre 2022 et le 15 février 2023 et ont été adoptés lors de la réunion du 15 février 2023.

L'expertise s'est appuyée sur :

- les données épidémiologiques françaises (Santé publique France, Centre national de référence *E. coli*) et européennes (*European Centre for Disease Prevention and Control*) ;

- les informations transmises sur la contamination des aliments (données de plans de surveillance de la DGAL) par le Laboratoire national de référence des *E. coli* y compris des STEC, porté par VetAgro Sup à Lyon ;
- des éléments majeurs de la littérature scientifique récente, en particulier des revues de la littérature publiées (articles, rapports et avis d'agences sanitaires dont le rapport FAO/OMS de 2018 et l'avis du panel BIOHAZ de l'EFSA de 2020) ;
- les informations transmises par d'autres États membres de l'Union Européenne, dans le cadre d'une enquête auprès du réseau des points focaux de l'EFSA (cf. annexe 2).

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES BIORISK

Sur la base des signes cliniques observés chez les malades, les souches de *E. coli* pathogènes sont regroupées en deux grandes familles de pathotypes (ou pathovars) : les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC, *intestinal pathogenic E. coli*) et extra-intestinaux (ExPEC, *extraintestinal pathogenic E. coli*). Parmi les InPEC, on distingue 6 pathotypes majeurs d'*E. coli* diarrhéiques : les *E. coli* entéropathogènes (EPEC, *enteropathogenic E. coli*), les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC, *enterohaemorrhagic E. coli*), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC, *enterotoxigenic E. coli*), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC, *enteroinvasive E. coli*), les *E. coli* entéroagréatifs (EAEC, *enteroaggregative E. coli*) et les *E. coli* adhérents diffusifs (DAEC, *diffusely adherent E. coli*). Ces pathotypes sont définis de manière clinique chez des patients présentant un ensemble de symptômes et de lésions typiques avérés et associés à la présence de marqueurs moléculaires bactériens (Nataro et Kaper 1998; Kaper, Nataro et Mobley 2004).

#### 3.1. EHEC et STEC

Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* est dénommée **STEC** pour *E. coli* producteurs de shigatoxines (*shigatoxin-producing E. coli*, ou plus rigoureusement *E. coli* codant des shigatoxines (*shigatoxin-encoding E. coli* dans la mesure où l'identification de ces souches d'*E. coli* est essentiellement basée sur l'amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) du gène *stx*).

**Les EHEC sont des souches de STEC dont la virulence et la pathogénicité chez l'Homme sont avérées avec une manifestation clinique.** Les troubles peuvent varier d'une diarrhée aqueuse aiguë bénigne ou sévère à une colite hémorragique<sup>1</sup> pouvant se compliquer en micro-angiopathies thrombotiques (MAT), dont les principales liées aux EHEC sont le SHU, surtout chez le jeune enfant et le sujet âgé et/ou immunodéprimé, et le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) (ou syndrome de Moschowitz) chez l'adulte (Coppo et Veyradier 2005). Ces syndromes sont des pathologies graves engageant le pronostic vital et résultent de la circulation et de l'action des shigatoxines (Stx) produites par les EHEC. Même si plus de 400 sérotypes de STEC ont été isolés de cas humains (sporadiques et épidémiques), seule une minorité de ces sérotypes sont responsables de la majorité des cas d'infection (Scheutz et Strockbine 2005).

Ces souches possèdent deux types de facteurs de virulence : les shigatoxines responsables de dommages au niveau des reins, du côlon et/ou du système nerveux d'une part, et divers facteurs de colonisation d'autre part.

---

<sup>1</sup> Crampes abdominales et diarrhée initialement aqueuse puis sanglante chez un patient généralement apyrétique ou subfébrile

Les souches EHEC dites « **typiques** » (tEHEC), possèdent le gène *eae* codant l'intimine et porté par le locus chromosomique d'effacement des entérocytes (LEE - *locus of enterocyte effacement*). En l'absence du LEE, d'autres facteurs de colonisation peuvent être impliqués dans l'adhésion à la muqueuse intestinale chez les EHEC, alors qualifiés d'**atypiques** (aEHEC).

Par simplification, le terme STEC (qui inclut les EHEC) sera utilisé dans la suite du document.

### 3.1.1. Shigatoxines

Après l'étape d'adhésion/colonisation intestinale, les STEC peuvent produire et libérer dans le tractus digestif des êtres humains des shigatoxines (autrefois appelées vérotoxines), qui induisent des lésions de l'endothélium vasculaire, principalement intestinal, rénal et cérébral après circulation systémique. Les gènes *stx* sont portés par des bactériophages tempérés ayant leur génome inséré dans le chromosome bactérien (prophages). Certaines substances, comme certains antibiotiques créant des dommages de l'ADN, ou des facteurs de stress, peuvent induire l'excision du prophage Stx du génome des souches de STEC. Un cycle lytique est initié provoquant la lyse de la bactérie et un relargage massif des shigatoxines.

Les shigatoxines sont le facteur de pathogénicité majeur des STEC. Elles sont constituées d'une sous-unité A (pour Activité) et de 5 sous-unités B (pour *Binding* ou liaison au récepteur). Les sous-unités B, assemblées en anneau, se lient à un récepteur glycolipidique, le globotriosyl céramide Gb3. Une fois la toxine internalisée par un mécanisme classique d'endocytose, elle subit un transport rétrograde à travers l'appareil de Golgi, puis le réticulum endoplasmique. La sous-unité A est alors scindée en deux parties A1 et A2 par réduction d'un pont disulfure. La partie A1 ainsi activée passe dans le cytoplasme, où elle exerce son activité N-glycosidase sur l'ARN ribosomique 28 S et bloque la sous-unité 60 S du ribosome. Ceci conduit à un arrêt des synthèses protéiques et à la mort cellulaire. Les cellules endothéliales vasculaires humaines, au niveau du côlon, du parenchyme rénal et du système nerveux central, sont particulièrement riches en récepteurs Gb3, expliquant les manifestations cliniques observées.

L'implication des shigatoxines dans l'adhésion intestinale et le déclenchement de la diarrhée, suggérée dans un nombre limité d'études (Cherla, Lee et Tesh 2003; Robinson *et al.* 2006; Laiko *et al.* 2010), n'a pas été clairement démontrée. En outre, aucun mécanisme moléculaire ne permet d'impliquer la shigatoxine dans le déclenchement de la diarrhée (Menge 2020). Par ailleurs, la détection du gène *stx* dans les selles de patients atteints de diarrhée ne signifie pas que la souche ou la shigatoxine était à l'origine de la diarrhée.

Toutes les shigatoxines ont des caractéristiques structurales et enzymatiques communes ; toutefois, il existe des différences concernant leur séquence en acides aminés, leur activité biologique et leur réactivité sérologique. Les shigatoxines de *E. coli* sont classées en deux grands types : Stx1 et Stx2 qui possèdent respectivement 99 % et 56 % de similarités avec la toxine de type 1 de *Shigella dysenteriae*. Une même souche de STEC peut produire différents types de shigatoxines. De très nombreux variants ou sous-types de Stx1 et Stx2 ont été décrits sur la base de la toxicité, du récepteur reconnu par les sous-unités B, de la séquence en acides aminés, ou de la séquence nucléotidique des gènes : Stx1a, Stx1c, Stx1d, Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g, etc.

Les toxines Stx2a et Stx2d sont plus toxiques que Stx2b, Stx2c et Stx1 (Fuller *et al.* 2011). En utilisant des toxines chimériques, Russo *et al.* (2014) ont constaté que la différence de toxicité entre Stx1a et Stx2a sur les cellules et chez les souris repose sur la sous-unité B.

Une association a été observée entre le type ou sous-type de Stx et la gravité de la maladie humaine. Plusieurs études ont ainsi montré que certains sous-types du gène *stx2* sont fréquemment associés à un risque plus élevé de développer un SHU, tandis que d'autres sont présents principalement dans les souches de STEC isolées de patients souffrant de diarrhée non compliquée ou dans celles qui ne sont pas isolées de l'Homme (Eklund, Leino et Siitonen 2002; Friedrich *et al.* 2002; Zhang, Bielaszewska, *et al.* 2002; Jenkins *et al.* 2003; Leung *et al.* 2003; Beutin *et al.* 2004; Girardeau *et al.* 2005; Bielaszewska *et al.* 2006; Persson *et al.* 2007). En appliquant la nomenclature actuelle établie en 2012 (Scheutz *et al.* 2012) aux études précédentes, il est possible de corrélérer la présence du gène *stx2a* avec une virulence

élevée et le SHU, et la présence de *stx2e*, *stx2f* ou *stx2g* avec une faible pathogénicité chez l'être humain. Cependant, il n'est pas toujours possible d'appliquer la nomenclature actuelle aux résultats d'études ayant utilisé des méthodes de sous-typage antérieures, car les désignations ne sont pas équivalentes.

Plusieurs études ont également établi un lien entre certains sous-types de *stx* et des réservoirs spécifiques. On peut citer *stx1c*, fréquemment détecté dans des souches de STEC isolées des fèces d'ovins (Koch *et al.* 2001; Brett *et al.* 2003), *stx2f*, détecté dans les souches de STEC isolées des fèces de pigeons sauvages (Schmidt *et al.* 2000) et enfin *stx2e*, associé à la maladie de l'œdème du porc, qui se lie à un récepteur différent du Gb3, le globotétraosyl céramide Gb4 (Linggood et Thompson 1987; Weinstein *et al.* 1988). Une fois encore, il n'est pas toujours possible d'assigner la nomenclature actuelle aux résultats obtenus à l'aide des méthodes de sous-typage précédentes.

La variabilité des séquences du gène *stx* a également plusieurs implications pour la détection des STEC. Dans certaines études épidémiologiques ou cliniques, la présence de STEC peut être sous-estimée lorsque l'on utilise des méthodes qui ne détectent qu'un nombre limité de sous-types de *stx*.

D'autre part, il existe une diversité dans l'expression des toxines Stx parmi les souches de STEC, ce qui peut expliquer les différences de virulence. La production de Stx est liée à celle des prophages portant les gènes *stx* (appelés « phages Stx »), et il a été constaté que des phages Stx de génotypes distincts produisaient des quantités de Stx2 nettement différentes (Wagner, Acheson et Waldor 1999).

Les gènes *stx* sont en effet portés par des bactériophages tempérés capables de développer deux types de cycles : un cycle lysogénique et un cycle lytique (Krüger et Lucchesi 2015). Au niveau des génomes phagiques, les gènes *stx* sont localisés plus précisément parmi les régions de gènes dits « tardifs » car s'exprimant tardivement au cours du cycle lytique. L'expression des gènes *stx* et la production des shigatoxines dépendent donc du cycle du phage. Au cours du cycle lysogénique, le génome du phage Stx est intégré dans le chromosome de la bactérie et s'y maintient de manière silencieuse en raison de la présence d'un répresseur transcriptionnel nommé CI. L'expression des gènes phagiques et des gènes *stx* est ainsi réprimée au cours de ce cycle, et les shigatoxines ne sont pas produites.

En présence de facteurs physiques ou chimiques qui endommagent l'ADN ou bloquent sa réplication (et ainsi activent la réponse SOS), le répresseur CI est clivé et le cycle lytique est déclenché. Les gènes *stx* vont alors s'exprimer en même temps que les gènes tardifs, pour conduire à la production des shigatoxines et des protéines phagiques. Le clivage du répresseur CI est ainsi une étape nécessaire à la production des shigatoxines (Tyler, Mills et Friedman 2004). Au cours de ce cycle, l'ADN phagique est également répliqué (conduisant au passage à une augmentation du nombre de copies des gènes *stx*) puis le matériel génétique généré est incorporé dans de nouvelles particules phagiques. À la fin du cycle lytique, les bactéries sont lysées par deux protéines phagiques (holine et endolysine), ce qui libèrera massivement les phages Stx et les shigatoxines.

La production et le relargage des shigatoxines sont donc étroitement couplés au mécanisme d'induction des phages Stx. C'est la raison pour laquelle l'utilisation d'antibiotiques induisant les phages n'est pas recommandée pour traiter les patients infectés par des STEC car celle-ci peut exacerber les symptômes de l'infection (Wong *et al.* 2000). Par ailleurs, certains phages Stx sont induits spontanément plus fortement que d'autres (en l'absence de facteurs d'activation du système SOS), conduisant à une production de ces phages en plus grande quantité, ce qui est susceptible d'accroître la virulence des souches qui les portent (Llarena *et al.* 2021).

Les phages Stx forment un groupe très hétérogène, avec des différences observées sur le plan morphologique et génétique, ainsi que sur le plan des sous-types *stx* et des niveaux de production de Stx et des phages Stx eux-mêmes. En effet, les souches de STEC produisent des quantités très variables de shigatoxines et de phages Stx, y compris quand elles appartiennent à un même sérotype (Bonanno *et al.* 2016). Si des facteurs génétiques bactériens peuvent influencer le niveau de production des shigatoxines, la nature des phages Stx joue un rôle déterminant dans la quantité de Stx synthétisée par la bactérie. L'analyse d'un grand nombre de génomes phagiques révèle ainsi que certaines catégories de phages Stx (classés selon leur protéine de réplication) sont associées à des niveaux de production de shigatoxines plus élevés que d'autres catégories (Ogura *et al.* 2015).

Des travaux récents indiquent également que les phages Stx se distinguent au niveau du gène du répresseur CI et de la région responsable de la réplication, appelée Eru (pour *EHEC phage replication unit*) (Fagerlund *et al.* 2022). Au total, huit familles de répresseurs CI et treize types d'Eru ont été décrits. Certains types d'Eru semblent associés à des souches *stx2a*-positives particulièrement virulentes. Ces éléments pourraient donc contribuer aux différences de virulence observées pour les souches de STEC. Enfin, il a été montré que la protéine phagique de régulation nommée Cro est capable d'activer l'expression du système de sécrétion de type III présent sur le LEE (locus chromosomique d'effacement des entérocytes), et donc potentiellement de moduler la virulence (Hernandez-Doria et Sperandio 2018). Ces résultats renforcent l'idée que les caractéristiques des phages Stx ont un impact sur la virulence des souches.

### 3.1.2. Facteurs de colonisation

Si la production de Stx est clé dans la physiopathologie des STEC, la colonisation préalable de la muqueuse intestinale par les STEC est également très importante.

#### 3.1.2.1. Intimine

Chez les souches de STEC les plus fréquemment impliquées dans des cas d'infection humaine et en particulier celles appartenant aux 5 sérotypes majeurs (c'est-à-dire O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7, regroupés sous la dénomination « STEC du top 5 »), un îlot de pathogénicité (*Pathogenicity island* – PAI) appelé LEE est impliqué dans l'étape de colonisation. Cet îlot code pour un système de sécrétion de Type III (T3SS) (Kaper, Nataro et Mobley 2004; Croxen et Finlay 2010; Croxen *et al.* 2013) ainsi que pour des effecteurs, notamment l'intimine codée par le gène *eae* (Desvaux *et al.* 2020). L'intimine est une protéine membranaire (autotransporteur inversé) exposée en surface des STEC qui interagit avec le récepteur bactérien Tir (*Translocated intimin receptor*) transloqué par le T3SS dans la cellule hôte et exposé en surface des cellules épithéliales infectées, ce qui entraîne un attachement intime des STEC aux cellules de l'hôte (Schmidt 2010). Au moins 27 variants de l'intimine ( $\alpha$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ,  $\eta$ ,  $\eta 2$ ,  $\gamma$ ,  $\gamma 2$ ,  $\iota$ ,  $\iota 2$ ,  $\kappa$ ,  $\lambda$ ,  $\mu$ ,  $\nu$ ,  $\omicron$ ,  $\pi$ ,  $\rho$ ,  $\sigma$ ,  $\xi$ ,  $\theta$ ,  $\zeta$ ) ont été identifiés et seraient impliqués dans le tropisme cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène des STEC (Zhang, Köhler, *et al.* 2002; Xue-Han *et al.* 2013). Une association semble exister entre la nature du variant de *eae* et le sérotype des STEC. Ainsi, les variants du gène *eae* présents dans les STEC du top 5 correspondent aux variants  $\beta$  (O26:H11),  $\epsilon$  (O103:H2),  $\gamma$  (O145:H28 et O157:H7) et  $\theta$  (O111:H8) (Madic *et al.* 2010).

On compte plus d'une soixantaine d'effecteurs qui peuvent être injectés par le T3SS dans le cytosol d'une cellule hôte infectée par les STEC (Tobe *et al.* 2006). Dans ce répertoire, le rôle de certains effecteurs est bien établi comme confirmé lors d'infections *in vivo*, notamment pour EspF et Map impliqués dans la rupture des jonctions serrées, ou encore NleC et NleE dans l'inhibition de la voie de signalisation NF- $\kappa$ B (Sanchez-Garrido *et al.* 2021). Certains effecteurs comme EspN ou NleK ont une fonction et un rôle indéterminés dans l'infection et la colonisation, tandis que d'autres ne sont que partiellement caractérisés, comme EspV impliqué dans des modifications de la morphologie des cellules épithéliales, probablement en perturbant des voies de signalisation (Arbeloa *et al.* 2011) ou EspK, un homologue de GogB de *Salmonella spp.* ayant des propriétés anti-inflammatoires (Vlisidou *et al.* 2006; L. Wang *et al.* 2018).

Le LEE est systématiquement présent chez toutes les souches d'EPEC où il induit des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) visibles par examen histologique de biopsies intestinales de patients infectés. Cependant, pour les STEC, les lésions A/E ne sont jamais détectées sur des échantillons cliniques, vraisemblablement en raison du fort effet cytotoxique de Stx et de prélèvement trop tardif par rapport au déclenchement de la maladie (Nataro et Kaper 1998). Néanmoins, l'attachement intime à des cellules épithéliales intestinales médié par l'intimine et des lésions A/E ont pu être observés en modèles cellulaires *in vitro*, sur des modèles animaux (porcin) et sur des explants intestinaux humains (Donnenberg *et al.* 1993; Lewis *et al.* 2015).

### 3.1.2.2. Autres facteurs de colonisation

En l'absence du LEE, d'autres facteurs de colonisation peuvent être impliqués dans l'adhésion à la muqueuse intestinale chez les STEC. Parmi ceux-ci, les STEC de sérotypes O113:H21 et O91:H21 ont été les plus étudiés.

Chez les STEC O113:H21, l'autotransporteur trimérique Saa (*STEC autoagglutinating adhesin*), codé par le plasmide pO113, est impliqué dans l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales (Paton *et al.* 2001). La présence de ce gène serait rarement associée à la présence de *eae* dans une même souche (Monaghan *et al.* 2011). Les STEC O113:H21 expriment aussi un type de LPF (*long polar fimbriae*) impliqué dans l'adhérence aux cellules épithéliales intestinales (Doughty *et al.* 2002). Le cluster codant les LPFO113 est présent chez d'autres souches ne possédant pas le gène *eae*, notamment de sérotypes O116:H21, O130:H11, O48:H21, O128:H2, O87:H16 ou de sérogroupes O5, O91 ou O123, mais aussi chez certaines souches *eae* positives notamment des sérotypes O26:H11, O145:H25 ou de sérogroupes O15, O111 ou O147. À noter que d'autres types de LPF peuvent être présents chez les STEC, notamment les clusters *lpf1* et *lpf2* chez O157:H7 (Perna *et al.* 2001; Torres *et al.* 2004).

Chez les STEC O91:H21, le facteur Hes (*hemagglutinin from STEC*) appartenant à la famille des protéines de la membrane externe Hra (*heat-resistant agglutinin*) est impliqué dans l'agglutination des érythrocytes et l'adhérence aux cellules épithéliales intestinales (Montero *et al.* 2017). Hes est codé dans un îlot de pathogénicité, le LAA (*locus of adhesion and autoaggregation*) qui code plusieurs autres adhésines (e.g. *hra*, *agn43*, *iha*) et facteurs de virulence (e.g. *sisA*, *lesP*, *pagC*, *tps*). Le LAA a été décrit comme exclusivement présent chez des souches ne possédant pas le gène *eae*, notamment de sérotypes O113:H21, O48:H21, O104:H21, O174:H21 ou O94:H14 et comme pouvant potentiellement pallier l'absence du LEE (Colello *et al.* 2018; Colello *et al.* 2019).

Comme récemment analysé, 11 autres îlots de pathogénicité ont été répertoriés chez les pathotypes d'*E. coli* diarrhéiques (Desvaux *et al.* 2020). Le PAI<sub>ia</sub> (*toxigenic invasion locus A*) (Fleckenstein *et al.* 2000), le SE (*subtilase encoding*) PAI (Michelacci *et al.* 2013), PAI<sub>espC</sub> (*E. coli secreted protein C*) (Mellies *et al.* 2001) et le HPI (*high pathogenicity island*) (Karch *et al.* 1999) ont pu être identifiés chez certains STEC. Néanmoins et comme pour le LAA, il n'est pas encore clairement établi un lien de causalité entre ces PAI et le niveau de virulence en termes de (i) présence dans les génomes bactériens, (ii) diversité d'organisation génétique, ou encore (iii) distribution chez les STEC.

Lorsque les STEC correspondent à une souche de ST-EAEC (*shigatoxin-encoding* EAEC), ST-EIEC ou ST-ETEC, c'est-à-dire à une souche d'autres pathotypes d'*E. coli* ayant acquis un gène *stx*, on peut alors retrouver des facteurs de colonisation présents chez ces pathotypes.

Ainsi les ST-EAEC de sérotype O104:H4 responsables des épidémies en Allemagne et en France en 2011 se caractérisent par la production de Stx et la capacité à adhérer à la muqueuse intestinale avec un profil d'adhérence agrégative (AA) en se liant à des protéines de la matrice extracellulaire (Berry *et al.* 2014). Ce mécanisme d'adhésion caractéristique des souches d'EAEC implique des pili AAF (*aggregative adherence fimbriae*) dont l'expression est régulée par le gène *aggR* (Nataro *et al.* 1994) ; ce dernier gène est typiquement utilisé comme marqueur du pathotype EAEC, ainsi que *aaiC* qui code pour une protéine sécrétée par les EAEC mais dont le rôle et la contribution dans la virulence ne sont pas clairement établis. Les souches de STEC possédant ce gène sont considérées comme ayant une virulence accrue. À noter qu'au moins certaines souches de ST-EAEC O104:H4 possèdent le PAI SRL (*Shigella resistance locus*) (Henríquez *et al.* 2020).

Les souches de ST-EIEC se caractérisent par la présence du plasmide pINV (*invasion plasmid*) des EIEC (Croxen et Finlay 2010; Croxen *et al.* 2013), un pathotype moléculairement identifié sur la base de la présence de gènes *ipaH* en multicopies à la fois sur le chromosome et sur pINV (van den Beld et Reubsaet 2012) ; à noter que la fonction des protéines IpaH reste encore à l'heure actuelle mal caractérisée. Le plasmide pINV code notamment un T3SS et des invasines (Lan, Stevenson et Reeves 2003). La présence de gènes *stx* dans un tel fond génétique confère une virulence accrue.

Les souches de ST-ETEC sont caractérisées par la présence d'entérotoxines ST (*heat-stable toxin*, codée par *estA* ou *estB*) et/ou LT (*heat-labile toxin*, codée par *eltAB*) qui présentent plusieurs variants



(Wang *et al.* 2019). Ces entérotoxines sont directement responsables de la réponse sécrétoire intestinale par fuite d'électrolytes des entérocytes avec un mode d'action analogue à celui de la toxine cholérique (*Vibrio cholerae*). La présence conjointe de Stx cytotoxique et de ces entérotoxines cytotoniques confère une virulence accrue. Comme les entérotoxines, les principaux facteurs de colonisation intestinale des ETEC sont plasmidiques et comprennent les pili CFA (*colonisation factor antigens I*) et la protéine dispersine anti-agrégative (Aap) (Crossman *et al.* 2010).

Par ailleurs, certains PAI caractéristiques de ces pathotypes peuvent être présents dans ces souches de STEC, tel que le PAI<sub>pic/set</sub> des EAEC et EIEC (Behrens, Sheikh et Nataro 2002), le PAI<sub>tibA</sub> des ETEC (Crossman *et al.* 2010), ou les PAI<sub>iuc/iut</sub>, PAI<sub>sit</sub>, SHI-O et SRL des EIEC (Desvaux *et al.* 2020).

Comme récemment analysé, de très nombreux autres facteurs de colonisation ont été identifiés chez les différents pathotypes d'*E. coli* diarrhéiques (Ageorges *et al.* 2020). Leur association à une augmentation de virulence n'est cependant pas définitivement ou clairement établie.

### 3.1.3. Autres facteurs de virulence

D'autres facteurs de virulence potentiels, codés par des plasmides, ont été décrits chez les souches de STEC, dont des toxines telles que l'entérohémolysine (Ehx) et la cytotoxine subtilase (SubAB), ou des protéases, telles que la sérine protéase EspP et la métalloprotéase StcE (Croxen *et al.* 2013). La subtilase SubAB est une cytotoxine produite par les STEC LEE-négatifs qui jouerait un rôle important dans l'apparition de cas de SHU provoqués par ces souches, notamment lorsqu'elle est associée à Stx2 (Álvarez *et al.* 2021). SubAB a des effets délétères *in vitro* sur des cellules rénales humaines, et l'inoculation de SubAB chez la souris et le rat induit l'apparition des symptômes du SHU (Álvarez *et al.* 2019; Seyahian *et al.* 2017). Néanmoins, les mécanismes par lesquels SubAB contribue au développement de ces symptômes ne sont pas encore bien élucidés.

En plus de ceux de la virulence intestinale, certains STEC comme ceux du sérotype O80:H2 ont acquis des facteurs de virulence extra-intestinale (*iro*, *iuc/iut*, *sit*, *issp*, *etsC*, *ompTp*, *hlyF*, etc.) leur conférant un pouvoir invasif (bactériémie) à la différence des autres STEC. Ces gènes sont caractéristiques de la région conservée des plasmides de type ColV (Johnson *et al.* 2006), initialement identifiés chez des souches d'APEC (*avian pathogenic E. coli*) responsables de la colibacillose aviaire. Ils partagent une grande homologie de séquence avec des gènes présents sur des plasmides de virulence extra-intestinale portés par des souches d'ExPEC et en particulier celles responsables de méningite néonatale (NMEC). Ces plasmides de virulence extra-intestinale ont été décrits au sein des principaux sérotypes de NMEC (O45:K1:H7, O18:K1:H7, O1:K1, O83:K1, etc.) (Bonacorsi *et al.* 2003) et sont représentés par le plasmide pS88 prototypique.

Le plasmide pS88, un plasmide de type F de 134 kb, possède 144 gènes codant trois systèmes de capture du fer, la salmochéline (opéron *iro*), l'aérobactine (opéron *iuc/iut*), un ABC transporteur (opéron *sit*) et quatre autres facteurs de virulence potentiels dont les rôles ne sont pas encore pleinement connus, une protéine de résistance au complément (*issp*), un système de sécrétion de type I (*ets*), une protéase (*ompTp*) et le facteur HlyF ainsi que 2 bactériocines (la colicine Ia et la microcine V) (Peigne *et al.* 2009). Ce plasmide pS88 est un déterminant majeur de la virulence des ExPEC, en permettant l'atteinte d'un fort niveau de bactériémie nécessaire au passage de la barrière hémato-encéphalique et donc à la survenue d'une méningite. L'élimination du pS88 en modèle murin est ainsi associée à une perte de 2 log (UFC/mL) du niveau de bactériémie alors que le mutant complémenté restaure pleinement la virulence de ces souches (Peigne *et al.* 2009).

La présence de ces marqueurs géniques d'ExPEC chez le clone de STEC O80:H2 pourrait donc, au moins partiellement, contribuer à la virulence de type extra-intestinale et à la survenue des infections invasives observées avec ces souches O80:H2 (Mariani-Kurkdjian *et al.* 2014; Soysal *et al.* 2016) alors que tout à fait inhabituelles avec les autres sérotypes de STEC.

### 3.1.4. Nouveaux marqueurs de virulence des STEC

En parallèle des méthodes conventionnelles essayant d'établir un lien entre la virulence et les combinaisons possibles des sérotypes et des gènes de virulence connus, des méthodes statistiques (agnostiques) ont été développées pour évaluer le potentiel pathogène sur la base des données de séquençage du génome entier (WGS). Parmi celles-ci, les méthodes basées sur l'apprentissage machine (« *Machine-Learning* » - ML) et les études d'association pangénomique (« *Genome Wide Association Study* » - GWAS) sont en plein développement en raison des progrès récents des algorithmes et du grand nombre de génomes aujourd'hui disponibles.

Im et al. (2021) ont utilisé une méthode de GWAS combinée à un algorithme de type « *Support Vector Machine* » (SVM) afin de distinguer les souches de STEC pathogènes (associées à des cas cliniques) des non pathogènes (souches de l'environnement). Le modèle SVM a prédit, avec une plus grande probabilité, la virulence de souches provenant de cas groupés que les méthodes conventionnelles basées sur les marqueurs de virulence classique ou le sérotype. L'algorithme SVM repose sur de nombreux gènes (537) dont seulement 25 % présentent une annotation fonctionnelle. Parmi les 20 gènes les plus importants, seulement quatre ont les fonctions signalées précédemment : le gène de la protéine Q d'anti-terminaison, son gène homologue quuQ, le gène de la protéine effectrice espFu non codée par le LEE et le gène du système toxine-antitoxine IsoA. Cette étude montre le potentiel de la génomique et des méthodes de GWAS et de *Machine-Learning* pour améliorer les phases d'appréciation des risques. Toutefois, les phénotypes étudiés ne correspondent pas aux catégories cliniques utiles à l'évaluation du risque (SHU, diarrhées sanglantes).

Njage, Leekitcharoenphon et Hald (2019) ont appliqué plusieurs méthodes de *Machine-Learning* afin de prévoir différents symptômes (diarrhée sanglante, SHU, hospitalisation) à partir des données de génomes complets. Un ensemble de 21 marqueurs génomiques ont été identifiés. Ils comprennent les protéines impliquées dans l'attachement initial à la cellule hôte, la persistance et le transfert des plasmides, la régulation du LEE, l'acétylation post-traductionnelle des protéines, la facilitation du réarrangement ou de la suppression de sections au sein des îlots de pathogénicité et le transport des macromolécules à travers l'enveloppe cellulaire.

Ces études génomiques ouvrent la voie à l'identification de nouveaux marqueurs pour la définition des nouvelles classifications de degré de virulence des STEC. En l'état, la précision ne dépasse pas les 90 %. L'utilisation de tels marqueurs dans l'appréciation des risques nécessiterait d'une part de disposer de phénotypes fiables pour les études d'association génomique et d'autre part une validation sur des souches non incluses dans les études d'identification des marqueurs (Guillier, Palma et Fritsch 2022).

### 3.1.5. Modulation de la virulence en fonction des signaux environnementaux

Les STEC sont exposés à un grand nombre de signaux chimiques et nutritionnels dans le tractus digestif. En détectant leur environnement, les STEC régulent l'expression génétique de leurs facteurs de virulence. Cela permet à l'agent pathogène de se créer une niche dans un environnement extrêmement diversifié et d'établir une colonie prospère. La régulation de facteurs clés tels que l'expression du T3SS (codé par l'îlot de pathogénicité LEE) dictera l'emplacement approprié pour initier l'adhésion à l'épithélium. La détection du quorum est importante pour la virulence des bactéries pathogènes, car elles utilisent des signaux chimiques produits par les bactéries qui l'entourent, ainsi que ceux produits par l'hôte, pour détecter l'environnement et coordonner l'expression des gènes. Par exemple, les hormones eucaryotes épinéphrine et norépinéphrine sont perçues par le biais des systèmes bactériens impliqués dans le *quorum sensing*<sup>2</sup>, régulant les facteurs de virulence chez les STEC. D'autres signaux peuvent également être produits par le microbiote lui-même (Turner, Connolly et Roe 2018). L'expression et la libération des toxines Stx sont l'événement le plus critique et peuvent conduire à l'issue fatale de l'infection. La localisation des gènes *stx* dans la région de lyse des prophages montre

---

<sup>2</sup> Mécanismes de régulation génétique permettant aux bactéries de détecter et de réagir à la densité de population microbienne

un lien direct entre la production de shigatoxines et la libération des phages ayant lieu pendant le cycle lytique. Ainsi, l'expression de *stx* dans les STEC dépend principalement de l'induction et de la réplication des prophages, dont les niveaux varient en fonction des types de phages (cf. 3.1.1). Lorsque les STEC pénètrent dans l'hôte, ils rencontrent de multiples stress environnementaux qui régulent le passage de la lysogénie à la lyse. Ces facteurs incluent les colicines DNase, le monoxyde d'azote, plusieurs antibiotiques, tels que la ciprofloxacine ou la norfloxacine, ainsi que les antibactériens utilisés comme promoteurs de croissance dans la production animale (Krüger et Lucchesi 2015).

### Points à retenir

Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* est dénommée STEC pour *E. coli* producteur de shigatoxines (« *shigatoxin-producing E. coli* », ou plus rigoureusement « *shigatoxin-encoding E. coli* »). Les EHEC correspondent à des STEC dont la virulence et la pathogénicité chez l'Homme sont avérées puisque responsables d'une manifestation clinique de type diarrhée ou colite hémorragique pouvant s'aggraver en micro-angiopathie thrombotique (MAT), principalement le syndrome hémolytique et urémique (SHU), surtout chez le jeune enfant, le sujet âgé et/ou immunodéprimé.

Les shigatoxines (Stx), responsables de lésions intestinales, rénales et cérébrales, sont le facteur de pathogénicité majeur des STEC. Les toxines Stx sont classées en deux grands types : Stx1 et Stx2. Les gènes *stx* sont portés par des bactériophages (« phages Stx ») intégrés dans le génome bactérien et la production des shigatoxines est étroitement liée au cycle lytique de ces phages. Les niveaux de production des particules phagiques et des shigatoxines varient selon les types de phages. Des études sont nécessaires pour caractériser l'impact des mécanismes de régulation des phages Stx (répresseur, protéines de réplication) sur la production des shigatoxines et la virulence des souches.

De très nombreux variants de Stx1 et Stx2 ont été décrits et plusieurs études ont montré que certains variants sont plus fréquemment associés à des formes sévères de la maladie (colite hémorragique, SHU) : Stx 2a, 2d.

La présence de Stx seule n'est pas suffisante pour causer une infection sévère. La colonisation préalable de la muqueuse intestinale par les STEC est essentielle dans la physiopathologie des STEC. L'intimine codée par le gène *eae* (inclus dans l'îlot de pathogénicité LEE - *Locus of enterocyte effacement*) est le principal facteur de colonisation.

En l'absence du LEE, d'autres facteurs de colonisation peuvent être impliqués dans l'adhésion à la muqueuse intestinale chez les STEC :

- l'autotransporteur trimérique Saa (*STEC autoagglutinating adhesin*) ;
- l'îlot de pathogénicité LAA qui code plusieurs adhésines (*hes*, *hra*, *agn43*, *iha*) et facteurs de virulence (e.g. *sisA*, *lesP*, *pagC*, *tps*) ;
- les facteurs de colonisation d'autres pathotypes d'*E. coli* lorsqu'il s'agit de souches hybrides. Par exemple, le facteur d'adhésion agrégative (pili AAF dont l'expression est régulée par le gène *aggR*) de la souche O104:H4 ;
- de très nombreux autres facteurs de colonisation ont été identifiés mais leur association à une augmentation de la virulence n'est cependant pas définitivement établie.

D'autres facteurs de virulence potentiels, codés par des plasmides, ont été décrits chez les souches de STEC, dont des toxines telles que l'entérohémolysine (Ehx) et la cytotoxine subtilase (SubAB), ou des protéases, telles que la sérine protéase EspP et la métalloprotéase StcE. En plus de la virulence intestinale, certains STEC comme ceux du sérotype O80:H2 ont acquis des facteurs de virulence extra-intestinale (*iro*, *iuc/iut*, *sit*, *issp*, *etsC*, *ompTp*, *hlyF*, etc.).

Par ailleurs, d'autres facteurs peuvent avoir une influence sur la survenue de signes cliniques voire de formes sévères : facteurs liés à l'hôte, dysbiose intestinale, prise d'antibiotiques, etc.

## 3.2. Revue des classifications des souches pathogènes des STEC

### 3.2.1. Définition de l'avis de l'Anses 2017

« Toute souche d'*E. coli* isolée chez l'Homme ou dans les aliments devrait être considérée comme une EHEC, si elle possède les gènes de virulence suivants :

- *stx1* et/ou *stx2* ;
- *eae* ou d'autre(s) gène(s) codant un système d'adhésion au tube digestif de l'Homme.

Certains sérotypes d'EHEC sont plus fréquemment associés à une maladie grave (SHU). Au vu des données épidémiologiques françaises, il est proposé d'inclure le sérotype O80 dans le groupe I des EHEC à risque élevé (Tableau 1).

Le CES BIORISK souligne toutefois que la source de contamination du sérotype O80:H2 devrait être identifiée avant toute introduction de ce sérotype dans la liste des souches d'EHEC à rechercher dans le cadre des autocontrôles. De même, au regard des données disponibles sur la contamination du réservoir bovin, la recherche du sérotype O104:H4 dans les produits d'origine bovine ne paraît pas pertinente. La liste des cinq sérotypes d'EHEC à rechercher en priorité dans les aliments demeure valide : O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28 et O111:H8. »

**Tableau 1. Classification des souches *stx+* selon leur risque pour la santé publique en France (Anses 2017)**

Groupe	Gènes	Sérogroupes	Risque	
			Diarrhée	SHU / Colite hémorragique
I	<i>stx+</i> <i>eae</i> + ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> )+	O157, O26, O103, O145, O111, O104, O80	élevé	élevé
II	<i>stx +eae</i> + ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> )+	tout autre sérotype	élevé	potentiel
III	<i>stx + eae-</i> et ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> )-	tout autre sérotype	potentiel	potentiel

### 3.2.2. Rapport FAO/OMS (2018)

Le JEMRA (*Joint FAO/WHO Expert Meetings on Microbiological Risk Assessment*) propose dans ce rapport un ensemble de critères pour catégoriser les souches STEC en fonction du risque potentiel de forme sévère sur la base des profils de gènes de virulence (Tableau 2) (FAO/WHO 2018). Le sérotype n'est pas considéré comme un indicateur fiable pour prédire le potentiel de sévérité de la souche.

Selon le rapport du JEMRA, toutes les souches STEC, quel que soit le sous-type de *Stx* qu'elles produisent, doivent être considérées comme potentiellement responsables de diarrhées en particulier chez les personnes sensibles. Les souches de STEC possédant le sous-type *stx2a* et les gènes ou marqueurs d'adhésion *eae* ou *aggR* sont considérées comme présentant le risque le plus élevé de maladie et ayant le plus fort potentiel de provoquer un SHU. L'association d'autres sous-types de *stx* avec le SHU est moins concluante et peut varier notamment en fonction de facteurs liés à l'hôte.

**Tableau 2. Combinaison des gènes de virulence des STEC et potentiel estimé de diarrhée (D), diarrhée sanglante (DS) et SHU<sup>1</sup> (FAO/WHO 2018)**

Rang	Gènes	potentiel de :
1	<i>stx2a + eae</i> ou + <i>aggR</i>	D/DS/SHU
2	<i>stx2d</i>	D/DS/SHU <sup>2</sup>
3	<i>stx2c + eae</i>	D/DS <sup>3</sup>
4	<i>stx1a + eae</i>	D/DS <sup>3</sup>
5	Autres sous-types <i>stx</i>	D

<sup>1</sup>Fonction de la susceptibilité de l'hôte et d'autres facteurs, p. ex traitement antibiotique

<sup>2</sup>L'association avec le SHU dépend du variant *stx2d* et le fond génétique de la souche

<sup>3</sup>Certains sous-types sont associés à la diarrhée sanglante et à des rares occasions au SHU

### 3.2.3. NACMCF (2019) (*National advisory committee on microbiological criteria for foods, USDA*)

Selon le NACMSF (2019), les combinaisons de facteurs de virulence (associés ou non à certains sérotypes) pouvant conduire à une maladie sévère sont par ordre décroissant de sévérité : (1) *stx2a* dans un fond génétique d'EAEC, (2) *stx2a* et *eae*, associés au sérotype O157, (3) *stx2a* et *eae*, associés aux sérotypes O26, O45, O145, O103, O111 ou O121. Les combinaisons comprenant « *stx1a / stx2a* », ou « *stx2a / stx2c* », ou « *stx2d* » avec le gène *eae* sont également particulièrement préoccupantes. L'absence d'*eae* suggère un potentiel réduit de maladie humaine, sauf en cas de présence d'*aggR* ou de *stx2d*.

### 3.2.4. Avis du panel BIOHAZ de l'EFSA (2020)

En janvier 2020, l'EFSA a publié un avis de son panel BIOHAZ concernant l'évaluation de la pathogénicité des souches de STEC sur la base des données de santé publique disponibles en Europe (EFSA BIOHAZ Panel 2020). Cet avis conclut que toutes les souches de STEC sont pathogènes pour l'Homme, avec la capacité de provoquer au moins une diarrhée, et que, tous les sous-types du gène *stx* peuvent être associés à des maladies sévères chez l'Homme. Le panel BIOHAZ de l'EFSA considère que la classification de la pathogénicité des STEC en fonction des sérotypes et de la présence de facteurs de virulence (gènes *stx*, *eae*, *aaiC* et *aggR*) proposée dans son précédent avis de 2013 n'est plus valide.

### 3.2.5. Classification de l'Agence suédoise de sécurité des aliments (2022)

L'Agence suédoise propose une classification des souches de STEC en fonction de leur impact potentiel en santé publique (exprimé en DALY par cas (*Disability-Adjusted Life Years* : années de vie ajustées sur l'incapacité) (Livsmedelsverket et al. 2022; Lindqvist, Flink et Lindblad 2023). En se fondant sur les données épidémiologiques présentées dans l'avis du panel BIOHAZ de l'EFSA (2020), cet impact a été calculé en multipliant la proportion des cas de formes sévères (SHU, diarrhée sanglante, hospitalisation) par le DALY associé à ces formes cliniques. Les souches ont ensuite été classées en fonction du DALY associé à la forme sévère présentant le fardeau plus important (SHU pour la majorité des souches). Quatre classes de risque sont proposées (cf. Tableau 3).

**Tableau 3. Classification des STEC en fonction de l'impact potentiel en santé publique, basée sur les données de l'avis de l'EFSA de 2020 (Livsmedelsverket et al. 2022; Lindqvist, Flink et Lindblad 2023)**

Classe de risque	Impact potentiel en santé publique (mDALY <sup>1</sup> par cas)	Gènes de virulence
1	≥ 400	<i>stx1a + stx2a + eae</i> ; <i>stx2a+stx2c+eae</i> ; <i>stx2a+eae</i> ;
2	≥ 200 - <400	<i>stx2a</i> ; <i>stx2d</i> ;
3	≥20 , <200	<i>stx2c±eae</i> ; <i>stx1a+stx2a</i> ; <i>stx2f+eae</i> ; <i>stx1a+eae</i> ; <i>stx1c + stx2b</i> ; <i>stx1a+stx2c+eae</i> ;
4	< 20	<i>stx1c</i> ; <i>stx2b</i> ; <i>stx2e</i> ; <i>stx1a + stx2b</i> ; <i>stx2g</i> ; <i>stx1a</i> ;

<sup>1</sup>mDALY (milliDALY) : 10<sup>-3</sup> DALY, *Disability -adjusted life years*

### 3.2.6. Autres travaux/définitions relatifs à la pathogénicité des STEC

Le tableau en annexe 2 présente les critères utilisés par différents pays de l'UE pour l'évaluation de la pathogénicité des STEC et les mesures de gestion appliquées lors de la détection des STEC dans les aliments. Pour la majorité des pays répondants, seule la présence des gènes *stx1* et/ou *stx2* est prise en compte pour la définition des souches pathogènes. Néanmoins, des mesures de gestion sont différentes en fonction des catégories d'aliments (aliments prêts à être consommés ou non). Aussi, un aliment prêt à être consommé (RTE, *ready to eat*) contaminé par une souche de STEC viable est considéré préjudiciable pour la santé au sens de l'Article 14 du Règlement (CE) n°178/2002. S'agissant des aliments non RTE, d'autres critères peuvent être pris en compte (présence du gène *eae* ou *aggR*, sérotypes du top 5, utilisation prévue du produit, etc.) selon les pays.

#### Points à retenir

Il n'existe pas d'approche harmonisée européenne / internationale pour l'évaluation de la pathogénicité des STEC. L'évaluation est basée *a minima* sur la prise en compte de la présence du seul gène *stx1/stx2* et peut aller jusqu'à une classification des souches en fonction du type ou sous-type *stx*, de la présence de gène ou marqueurs d'adhésion et/ou du sérotype. Les modèles existants de classification des STEC sont essentiellement basés sur la fréquence relative et/ou l'association épidémiologique entre les gènes de virulence et des formes cliniques sévères (SHU, diarrhée sanglante). Dans ces classifications, les souches de STEC possédant le sous-type *stx2a* (seul ou en combinaison) et les gènes ou marqueurs d'adhésion *eae* ou *aggR* sont considérées comme associées à un risque le plus élevé de maladie et ayant le plus fort potentiel de provoquer un SHU.

## 3.3. Bilan et analyse des données épidémiologiques françaises et européennes

### 3.3.1. Données épidémiologiques françaises (2017-2021)

#### 3.3.1.1. Système de surveillance

En France, les infections à STEC ne sont pas à déclaration obligatoire, hormis celles entrant dans le cadre d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) ; leur incidence globale reste donc incomplètement connue. Depuis 1996, la surveillance des infections à STEC en France est ainsi basée sur la surveillance du SHU pédiatrique (< 15 ans). Ainsi, les données concernant les autres formes cliniques et populations (diarrhée sanglante chez les enfants, SHU adulte, diarrhée simple) sont moins exhaustives.

La surveillance du SHU pédiatrique repose sur la notification volontaire des cas à Santé publique France par un réseau hospitalier de 32 services de néphrologie pédiatrique et de pédiatrie répartis sur le territoire métropolitain. Ce réseau permet de détecter la majorité des cas de SHU pédiatrique (exhaustivité estimée à 85 % sur la période 2016-2017 ; données non publiées) et de recenser des informations cliniques, microbiologiques et épidémiologiques des cas signalés. En complément de ce réseau, d'autres services hospitaliers notifient ponctuellement des cas de SHU pédiatriques (Bruyand *et al.* 2016, 2019). Les cas de SHU sporadiques notifiés à Santé publique France ne font pas l'objet d'investigation épidémiologique systématique visant à identifier la source de contamination, en raison des multiples modes de contamination possibles. Une investigation est mise en œuvre si des cas de SHU ou d'infections à STEC groupés dans le temps et/ou dans l'espace sont signalés ou identifiés par l'objectivation d'un cluster génomique. Elle a pour objet de décrire les cas déclarés et rechercher une source commune de contamination afin de mettre en place des mesures de gestion adaptées.

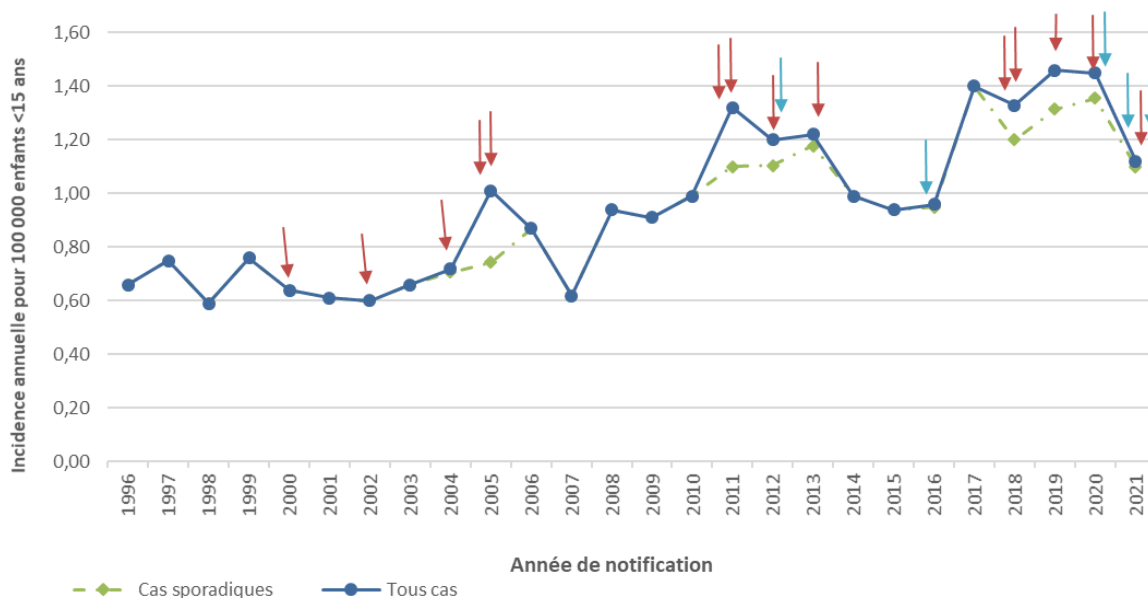
En France, la recherche des STEC dans les selles est réalisée par certains laboratoires d'analyses médicales par la recherche directe des gènes *stx* par PCR, mais seule une minorité d'entre eux réalisent l'isolement de la souche nécessaire pour confirmation et caractérisation de la bactérie, indispensable au suivi épidémiologique.

La surveillance microbiologique est assurée par le Centre National de Référence des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) situé à l'Institut Pasteur à Paris et son laboratoire associé des *E. coli*, situé au Service de microbiologie du CHU Robert Debré (LA-RD), Assistance publique-Hôpitaux de Paris. Les infections à STEC sont confirmées sur le plan microbiologique au LA-RD par PCR des gènes de facteurs de virulence principaux *stx*, *eae* et *ehxA* et des gènes codant pour 10 sérogroupes de STEC fréquemment observés dans les cas humains en France (O157, O26, O80, O145, O55, O103, O104, O111, O91, O121). Après confirmation de la présence de gènes de virulence, l'isolement de souches et leur caractérisation (facteurs de virulence, sérotype, profil d'antibiorésistance) sont réalisés. Depuis le 1<sup>er</sup> avril 2017, toutes les souches de STEC isolées au LA-RD sont transmises au CNR-ESS pour séquençage du génome complet (*Whole Genome Sequencing*; WGS). L'analyse des génomes permet (i) le sérotypage moléculaire (détermination du profil antigénique O:H, complété par la détermination du séquence-type (ST) par multi-locus sequence typing (MLST)), (ii) la recherche étendue de tous les gènes de virulence souhaités (*stx*, *eae*, *ehx*, *saa*, *aggR*, *subA*,...) et la détermination des différents types et sous-types pour certains de ces gènes, (iii) la recherche des gènes de résistance aux antibiotiques, et (iv) la détermination des relations de parenté entre les souches par la méthode de « *core genome MLST* » (cgMLST, analyse gène par gène du « *core genome* » constitué d'environ 2 000 gènes conservés par tous les STEC). L'approche du *Hierarchical Clustering* (HC) est utilisée dans l'analyse cgMLST pour attribuer une nomenclature définie par le nombre d'allèles différents entre des souches. Cette approche peut être complétée par une analyse phylogénétique basée sur les « *single nucleotide polymorphisms* » (SNP, analyse des mutations d'allèles individuels permettant d'identifier des sous-populations). Le CNR-ESS transmet en routine les résultats du WGS à Santé publique France dont le HC2, HC5, HC10 (souches avec deux, cinq et dix allèles de différence respectivement) qui permet d'identifier des souches avec une proximité génomique pouvant faire suspecter une source commune de contamination. Dans le cadre d'investigations, une comparaison peut également être réalisée avec des souches alimentaires ou environnementales issues des investigations (prélèvements d'inspection, autocontrôles, etc.).

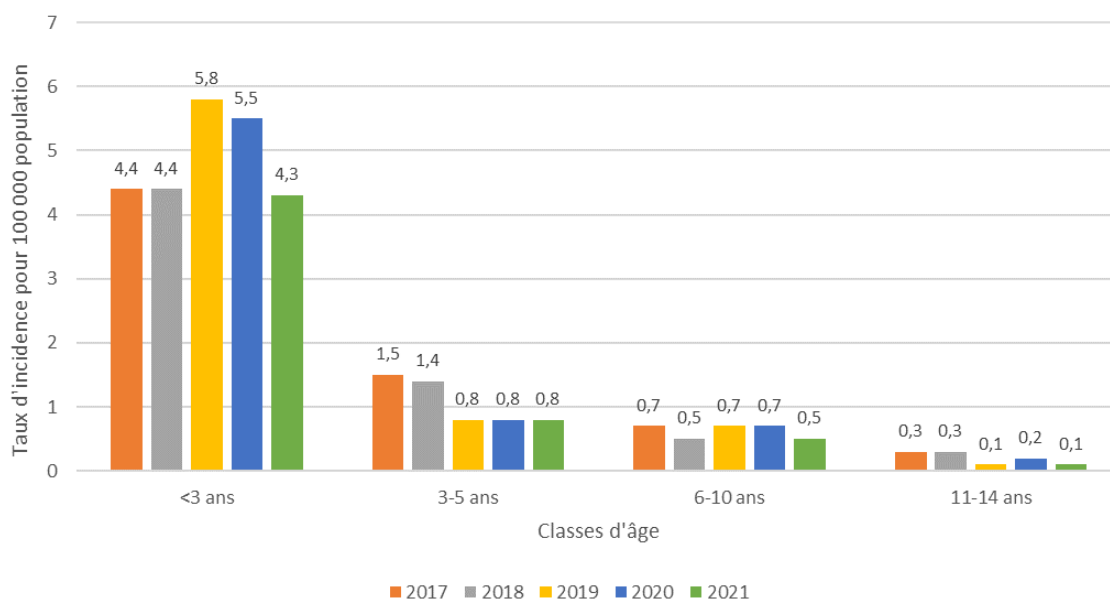
### 3.3.1.2. Données de surveillance du SHU pédiatrique

Le nombre d'infections à STEC en France entre 2008 et 2013 a été estimé à 24 700 en moyenne par an (Van Cauteren *et al.* 2018). La surveillance du SHU pédiatrique permet de surveiller une part importante de la population la plus à risque d'infections et d'identifier les souches à l'origine de ces formes sévères d'infection. Depuis la mise en place de la surveillance, l'incidence annuelle du SHU pédiatrique en France varie de 0,60 à 1,46 cas pour 100 000 enfants de moins de 15 ans. Entre 2017 et 2021, l'incidence a augmenté par rapport aux années précédentes, et elle est restée élevée et stable, supérieure à 1,30 cas pour 100 000, entre 2017 et 2020 (entre 154 et 168 cas notifiés par an) (Figure 1) (Jones *et al.* 2021). En 2021, l'incidence était plus faible, de 1,12 cas pour 100 000 (128 cas notifiés) (Jones *et al.* 2022). L'incidence élevée observée entre 2017 et 2020 est en partie liée à la survenue d'épidémies en 2018, 2019 et 2020 pour lesquelles un nombre important de cas de SHU pédiatrique étaient liés à une même source de contamination (cf. 3.3.1.5). Toutefois, l'analyse restreinte aux cas sporadiques de SHU pédiatrique notifiés montre entre 2017 et 2020 une incidence qui reste élevée par rapport aux années précédentes (Figure 1).

**L'incidence annuelle est la plus élevée chez les enfants de moins de 3 ans, variant de 4,4 à 5,8 cas pour 100 000 enfants de moins de trois ans entre 2017 et 2021, et elle diminue avec l'âge** (Figure 2). Les proportions de cas de sexe féminin et masculin sont comparables sur toute la période d'étude. Sur la période 2017-2021, 673 des 778 cas signalés ont présenté une diarrhée prodromique, également sanglante pour 283 cas (42 %).



**Figure 1.** Incidence annuelle du SHU pédiatrique notifié pour 100 000 enfants de moins de 15 ans, tous cas notifiés (bleu) et cas sporadiques après exclusion des cas épidémiques (vert). Flèches bleues : épisodes de cas groupés en collectivités pour enfants ou liés à une exposition environnementale, flèches rouges : épidémies d'origine alimentaire. France, 1996-2021 (Santé Publique France).



**Figure 2 :** Incidence annuelle du SHU pédiatrique notifié par classe d'âge d'enfants de moins de 15 ans, France, 2017-2021 (Santé Publique France).

### 3.3.1.3. Caractéristiques des cas d'infection avec prélèvement reçu au CNR

De 2017 à 2021, la recherche de STEC par le LA-RD a concerné 5 502 patients. Elle a été positive pour 1 334 de ces patients avec 1 343 souches isolées (pour 9 patients, 2 souches ont été isolées) soit 24,2 %. Les symptômes donnant lieu à la recherche de STEC sont synthétisés dans le tableau 4.



Tableau 4 : Symptômes observés chez les patients en France (1 343 souches isolées de 1 334 patients) (CNR 2017-2021)

Symptômes	N
SHU/MAT	593
Diarrhée aiguë (DA)	383
Diarrhée sanglante (DS)	277
Autres	42
Non renseigné	19
Diarrhée chronique	15
Asymptomatique	7

Cinq cent quatre-vingt-treize patients atteints de SHU représentent 44 % des recherches positives de STEC. Pour 660 patients (49 %), le symptôme indiqué était une diarrhée aiguë ou sanglante. Tous les patients atteints de SHU ont été hospitalisés et 41 % des patients « non-SHU » étaient signalés comme hospitalisés.

Tous symptômes confondus, la prévalence la plus élevée est retrouvée dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (45,8 % des patients). Une prévalence de 29 % est retrouvée chez les patients de plus de 16 ans, augmentation notable par rapport à la précédente évaluation (2012 - 2016) (20,7 %) et ce, probablement en lien avec une recherche de STEC beaucoup plus fréquente chez les adultes depuis l'épidémie de 2011 qui avait touché principalement cette tranche d'âge (Figure 3). L'âge médian des cas de SHU chez les adultes est de 62 ans.

Le sex-ratio F/M est de 1,16.

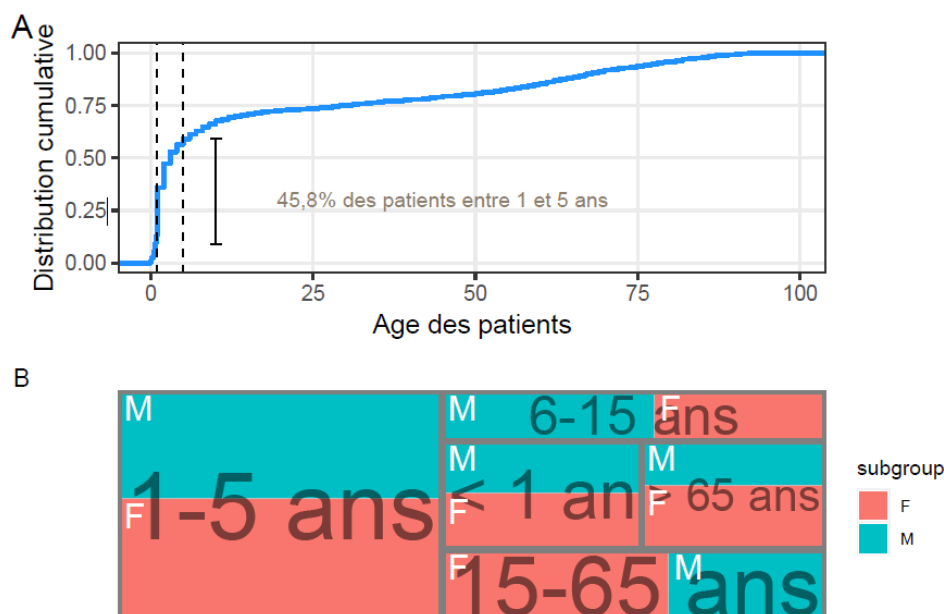


Figure 3. Répartition des caractéristiques des patients avec recherche de STEC positive (2017-2021) tous symptômes confondus. A. Distribution cumulative des âges des patients B. Répartition par classe d'âge et par sexe (la surface est proportionnelle au nombre de cas).

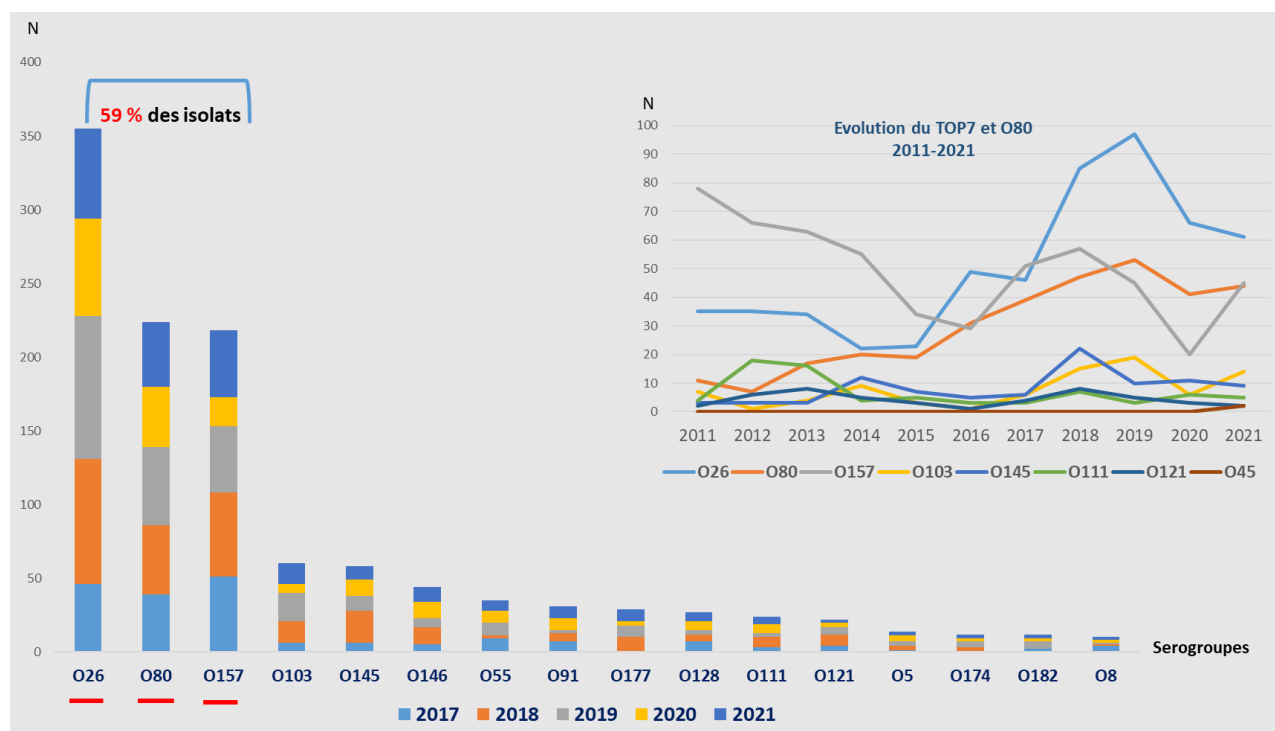
### 3.3.1.4. Caractéristiques microbiologiques des souches impliquées dans les cas d'infections à STEC

#### 3.3.1.4.1. Sérogroupes

La prévalence des sérogroupes les plus fréquents ( $n \geq 10$  isolats) parmi les souches de STEC entre 2017 et 2021 est représentée sur la figure 4.

Les sérogroupes O26, O80 et O157 prédominent largement et représentent 59,3 % des isolats. Ces 3 sérogroupes sont aussi les plus fréquemment associés aux infections sévères à STEC (SHU).

La part des sérogroupes O26 et O80 a augmenté progressivement sur cette période alors que celle du séro-groupe O157 a diminué (Figure 4). Le séro-groupe O80 a émergé en France en 2010 et n'a cessé de progresser jusqu'en 2019. Ce séro-groupe, retrouvé dans les SHU chez de très jeunes enfants, présente une virulence hybride à la fois intestinale et extra-intestinale. Le séro-groupe O104, responsable de l'épidémie franco-allemande en 2011, n'a été isolé que dans 2 cas sporadiques de diarrhée sanglante entre 2017 et 2021.



**Figure 4. Répartition des sérogroupes de STEC les plus fréquents (n ≥ 10 isolats) entre 2017 et 2021 et évolution des sérogroupes appartenant au top 7 et O80 de 2011 à 2021 en France**

***Distribution des sérogroupes selon la clinique et selon l'âge des patients***

La prévalence des sérogroupes en fonction des symptômes (SHU vs non-SHU) est représentée dans la figure 5.

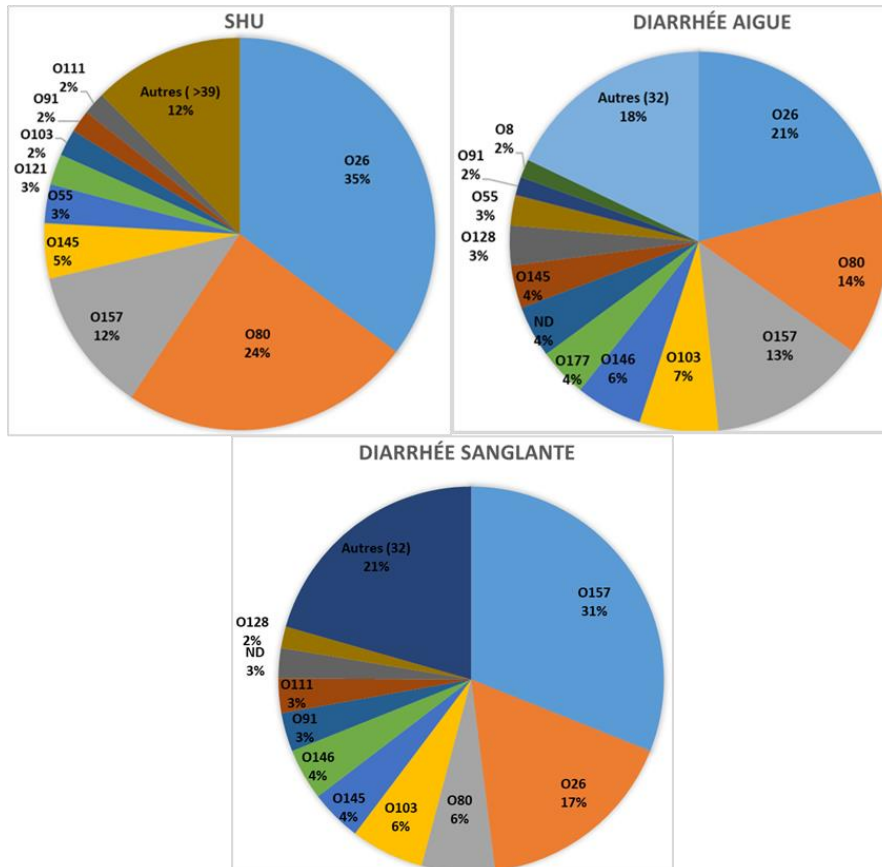


Figure 5 : Répartition des principaux sérogroupes de STEC selon la clinique : SHU (n = 593), diarrhée sanglante (n = 383), diarrhée aiguë (n = 277), (2017-2021)

Les principaux sérogroupes à l'origine des cas de SHU entre 2017 et 2021 étaient, en ordre décroissant, O26, O80 et O157 pour les enfants de moins de 15 ans et O80, O157, O91 et O26 pour les adultes. Les sérogroupes du top 5 et O80 représentent environ 80 % des cas de SHU, 67 % des cas de diarrhée sanglante et 61 % des cas de diarrhée aiguë.

Dans la tranche d'âge la plus atteinte (< 5 ans), les trois sérogroupes majeurs représentent 70,7 % des souches avec dans l'ordre décroissant O26 : 38 %, O80 : 19 % et O157 : 13 % (Figure 6). Au-delà de cette tranche d'âge, c'est le séro-groupe O157 qui prédomine jusqu'à l'âge de 65 ans puis le O80 chez les personnes âgées.

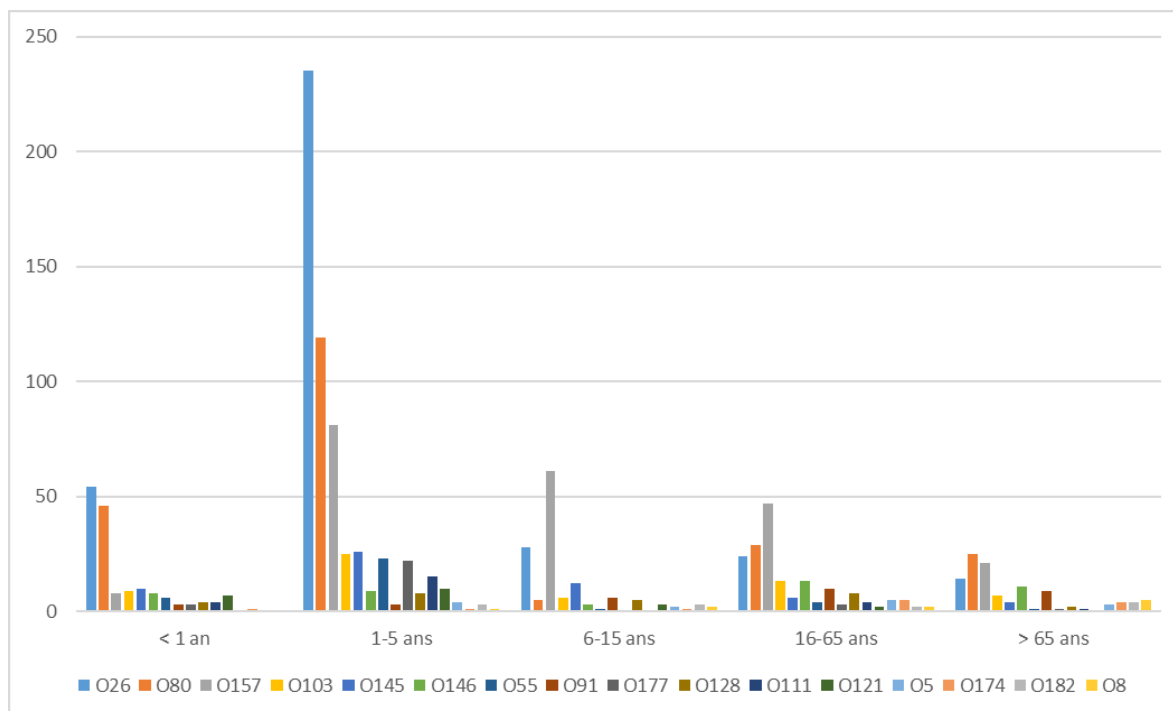


Figure 6 : Répartition des sérogroupes par classe d'âge (2017-2021)

#### 3.3.1.4.2. Facteurs de virulence

La présence des gènes *stx1* et *stx2* a été recherchée sur les 1 343 souches isolées. Les gènes *eae*, *ehxA* codant l'enterohémolysine et *saa* ont été systématiquement recherchés.

La recherche des gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* entéroaggrégants (*aggR*) a été réalisée sur les souches ne possédant pas le gène *eae*. La nature du sous-type des gènes *eae* et *stx* (*stx1* et *stx2*) ainsi que le gène *subA* codant la subtilase ont été mis en évidence par séquençage.

##### Type et sous-type de *stx*

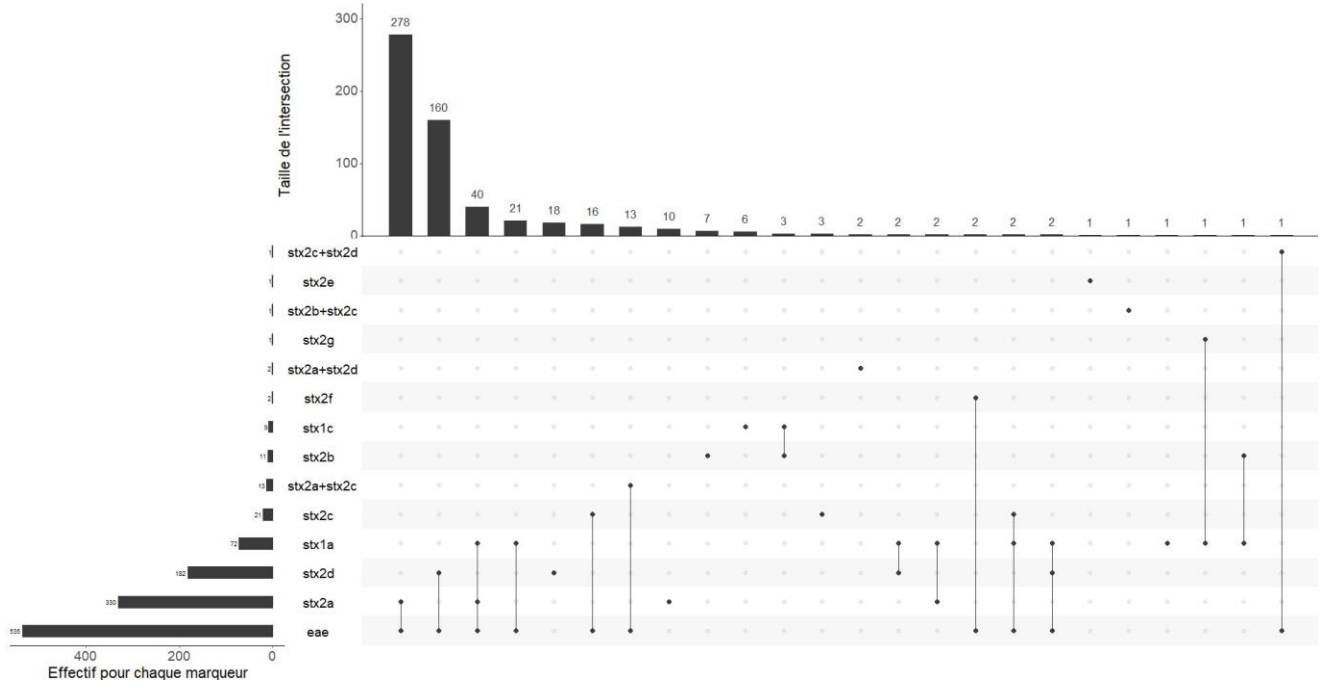
Le *stx2* seul prédomine largement (67 % des cas) sur *stx1* (18 %) et l'association *stx1* + *stx2* (15 %).

L'étude de la combinaison des sous-types des gènes *stx1* et *stx2* et du gène *eae* permet d'affiner les profils de virulence les plus fréquemment retrouvés chez les patients atteints de SHU en comparaison avec les patients sans SHU (Figure 7 et annexe 4). Les 3 sous-types de *stx1* (a, c, et d) ont été identifiés ainsi que les 7 sous-types classiques de *stx2* (a, b, c, d, e, f, g). Parmi les autres sous-types de *stx2* décrits plus récemment, seul *stx2i* a été détecté.

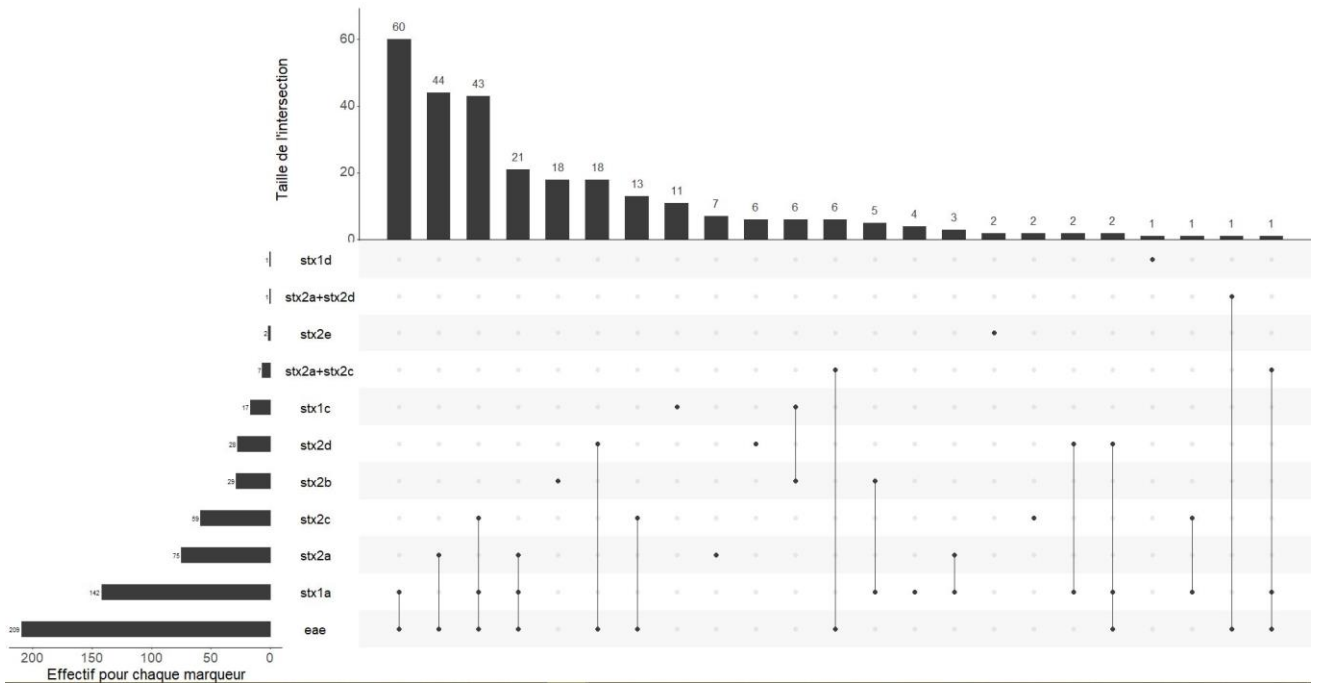
Dans l'ensemble, les profils *stx2a eae* et *stx2d eae* sont retrouvés dans 74 % des cas de SHU. Le profil *stx1a stx2a eae* est retrouvé dans 7 % des cas. Ces trois profils totalisent plus de 81 % des SHU. Les autres sous-types de *stx* isolés de cas de SHU ont une prévalence plus faible (moins de 4 % pour *stx1a*, *stx2c* seuls) (Figure 7).

Au sein des souches isolées de patients sans SHU, ces trois profils sont présents mais devancés par le profil *stx1a eae* qui représente 22 % des souches alors que ce profil n'est présent que dans 3,5 % des souches isolées de SHU, soulignant un pouvoir pathogène moins élevé. La figure 7 résume les résultats de l'analyse de la pathogénicité des STEC.

(a)



(b)



(c)

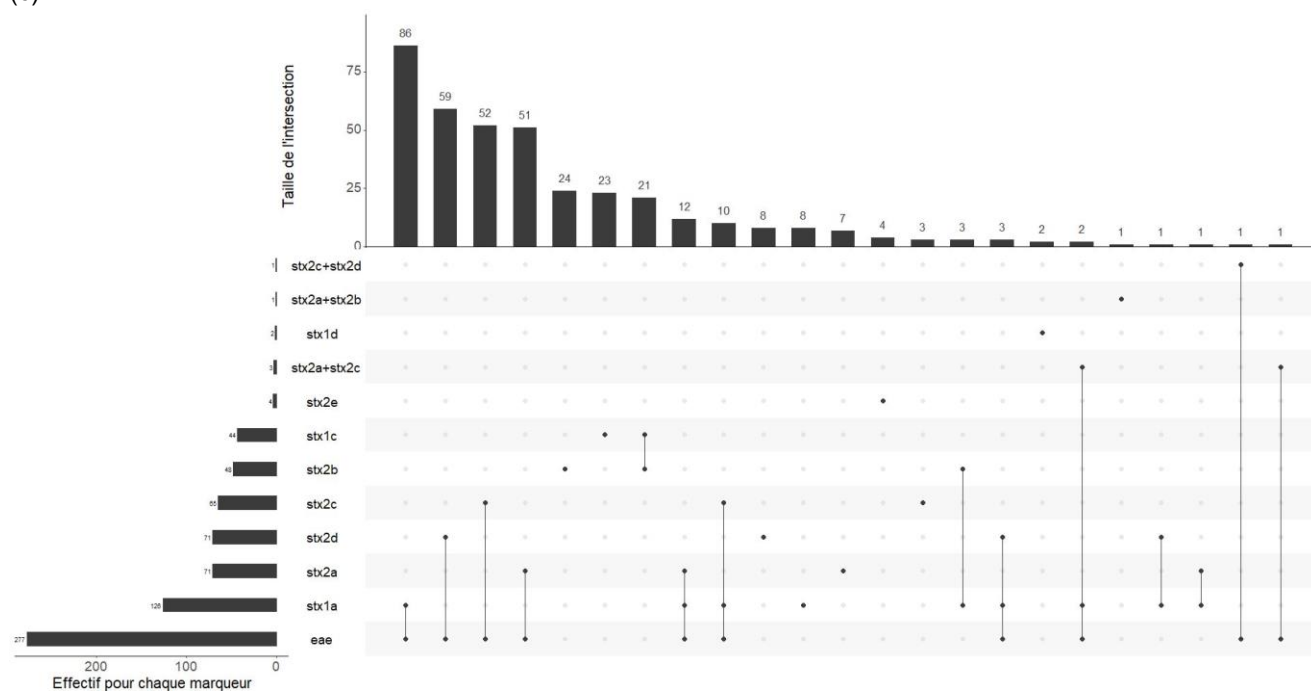


Figure 7. Synthèse de l'analyse de pathogénicité des STEC selon la clinique : (a) SHU (n = 593), (b) diarrhée sanglante (n = 383), (c) diarrhée aiguë (n = 277) et selon le gène (sous-type *stx* et *eae*), (2017-2021)

### Sous-types d'intimine

Parmi les 1 343 souches, 1 052 (78,3 %) possédaient le gène *eae*. Le sous-type n'a pas été déterminé pour 34 souches.

Les principaux sous-types sont :

- *eae*-β : 38 % des souches et majoritairement dans le sérotype O26 (99 %) ;
- *eae*-γ : 25,8 % des souches et exclusivement dans le sérotype O157 (100 %) ;
- *eae*-ξ : 24 % des souches et majoritairement dans le sérotype O80 (99 %).

### Caractéristiques des souches *stx+* *eae-*

De 2017 à 2021, 259 cas ont eu une recherche du gène *stx* positive sans gène *eae* associé (dont 58 (22 %) cas de SHU, 68 (26 %) cas de diarrhée sanglante et 106 (41 %) cas de diarrhée aiguë). Les 3 principaux sérotypes retrouvés étaient O146 (n = 44), O91 (n = 31) et O128 (n = 25). Le gène *stx2* était prépondérant (75 % des cas tous symptômes confondus ; 87 % des cas de SHU), en particulier les sous-types *stx2d* et *stx2a*. Les gènes *subA*, *saa* et *aggR* étaient retrouvés respectivement dans 49 %, 16 % et 2 % des souches.

Le gène *subA* présent exclusivement dans les souches *eae-* a été retrouvé chez 128 des 259 souches responsables, entre autres, de 21 cas de SHU (15 adultes et 6 enfants), 35 cas de diarrhée sanglante et 54 cas de diarrhée aiguë.

Parmi les 42 souches porteuses du gène *saa*, onze ont été responsables de SHU uniquement chez des adultes dont 5 souches possédaient également le gène *subA*.

Le gène *aggR* a été identifié chez 5 souches : deux souches de STEC O104 isolées chez des enfants de 11-14 ans, l'une responsable d'une diarrhée sanglante avec douleurs abdominales et l'autre responsable de SHU avec décès. Pour les trois autres, il s'agissait de deux STEC de sérotype O92 responsables de deux cas de SHU pédiatrique, et une souche O126 responsable de diarrhée sanglante.

Les caractéristiques des souches *stx+* *eae-* isolées de cas de SHU sont représentées dans la figure 8.

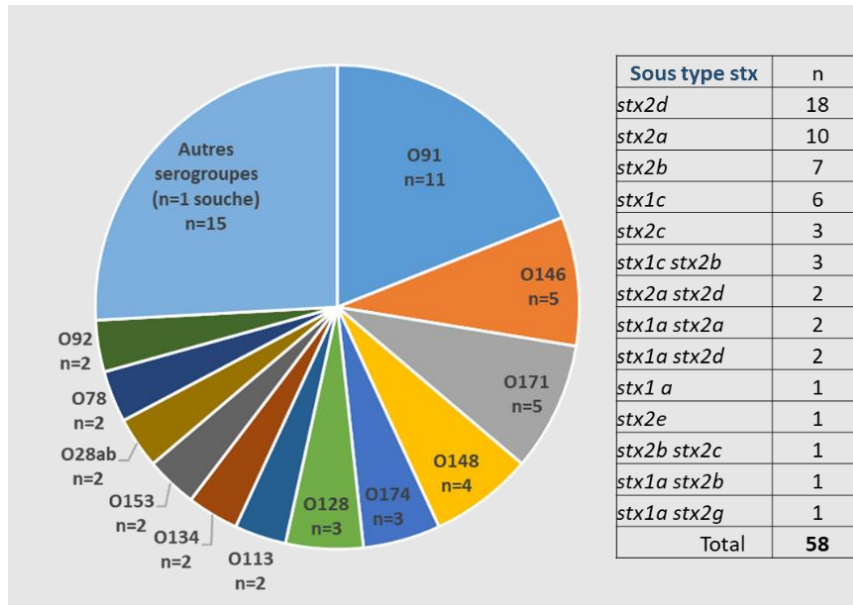
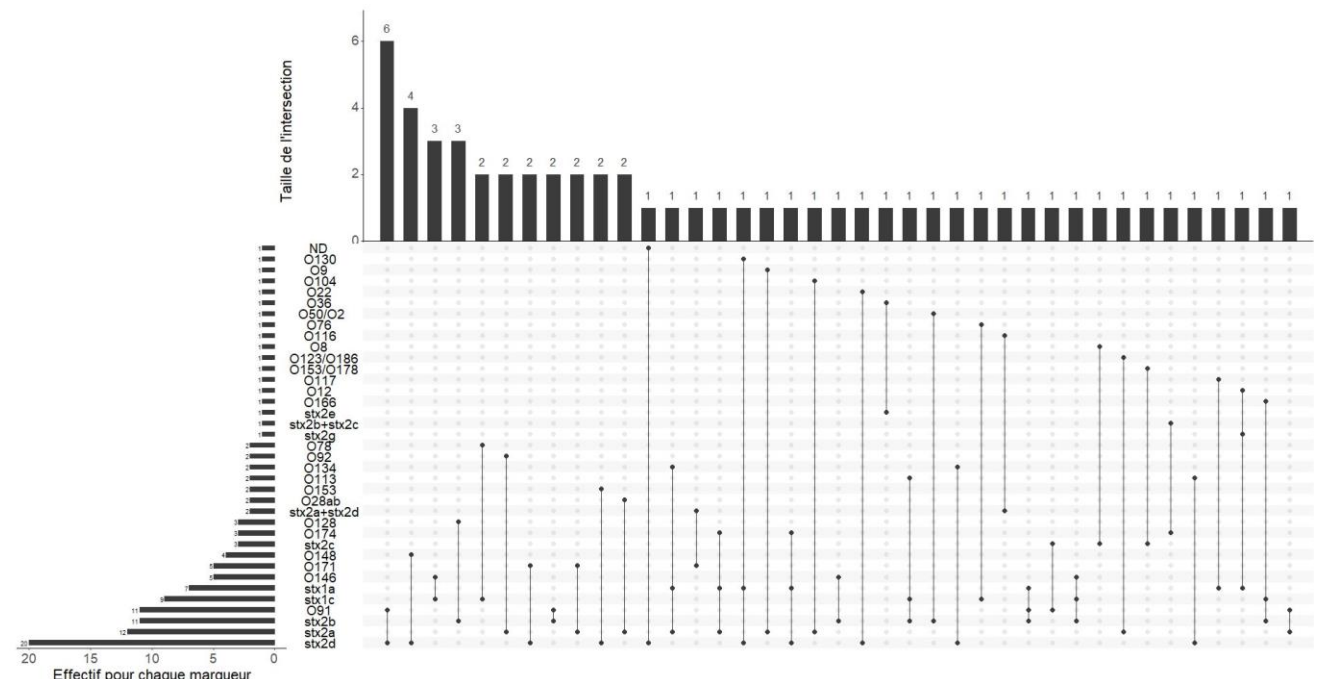


Figure 8. Sérogroupes et sous-types *stx* des souches *stx+* *eae-* impliquées dans les cas de SHU (2017-2021)

Les souches *stx+* *eae-* sont retrouvées majoritairement (60 %) dans les infections survenues chez les adultes. Les profils de virulence des souches à l'origine des cas de SHU adultes sont présentés dans la figure 9 (cas de diarrhée sanglante en annexe 3). Plusieurs combinaisons de facteurs de virulence sont observées. Les gènes de virulence majoritairement retrouvés sont *stx2d*, *saa* et *subA*. Pour les sérogroupes, il s'agit de O91 (retrouvé principalement chez les adultes), O148, O174 et O171. Les sérogroupes O91, O174 et O113 sont associés à l'îlot de pathogénicité LAA codant plusieurs adhésines (cf. 3.1.2.2).



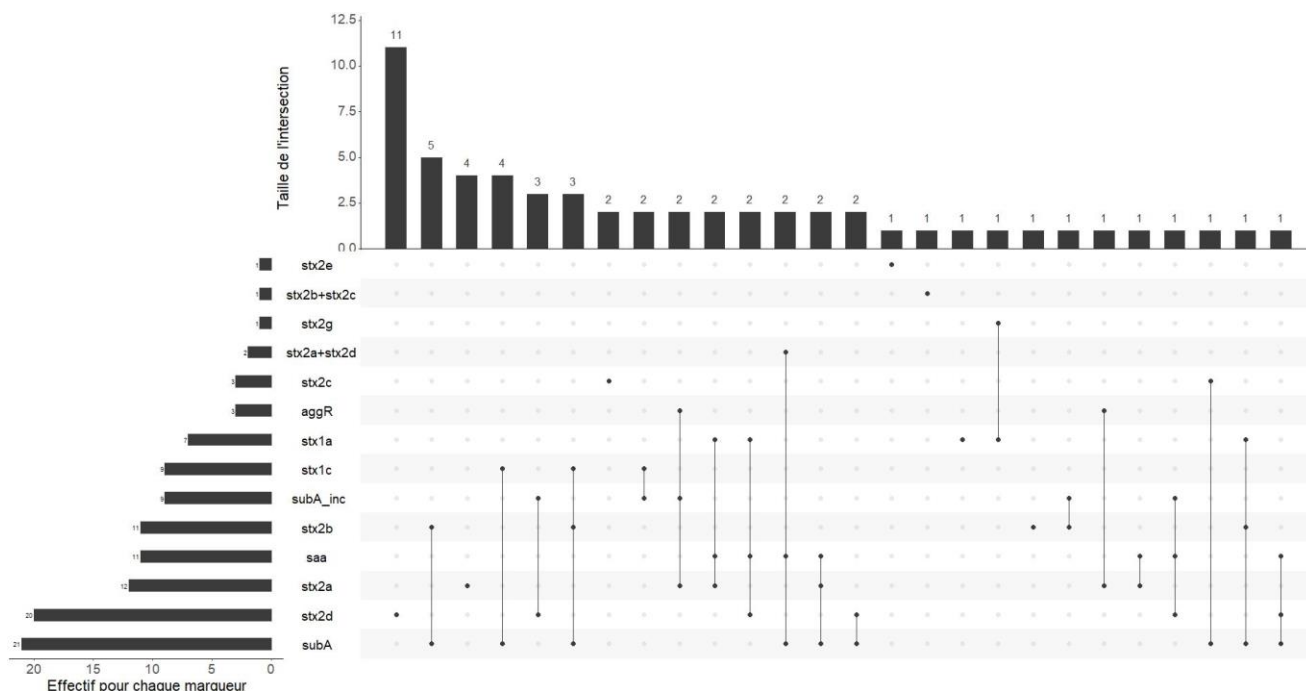


Figure 9 : Sérogroupes et profils de virulence (sous-types *stx*, *saa*, *subA*) des souches *stx+* *eae-* impliquées dans les cas de SHU adultes (n = 58), (2017-2021)

### 3.3.1.5. Épidémies et cas groupés recensés

La grande majorité des cas de SHU pédiatrique notifiés à la surveillance sont sporadiques. Chaque année, une vingtaine d'investigations sont initiées par Santé publique France pour des cas de SHU ou d'infection à STEC groupés dans le temps et/ou dans l'espace. Elles ont pour objet de décrire les caractéristiques des cas et de rechercher une source commune de contamination. Les situations suivantes sont concernées :

- regroupement temporo-spatial inhabituel de cas de SHU pédiatrique ;
- cas de SHU adultes, diarrhée sanglante ou diarrhée simple concomitants d'un diagnostic de SHU pédiatrique ;
- signalement par le CNR-ESS d'un regroupement de souches de STEC ayant les mêmes caractéristiques génomiques.

La surveillance du SHU pédiatrique et des infections à STEC a permis d'identifier, investiguer et documenter 14 épisodes d'origine alimentaire, quatre épisodes de cas groupés d'infection à STEC survenus en collectivités de jeunes enfants, et une épidémie en lien avec la baignade en eau douce de lac (Tableau 5) entre 2000 et 2021.



Tableau 5. Épidémies d'infections à STEC documentées en France entre 2000-2021

Année	Type d'épidémie	Origine	Sérotype/profil de virulence	Nb total de cas liés à l'épidémie*	dont SHU
2000	Alimentaire	Charcuterie (agneau)	O157:H7	10	1
2002	Alimentaire	Viande d'agneau	O148:H8 <i>stx2</i>	10	2
2004	Alimentaire	Fromage au lait cru (chèvre)	O157:H7 <i>stx2 eae</i>	3	2
2005	Alimentaire	Steaks hachés de bœuf	O157:H7 <i>stx1 stx2 eae</i>	69	17
2005	Alimentaire	Fromage au lait cru (vache)	O26:H11 <i>stx2 eae</i> ; O80:H2 <i>stx2 eae</i>	16	16
2011	Alimentaire	Végétaux (graines germées)	O104:H4 <i>aggR</i>	26	9
2011	Alimentaire	Steaks hachés de bœuf	O157:H7 fermentant sorbitol <i>stx2 eae hlyA</i>	18	18
2012	Alimentaire	Steaks hachés de bœuf	O157:H7 <i>stx2 eae ehxA</i>	6	4
2012	Crèche	Transmission interhumaine	O111 <i>stx2 eae</i>	18	4
2013	Alimentaire	Fromage au lait cru (vache)	O157:H- <i>stx2a eae hlyA</i>	8	5
2016	Crèche	Transmission interhumaine	O26:H11 <i>stx2a eae ehxA</i>	4	1
2018	Alimentaire	Fromage au lait cru (vache)	O26:H11 <i>stx2a eae ehxA</i>	14	13
2018	Alimentaire	Fromage au lait cru (vache)	O26:H11 <i>stx2a eae ehxA</i>	3	3
2019	Alimentaire	Fromage au lait cru (vache)	O26:H11 <i>stx2a eae</i>	19	17
2020	Alimentaire	Fromage au lait cru (vache)	O26:H11 <i>stx2a eae ehxA</i>	7	7
2020	Baignade	Eau douce de lac	O26:H11 <i>stx2a eae ehxA</i>	5	5
2021	Crèche	Transmission interhumaine	O26:H11 <i>stx2a eae ehxA</i>	2	1
2021	Collectivité pour enfants	Non identifiée	O28ab:H9 <i>stx2a</i>	2	2
2021	Alimentaire	Végétaux (concombres)	O157:H7 <i>stx1a stx2a eae ehxA</i>	35	2

\*cas confirmés et probables

Les sérotypes à l'origine des épisodes de cas groupés et d'épidémies étaient principalement O26:H11 (huit épisodes) et O157:H7 (sept épisodes). Les souches à l'origine de ces épisodes présentaient différents profils de virulence, mais l'association de *stx2* (accompagné ou non de *stx1*) et *eae* est identifiée pour tous sauf trois des épisodes. Les STEC à l'origine de ces trois épisodes étaient de sérotypes peu isolés parmi les cas de SHU pédiatrique notifiés en France : O148:H8 *stx2*, O104:H4 *aggR*, et O28ab:H9 *stx2a*.

### 3.3.2. Données épidémiologiques européennes (2012 – 2019)

#### 3.3.2.1. Système de surveillance à l'échelle européenne

La surveillance européenne des infections à STEC est coordonnée par l'ECDC (*European Centre for Disease Control*) depuis 2007. Les États membres (EM) de l'Espace économique européen (l'Union européenne (UE), la Norvège, l'Islande et la Suisse) transmettent chaque année des données sur les infections à STEC identifiées dans leur pays conformément à la définition de cas (Décision d'exécution (UE) 2018/945).

En 2019, les infections à STEC étaient à déclaration obligatoire dans la majorité des pays de l'UE, en Islande et en Norvège (ECDC 2021). Dans six pays, la notification des infections repose sur un réseau de surveillance volontaire (Belgique, France, Luxembourg, Espagne) ou un système spécifique (Italie, Royaume-Uni). La couverture de surveillance est nationale dans la majorité des pays à l'exception de la France, l'Italie et l'Espagne.

La définition de cas diffère selon les pays, 4 États membres UE/EEA utilisent la dernière définition de cas (2018), 20 États utilisent des définitions de cas antérieures (2012, 2008) et six États utilisent d'autres définitions.

En raison des différences dans les systèmes de surveillance nationaux, les données d'incidence ne sont pas directement comparables.

### 3.3.2.2. Analyse descriptive

L'extraction de la base de données du système européen de surveillance TESSy de l'ECDC sur la période 2012-2019 a été obtenue en août 2021 (mise à jour avec les données du Royaume-Uni en mai 2022). L'extraction comporte les variables relatives aux :

- pays, date du diagnostic, âge, classification des cas (confirmé, possible, probable) ;
- manifestations cliniques hors SHU (diarrhée, diarrhée sanglante, neurologique, asymptomatique, autre), SHU, hospitalisation, issue de la maladie (information si le cas est vivant ou décédé à la suite de la maladie) ;
- sérotypes (antigène H, antigène O) et facteurs de virulence : présence des gènes *stx1*, *stx2*, sous-type de *stx1* et *stx2*, *eae*, *aaiC*, *aggR*.

Sur la période 2012-2019, 60 723 cas d'infections ont été notifiés par 28 EM parmi lesquels 59 621 cas confirmés dont 3 123 cas de SHU. La manifestation clinique (hors SHU) était connue pour 64 % des cas (24 EM), le statut SHU pour 75 % des cas (24 EM), l'hospitalisation pour 38 % des cas (22 EM), la présence/absence du gène *stx1* pour 73 % des cas (24 EM), sous-type de *stx1* pour 12 % des cas (18 EM), le gène *stx2* pour 72 % des cas (25 EM), le sous-type *stx2* pour 17 % des cas (20 EM), le sérotype pour 55 % des cas (27 EM).

Le profil de virulence (*stx1*, *stx2*, *eae*) a été rapporté pour 29 653 cas d'infections et 1 966 cas de SHU.

L'analyse descriptive détaillée figure en annexe 5. L'analyse a porté sur les cas confirmés pour lesquels l'information sur les sérotypes ou les profils de virulence était connue. Les populations « pédiatriques » (enfants de moins de 15 ans) et « adultes » ont été analysées séparément.

Au cours de la période, 60 % des cas d'infections confirmés étaient notifiés par l'Allemagne (33 %), le Royaume-Uni (18 %) et les Pays-Bas (10 %). Les pays déclarant le plus de cas de SHU étaient la France (29 %), l'Allemagne (16 %) et l'Italie (12 %) (cf. annexe 5).

L'âge médian est de 23 ans pour les cas d'infection et de 2 ans pour le SHU. Les enfants de 10 ans et moins représentent 80 % des cas de SHU rapportés.

#### 3.3.2.2.1. Cas de SHU

##### Sérotypes

Les cas de SHU pédiatrique sont principalement associés aux sérotypes suivants : O157 (37 %), O26 (33 %), O145 (7 %), O80 (6 %) et O111 (6 %), O103 (2 %). Ces sérotypes représentent 90 % des cas de SHU pédiatrique pour lesquels l'information concernant l'antigène O est disponible.

Les cas de SHU adulte sont principalement associés aux sérotypes suivants : O157 (44 %), O26 (13 %), O91 (7 %) O103 (5 %), et O145 (4 %). Ces sérotypes représentent 76 % des cas de SHU adulte pour lesquels l'information concernant l'antigène O est disponible.

84 % des cas de SHU associés au sérotype O80 ont été déclarés par la France (cf. annexe 5).

##### Profils de virulence (*stx1*, *stx2*, *eae*)

En considérant les cas de SHU pédiatrique pour lesquels les informations sur les facteurs de virulence sont disponibles :

- la présence du gène *stx2* (seul ou en combinaison avec *stx1*) est associée à 98 % des cas ; le sous-type est connu pour 16 % des souches *stx2+*, le sous-type *stx2a* représentant 79 % d'entre elles ;
- Le gène *eae* est retrouvé dans 90 % des cas et la combinaison *stx2/eae* est retrouvée dans 88 % des cas.

Pour les cas de SHU chez des adultes :

- La présence du gène *stx2* est associée à 90 % des cas de SHU pour lesquels le profil *stx2* est renseigné. Le sous-type est connu pour 21 % des souches *stx2+*, le sous-type *stx2a* représentant 56 % d'entre elles ;
- Le gène *eae* est retrouvé dans 57 % des cas et la combinaison *stx2/eae* est retrouvée dans 51 % des cas de SHU.

#### **Cas de SHU liés aux souches ne possédant pas le gène *eae* (adultes et enfants)**

Parmi les cas pour lesquels le profil complet de virulence est connu :

- chez les enfants de moins de 15 ans, 177 cas de SHU sont associés à des souches *eae-*, dont 95 % sont dus à des souches *stx2+*. Le sous-type *stx2* n'est renseigné/connu que pour 9 cas : 3 *stx2a*, 2 *stx2b*, 1 *stx2c*, 2 *stx2d*, 1 *stx2g*. L'information sur le sérotype est connue pour 93 cas (44 %). Le sérotype majoritaire associé est O157 (n = 64) suivi par O26 (n = 11) et O55 (n = 7).
- chez les adultes, 124 cas de SHU sont associés à des souches *eae-*, dont 92 % sont dus à des souches *stx2+*. Le sous-type *stx2* n'est renseigné/connu que pour 22 cas dont 11 cas lié au sous-type *stx2a* (5 *stx2d*, 2 *stx2b*, 2 *stx2c*, 1 *stx2a-stx2d*, 1 *stx2b-stx2d*). L'information sur le sérotype associé aux 146 cas est connue pour 73 d'entre eux (50 %). Le sérotype majoritaire associé est O91 (n = 17) suivi par O157 (n = 13) et O113 (n = 6).

#### **3.3.2.2. Cas de diarrhée sanglante chez les personnes n'ayant pas développé de SHU**

Chez les enfants (n = 2 549), en considérant les cas de diarrhée sanglante pour lesquels les informations sur les facteurs de virulence sont disponibles :

- la présence du gène *stx2* est associée à 70 % des cas ; le gène *eae* est retrouvé dans 49 % des cas et la combinaison *stx2/eae* est retrouvée dans 41 % des cas ;
- les sérotypes majoritaires sont O157 (43 %), O26 (15 %).

Chez les adultes (n = 4 791) :

- la présence du gène *stx2* est associée à 64 % des cas ; le gène *eae* est retrouvé dans 44 % des cas et la combinaison *stx2/eae* est retrouvée dans 37 % des cas.
- les sérotypes majoritaires sont O157 (44 %), O26 (7 %).

#### **Points à retenir**

L'importance relative des facteurs/marqueurs de virulence est confirmée par l'analyse des données épidémiologiques françaises et européennes. En France, les caractéristiques des souches isolées de cas d'infections à STEC sont les suivantes :

- le gène *stx2* est retrouvé dans 82 % des cas d'infections, et 95 % des cas de SHU ;
- le gène *eae* est retrouvé dans 80 % des cas d'infections et 90 % des cas de SHU ;
- Les sous-types de *stx* (seuls ou en combinaison) les plus associés au SHU sont *stx2a* (58 %) et *stx2d* (31%) ;
- trois profils totalisent plus de 80 % des SHU : *stx2a + eae*, *stx2d + eae*, *stx1a + stx2a + eae* ;
- les sérotypes du top 5 et O80 représentent 80 % des cas de SHU en France ;
- pour les souches ne possédant pas le gène *eae*, le gène *stx2* était prépondérant (75 % des cas d'infections, 87 % des cas de SHU). Il s'agissait en particulier des sous-types *stx2d* et *stx2a*, et d'autres facteurs de virulence ont été retrouvés (les gènes *subA*, *saa* et *aggR* respectivement dans 49 %, 16 % et 2 % de ces souches). Ces souches sont retrouvées majoritairement dans les cas survenus chez des adultes. Les souches *stx2a* ou *stx2d eae-* sont responsables de 22 % des cas de SHU adulte. Les sérotypes les plus fréquemment retrouvés dans les cas de SHU sont O91, O148, O171.

### 3.4. Classification des souches de STEC en fonction des données épidémiologiques françaises

Les classifications des souches de STEC proposées par l'Anses (2017) et le JEMRA (FAO/WHO 2018) ont été confrontées aux données de surveillance microbiologique et épidémiologique françaises pour évaluer leur caractère prédictif.

Les proportions de SHU, diarrhée sanglante et diarrhée aiguë ont été calculées. Les intervalles de confiance pour ces proportions ont été estimés à l'aide de la méthode de Sison et Glaz en utilisant le package R *DescTools* (Signorell *et al.* 2016; Sison et Glaz 1995). Cette méthode permet le calcul des intervalles de confiance simultanés pour des proportions multinomiales (Sison et Glaz 1995). Les fréquences relatives de SHU associées aux différentes combinaisons de facteurs de virulence (valeur prédictive positive [VPP] ou la capacité à induire un SHU) ont également été calculées puis comparées aux classes de risque proposées.

Les souches de STEC possédant plusieurs gènes *stx* ont été classées en fonction du gène conférant la classe de risque la plus élevée. Par exemple, une souche de STEC possédant les gènes *stx2a*, *stx2c* et *eae* est évaluée en fonction de la présence de *stx2a* et non de *stx2c*, et est alors placée dans la classe 1 et non 3 du classement FAO/OMS.

S'agissant de la classification de l'avis de l'Anses de 2017, les souches appartenant au groupe I représentent 80 % des cas de SHU et 68 % des cas de diarrhée sanglante en France (VPP SHU de 53 %) (Tableau 6).

Toutefois, les données épidémiologiques ne sont pas en accord avec les niveaux de risque établis pour les groupes II et III. En effet, la VPP SHU du groupe II est supérieure à celle du groupe III pour un niveau de risque de SHU estimé identique (« potentiel »).

**Tableau 6. Comparaison des classes de risque de l'avis de l'Anses 2017 avec les données de surveillance françaises (CNR -2017-2021)**

Groupe	Gènes	Sérogroupe	Risque		SHU (n = 593)	Diarrhée sanglante (n = 277)	Diarrhée aiguë (n = 383)	VPP <sup>1</sup> SHU
			Diarrhée	SHU / Colite hémorragique	%	%	%	
I	<i>stx+</i> , <i>eae</i> + ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> )+	O157, O26, O103, O145, O111, O104, O80	élevé	Elevé	80 [77 – 83]	68 [62 – 73]	60 [55 – 65]	53 %
II	<i>stx</i> +, <i>eae</i> + ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> )+	tout autre sérotipe	élevé	potentiel	10 [7 – 13]	8 [3 – 13]	12 [7 – 17]	47 %
III	<i>stx</i> +, <i>eae</i> - et ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> )-	tout autre sérotipe	potentiel	potentiel	10 [7 – 13]	0,24 [19 – 30]	28 [23 – 33]	25 %

<sup>1</sup>VPP : valeur prédictive positive. Capacité des souches à induire une forme clinique

Les classes de risque proposées par le JEMRA correspondent globalement aux données françaises (Tableau 7). Les souches appartenant aux classes de risque 3 et 4 présentent toutefois un niveau de risque équivalent.

Tableau 7. Comparaison des classes de risque du rapport FAO/OMS (2018) avec les données de surveillance françaises (CNR - 2017-2021)

Classe de risque	Gènes de virulence	Potentiel de :	SHU (n = 593) %	Diarrhée sanglante (n = 277) %	Diarrhée aiguë (n = 383) %	VPP <sup>1</sup> SHU
1	<i>stx2a</i> *, <i>eae</i> + ou <i>aggR</i> +	DA/DS/SHU	56 [52 – 60]	27 [21 – 33]	17 [12 – 22]	70 %
2	<i>stx2d</i> *	DA/DS/SHU	31 [28 – 36]	10 [4 – 16]	19 [14 – 24]	65 %
	dont <i>eae</i> +		27	7	16	66 %
	<i>eae</i> -		4	3	2	55 %
3	<i>stx2c</i> *, <i>eae</i> +	DA/DS	3 [0 – 7]	20 [14 – 27]	16 [11 – 21]	13 %
4	<i>stx1a</i> ,* <i>eae</i> +	DA/DS	4 [0 – 8]	22 [16 – 28]	22 [17 – 28]	13 %
5**	Autres sous-types <i>stx</i> *	DA	6 [2 – 10]	21 [15 – 27]	25 [20 – 31]	18 %

<sup>1</sup>VPP : valeur prédictive positive. Capacité des souches à induire une forme clinique

\*Variants *stx* seuls ou en combinaison

\*\*19 profils différents, représentant chacun entre 0 et 1 % des cas de SHU, 0 et 6 % des cas de DS (diarrhée sanglante) et 0 et 6 % des cas de DA (diarrhée aiguë)

**Les classifications de l'Anses (2017) et de la FAO/OMS (2018) n'étant pas en totale concordance avec les données épidémiologiques françaises (2017-2021), une nouvelle classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence est proposée ici** (Tableau 8). Elle tient compte de l'association des souches avec les formes sévères d'infection, principalement le SHU puis la diarrhée sanglante. Le critère retenu pour le classement des souches est donc la VPP SHU puis la VPP DS en cas d'équivalence. L'annexe 6 présente le classement des souches en fonction de leur fréquence d'implication dans les cas d'infection (SHU, DS, DA) et selon l'âge des patients (enfants de moins de 15 ans, adultes) en France.

Le sous-type de *Stx* est le principal déterminant de la virulence d'une souche STEC. Les données épidémiologiques françaises et internationales montrent une plus grande virulence des souches possédant les variants *stx2a* et/ou *stx2d* (groupes I et II). L'intimine (codée par le gène *eae*), principal facteur d'adhésion, est également un déterminant important de la virulence, retrouvé dans 80 % des cas d'infections et 90 % des cas de SHU.

**Les souches possédant les variants *stx2a* et/ou *stx2d* et le gène *eae* (ou *aaic/aggR*) présentent le plus fort potentiel de causer un SHU, représentant 84 % cas de SHU en France (groupe I).**

Les souches *eae*-négatives possédant les variants *stx2a* et/ou *stx2d* ont été classées dans le groupe II avant les souches *eae*+ possédant les variants autres que *stx2a/2d* car elles présentent une VPP SHU plus élevée. Ces souches sont plus fréquemment impliquées dans les cas de SHU chez les adultes (22 % des cas de SHU adulte contre 1 % chez les enfants de moins de 15 ans).

Les autres sous-types de *Stx* sont moins fréquemment associés à des cas de SHU et sont retrouvés principalement dans les cas de diarrhée sanglante et de diarrhée aiguë (groupes III et IV).

Concernant le sérotype, il n'intervient pas dans la virulence et n'a pas été retenu comme un critère pour la classification des souches. La précision sur les sérotypes à l'origine des infections en France a toutefois été mentionnée en note de bas du tableau 8 car elle demeure informative dans le cadre de l'épidémiologie humaine et alimentaire. Par ailleurs, il existe des techniques de détection des souches appartenant à ces sérotypes dans les aliments. Les souches des sérotypes du top 5 et O80 représentent environ 80 % des cas de SHU, 67 % des cas de diarrhée sanglante et 61 % des cas de diarrhée aiguë. Les souches associées se répartissent dans les groupes I et III (cf. annexe 6).

Par rapport aux classifications de l'Anses (2017) et de la FAO/OMS (2018) la nouvelle classification proposée permet de couvrir une part plus importante du risque de SHU lorsque l'on cible les souches du groupe (ou « au niveau ») 1 (Figure 10). Cette classification (Tableau 8) permet également de mieux prendre en considération les cas de SHU chez les adultes.

**Tableau 8. Classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence (données de surveillance françaises, CNR 2017-2021)**

Groupe	Gènes	SHU (n = 593) %	Diarrhée sanglante (n = 277) %	Diarrhée aiguë (n = 383) %	VPP <sup>1</sup> SHU	VPP <sup>1</sup> DS
I <sup>2</sup>	( <i>stx2a</i> et/ou <i>stx2d</i> ) <sup>3+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>+</sup>	84 [81 – 87]	34 [28 – 41]	34 [28 – 39]	69 %	13 %
II <sup>4</sup>	( <i>stx2a</i> et/ou <i>stx2d</i> ) <sup>3+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	5 [3 – 8]	6 [0 – 12]	5 [0-10]	48 %	25 %
III <sup>2,5</sup>	Autres <i>stx</i> <sup>+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>+</sup>	7 [4 - 10]	42 [36 - 48]	39 [33 – 44]	13 %	38 %
IV	Autres <i>stx</i> <sup>+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	4 [1 – 7]	18 [12 – 24]	23 [18 – 29]	15 %	31 %

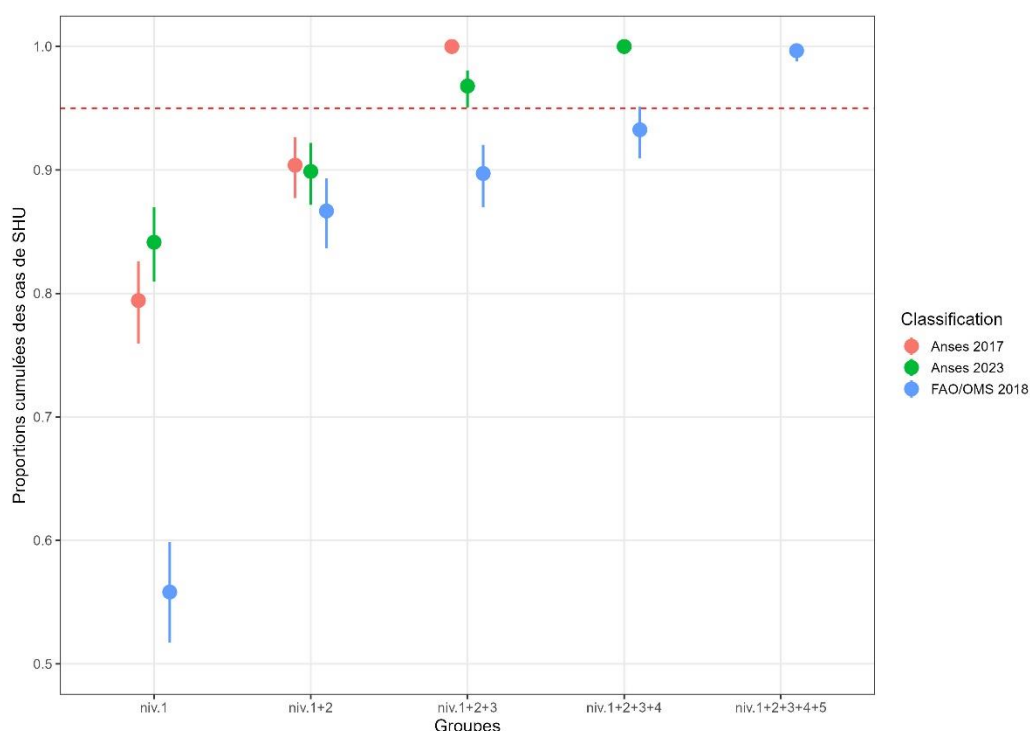
<sup>1</sup>VPP : valeur prédictive positive. Capacité des souches à induire une forme clinique

<sup>2</sup> Les sérogroupes du top 5 et O80 représentent environ 80 % des cas de SHU, 67 % des cas de DS et 61 % des cas de DA (groupes I et III)

<sup>3</sup> Variants *stx* seuls ou en combinaison

<sup>4</sup> Ces souches sont responsables de 22 % des cas SHU chez les adultes; les sérogroupes majoritaires sont O91, O171, O174 et O148.

<sup>5</sup> Les sérogroupes du top 5 et O80 représentent 82 % des souches du groupe III.



**Figure 10. Proportions cumulées des cas de SHU pour les différents niveaux de classification des souches de STEC (Anses 2023, Anses 2017, FAO/OMS 2018)**

Dans le cadre de la gestion du risque, la classification des souches (Tableau 8) peut être utilisée pour l'évaluation du potentiel de virulence d'une souche de STEC ainsi que pour la détermination des souches à surveiller dans les aliments. Il convient de définir au préalable la part de risque de SHU (et éventuellement de diarrhée sanglante) que l'on souhaite prévenir. La surveillance des souches de STEC

des groupes I et II permettrait de couvrir 89 % des cas de SHU et 40 % des cas de diarrhée sanglante. La surveillance des souches des groupes I à III permettrait de couvrir 96 % des cas de SHU et 82% des cas de diarrhée sanglante.

### Points à retenir

Sur la base des données épidémiologiques françaises récentes et de la littérature internationale, le CES BIORISK propose une nouvelle classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence (Tableau 8). Elle est fondée sur l'association des souches avec les formes sévères d'infection (principalement le SHU, puis la diarrhée sanglante).

Les données épidémiologiques françaises et internationales montrent une plus grande virulence des souches *stx2a+* et/ou *stx2d+*. L'intimine (codée par le gène *eae*), principal facteur d'adhésion, est également un déterminant important de la virulence, retrouvé dans 90 % des cas de SHU.

**Les souches de STEC possédant les sous-types *stx2a* et/ou *stx2d* (seul ou en combinaison) et les gènes ou marqueurs d'adhésion *eae* ou *aggR* (groupe I) présentent le plus fort potentiel de provoquer un SHU.** Ces souches représentent 84 % des cas de SHU en France.

Les souches *eae*-négatives possédant les variants *stx2a* et/ou *stx2d* (groupe II) présente également un fort potentiel de provoquer un SHU en particulier chez les adultes (22 % des cas de SHU adulte contre 1 % chez les enfants de moins de 15 ans).

Les souches de STEC possédant d'autres sous-types du gène *stx* (groupes III et IV) sont moins fréquemment associées à des cas de SHU et sont retrouvées principalement dans les cas de diarrhée sanglante et de diarrhée aigüe.

Le sérotype n'est pas associé à la virulence et n'a pas été retenu comme un critère pour la classification des souches. L'information sur les sérogroupes demeure toutefois utile dans le cadre de l'épidémiologie humaine et alimentaire. Par ailleurs, il existe des techniques de détection dans les aliments des souches des sérogroupes responsables de la majorité des cas de SHU en France, telles que les sérogroupes du top 5. Ces souches se répartissent dans les groupes I et III.

Au-delà du profil de virulence de la souche, d'autres facteurs contribuent à la survenue de signes cliniques voire de formes sévères, tels que la sensibilité des personnes exposées (ex : âge, comorbidités), la dysbiose intestinale, la prise d'antibiotiques et la dose de STEC ingérée.

Dans le cadre de la gestion du risque, la classification des souches peut être utilisée pour l'évaluation du potentiel de virulence d'une souche de STEC ainsi que pour la détermination des souches à surveiller dans les aliments selon un niveau de protection préalablement défini par le gestionnaire du risque.

## 3.5. Contamination des réservoirs animaux et des aliments par les STEC

### 3.5.1. Méthodes de détection des STEC dans les matrices alimentaires

Il existe à ce jour deux normes relatives à la recherche des STEC dans les matrices alimentaires : la norme CEN ISO 16654:2001<sup>3</sup> (dédiée à la détection des STEC du sérotype O157:H7), et la spécification technique XP CEN ISO/TS 13136:2012<sup>4</sup> (dédiée à la détection des STEC et des souches appartenant aux 5 principaux sérogroupes de STEC pathogènes pour l'Homme ou « top 5 »). Il existe également des méthodes alternatives validées et commercialisées.

<sup>3</sup> CEN ISO 16654:2001. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157 dans les denrées alimentaires

<sup>4</sup> XP CEN ISO/TS 13136:2012. Méthode horizontale pour la détection des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines [STEC] et détermination des sérogroupes O157, O111, O26, O103 et O145

Ces normes et méthodes alternatives reposent sur deux grandes étapes. La première étape comprend une phase d'enrichissement permettant la croissance des bactéries recherchées, suivie d'une phase de détection ou de criblage au moyen d'outils immunologiques ou moléculaires permettant de suspecter la présence de ces bactéries. Dans le cas où un résultat positif est obtenu, celui-ci est qualifié de « présomptif » et peut être confirmé grâce à la seconde étape qui consiste en une tentative d'isolement des bactéries dont la présence a été suspectée, suivie d'une caractérisation des isolats obtenus. Lors de cette seconde étape, l'isolement des STEC du top 5 est facilitée par l'utilisation d'outils d'immuno-concentration et de milieux sélectifs et chromogènes spécifiques de ces bactéries. L'absence de tels outils pour la plupart des autres sérogroupes rend leur isolement à partir d'aliments particulièrement difficile.

Delannoy, Tran et Fach (2022) ont proposé l'utilisation de nouveaux marqueurs génétiques (*espK*, *espV*, CRISPR\_O26) associés aux souches *stx+* *eae+* pour affiner le diagnostic de première intention dans les aliments (Delannoy, Beutin et Fach 2012, 2013a, 2013b). L'utilisation de ces marqueurs vise à réduire le nombre d'échantillons « présomptifs positifs » devant subir une analyse de deuxième intention.

Grâce à l'essor des nouvelles technologies de séquençage (et en particulier le séquençage de génomes complets), les souches de STEC isolées des produits alimentaires peuvent faire l'objet d'une caractérisation approfondie, permettant de compléter les données épidémiologiques et de mieux évaluer leur pouvoir pathogène (identification complète des combinaisons de facteurs de virulence, y compris des variants de ces derniers).

### **3.5.2. Prévalence et caractéristiques génétiques des souches isolées dans les aliments en France**

#### **3.5.2.1. Prévalence dans le réservoir animal**

La prévalence globale des bovins adultes excréteurs de STEC appartenant aux sérotypes du top 5 a été estimée en France en 2010-2011 à 1,8 % : 4,5 % des jeunes bovins laitiers, 2,4 % des jeunes bovins à viande, 1,8 % des vaches laitières, 1 % des vaches à viande (Bibbal *et al.* 2015). Les deux sérotypes O157:H7 et O103:H2 étaient prépondérants chez les gros bovins, représentant respectivement 55 % et 24 % des souches isolées. Les gènes *stx* ont été détectés dans 73 % des échantillons fécaux bovins (*stx1*: 38%; *stx2*: 64%, seuls ou en combinaison). Chez les veaux de boucherie au stade de l'abattage en France, une prévalence plus élevée des STEC du top 5 a été retrouvée (5,6 %) en 2017, engendrant un risque plus fort de contamination des carcasses et des viandes de veau (notamment des viandes destinées au hachage) (David *et al.* 2022). Ces travaux confirment que l'âge des animaux influence le portage intestinal des STEC. Deux sérotypes de STEC, O103:H2 et O26:H11, étaient prépondérants chez les veaux et représentaient respectivement 43 % et 30 % des souches isolées. Au sein des souches de STEC du top 5 isolées de bovins (adultes et veaux), les variants *stx2a* et *stx2d* étaient minoritaires (10 des 63 souches, soit 16 %). Dans la filière bovine française, il n'existe aucune donnée publiée sur la fréquence des variants du gène *stx* chez les STEC circulant chez les animaux, en dehors des souches du top 5 isolées à l'aide des méthodes d'immuno-capture.

En France, très peu de données sont disponibles concernant la contamination par STEC dans d'autres filières animales. La dernière étude concernant la filière porcine a été réalisée par Bouvet *et al.* (2001, 2002). Les gènes *stx* ont été détectés dans 15 % des échantillons de carcasses et pièces de découpe de porc (n = 1200). Les STEC O157, O26, O11 et O55 n'ont pas été retrouvées parmi les 57 souches isolées. Les 89 % des isolats sont porteurs du gène *stx2e*, qui est associé à la maladie de l'œdème du porc.

Une revue récente propose une synthèse d'études publiées entre 1999 et 2021 sur la prévalence des STEC à différents stades de la chaîne de production porcine (Haque, Bosilevac et Chaves 2022). Les prévalences sont très variables selon les pays. Les taux de prévalence de souches de STEC rapportées dans les viandes porcines (fraîches et transformées) varient entre 0,1 et 23 % selon les études. En Europe, des STEC appartenant aux sérogroupes majeurs ont été isolées dans de la viande hachée de



porc et des saucisses en Italie (Villani *et al.* 2005; Bardasi *et al.* 2015; Ercoli *et al.* 2016), et aux Pays-Bas (Heuvelink *et al.* 1999).

### 3.5.2.2. Données issues des plans de surveillance

Entre 2017 et 2021, des plans de surveillance (PS) ont été mis en place annuellement par la DGAL sur les produits suivants (Mazuy-Cruchaudet *et al.* 2021; DGAL 2022) :

- les viandes hachées de bœuf surgelées et/ou réfrigérées au stade de la production (2017, 2018) et de la distribution (2019, 2021) ;
- les fromages au lait cru au stade de la production (2018).

Les souches recherchées étaient :

- pour les viandes bovines, les souches possédant les gènes de virulence *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) et *eae* et appartenant à l'un des sérotypes du top 5, aux sérogroupes O45, O121 (souches du top 7, visées par la réglementation américaine) et O80 ;
- pour les produits laitiers, les souches de STEC du top 5 et O80.

Les étapes de dépistage et de confirmation des STEC considérées (à l'exception du sérotype O80) sont réalisées par les laboratoires agréés. Le LNR réalise la caractérisation des souches et l'étape de dépistage du sérotype O80. Dans le cadre de ses activités d'épidémiologie, le LNR reçoit des laboratoires agréés les échantillons positifs pour le gène *stx*, afin d'effectuer un isolement des souches de STEC n'appartenant pas au top 7.

Les résultats de dépistage par PCR en temps réel (gènes *stx*, *stx* et *eae*, *stx* et *eae* et marqueur de sérotype) dans les aliments sont présentés dans la figure 11.

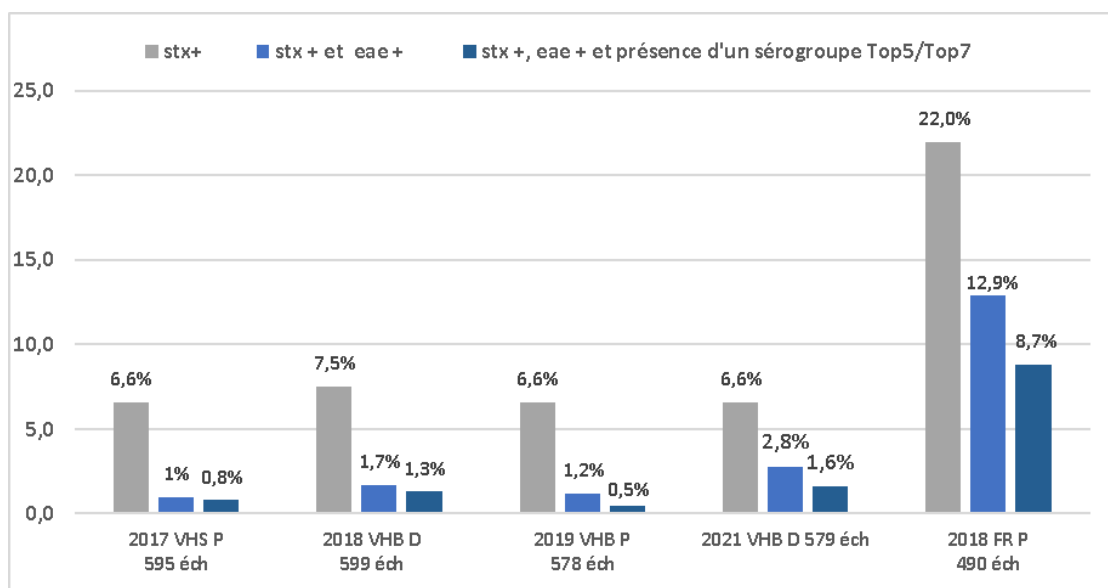


Figure 11. Résultats de dépistage des marqueurs de souches de STEC (top 5, top 7 et O80) dans les aliments dans le cadre des plans de surveillance de 2017 à 2021 (Mazuy-Cruchaudet *et al.* 2021; DGAL 2022). Recherche par PCR en temps réel des gènes *stx*, *eae* et marqueurs de sérogroupes à partir d'un bouillon d'enrichissement. VHS (viande hachée surgelée) – VHB (viande hachée réfrigérée) – FR (Fromages au lait cru) – P (Production) – D (Distribution).

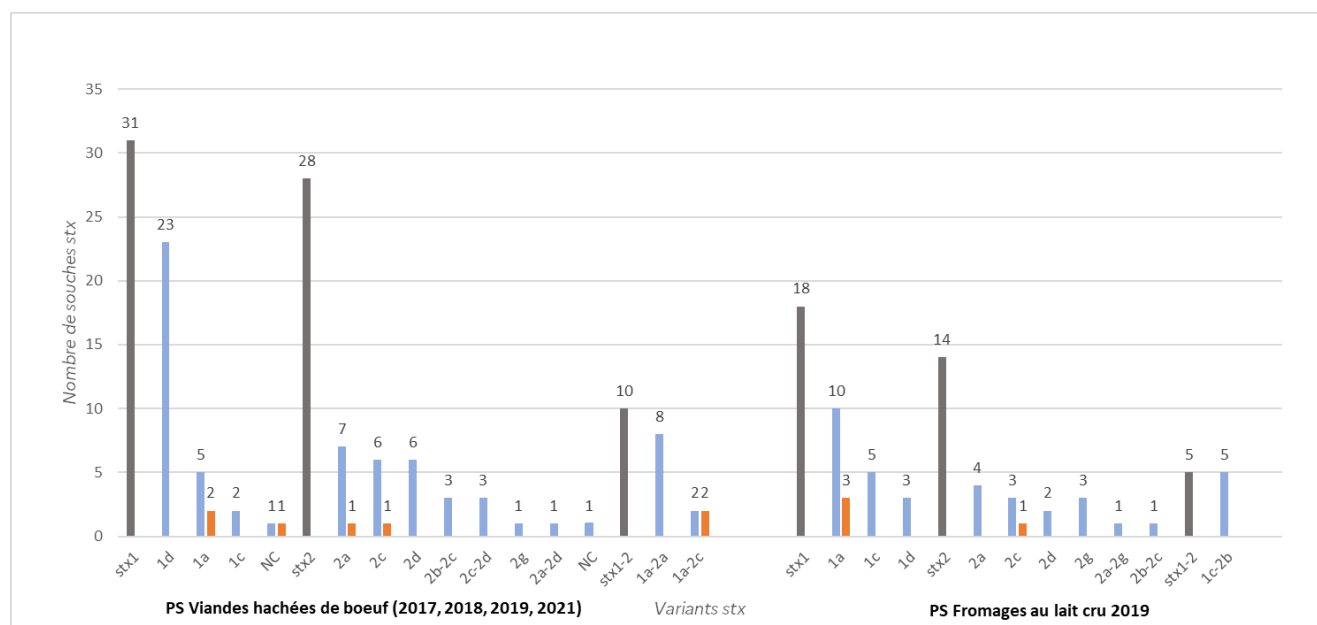
La prévalence et les caractéristiques des souches isolées sont présentées en annexe 7. Les résultats des plans de surveillance montrent une prévalence de contamination par les souches recherchées (STEC du top 5/7) dans les viandes hachées respectivement de 0% [IC95 0 – 0,75 %], 0,5 % [0,1-1,4 %], 0,17 % [0,03-0,97%], 0,5 % [0,1-1,5] en 2017, 2018, 2019 et 2021. Dans les fromages au lait cru, la prévalence était de 0,8 % [0,2-2 %] en 2018. Les souches du « top 5 » isolées dans les viandes

de bœuf dans le cadre des plans de surveillance 2017-2021, appartiennent aux sérotypes O157:H7 (3) O26:H11 (3) et O145:H28 (1) et O111:H8 (2). Les quatre souches isolées dans les fromages au lait cru appartiennent aux sérotypes O26:H11 (2), O157:H7 (1) et O103:H2 (1).

Sur la période 2017-2021, le LNR a reçu entre 80 % et 100 % des échantillons du plan de surveillance détectés *stx+*, pour isolement et caractérisation des souches de STEC. Les prévalences des souches de STEC (*eaе+* et *eaе-*) étaient de 2 à 3 % dans les viandes hachées (PS 2017, 2018, 2019, 2021) et de 8 % dans les fromages au lait cru (PS 2018). Ces prévalences sont probablement sous-estimées car il n'existe pas de méthode d'enrichissement ou de méthode sélective facilitant l'isolement des STEC autres que les souches du top 5 qui en bénéficient (systèmes d'immuno-capture, géloses sélectives et chromogènes).

Il n'existe pas de données sur la prévalence des sous-types du gène *stx* dans les aliments analysés lors des plans de surveillance entre 2017 et 2021. Les seules données disponibles sont issues de souches isolées. La figure 12 rapporte la répartition par sous-type du gène *stx* des souches isolées. Les souches portant le gène *stx2* (seul ou en association avec le gène *stx1*) représentent 54 % des souches isolées des plans de surveillance. Parmi les souches isolées, 30 % possèdent les gènes *stx2a* et/ou *stx2d*.

Le tableau 9 présente la prévalence des souches isolées et leur distribution au sein des groupes de la nouvelle classification définie dans le tableau 8. Sur la période 2017-2021, la prévalence globale des souches appartenant aux groupes I, II et III dans les viandes hachées de bœuf était de 1,38 % [0,90%-1,87 %] (Tableau 9). En 2018, la prévalence de ces souches dans les fromages au cru était de 3,06 % [1,72 %-3,00 %].



**Figure 12. Répartition par types et sous-types *stx* des souches isolées dans les plans de surveillance (PS) (viandes et fromages) ; En bleu, caractéristiques des souches de STEC (*eaе+* ou -) n'appartenant pas au TOP 7 ; en rouge : souches *stx+* *eaе+* appartenant aux principaux sérotypes, en gris : cumul des effectifs**

**Tableau 9. Prévalence et caractéristiques des souches de STEC analysées au cours des plans de surveillance de 2017 à 2021**

Gènes	Viandes hachées de bœuf (n = 2351)			Fromages au lait cru (n = 490)		
	n	Prévalence (%)	Sérogroupe /sérotypes	n	Prévalence (%)	Sérogroupe /sérotypes
<b>Souches recherchées</b>						
STEC <i>eae</i> +Top 5	7	0,29 [0,12-0,61]	O26:H11 (3), O157:H7 (3), O145 (1)	4	0,8 [0,2-2]	O26:H11 (2), O157:H7, O103:H2
<b>Souches STEC</b>						
I ( <i>stx2a</i> et/ou <i>stx2d</i> ) <sup>1+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>+</sup>	2	0,08 [0,01-0,31]	O26:H11 (1), NT (2)	1	0,2 [0,05-1,13]	O55
II ( <i>stx2a</i> et/ou <i>stx2d</i> ) <sup>1+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	24	1,04 [0,66-1,51]	O113 (4), O104 (1), NT(19)	6	1,22 [0,45-2,64]	O91, O113, NT (4)
III Autres <i>stx</i> <sup>+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC/aggR</i> ) <sup>+</sup>	6	0,26 [0,09-0,55]	O26:H11 (2), O157:H7 (3), O145 (1)	8	1,63 [0,70-3,19]	O157:H7, O26:H11 (2), O103:H2, NT (4)
IV Autres <i>stx</i> <sup>+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	37	1,57 [1,11-2,16]	NT (37)	20	4,08 [2,51-6,23]	O55, NT (19)

<sup>1</sup> Variants *stx* seuls ou en combinaison

### 3.5.2.3. Données d'autocontrôle

Lors de son audition, le LNR STEC a mis à disposition les informations sur les caractéristiques des souches d'autocontrôles reçues pour confirmation. Ces données confirment les données des plans de surveillance, les souches présentant uniquement le gène *stx1* représentent également près de la moitié des souches (54%). Plus spécifiquement, les données rapportées par Delannoy, Tran et Fach (2022) dans la filière laitière montrent que la distribution des types *stx* étaient spécifiques de la filière animale considérée, le gène *stx1* (seul) étant présent dans 79 % des souches des fromages de brebis contre 24 % des souches des fromages au lait de vache.

### 3.5.3. État des connaissances sur les sources du sérotype O80:H2

Depuis les années 2010, le sérotype O80:H2, quasiment jamais décrit auparavant, a clairement émergé pour devenir l'un des trois sérotypes majeurs impliqués dans les SHU en France (avec les O26:H11 et O157:H7). Cette progression s'observe également dans d'autres pays européens puisqu'il s'agissait du 3<sup>ème</sup> sérotype le plus fréquent responsable de 9 % des SHU européens en 2019 (EFSA et ECDC 2021). Les souches humaines de STEC O80:H2 sont en majorité porteuses des sous-types *stx2a* et *stx2d* (Cointe et al. 2018; Gigliucci et al. 2021).

Depuis la première description d'un STEC O80 chez deux bovins espagnols en 2003 ayant permis l'identification du variant *xi* du gène *eae* (Blanco et al. 2004), caractéristique des souches O80:H2, seule une dizaine de souches de STEC O80:H2 isolées d'un animal (principalement de veaux atteints d'une diarrhée ou d'une septicémie) ou d'une matrice alimentaire (produits au lait cru) ont été rapportées dans la littérature (Soysal et al. 2016; De Rauw et al. 2019; Habets et al. 2021; Gigliucci et al. 2021). Remarquablement, tous ces STEC O80:H2 isolés chez l'animal arborent le même virulome que les souches humaines de STEC O80:H2.

Si la présence de STEC O80:H2 a été très rarement rapportée chez les animaux en bonne santé (Ikeda et al. 2023), un taux élevé (40 %) du sérotype O80:H2 a été observé en Belgique parmi les EPEC isolés de jeunes veaux présentant une diarrhée ou une septicémie, sur la période 2008-2015 (Thiry et al. 2017). Une importante proximité génétique entre des souches de EPEC, STEC et STEC O80:H2 a récemment été décrite (De Rauw et al. 2019; Habets et al. 2021), suggérant que les unes puissent

dérivée des autres, par acquisition ou perte du gène codant la shigatoxine, et que les bovins puissent une nouvelle fois constituer le réservoir de ce sérotype émergent.

Une étude française récente, portant sur le criblage de plus de 4 500 extraits d'ADN issus de la filière des produits au lait cru (fromage et lait de brebis, vache et chèvre) a permis de détecter la présence des marqueurs *stx*, *eae-xi* et *wzxO80* de STEC O80:H2 dans des fromages au lait cru de vache (Delannoy, Tran et Fach 2022). Cependant, la présence de STEC O80:H2 dans ces fromages n'a pas été confirmée par un isolement des souches, et on ne peut exclure que les marqueurs génétiques détectés appartiennent à des souches différentes. L'ensemble de ces éléments a conduit le LNR français à intégrer, en 2017 le sérotype O80:H2 parmi les sérogroupes recherchés systématiquement dans les matrices alimentaires, dans le cadre des plans nationaux de surveillance. Néanmoins, à l'heure actuelle la présence de STEC O80:H2 n'a jamais été identifiée aussi bien dans la filière viande que dans celle des produits laitiers. De plus, une étude réalisée par Santé publique France a permis de comparer les expositions rapportées pour les cas de SHU pédiatrique dus à des STEC O80:H2 comparés à ceux infectés par O157 ou d'autres sérogroupes. Cette étude a montré que les enfants infectés par une souche de STEC O80:H2 étaient significativement plus jeunes, consommaient moins de viande de bœuf hachée et rapportaient au moins un contact avec d'autres personnes atteintes de diarrhée. Les résultats de cette étude suggèrent des différences dans les potentiels réservoirs et facteurs de STEC O80:H2 (Ingelbeen *et al.* 2018). L'un des moyens les plus efficaces pour lutter contre la contamination humaine par les STEC repose sur le contrôle des réservoirs. Les bovins en bonne santé ne semblent pas représenter un réservoir de STEC O80:H2. Ce dernier reste toujours actuellement inconnu, ce qui peut expliquer, au moins en partie, la progression actuelle de ce sérotype dans l'épidémiologie française et européenne.

#### Points à retenir

Les données disponibles de contamination des aliments en France concernent essentiellement la filière bovine. Les souches recherchées sont celles possédant des gènes de virulence *stx* et *eae* et appartenant aux sérotypes du top 5 (top 7 pour la viande) et O80:H2 (depuis 2017).

Les résultats des plans de surveillance (PS) montrent une prévalence des souches de STEC (*eae+* et *eae-*) d'environ 3 % dans les viandes hachées (n = 2351 ; PS 2017, 2018, 2019, 2021) et de 8 % dans les fromages au lait cru (n = 490 ; PS 2018). La prévalence des souches du top 5 ou 7 est inférieure à 1 %. Les souches portant le gène *stx2* (seul ou en association avec le gène *stx1*) représentent 54 % des souches isolées des plans de surveillance 2017-2021. Parmi les souches isolées, 30 % possèdent les gènes *stx2a* et/ou *stx2d* (groupes I et II). La prévalence des souches des groupes I, II et III était de 1,32 % dans les viandes hachées et de 3 % dans les fromages au lait cru. Ces résultats sont basés sur les souches qui ont pu être isolées et sont probablement sous-estimés du fait de l'absence de méthodes facilitant l'isolement des STEC (hors de celles du top 5/7). De plus, il n'existe pas de données sur la prévalence des sous-types du gène *stx* dans les aliments.

En France, très peu de données sont disponibles concernant la contamination par STEC dans d'autres filières alimentaires et dans l'environnement. Par ailleurs, les sources de contamination dans la majorité des cas ne sont pas identifiées lors des investigations épidémiologiques. En particulier, des données épidémiologiques (investigations) et alimentaires (plans de surveillance) n'ont toujours pas permis d'identifier la source des souches STEC O80:H2.

Des travaux sont nécessaires pour identifier les sources (réservoirs et véhicules) des souches responsables de la majorité des cas humains en France.

### 3.6. Analyse des incertitudes

Le tableau 10 présente les incertitudes liées à la réalisation de l'expertise et les modalités de leur prise en compte par les experts. Les incertitudes sont principalement liées aux données de surveillance utilisées pour établir la classification des souches.

La classification des souches de STEC s'est fondée principalement sur les données de surveillance microbiologique françaises. Le séquençage du génome complet, réalisé systématiquement depuis 2017, permet de disposer de données exhaustives sur le profil de virulence (comprenant les variants des gènes *stx*) des souches de STEC isolées de cas cliniques en France. Les données à l'échelle européenne ne sont pas directement comparables en raison de la diversité des systèmes de surveillance. Dans la base de données TESSy de l'ECDC, les données de caractérisation des souches sont manquantes ou se limitent principalement au sérotype, au type *stx* (*stx1*, *stx2*) et à la présence/absence du gène *eae*. Les données sur le SHU concernent peu de pays et il existe une incertitude sur le suivi clinique permettant d'identifier les cas de SHU en dehors des pays qui ont une surveillance spécifique comme la France et l'Italie.

Compte tenu des modalités du système de surveillance mis en place en France, les données de caractérisation des souches associées aux formes les plus sévères (SHU) chez les enfants sont surreprésentées. Malgré une amélioration récente de la remontée des prélèvements des cas de SHU adulte via le CNR MAT, ceux-ci sont probablement sous-estimés. L'analyse réalisée sur les données disponibles sur la période 2017-2021 montre que les souches à l'origine des cas de SHU chez les adultes présentent plus souvent un profil de virulence différent (38 % de souches *eae*- vs 3 % chez les enfants atteints de SHU) (cf. annexe 7).

De même, les données microbiologiques concernant les cas de diarrhée simple sont moins exhaustives en raison de l'organisation de la surveillance qui est axée sur les formes d'infections les plus sévères. La recherche de STEC dans des formes cliniques moins sévères comme la diarrhée bénigne est probablement moins fréquente (absence de consultation ou de coproculture prescrite) et les prélèvements sont donc moins souvent envoyés au CNR (Van Cauteren *et al.* 2015; Van Cauteren *et al.* 2012). Par conséquent, les VPP SHU et DS sont très probablement surestimées car ces formes cliniques sont plus souvent captées par la surveillance. La combinaison de facteurs de virulence à l'origine du SHU n'est pas complètement connue en particulier pour les souches *eae*-. La recherche de tous les gènes de virulence connus et putatifs grâce au séquençage de génome complet pourrait permettre d'affiner la classification des souches.

Les facteurs liés à l'hôte tels que l'âge, le statut immunitaire, la prise d'antibiotiques ou les autres facteurs d'induction du prophage (microbiote, xénobiotiques), ont également un effet sur la sévérité des formes cliniques. Ces éléments ne sont pas pris en compte faute d'informations cliniques détaillées associées aux souches (comorbidités, etc.).

En conclusion, une meilleure prise en compte d'autres formes cliniques (ex. diarrhée sanglante), d'autres populations (adultes) ainsi que des facteurs liés à l'hôte pourrait avoir un impact sur la caractérisation de la virulence des souches. Toutefois, la classification proposée reste cohérente avec les travaux internationaux, en particulier pour les souches les plus virulentes. En effet, les souches *stx2a* *et/ou stx2d* sont systématiquement retrouvées en tête des classements (cf. section 3.2).

**Tableau 10. Tableau des incertitudes**

Volet de l'expertise	Sources d'incertitudes	Prise en compte	Impact sur les résultats de de l'expertise
Données de surveillance humaine à l'échelle européenne (BDD TESSy)	Diversité des systèmes de surveillance dans les EM de l'UE (système de déclaration, définition de cas, population cible, méthodes de détection/caractérisation, type de données rapportées à l'ECDC). Données sur le SHU qui concernent peu de pays ; existence d'une incertitude sur le suivi clinique permettant d'identifier les cas de SHU en dehors des pays qui ont une surveillance spécifique comme la France et l'Italie. Données de caractérisation des souches impliquées dans les cas d'infections limitées et/ou manquantes..	La classification des souches de STEC s'est fondée sur les données de surveillance microbiologique françaises.	Effectif réduit mais meilleure complétude des données françaises (type, sous-type <i>stx</i> , <i>eae</i> , autres facteurs de d'adhésion et de virulence)
Données françaises de surveillance humaine	Surveillance épidémiologique limitée aux cas de SHU pédiatrique (exhaustivité estimée à 85 %) et des cas groupés d'infections. Surveillance microbiologique limitée des autres formes cliniques et populations (ex. diarrhée sanglante chez les enfants, SHU adulte). Les formes asymptomatiques et les cas de diarrhée simple sont moins susceptibles d'être détectés par le système de surveillance (absence de consultation ou de coproculture prescrite et donc absence de prélèvement au CNR). De plus, les prélèvements <i>stx+</i> en laboratoire de ville ou hospitalier ne sont pas systématiquement envoyés au CNR. Les profils de virulence de ces souches ne sont donc pas identifiés. Amélioration récente de la remontée des cas de SHU adultes, profil de virulence différent (davantage de souches <i>eae-</i> ). Capacité d'isolement des souches responsables de SHU (pas d'isolement de souches pour environ 30 % des cas de SHU pédiatrique avec un prélèvement analysé au CNR)	La nouvelle classification permet de mieux prendre en considération les cas de SHU chez les adultes.	Surestimation de la VPP SHU  Cette classification est susceptible d'évoluer dans le cas d'une meilleure exhaustivité de surveillance (populations, formes cliniques)
	Les facteurs liés à l'hôte tels que l'âge, le statut immunitaire, la prise d'antibiotiques, ont également un effet sur la sévérité des formes cliniques. Facteurs d'induction du phage (ex : microbiote, antibiotiques, xénobiotiques, aliment) codant les shigatoxines et de leur production. Les informations cliniques associées aux souches (comorbidités, traitement, etc) sont manquantes.	Pas de prise en compte en l'absence de données (hors âge)	Non qualifiable
	Manque de connaissance sur la combinaison de facteurs de virulence à l'origine du SHU (colonisation) en particulier pour les souches <i>eae-</i> . Pas de recherche de tous les marqueurs d'adhésion connus et putatifs (hormis les gènes <i>eae</i> , <i>saa</i> et <i>aggR</i> )..	Pas de prise en compte	Non qualifiable
Données de surveillance alimentaire	Données limitées à trois filières : viandes bovines, fromages au lait cru et les végétaux destinés à être consommés crus (graines germées, salades). Recherche des souches du top 5 dans les autocontrôles (ou recherche du top 7 et O80 pour les contrôles officiels). Très peu de données sur les sous-types de <i>stx</i> des souches isolées dans les aliments. Sensibilité des méthodes basées sur l'isolement des souches. Pas d'identification des sources de contamination des cas sporadiques d'infection à STEC/SHU.	Pas de prise en compte de l'exposition – faute de données. Évaluation du potentiel de virulence des souches et non du risque.	L'importance relative des souches dans les cas d'infection peut être liée à l'exposition et non à la virulence.

### 3.7. Conclusions et recommandations du CES BIORISK

Le CES BIORISK émet les conclusions suivantes en réponse aux questions de la saisine.

#### **Sur la base des données de santé publique disponibles, quels sont les déterminants de la virulence des souches de STEC ?**

Toute souche d'*E. coli* possédant un gène codant les shigatoxines (*stx*) est dénommée STEC pour *E. coli* producteur de shigatoxines (« *shigatoxin-producing E. coli* », ou plus rigoureusement « *shigatoxin-encoding E. coli* »). Les EHEC correspondent à des STEC dont la virulence et la pathogénicité chez l'Homme sont avérées puisqu'elles sont responsables d'une manifestation clinique de type diarrhée, colite hémorragique pouvant s'aggraver en micro-angiopathie thrombotique (MAT), principalement le syndrome hémolytique et urémique (SHU), surtout chez le jeune enfant, le sujet âgé et/ou immunodéprimé.

Les shigatoxines (Stx), responsables de lésions intestinales, rénales et cérébrales, sont le facteur de pathogénicité majeur des STEC. Les Stx sont classées en deux grands types : Stx1 et Stx2. De très nombreux variants ou sous-types de Stx1 et Stx2 ont été décrits et plusieurs études ont montré que certains sous-types (Stx2a, Stx2d) sont plus fréquemment associés à des formes sévères de l'infection telles que le SHU.

La seule présence d'un gène *stx* n'est pas suffisante pour causer une infection sévère. La colonisation préalable de la muqueuse intestinale est essentielle dans la physiopathologie des STEC. L'intimine codée par le gène *eae* (inclus dans l'îlot de pathogénicité LEE - *Locus of enterocyte effacement*) est le principal facteur de colonisation. En l'absence du LEE et donc du gène *eae*, d'autres facteurs de colonisation peuvent être impliqués dans l'adhésion des STEC à la muqueuse intestinale (par exemple les facteurs d'adhésion agrégative). Plusieurs autres facteurs de virulence semblent également intervenir dans le pouvoir pathogène des STEC dont des toxines (l'entérohémolysine et la cytotoxine subtilase) ou des protéases. Certains STEC comme ceux du sérotype O80:H2 ont acquis des facteurs de virulence extra-intestinaux leur permettant de provoquer des infections invasives (bactériémie).

Au-delà du profil de virulence de la souche, d'autres facteurs contribuent à la survenue de signes cliniques voire de formes sévères tels que la sensibilité des personnes exposées (ex : âge, comorbidités), la dysbiose intestinale, la prise d'antibiotiques et la dose de STEC ingérée.

L'importance relative des facteurs/marqueurs de virulence est confirmée par l'analyse des données microbiologiques et épidémiologiques françaises et européennes. En France, les caractéristiques des souches isolées de cas d'infections à STEC sont les suivantes :

- le gène *stx2* est retrouvé dans 82 % des cas d'infections et 95 % des cas de SHU ;
- le gène *eae* est retrouvé dans 80 % des cas d'infections et 90 % des cas de SHU ;
- les sous-types de *stx* les plus associés au SHU sont *stx2a* (58 %) et *stx2d* (31 %) ;
- trois profils de virulence totalisent plus de 80 % des SHU : *stx2a+ eae+*, *stx2d+ eae+* et *stx1a+ stx2a+ eae+* ;
- les sérogroupes du top 5 (O157, O26, O103, O145 et O11) et O80 représentent 80 % des cas de SHU en France ;
- s'agissant des souches ne possédant pas le gène *eae* :
  - le gène *stx2* est prépondérant (75 % des cas d'infections et 87 % des cas de SHU), en particulier les sous-types *stx2d* et *stx2a* ;
  - d'autres facteurs de virulence confirmés ou putatifs sont présents : les gènes codant la cytotoxine subtilase (*subA*) et les facteurs ou marqueurs d'adhésion *Saa* et *AggR* détectés respectivement dans 49 %, 16 % et 2 % de ces souches ;
  - elles sont retrouvées majoritairement dans les cas survenus chez des adultes (35 % des cas de SHU adulte contre 3 % chez les enfants de moins de 15 ans) ;
  - les sérogroupes les plus fréquemment retrouvés sont O146, O91 et O128.

**Dans quelle mesure la prise en compte des sous-types du gène *stx* ou de tout autre facteur génétique permettrait-elle de rendre plus discriminante la typologie des souches de STEC proposée dans votre avis de mai 2017 au regard de leur niveau de pathogénicité ?**

Sur la base des données épidémiologiques et microbiologiques françaises (2017-2021) et de la littérature internationale, le CES BIORISK propose une nouvelle classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence. Cette classification tient compte de l'association des souches avec les formes sévères d'infection (principalement le SHU, puis la diarrhée sanglante). Les principales évolutions par rapport à classification de l'avis de l'Anses de 2017 sont les suivantes :

- le critère retenu pour le classement des souches est la valeur prédictive positive (VPP) du SHU puis la VPP de la diarrhée sanglante en cas d'équivalence ;
- le sous-type du gène *stx* est pris en compte dans la caractérisation de la virulence ;
- le sérotype n'est plus considéré comme un critère de virulence des souches.

Les données épidémiologiques françaises et internationales montrent une plus grande virulence des souches possédant les sous-types *stx2a* et/ou *stx2d*, en particulier en présence du gène d'adhésion *eae*. **Les souches de STEC possédant les sous-types *stx2a* ou *stx2d* (seul ou en combinaison) et les gènes ou marqueurs d'adhésion *eae* ou *aggR* (groupe I) présentent le plus fort potentiel de provoquer un SHU.** Les souches *eae*-négatives possédant les variants *stx2a* et/ou *stx2d* (groupe II) présentent également un fort potentiel de provoquer un SHU en particulier chez les adultes (22 % des cas de SHU adulte contre 1 % chez les enfants de moins de 15 ans). Les souches de STEC possédant d'autres sous-types du gène *stx* (groupes III et IV) sont moins fréquemment associées à des cas de SHU et sont retrouvées principalement dans les cas de diarrhée sanglante et de diarrhée.

Le sérotype n'est pas associé à la virulence et n'a pas été retenu comme un critère pour la classification des souches. L'information sur les sérotypes demeure toutefois utile dans le cadre de l'épidémiologie humaine et alimentaire. Par ailleurs, il existe des techniques de détection, dans les aliments, des souches responsables de la majorité des cas de SHU en France, telles que les souches du top 5. Ces souches se répartissent dans les groupes I et III.

**Nouvelle classification des souches STEC en fonction de leur potentiel de virulence**

Groupe	Gènes	VPP <sup>1</sup> SHU	VPP <sup>1</sup> diarrhée sanglante
I <sup>2</sup>	( <i>stx2a</i> et/ou <i>stx2d</i> ) <sup>3+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>+</sup>	69 %	13 %
II <sup>4</sup>	( <i>stx2a</i> et/ou <i>stx2d</i> ) <sup>3+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	48 %	25 %
III <sup>2</sup>	Autres <i>stx</i> <sup>+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC/aggR</i> ) <sup>+</sup>	13 %	38 %
IV	Autres <i>stx</i> <sup>+</sup> , ( <i>eae</i> ou <i>aaiC</i> / <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	15 %	31 %

<sup>1</sup>VPP : valeur prédictive positive. Capacité des souches à induire une forme clinique

<sup>2</sup> Les sérotypes du top 5 et O80 représentent environ 80 % des cas de SHU, 67 % des cas de diarrhée sanglante et 61 % des cas de diarrhée aiguë

<sup>3</sup> Variants *stx* seuls ou en combinaison

<sup>4</sup> Ces souches sont majoritairement impliquées dans les cas de SHU adulte (en majorité les sérotypes O91, O171, O174 et O148)

Cette classification peut être utilisée pour la définition de mesures de gestion (surveillance, gestion des lots contaminés) correspondant au niveau de protection préalablement défini par les gestionnaires du risque.

Compte tenu des possibilités d'évolution des souches d'*E. coli*, des systèmes de surveillance et des outils de détection et de caractérisation génomique, la pertinence de cette classification mériterait d'être reconsidérée régulièrement. La prise en compte d'autres facteurs de virulence potentiels (adhésines, toxines) et une meilleure connaissance de la physiologie et de la dissémination des phages Stx pourraient permettre à terme d'affiner cette classification.



## Recommandations

Les travaux d'expertise ont mis en évidence des incertitudes sur la caractérisation de la virulence des STEC et des besoins de connaissances. Le CES BIORISK émet des recommandations de travaux de recherche plus particulièrement les points suivants :

- prévalence des souches de STEC dans le microbiote intestinal des animaux et des humains sains et malades ;
- impact des mécanismes de régulation des phages Stx (répresseur, protéines de réplication) sur la production des shigatoxines et la virulence des souches ;
- facteurs d'induction du prophage codant les shigatoxines (ex : microbiote, antibiotiques, xénobiotiques, constituants des aliments) ;
- mécanisme de production, de sécrétion et de translocation de la shigatoxine ;
- analyse des souches de STEC *eae*-négatives associées à des formes cliniques sévères pour identifier les principaux facteurs de colonisation ;
- identification et caractérisation des facteurs de virulence, d'adaptation et de colonisation des STEC dans la chaîne alimentaire (environnement, animal, aliment, humain) ;
- impact des facteurs liés à l'hôte sur la survenue de l'infection.

Une meilleure exhaustivité des données de surveillance humaine permettrait de préciser la classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence. Aussi, le CES BIORISK émet les recommandations suivantes concernant la surveillance des infections à STEC :

- En France,
  - recueil des informations cliniques associées aux prélèvements envoyés au CNR (comorbidités, traitement, etc.) ;
  - renforcement de la surveillance des cas de SHU adulte ;
  - extension de la surveillance des infections à STEC pour prendre en compte d'autres formes cliniques (p. ex. diarrhée sanglante).
- À l'échelle européenne,
  - harmonisation des systèmes de surveillance et standardisation du recueil de données épidémiologiques et cliniques ;
  - harmonisation des méthodes de caractérisation génomique des souches et partage des données de séquençage.

En outre, le CES BIORISK recommande de prendre en compte les sous-types *stx* dans la surveillance des denrées alimentaires. Par conséquent, le protocole analytique actuel (XP CEN ISO/TS 13136:2012) devrait être adapté pour rechercher, en fonction des sous-types *stx*, les souches de la classification proposée. Afin d'identifier les principales sources (réservoirs et aliments) des souches responsables de la majorité des cas humains en France, il apparaît également nécessaire :

- d'élargir la surveillance de la contamination par les STEC dans les principales filières alimentaires (animales et végétales) ;
- de séquencer les souches alimentaires et de les comparer aux souches isolées de cas cliniques ;
- d'harmoniser les systèmes de surveillance et standardiser le recueil de données à l'échelle européenne.

Enfin, le CES BIORISK rappelle l'importance d'une approche intégrée de prévention et de maîtrise des STEC tout au long de la chaîne alimentaire. Le consommateur est également un acteur de la maîtrise du risque par le respect des bonnes pratiques d'hygiène, la cuisson des aliments et l'éviction de certains aliments par les populations sensibles. Aussi, il apparaît nécessaire de renforcer les actions de communication à destination des consommateurs sur les mesures de prévention des risques microbiologiques alimentaires.

#### 4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES BIORISK.

L'Anses note qu'il n'existe pas d'approche harmonisée au niveau européen ni international pour l'évaluation de la pathogénicité des STEC. Les experts ont confronté les classifications existantes sur la pathogénicité des STEC aux données épidémiologiques françaises les plus récentes. Sur cette base, l'Anses propose une nouvelle classification des souches en quatre groupes en fonction de leur potentiel de virulence, c'est-à-dire en fonction de leur capacité à induire des formes cliniques graves (syndrome hémolytique et urémique - SHU, diarrhée sanglante). La classification ainsi proposée intègre les nouvelles connaissances sur les déterminants de la virulence des STEC, ainsi que les données sur les caractéristiques des souches à l'origine des cas d'infections en France (2017-2021). Cette classification, cohérente avec les résultats des travaux internationaux, met en exergue la virulence accrue des souches STEC possédant les sous-types *stx2a* et/ou *stx2d*. A la différence de la précédente basée sur les données de SHU infantiles, la nouvelle classification de l'Anses prend également en compte les cas de SHU chez l'adulte. L'Agence va d'ailleurs intégrer ces résultats pour actualiser sa fiche de danger microbiologique relative aux STEC, dont la dernière édition date de 2019.

Compte tenu de l'évolution des souches d'*E. coli*, la pertinence de cette classification a vocation à être reconsidérée régulièrement en fonction des nouvelles connaissances disponibles et des caractéristiques des souches isolées des cas d'infection. Dans cette perspective, l'Agence soutient les recommandations du CES BIORISK concernant la surveillance des infections à STEC, en particulier le renforcement de la surveillance des cas de SHU chez les adultes.

L'Agence constate que les sources de contamination ne sont que rarement identifiées lors d'investigations épidémiologiques des cas d'infection. Or, les épidémies récentes en France et à l'étranger pointent vers de nouvelles sources (p.ex. farines). Aussi, dans une approche « Une seule Santé », l'Anses recommande de conduire des études d'attribution des sources afin d'identifier et de quantifier la contribution relative des réservoirs animaux, de l'environnement et des aliments au fardeau sanitaire. En complément de la filière bovine (viande hachée et fromages au lait cru), d'autres filières alimentaires devraient faire l'objet d'une surveillance microbiologique (contrôles officiels et autocontrôles) incluant le séquençage des souches isolées. L'Agence souligne enfin l'importance d'une collaboration des différents acteurs impliqués dans la surveillance des maladies et des dangers, notamment dans le cadre de la plateforme de surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire.

Aussi, l'Agence encourage le développement de projets de recherche en génomique pour l'identification de nouveaux marqueurs de virulence et d'adaptation des STEC dans la chaîne alimentaire.

Pr Benoit VALLET

**MOTS-CLÉS**

*Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) ; *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) ; pathogénicité ; virulence.

*Shigatoxin-producing E. coli (STEC); Enterohemorrhagic E. coli (EHEC); pathogenicity; virulence.*

**CITATION SUGGÉRÉE**

Anses (2023). Avis relatif à la définition des souches pathogènes d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines (saisine n°2020-SA-0095). Maisons-Alfort : Anses, 63 p.

**BIBLIOGRAPHIE**

- Ageorges, V., R. Monteiro, S. Leroy, C. M. Burgess, M. Pizza, F. Chaucheyras-Durand et M. Desvaux. 2020. "Molecular determinants of surface colonisation in diarrhoeagenic *Escherichia coli* (DEC): from bacterial adhesion to biofilm formation." *FEMS Microbiol Rev* 44 (3): 314-350. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa008>.
- Álvarez, R. S., Fernando D. Gómez, Elsa Zotta, Adrienne W. Paton, James C. Paton, Cristina Ibarra, Flavia Sacerdoti et María M. Amaral. 2021. "Combined Action of Shiga Toxin Type 2 and Subtilase Cytotoxin in the Pathogenesis of Hemolytic Uremic Syndrome." *Toxins* 13 (8): 536.
- Álvarez, R. S., C. Jancic, N. Garimano, F. Sacerdoti, A. W. Paton, J. C. Paton, C. Ibarra et M. M. Amaral. 2019. "Crosstalk between Human Microvascular Endothelial Cells and Tubular Epithelial Cells Modulates Pro-Inflammatory Responses Induced by Shiga Toxin Type 2 and Subtilase Cytotoxin." *Toxins (Basel)* 11 (11). <https://doi.org/10.3390/toxins11110648>.
- Anses. 2017. AVIS de l'Anses relatif à la détection d'*E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) considérés comme hautement pathogènes en filière viande hachée bovine. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0121.pdf>.
- Arbeloa, A., C. V. Oates, O. Marchès, E. L. Hartland et G. Frankel. 2011. "Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* type III secretion effector EspV induces radical morphological changes in eukaryotic cells." *Infect Immun* 79 (3): 1067-76. <https://doi.org/10.1128/iai.01003-10>.
- Bardasi, Lia, Roberta Taddei, Lucia Nocera, Matteo Ricchi et Giuseppe Merialdi. 2015. "Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in meat and vegetable products in Emilia Romagna Region, years 2012-2013." *ITALIAN JOURNAL OF FOOD SAFETY* 4 (1): 33-35. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2015.4511>.
- Behrens, Martin, Jalaluddin Sheikh et James P. Nataro. 2002. "Regulation of the Overlapping *pic/set* Locus in *Shigella flexneri* and Enteroaggregative *Escherichia coli*." *Infection and Immunity* 70 (6): 2915-2925. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.70.6.2915-2925.2002>.
- Berry, Andrea A., Yi Yang, Natalia Pakharukova, James A. Garnett, Wei-chao Lee, Ernesto Cota, Jan Marchant, Saumendra Roy, Minna Tuittila, Bing Liu, Keith G. Inman, Fernando Ruiz-Perez, Inacio Mandomando, James P. Nataro, Anton V. Zavalov et Steve Matthews. 2014. "Structural Insight into Host Recognition by Aggregative Adherence Fimbriae of Enteroaggregative *Escherichia coli*." *PLOS Pathogens* 10 (9): e1004404. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004404>.
- Beutin, Lothar, Gladys Krause, Sonja Zimmermann, Stefan Kaulfuss et Kerstin Gleier. 2004. "Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Human Patients in Germany over a 3-Year Period." *Journal of Clinical Microbiology* 42 (3): 1099-1108. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.42.3.1099-1108.2004>.
- Bibbal, D., E. Loukiadis, M. Kerouredan, F. Ferre, F. Dilasser, C. Peytavin de Garam, P. Cartier, E. Oswald, E. Gay, F. Auvray et H. Brugere. 2015. "Prevalence of carriage of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, and O145:H28 among slaughtered adult cattle in France." *Appl Environ Microbiol* 81 (4): 1397-1405. <https://doi.org/10.1128/AEM.03315-14>.

- Bielaszewska, Martina, Alexander W. Friedrich, Thomas Aldick, Robin Schürk-Bulgrin et Helge Karch. 2006. "Shiga Toxin Activatable by Intestinal Mucus in *Escherichia coli* Isolated from Humans: Predictor for a Severe Clinical Outcome." *Clinical Infectious Diseases* 43 (9): 1160-1167. <https://doi.org/10.1086/508195>.
- Blanco, M., J. E. Blanco, A. Mora, G. Dahbi, M. P. Alonso, E. A. González, M. I. Bernárdez et J. Blanco. 2004. "Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-xi)." *J Clin Microbiol* 42 (2): 645-51. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.2.645-651.2004>.
- Bonacorsi, S., O. Clermont, V. Houdouin, C. Cordevant, N. Brahimi, A. Marecat, C. Tinsley, X. Nassif, M. Lange et E. Bingen. 2003. "Molecular analysis and experimental virulence of French and North American *Escherichia coli* neonatal meningitis isolates: identification of a new virulent clone." *J Infect Dis* 187 (12): 1895-906. <https://doi.org/10.1086/375347>.
- Bonanno, L., M. A. Petit, E. Loukiadis, V. Michel et F. Auvray. 2016. "Heterogeneity in Induction Level, Infection Ability, and Morphology of Shiga Toxin-Encoding Phages (Stx Phages) from Dairy and Human Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O26:H11 Isolates." *Appl Environ Microbiol* 82 (7): 2177-86. <https://doi.org/10.1128/aem.03463-15>.
- Brett, Kim N., Vidiya Ramachandran, Michael A. Hornitzky, Karl A. Bettelheim, Mark J. Walker et Steven P. Djordjevic. 2003. "*stx*<sub>1c</sub> Is the Most Common Shiga Toxin 1 Subtype among Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates from Sheep but Not among Isolates from Cattle." *Journal of Clinical Microbiology* 41 (3): 926-936. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.41.3.926-936.2003>.
- Bruyand, M., P. Mariani-Kurkdjian, S. Bonacorsi, M. Gouali, S. Le Hello, D. Van Cauteren et H. de Valk. 2016. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 2015.
- Bruyand, M., P. Mariani-Kurkdjian, S. Le Hello, L. King, D. Van Cauteren, S. Lefevre, M. Gouali, N. Jourdan-da Silva, A. Mailles, MP. Donguy, E. Loukiadis, D. Sergentet-Thevenot, C. Loirat, S. Bonacorsi, FX. Weill, H. De Valk et Réseau français hospitalier de surveillance du SHU pédiatrique. 2019. "Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016." *Eurosurveillance* 24 (8): 1800068. <https://doi.org/doi:https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.8.1800068>.
- Cherla, Rama P., Sang-Yun Lee et Vernon L. Tesh. 2003. "Shiga toxins and apoptosis." *FEMS Microbiology Letters* 228 (2): 159-166. [https://doi.org/10.1016/s0378-1097\(03\)00761-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1097(03)00761-4).
- Cointe, A., A. Birgy, P. Mariani-Kurkdjian, S. Liguori, C. Courroux, J. Blanco, S. Delannoy, P. Fach, E. Loukiadis, P. Bidet et S. Bonacorsi. 2018. "Emerging Multidrug-Resistant Hybrid Pathotype Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O80 and Related Strains of Clonal Complex 165, Europe." *Emerg Infect Dis* 24 (12): 2262-2269. <https://doi.org/10.3201/eid2412.180272>.
- Colello, R., A. Krüger, M. V. Velez, F. Del Canto, A. I. Etcheverría, R. Vidal et N. L. Padola. 2019. "Identification and detection of iha subtypes in LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from humans, cattle and food." *Heliyon* 5 (12): e03015. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03015>.
- Colello, R., M. V. Vélez, J. González, D. A. Montero, A. V. Bustamante, F. Del Canto, A. I. Etcheverría, R. Vidal et N. L. Padola. 2018. "First report of the distribution of Locus of Adhesion and Auto-aggregation (LAA) pathogenicity island in LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from Argentina." *Microb Pathog* 123: 259-263. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.011>.
- Coppo, P. et A. Veyradier. 2005. "Microangiopathies thrombotiques : physiopathologie, diagnostic et traitement." *Réanimation* 14 (7): 594-603. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2005.10.008>.
- Crossman, Lisa C., Roy R. Chaudhuri, Scott A. Beatson, Timothy J. Wells, Mickael Desvaux, Adam F. Cunningham, Nicola K. Petty, Vivienne Mahon, Carl Brinkley, Jon L. Hobman, Stephen J. Savarino, Susan M. Turner, Mark J. Pallen, Charles W. Penn, Julian Parkhill, A. Keith Turner, Timothy J. Johnson, Nicholas R. Thomson, Stephen G. J. Smith et R. Henderson Ian. 2010. "A Commensal Gone Bad: Complete Genome Sequence of the Prototypical Enterotoxigenic *Escherichia coli* Strain H10407." *Journal of Bacteriology* 192 (21): 5822-5831. <https://doi.org/10.1128/JB.00710-10>.
- Croxen, M. A. et B. B. Finlay. 2010. "Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity." *Nat Rev Microbiol* 8 (1): 26-38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2265>.
- Croxen, M. A., R. J. Law, R. Scholz, K. M. Keeney, M. Wlodarska et B. B. Finlay. 2013. "Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*." <https://doi.org/10.1128/cmr.00022-13>.

- David, L., D. Bibbal, F. Auvray, E. Oswald et H. Brugère. 2022. "Portage digestif des *E. coli* entérohé-morragiques chez les ruminants : conséquences en santé publique et stratégies de réduction." *Bulletin des GTV* 105 : 57-65.
- De Rauw, K., D. Thiry, B. Caljon, M. Saulmont, J. Mainil et D. Piérard. 2019. "Characteristics of Shiga toxin producing- and enteropathogenic *Escherichia coli* of the emerging serotype O80:H2 isolated from humans and diarrhoeic calves in Belgium." *Clin Microbiol Infect* 25 (1): 111.e5-111.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.07.023>.
- Delannoy, S., L. Beutin et P. Fach. 2012. "Use of clustered regularly interspaced short palindromic repeat sequence polymorphisms for specific detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains of serotypes O26:H11, O45:H2, O103:H2, O111:H8, O121:H19, O145:H28, and O157:H7 by real-time PCR." *Journal of Clinical Microbiology* 50 (12): 4035-4040. <https://doi.org/10.1128/JCM.02097-12>.
- Delannoy, S., L. Beutin et P. Fach. 2013. "Discrimination of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) from Non-EHEC strains based on detection of various combinations of Type III effector genes." *Journal of Clinical Microbiology* 51 (10): 3257-3262. <https://doi.org/10.1128/JCM.01471-13>.
- Delannoy, S., L. Beutin et P. Fach. 2013. "Towards a molecular definition of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC): Detection of genes located on O Island 57 as markers to distinguish EHEC from closely related enteropathogenic *e. coli* strains." *Journal of Clinical Microbiology* 51 (4): 1083-1088. <https://doi.org/10.1128/JCM.02864-12>.
- Delannoy, S., M. Tran et P. Fach. 2022. "Insights into the assessment of highly pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk and raw milk cheeses by High Throughput Real-time PCR." *International Journal of Food Microbiology* 366: 109564. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109564>.
- Desvaux, Mickaël, Guillaume Dalmasso, Racha Beyrouthy, Nicolas Barnich, Julien Delmas et Richard Bonnet. 2020. "Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal *Escherichia coli*." *Frontiers in Microbiology* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02065>.
- DGAL. 2022. Surveillance sanitaire des denrées animales et végétales et des aliments pour animaux : Bilan 2021 des plans de surveillance et de contrôle.
- Donnenberg, M. S., S. Tzipori, M. L. McKee, A. D. O'Brien, J. Alroy et J. B. Kaper. 1993. "The role of the *eae* gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in intimate attachment in vitro and in a porcine model." *J Clin Invest* 92 (3): 1418-24. <https://doi.org/10.1172/jci116718>.
- Doughty, Stephen, Joan Sloan, Vicki Bennett-Wood, Marcus Robertson, Roy M. Robins-Browne et Elizabeth L. Hartland. 2002. "Identification of a Novel Fimbrial Gene Cluster Related to Long Polar Fimbriae in Locus of Enterocyte Effacement-Negative Strains of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*." *Infection and Immunity* 70 (12): 6761-6769. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.70.12.6761-6769.2002>.
- ECDC. 2021. Surveillance Atlas of Infectious Diseases FWD (2020 data) - Information about the Data.
- EFSA et ECDC. 2021. "The European Union One Health 2019 Zoonoses Report." *EFSA Journal* 19 (2): e06406. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>.
- EFSA BIOHAZ Panel, Kostas Koutsoumanis, Ana Allende, Avelino Alvarez-Ordóñez, Sara Bover-Cid, Marianne Chemaly, Robert Davies, Alessandra De Cesare, Lieve Herman, Friederike Hilbert, Roland Lindqvist, Maarten Nauta, Luisa Peixe, Giuseppe Ru, Marion Simmons, Panagiotis Skandamis, Elisabetta Suffredini, Claire Jenkins, Sara Monteiro Pires, Stefano Morabito, Taina Niskanen, Flemming Scheutz, Maria Teresa da Silva Felício, Winy Messens et Declan Bolton. 2020. "Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC." *EFSA Journal* 18 (1): e05967. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967>.
- Eklund, Marjut, Kirsikka Leino et Anja Siitonen. 2002. "Clinical *Escherichia coli* Strains Carrying *stx* Genes: *stx* Variants and *stx*-Positive Virulence Profiles." *Journal of Clinical Microbiology* 40 (12): 4585-4593. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.40.12.4585-4593.2002>.
- Ercoli, Laura, Silvana Farneti, Alessia Zicavo, Guerriero Mencaroni, Giuliana Blasi, Gianluca Striano et Stefania Scuota. 2016. "Prevalence and characteristics of verotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from pigs and pork products in Umbria and Marche regions of Italy." *International journal of food microbiology* 232: 7-14.
- Européenne, Union. 2018. DÉCISION D'EXÉCUTION (UE) 2018/945 DE LA COMMISSION du 22 juin 2018 relative aux maladies transmissibles et aux problèmes sanitaires particuliers connexes qui doivent être couverts par la surveillance épidémiologique ainsi qu'aux définitions de cas correspondantes.
- Fagerlund, Annette, Marina Aspholm, Grzegorz Węgrzyn et Toril Lindbäck. 2022. "High diversity in the regulatory region of Shiga toxin encoding bacteriophages." *BMC Genomics* 23 (1): 230. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08428-5>.

- FAO/WHO. 2018. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. (Rome, Italy: FAO), 175 p.
- Fleckenstein, James M., Luther E. Lindler, Eric A. Elsinghorst et James B. Dale. 2000. "Identification of a Gene within a Pathogenicity Island of Enterotoxigenic *Escherichia coli* H10407 Required for Maximal Secretion of the Heat-Labile Enterotoxin." *Infection and Immunity* 68 (5): 2766-2774. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.68.5.2766-2774.2000>.
- Friedrich, Alexander W., Martina Bielaszewska, Wen-Lan Zhang, Matthias Pulz, Thorsten Kuczius, Andrea Ammon et Helge Karch. 2002. "*Escherichia coli* Harboring Shiga Toxin 2 Gene Variants: Frequency and Association with Clinical Symptoms." *The Journal of Infectious Diseases* 185 (1): 74-84. <https://doi.org/10.1086/338115>.
- Fuller, Cynthia A., Christine A. Pellino, Michael J. Flagler, Jane E. Strasser et Alison A. Weiss. 2011. "Shiga Toxin Subtypes Display Dramatic Differences in Potency." *Infection and Immunity* 79 (3): 1329-1337. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.01182-10>.
- Gigliucci, F., Aham van Hoek, P. Chiani, A. Knijn, F. Minelli, G. Scavia, E. Franz, S. Morabito et V. Michelacci. 2021. "Genomic Characterization of hlyF-positive Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*, Italy and the Netherlands, 2000-2019." *Emerg Infect Dis* 27 (3): 853-861. <https://doi.org/10.3201/eid2703.203110>.
- Girardeau, Jean Pierre, Alessandra Dalmasso, Yolande Bertin, Christian Ducrot, Séverine Bord, Valérie Livrelli, Christine Vernozy-Rozand et Christine Martin. 2005. "Association of Virulence Genotype with Phylogenetic Background in Comparison to Different Seropathotypes of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates." *Journal of Clinical Microbiology* 43 (12): 6098-6107. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.43.12.6098-6107.2005>.
- Guillier, Laurent, Federica Palma et Lena Fritsch. 2022. "Taking account of genomics in quantitative microbial risk assessment: what methods? what issues?" *Current Opinion in Food Science* 48. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100922>.
- Habets, A., F. Crombé, K. Nakamura, V. Guérin, K. De Rauw, D. Piérard, M. Saulmont, T. Hayashi, J.G. Mainil et D. Thiry. 2021. "Genetic characterization of Shigatoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* O80:H2 from diarrhoeic and septicaemic calves and relatedness to human Shigatoxigenic *E. coli* O80:H2." *Journal of Applied Microbiology* 130 (1): 258-264. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jam.14759>.
- Haque, M., J. M. Bosilevac et B. D. Chaves. 2022. "A review of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) contamination in the raw pork production chain." *Int J Food Microbiol* 377: 109832. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109832>.
- Henríquez, T., J. C. Salazar, M. Marvasi, A. Shah, G. Corsini et C. S. Toro. 2020. "SRL pathogenicity island contributes to the metabolism of D-aspartate via an aspartate racemase in *Shigella flexneri* YSH6000." *PLoS One* 15 (1): e0228178. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228178>.
- Hernandez-Doria, J. D. et V. Sperandio. 2018. "Bacteriophage Transcription Factor Cro Regulates Virulence Gene Expression in Enterohemorrhagic *Escherichia coli*." *Cell Host Microbe* 23 (5): 607-617.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.04.007>.
- Heuvelink, A. E., J. T. Zwartkruis-Nahuis, R. R. Beumer et E. de Boer. 1999. "Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in meats obtained from retail outlets in The Netherlands." *J Food Prot* 62 (10): 1115-22. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-62.10.1115>.
- Ikeda, Rie, Keiji Nakamura, Marc Saulmont, Audrey Habets, Jean-Noël Duprez, Nicolas Korsak, Tet-suya Hayashi, Damien Thiry et Jacques G. Mainil. 2023. "*Escherichia coli* O80 in Healthy Cattle: Absence of Shigatoxigenic and Enteropathogenic *E. coli* O80:H2 and (Phylo) Genomics of Non-Clonal Complex 165 *E. coli* O80." *Microorganisms* 11 (2): 230.
- Im, Hanhyeok, Seung-Ho Hwang, Byoung Sik Kim et Sang Ho Choi. 2021. "Pathogenic potential assessment of the Shiga toxin-producing *Escherichia coli* by a source attribution-considered machine learning model." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (20).
- Ingelbeen, B., M. Bruyand, P. Mariani-Kurkjian, S. Le Hello, K. Danis, C. Sommen, S. Bonacorsi et H. de Valk. 2018. "Emerging Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O80 associated hemolytic and uremic syndrome in France, 2013-2016: Differences with other serogroups." *PLoS One* 13 (11): e0207492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207492>.
- Jenkins, C., G. A. Willshaw, J. Evans, T. Cheasty, H. Chart, D. J. Shaw, G. Dougan, G. Frankel et H. R. Smith. 2003. "Subtyping of virulence genes in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) other than serogroup O157 associated with disease in the United Kingdom." *Journal of Medical Microbiology* 52 (11): 941-947. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/jmm.0.05160-0>.
- Johnson, T. J., K. E. Siek, S. J. Johnson et L. K. Nolan. 2006. "DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains." *J Bacteriol* 188 (2): 745-58. <https://doi.org/10.1128/jb.188.2.745-758.2006>.

- Jones, Gabrielle, Patricia Mariani Kurkdjian, Aurélie Cointe, Stéphane Bonacorsi, Sophie Lefevre, Maria Pardos de la Gandara, François-Xavier Weill, Athinna Nisavanh, Nathalie Jourdan-Da Silva, Alexandra Mailles et Henriette de Valk. 2022. *Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez l'enfant de moins de 15 ans en France en 2021*. <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/478385/3647292?version=1>.
- Jones, Gabrielle, Patricia Mariani Kurkdjian, Sophie Lefevre, Athinna Nisavanh, François-Xavier Weill, Aurélie Cointe, Nathalie Jourdan-Da Silva, Alexandra Mailles, Stéphane Bonacorsi et Henriette de Valk. 2021. *Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez l'enfant de moins de 15 ans en France en 2020*. <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/397616/3293936?version=1>.
- Kaper, J. B., J. P. Nataro et H. L. Mobley. 2004. "Pathogenic *Escherichia coli*." *Nat Rev Microbiol* 2 (2): 123-40. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- Karch, H., S. Schubert, D. Zhang, W. Zhang, H. Schmidt, T. Ölschläger et J. Hacker. 1999. "A Genomic Island, Termed High-Pathogenicity Island, Is Present in Certain Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Clonal Lineages." *Infection and Immunity* 67 (11): 5994-6001. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.67.11.5994-6001.1999>.
- Koch, Claudia, Stefan Hertwig, Rudi Lurz, Bernd Appel et Lothar Beutin. 2001. "Isolation of a Lysogenic Bacteriophage Carrying the *stx*<sub>10x3</sub> Gene, Which Is Closely Associated with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains from Sheep and Humans." *Journal of Clinical Microbiology* 39 (11): 3992-3998. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.39.11.3992-3998.2001>.
- Krüger, A. et P. M. Lucchesi. 2015. "Shiga toxins and stx phages: highly diverse entities." *Microbiology (Reading)* 161 (Pt 3): 451-62. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000003>.
- Laiko, M., R. Murtazina, I. Malyukova, C. Zhu, E. C. Boedeker, O. Gutsal, R. O'Malley, R. N. Cole, P. I. Tarr, K. F. Murray, A. Kane, M. Donowitz et O. Kovbasnjuk. 2010. "Shiga toxin 1 interaction with enterocytes causes apical protein mistargeting through the depletion of intracellular galectin-3." *Exp Cell Res* 316 (4): 657-66. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.09.002>.
- Lan, Ruiting, Gordon Stevenson et Peter R. Reeves. 2003. "Comparison of Two Major Forms of the *Shigella* Virulence Plasmid pINV: Positive Selection Is a Major Force Driving the Divergence." *Infection and Immunity* 71 (11): 6298-6306. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.71.11.6298-6306.2003>.
- Leung, P. H. M., J. S. M. Peiris, W. W. S. Ng, R. M. Robins-Browne, K. A. Bettelheim et W. C. Yam. 2003. "A Newly Discovered Verotoxin Variant, VT2g, Produced by Bovine Verocytotoxigenic *Escherichia coli*." *Applied and Environmental Microbiology* 69 (12): 7549-7553. <https://doi.org/doi:10.1128/AEM.69.12.7549-7553.2003>.
- Lewis, S. B., V. Cook, R. Tighe et S. Schüller. 2015. "Enterohemorrhagic *Escherichia coli* colonization of human colonic epithelium in vitro and ex vivo." *Infect Immun* 83 (3): 942-9. <https://doi.org/10.1128/iai.02928-14>.
- Lindqvist, Roland, Catarina Flink et Mats Lindblad. 2023. "Classification and ranking of shigatoxin-producing *Escherichia coli* (STEC) genotypes detected in food based on potential public health impact using clinical data." *Microbial Risk Analysis* 23: 100246. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mran.2023.100246>.
- Linggood, Margaret A. et Julie M. Thompson. 1987. "Verotoxin production among porcine strains of *Escherichia coli* and its association with oedema disease." *Journal of Medical Microbiology* 24 (4): 359-362. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/00222615-24-4-359>.
- Livsmedelverket, R Lindqvist, C Flink et M Lindblad. 2022. *L 2022 nr 07: Bedömning av analysresultat vid fynd av shigatoxin-producerande E. coli (stec) i livsmedel. Riskklassificering av varianter av stec*. (Uppsala).
- Llarena, A. K., M. Aspholm, K. O'Sullivan, G. Wêgrzyn et T. Lindbäck. 2021. "Replication Region Analysis Reveals Non-lambdaoid Shiga Toxin Converting Bacteriophages." *Front Microbiol* 12: 640945. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.640945>.
- Madic, J., C. Peytavin de Garam, N. Vingadassalon, E. Oswald, P. Fach, E. Jamet et F. Auvray. 2010. "Simplex and multiplex real-time PCR assays for the detection of flagellar (H-antigen) *fliC* alleles and intimin (*eae*) variants associated with enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 and O157:H7." *J Appl Microbiol* 109 (5): 1696-705. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04798.x>.
- Mariani-Kurkdjian, P., S. Delannoy, P. Fach, S. Ganet et E. Loukiadis. 2014. *Etude des caractéristiques génétiques et phénotypiques des souches STEC isolées en France, chez l'homme, l'animal et les aliments*. 90 pages.
- Mazuy-Cruchaudet, C., S. Félix, A. Faure-Bondat, S. Ganet, A. Granjon, C. Postic, D. Novi et D. Thevenot-Sergentet. 2021. "Bilan des plans de surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines

- (STEC) dans les viandes hachées et les fromages au lait cru de 2017 à 2019." *Bulletin épidémiologique santé animale - alimentation* 93 (9): 1-6.
- Mellies, Jay L., Fernando Navarro-Garcia, Iruka Okeke, Julie Frederickson, James P. Nataro et James B. Kaper. 2001. "espC Pathogenicity Island of Enteropathogenic *Escherichia coli* Encodes an Enterotoxin." *Infection and Immunity* 69 (1): 315-324. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.69.1.315-324.2001>.
- Menge, C. 2020. "Molecular Biology of *Escherichia Coli* Shiga Toxins' Effects on Mammalian Cells." *Toxins (Basel)* 12 (5). <https://doi.org/10.3390/toxins12050345>.
- Michelacci, V., R. Tozzoli, A. Caprioli, R. Martínez, F. Scheutz, L. Grande, S. Sánchez et S. Morabito. 2013. "A new pathogenicity island carrying an allelic variant of the Subtilase cytotoxin is common among Shiga toxin producing *Escherichia coli* of human and ovine origin." *Clinical Microbiology and Infection* 19 (3): E149-E156. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1469-0691.12122>.
- Monaghan, Áine, Brian Byrne, Séamus Fanning, Torres Sweeney, David McDowell et Declan J. Bolton. 2011. "Serotypes and Virulence Profiles of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates from Bovine Farms." *Applied and Environmental Microbiology* 77 (24): 8662-8668. <https://doi.org/doi:10.1128/AEM.06190-11>.
- Montero, D. A., J. Velasco, F. Del Canto, J. L. Puente, N. L. Padola, D. A. Rasko, M. Farfán, J. C. Salazar et R. Vidal. 2017. "Locus of Adhesion and Autoaggregation (LAA), a pathogenicity island present in emerging Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* strains." *Sci Rep* 7 (1): 7011. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06999-y>.
- Nataro, J. P. et J. B. Kaper. 1998. "Diarrheagenic *Escherichia coli*." *Clin Microbiol Rev* 11 (1): 142-201. <https://doi.org/10.1128/cmr.11.1.142>.
- Nataro, J. P., D. Yikang, D. Yingkang et K. Walker. 1994. "AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli*." *Journal of Bacteriology* 176 (15): 4691-4699. <https://doi.org/doi:10.1128/jb.176.15.4691-4699.1994>.
- National Advisory Committee On Microbiological Criteria For, Foods. 2019. "Response to Questions Posed by the Food and Drug Administration Regarding Virulence Factors and Attributes that Define Foodborne Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) as Severe Human Pathogens (dagger)." *J Food Prot* 82 (5): 724-767. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-479>.
- Njage, Patrick Murigu Kamau, Pimlapas Leekitcharoenphon et Tine Hald. 2019. "Improving hazard characterization in microbial risk assessment using next generation sequencing data and machine learning: predicting clinical outcomes in shigatoxigenic *Escherichia coli*." *International journal of food microbiology* 292: 72-82.
- Ogura, Yoshitoshi, Shakhinur Islam Mondal, Md Rakibul Islam, Toshihiro Mako, Kokichi Arisawa, Keisuke Katsura, Tadasuke Ooka, Yasuhiro Gotoh, Kazunori Murase, Makoto Ohnishi et Tetsuya Hayashi. 2015. "The Shiga toxin 2 production level in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is correlated with the subtypes of toxin-encoding phage." *Scientific Reports* 5 (1): 16663. <https://doi.org/10.1038/srep16663>.
- Paton, A. W., P. Srimanote, M. C. Woodrow et J. C. Paton. 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 (11): 6999-7009. <https://doi.org/10.1128/iai.69.11.6999-7009.2001>.
- Peigne, C., P. Bidet, F. Mahjoub-Messai, C. Plainvert, V. Barbe, C. Médigue, E. Frapy, X. Nassif, E. Denamur, E. Bingen et S. Bonacorsi. 2009. "The plasmid of *Escherichia coli* strain S88 (O45:K1:H7) that causes neonatal meningitis is closely related to avian pathogenic *E. coli* plasmids and is associated with high-level bacteremia in a neonatal rat meningitis model." *Infect Immun* 77 (6): 2272-84. <https://doi.org/10.1128/iai.01333-08>.
- Perna, N. T., G. Plunkett, 3rd, V. Burland, B. Mau, J. D. Glasner, D. J. Rose, G. F. Mayhew, P. S. Evans, J. Gregor, H. A. Kirkpatrick, G. Pósfai, J. Hackett, S. Klink, A. Boutin, Y. Shao, L. Miller, E. J. Grotbeck, N. W. Davis, A. Lim, E. T. Dimalanta, K. D. Potamouisis, J. Apodaca, T. S. Anantharaman, J. Lin, G. Yen, D. C. Schwartz, R. A. Welch et F. R. Blattner. 2001. "Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7." *Nature* 409 (6819): 529-33. <https://doi.org/10.1038/35054089>.
- Persson, Søren, Katharina E. P. Olsen, Steen Ethelberg et Flemming Scheutz. 2007. "Subtyping Method for *Escherichia coli* Shiga Toxin (Verocytotoxin) 2 Variants and Correlations to Clinical Manifestations." *Journal of Clinical Microbiology* 45 (6): 2020-2024. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.02591-06>.
- Robinson, Cory M., James F. Sinclair, Michael J. Smith et Alison D. O'Brien. 2006. "Shiga toxin of enterohemorrhagic *Escherichia coli* type O157:H7 promotes intestinal colonization." *Proceedings*



- of the National Academy of Sciences 103 (25): 9667-9672. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.0602359103>.
- Russo, Lisa M., Angela R. Melton-Celsa, Michael J. Smith et Alison D. O'Brien. 2014. "Comparisons of Native Shiga Toxins (Stxs) Type 1 and 2 with Chimeric Toxins Indicate that the Source of the Binding Subunit Dictates Degree of Toxicity." *PLOS ONE* 9 (3): e93463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093463>.
- Sanchez-Garrido, J., D. Ruano-Gallego, J. S. Choudhary et G. Frankel. 2021. "The type III secretion system effector network hypothesis." *Trends Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.10.007>.
- Scheutz, Flemming et N. A. Strockbine. 2005. "Genus I. *Escherichia*, '." *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*: 607-624.
- Scheutz, Flemming, Louise D. Teel, Lothar Beutin, Denis Piérard, Glenn Buvens, Helge Karch, Alexander Mellmann, Alfredo Caprioli, Rosangela Tozzoli, Stefano Morabito, Nancy A. Strockbine, Angela R. Melton-Celsa, Maria Sanchez, Søren Persson et Alison D. O'Brien. 2012. "Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature." *Journal of clinical microbiology* 50 (9): 2951-2963. <https://doi.org/10.1128/jcm.00860-12>.
- Schmidt, Herbert, Jürgen Scheef, Stefano Morabito, Alfredo Caprioli, Lothar H. Wieler et Helge Karch. 2000. "A New Shiga Toxin 2 Variant (Stx2f) from *Escherichia coli* Isolated from Pigeons." *Applied and Environmental Microbiology* 66 (3): 1205-1208. <https://doi.org/doi:10.1128/AEM.66.3.1205-1208.2000>.
- Schmidt, M. A. 2010. "LEEways: tales of EPEC, ATEC and EHEC." *Cell Microbiol* 12 (11): 1544-52. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01518.x>.
- Seyahian, E. A., G. Oltra, F. Ochoa, S. Melendi, R. Hermes, J. C. Paton, A. W. Paton, N. Lago, M. Castro Parodi, A. Damiano, C. Ibarra et E. Zotta. 2017. "Systemic effects of Subtilase cytotoxin produced by *Escherichia coli* O113:H21." *Toxicon* 127: 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.12.014>.
- Signorell, Andri *et al.* (2016). 2016. "DescTools: Tools for descriptive statistics. R package version 0.99.18. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria."
- Sison, Cristina P. et Joseph Glaz. 1995. "Simultaneous Confidence Intervals and Sample Size Determination for Multinomial Proportions." *Journal of the American Statistical Association* 90 (429): 366-369. <https://doi.org/10.1080/01621459.1995.10476521>.
- Soysal, N., P. Mariani-Kurkdjian, Y. Smail, S. Liguori, M. Gouali, E. Loukiadis, P. Fach, M. Bruyand, J. Blanco, P. Bidet et S. Bonacorsi. 2016. "Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Hybrid Pathotype O80:H2 as a New Therapeutic Challenge." *Emerg Infect Dis* 22 (9): 1604-12. <https://doi.org/10.3201/eid2209.160304>.
- Thiry, D., M. Saulmont, S. Takaki, K. De Rauw, J. N. Duprez, A. Iguchi, D. Piérard et J. G. Mainil. 2017. "Enteropathogenic *Escherichia coli* O80:H2 in Young Calves with Diarrhea, Belgium." *Emerg Infect Dis* 23 (12): 2093-2095. <https://doi.org/10.3201/eid2312.170450>.
- Tobe, T., S. A. Beatson, H. Taniguchi, H. Abe, C. M. Bailey, A. Fivian, R. Younis, S. Matthews, O. Marches, G. Frankel, T. Hayashi et M. J. Pallen. 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 (40): 14941-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604891103>.
- Torres, Alfredo G., Kristen J. Kanack, Christopher B. Tutt, Vsevolod Popov et James B. Kaper. 2004. "Characterization of the second long polar (LP) fimbriae of *Escherichia coli* O157:H7 and distribution of LP fimbriae in other pathogenic *E. coli* strains." *FEMS microbiology letters* 238 (2): 333-344. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.07.053>.
- Turner, Natasha C.A., James P.R. Connolly et Andrew J. Roe. 2018. "Control freaks—signals and cues governing the regulation of virulence in attaching and effacing pathogens." *Biochemical Society Transactions* 47 (1): 229-238. <https://doi.org/10.1042/bst20180546>.
- Tyler, Jessica S., Melissa J. Mills et David I. Friedman. 2004. "The Operator and Early Promoter Region of the Shiga Toxin Type 2-Encoding Bacteriophage 933W and Control of Toxin Expression." *Journal of Bacteriology* 186 (22): 7670-7679. <https://doi.org/doi:10.1128/JB.186.22.7670-7679.2004>.
- Van Cauteren, D., H. De Valk, S. Vaux, Y. Le Strat et V. Vaillant. 2012. "Burden of acute gastroenteritis and healthcare-seeking behaviour in France: a population-based study." *Epidemiol Infect* 140 (4): 697-705. <https://doi.org/10.1017/s0950268811000999>.
- Van Cauteren, D., Y. Le Strat, C. Sommen, M. Bruyand , M. Tourdjman, N. Jourdan-Da Silva, E. Couurier, N. Fournet, H. De Valk et JC Desenclos. 2018. "Estimation de la morbidité et de la mortalité liées aux infections d'origine alimentaire en France métropolitaine, 2008-2013." *Bull Epi-démiol Hebdo* 1: 2-10.

- Van Cauteren, D., C. Turbelin, L. Fonteneau, T. Hanslik, H. De Valk et T. Blanchon. 2015. "Physician practices in requesting stool samples for patients with acute gastroenteritis, France, August 2013-July 2014." *Epidemiol Infect* 143 (12): 2532-8. <https://doi.org/10.1017/s0950268814003884>.
- van den Beld, M. J. et F. A. Reubsæet. 2012. "Differentiation between Shigella, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31 (6): 899-904. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1395-7>.
- Villani, F., F. Russo, G. Blaiotta, G. Moschetti et D. Ercolini. 2005. "Presence and characterisation of verotoxin producing *E. coli* in fresh Italian pork sausages, and preparation and use of an antibiotic-resistant strain for challenge studies." *MEAT SCIENCE* 70 (1): 181-188. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.12.010>.
- Vlisidou, I., O. Marchés, F. Dziva, R. Mundy, G. Frankel et M. P. Stevens. 2006. "Identification and characterization of EspK, a type III secreted effector protein of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7." *FEMS Microbiol Lett* 263 (1): 32-40. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00410.x>.
- Wagner, Patrick L., David W. K. Acheson et Matthew K. Waldor. 1999. "Isogenic Lysogens of Diverse Shiga Toxin 2-Encoding Bacteriophages Produce Markedly Different Amounts of Shiga Toxin." *Infection and Immunity* 67 (12): 6710-6714. <https://doi.org/doi:10.1128/IAI.67.12.6710-6714.1999>.
- Wang, Haixiu, Zifu Zhong, Yu Luo, Eric Cox et Bert Devriendt. 2019. Heat-Stable Enterotoxins of Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Their Impact on Host Immunity. *Toxins* 11 (1). Consulté le 2019/01//. <https://doi.org/10.3390/toxins11010024>.
- Wang, L., J. Yan, H. Niu, R. Huang et S. Wu. 2018. "Autophagy and Ubiquitination in *Salmonella* Infection and the Related Inflammatory Responses." *Front Cell Infect Microbiol* 8: 78. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00078>.
- Weinstein, D L, M P Jackson, J E Samuel, R K Holmes et A D O'Brien. 1988. "Cloning and sequencing of a Shiga-like toxin type II variant from *Escherichia coli* strain responsible for edema disease of swine." *Journal of Bacteriology* 170 (9): 4223-4230. <https://doi.org/doi:10.1128/jb.170.9.4223-4230.1988>.
- Wong, C. S., S. Jelacic, R. L. Habeeb, S. L. Watkins et P. I. Tarr. 2000. "The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections." *N Engl J Med* 342 (26): 1930-6. <https://doi.org/10.1056/nejm200006293422601>.
- Xue-Han, Z., Y. Qing, L. Ya-Dong, L. Bin, I. Renata et H. Kong-Wang. 2013. "Development of a LAMP assay for rapid detection of different intimin variants of attaching and effacing microbial pathogens." *J Med Microbiol* 62 (Pt 11): 1665-1672. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.054551-0>.
- Zhang, W., B. Köhler, E. Oswald, L. Beutin, H. Karch, S. Morabito, A. Caprioli, S. Suerbaum et H. Schmidt. 2002. "Genetic diversity of intimin genes of attaching and effacing *Escherichia coli* strains." *J Clin Microbiol* 40 (12): 4486-92. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.12.4486-4492.2002>.
- Zhang, Wenlan , Martina Bielaszewska, Thorsten Kuczius et Helge Karch. 2002. "Identification, Characterization, and Distribution of a Shiga Toxin 1 Gene Variant (*stx<sub>1c</sub>*) in *Escherichia coli* Strains Isolated from Humans." *Journal of Clinical Microbiology* 40 (4): 1441-1446. <https://doi.org/doi:10.1128/JCM.40.4.1441-1446.2002>.

## ANNEXE 1. PRESENTATION DES INTERVENANTS

**PRÉAMBULE** : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

### RAPPORTEURS

---

M. Frédéric AUVRAY – École nationale vétérinaire de Toulouse – Ingénieur de recherche. Microbiologie des aliments et écologie microbienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, bactéries pathogènes zoonotiques, microbiote, bactériophages, diagnostic microbiologique et séquençage de génomes.

Mme Aurélie COINTE – Laboratoire associé au CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*, CHU Robert Debré - Assistante hospitalo-universitaire. Infectiologie clinique, *E. coli*.

M. Mickael DESVAUX – INRAE – Directeur de recherche. *Escherichia coli*, physiologie et écologie microbienne, biologie moléculaire.

Mme Gabrielle JONES – Santé publique France – Épidémiologiste. Épidémiologie des maladies entériques et zoonoses.

Mme Patricia MARIANI - KURKDJIAN - Laboratoire associé au CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*, CHU Robert Debré - Praticien hospitalier. Infectiologie clinique, *E. coli*.

M. Eric OSWALD – CHU Toulouse - Université de Toulouse – Professeur des universités-Praticien hospitalier. Pathogénicité bactérienne, Toxines, *Escherichia coli*, antibiorésistance, génomique microbienne, microbiote, *One health*, infectiologie.

### COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

---

#### ■ CES « Évaluation des risques biologiques liés aux aliments (BIORISK) »

##### Président

M. Philippe FRAVALO – Conservatoire National des Arts et Métiers, Professeur. Microbiologie des aliments, filières viandes, dangers bactériens, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, méthodes (dont métagenomique 16S des contenus digestifs et des surfaces, caractérisation moléculaire des dangers), élevage /abattage.

##### Membres

M. Frédéric AUVRAY – École nationale vétérinaire de Toulouse – Ingénieur de recherche. Microbiologie des aliments et écologie microbienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, bactéries pathogènes zoonotiques, microbiote, bactériophages, diagnostic microbiologique et séquençage de génomes.

M. Mickaël BONI – Institut de recherche biomédicale des armées – Vétérinaire en chef, chef d'unité. Microbiologie, hygiène, salubrité et qualité des aliments, sûreté sanitaire des aliments

et de l'eau, inspection en sécurité sanitaire des aliments, traitement et contrôle sanitaire des EDCH, épidémiologie des eaux usées.

M. Frédéric BORGES – Université de Lorraine – Maître de conférences. *Listeria*, génie génétique, biopréservation, écosystèmes alimentaires fermentées, génotypage, phénotypage, HACCP.

M. Gilles BORNERT – Service de santé des armées de Rennes – Vétérinaire en chef. Microbiologie des aliments et des eaux, écologie microbienne, réglementation, sécurité sanitaire des aliments, HACCP, filière eau et restauration collective.

M. Frédéric CARLIN – INRAE – Directeur de recherche. Bactéries sporulées, *Bacillus*, *Clostridium*, effets des procédés, microbiologie prévisionnelle, produits végétaux.

Mme Catherine CHUBILLEAU – Centre hospitalier de Niort – Chef de service. Hygiène des aliments, épidémiologie, microbiologie des aliments, plan de maîtrise sanitaire, EDCH.

Mme Monika COTON – Université de Brest – Maître de conférences. Microbiologie des aliments, produits fermentés, mycologie, Écologie microbienne, métabolites secondaires (dont mycotoxines, amines biogènes, composés volatils), méthodes analytiques, biologie moléculaire.

M. Georges DAUBE – Université de Liège – Professeur des universités. Microbiologie des aliments, évaluation quantitative de risques microbiologiques, HACCP, Bonnes Pratiques d'Hygiène, filière viande et lait.

Mme Noémie DESRIAC – Université Bretagne occidentale – Maître de conférences. Microbiologie des aliments, bactéries sporulées, mécanismes d'adaptation des microorganismes au stress, microbiologie prévisionnelle.

Mme Florence DUBOIS-BRISSONNET – AgroParisTech – Professeur. Microbiologie des aliments, biofilms, mécanismes d'adaptation bactérienne au stress (dont conservateurs, désinfectants, réfrigération), biochimie membranaire, *Listeria monocytogenes*.

M. Michel FEDERIGHI – Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort – Professeur. Microbiologie des aliments, hygiène et qualité des aliments, analyse des dangers, HACCP, filières et technologies alimentaires des viandes et des produits transformés.

M. Michel GAUTIER – Institut Agro – Professeur. Microbiologie alimentaire, biologie moléculaire, OGM microbiens, bactériophages, aliments fermentés, bactéries pathogènes.

Mme Michèle GOURMELON – IFREMER – Chargée de recherche. Bactériologie et biologie moléculaire, écologie microbienne des milieux marins côtiers dont coquillages et zones conchylicoles et du continuum terre-mer, bactéries environnementales et d'intérêt sanitaire, *Campylobacter*.

Mme Sandrine GUILLOU – ONIRIS – Ingénieur de recherche. Évaluation des risques sanitaires, microbiologie et écologie microbienne des aliments, modélisation, *Campylobacter*, procédés de décontamination, méthode de détection, mécanismes d'adaptation aux stress environnementaux, filière volaille.

M. Stéphane GUYOT – Institut Agro Dijon – Maître de conférences. Microbiologie des aliments, poudres alimentaires, pathogènes, bactéries, virus, procédés de décontamination, mécanismes d'adaptation aux stress environnementaux.

M. Didier HILAIRE – Direction générale pour l'armement – Ingénieur, adjoint innovation ouverte ; architecte décontamination et contre-mesures médicales NRBC. Toxines

bactériennes et végétales, toxines botuliques, risques biologiques, décontamination et identification des agents biologiques.

Mme Nathalie JOURDAN-DA SILVA – Santé publique France – Médecin épidémiologiste, chargée de projet scientifique. Épidémiologie des maladies entériques et zoonoses, investigations.

Mme Claire LE HENAFF-LE MARREC – Bordeaux INP, INRAE – Professeur des universités. Microbiologie des aliments, écologie microbienne, bactéries lactiques, bactériophages, fermentation malo-lactique.

Mme Sandra MARTIN-LATIL – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments – Directrice de recherche. Virologie alimentaire, méthodes de détection, procédés de décontamination.

Mme Jeanne-Marie MEMBRÉ – INRAE – Ingénieure de recherche. Appréciation quantitative du risque microbiologique, modélisation, microbiologie prévisionnelle, évaluation risque-bénéfices et multicritères, statistiques appliquées.

M. Eric OSWALD – CHU Toulouse - Université de Toulouse – Professeur des universités-Praticien hospitalier. Pathogénicité bactérienne, Toxines, *Escherichia coli*, antibiorésistance, génomique microbienne, microbiote, One health, infectiologie.

Mme Nadia OULAHAL – Université Claude-Bernard Lyon 1 – Maître de conférences. Microbiologie des aliments, hygiène des aliments, interactions biomolécules antimicrobiennes - aliments, écosystème microbien alimentaire, biofilms, Biopréservation.

M. Pascal PIVETEAU – INRAE – Directeur de recherche. *Listeria monocytogenes* ; écologie microbienne, écologie des bactéries pathogènes dans les agroenvironnements, systèmes alimentaires, filière végétaux.

Mme Sabine SCHORR-GALINDO – Université Montpellier – Professeur des universités. Sécurité sanitaire des aliments, microbiologie alimentaire et industrielle, mycologie, mycotoxines, écologie microbienne, technologie alimentaire, HACCP, biotechnologie, filières fruits, café et cacao.

Mme Régine TALON – INRAE – Directrice de recherche, chargée de mission. Sciences des aliments, écologie microbienne, produits fermentés, ferments, bactéries pathogènes, filières viande et lait.

Mme Isabelle VILLENA – CHU Reims, Université Reims Champagne-Ardenne – Professeur des universités-Praticien Hospitalier, Chef de service Hôpital Reims, Directeur du CNR de la Toxoplasmose. Évaluation des risques sanitaires, parasitologie, mycologie médicale, infectiologie clinique, épidémiologie, biologie moléculaire.

## **PARTICIPATION ANSES**

---

La coordination scientifique du projet a été assurée par l'Unité d'Évaluation des Risques liés aux Aliments (UERALIM) sous la direction de Nathalie ARNICH (adjointe à la cheffe d'unité) et d'Hélène GAYON (Cheffe d'unité).

### **Coordination et contribution scientifique**

Mme Pauline KOOH – Cheffe de projets scientifiques, UERALIM, Direction de l'Évaluation des Risques

M. Laurent GUILLIER, Chef de projets scientifiques, UERALIM, Direction de l'Évaluation des Risques

Mme Frédérique AUDIAT-PERRIN, Chargée de projets scientifiques, UERALIM, Direction de l'Évaluation des Risques (jusqu'à juillet 2023)

**Secrétariat administratif**

Mme Angélique LAURENT – Direction de l'Évaluation des Risques

**AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES**

---

Mme Sabine DELANNOY – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments

M. Patrick FACH – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments

M. Stéfano MORABITO – *European Reference Laboratory for E. coli*, Istituto Superiore di Sanità

Mme Delphine THEVENOT SERGENTET – Laboratoire National de Référence des *E. coli* y compris des STEC

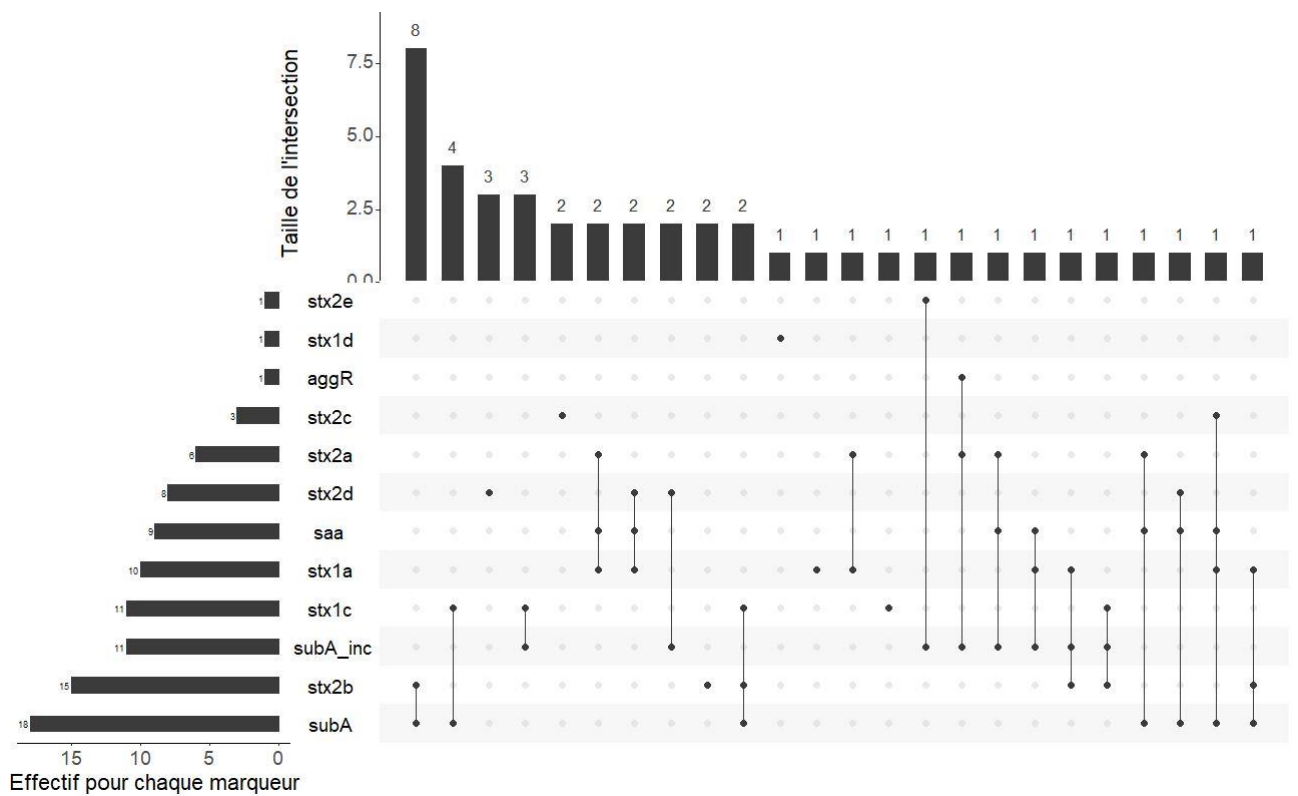
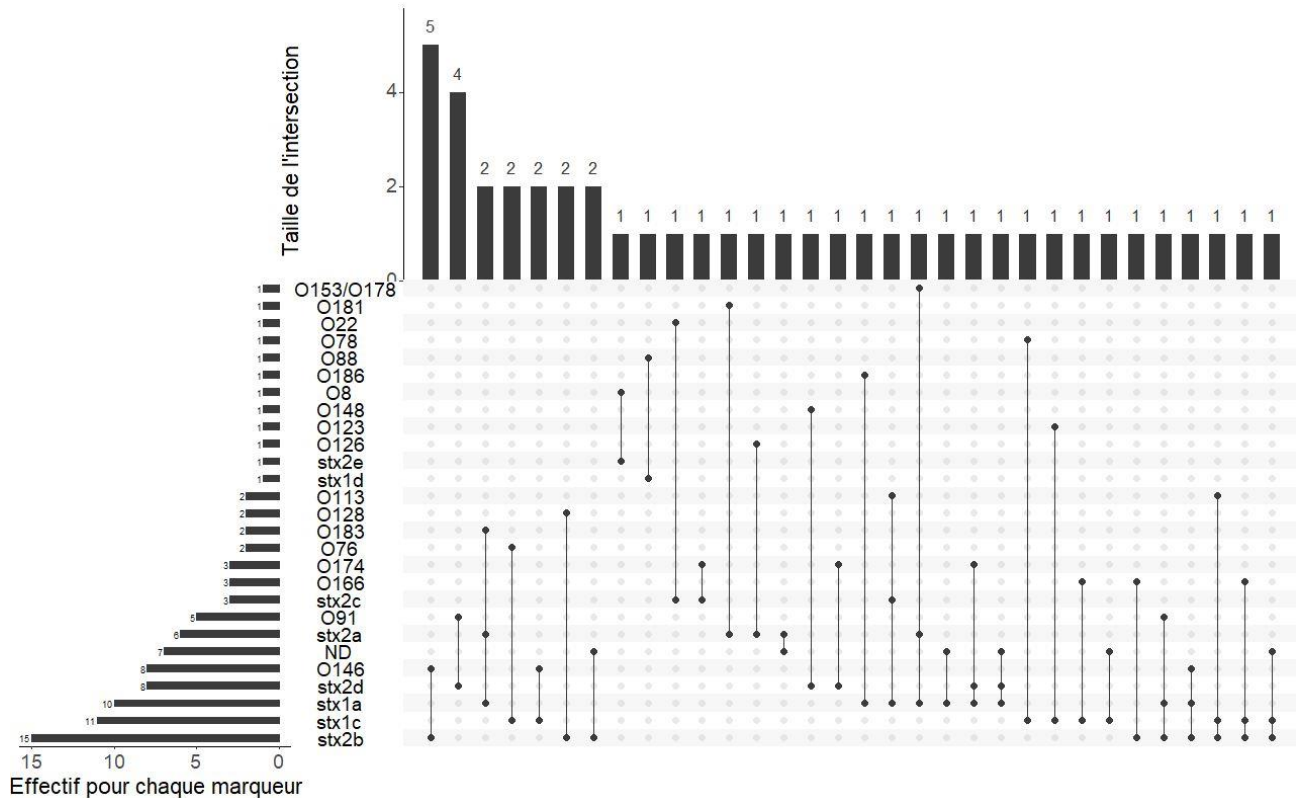
M. Flemming SHEUTZ - *Statens Serum Institut*

## ANNEXE 2. CRITERES UTILISES POUR L'EVALUATION DE LA PATHOGENICITE DES STEC ET MESURES DE GESTION ASSOCIEES A LA DETECTION DES STEC DANS LES ALIMENTS : BILAN DES REPONSES A L'ENQUETE MULTILATERALE EUROPEENNE (MAI 2022) MENEES PAR L'ANSES

11 pays répondants au 25 mai 2022 : Autriche, Bulgarie, Chypre, Estonie, Irlande, Italie, Lituanie, Roumanie, Slovaquie, Suède, Pays-Bas

Pays	Critères d'évaluation de la pathogénicité des STEC	Mesures de gestion associées à la détection des STEC dans les aliments
Autriche	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Aliments prêts à être consommés ( <i>ready to eat</i> ) « RTE » : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC. Aliments non RTE : gestion selon une approche fondée sur le risque (évaluation en fonction de l'utilisation raisonnablement prévisible de la denrée et de l'information fournie au consommateur).
Bulgarie	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Non renseigné
Chypre	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Aliments RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC ; Inspections de l'établissement et application de mesures correctives.
Estonie	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Aliments RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC. Aliments non RTE : gestion selon une approche fondée sur le risque.
Irlande	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Aliments RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC. D'autres cas de figure (détection du gène <i>stx</i> dans un RTE ou isolement d'une souche de STEC dans un produit non RTE) peuvent nécessiter une action sur la base d'une évaluation du risque (cf. infographie : <a href="#">FSAI STEC infographic.pdf</a> )
Italie	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Aliments RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC. Aliments non RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche appartenant aux sérogroupes du TOP 5 et O104.
Lituanie	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Retrait/rappel des RTE ou des aliments susceptibles d'être consommés insuffisamment cuits. Possibilité de traitement thermique des produits qui ne sont pas sur le marché.
Roumanie	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Retrait/rappel des RTE ou des aliments susceptibles d'être consommés insuffisamment cuits. Possibilité de traitement thermique des produits qui ne sont pas sur le marché.
Slovaquie	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i> (et <i>eae</i> )	Évaluation sur la base de l'article 14 du Règlement (CE) 178/2002. Graines germées: application du Règlement (CE) 2073/2005.
Suède	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i> et <i>eae</i>	Aliments RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC. Aliments non RTE : retrait/ rappel des aliments contaminés par une souche possédant les gènes <i>stx2</i> et <i>eae</i> .
Pays-Bas	Souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i>	Aliments RTE : retrait/rappel des aliments contaminés par une souche de STEC. Aliments non RTE : retrait/ rappel des aliments contaminés par une souche possédant les gènes <i>stx1</i> et/ou <i>stx2</i> et <i>eae</i> et appartenant à 9 sérogroupes (O157, O26, O103, O145, O111, O104, O45, O121, O174). Arbre de décision pour les méthodes d'analyse et d'interprétation des résultats ( <a href="https://www.nvwa.nl/onderwerpen/e-coli-bacterien-stec-ehc/hoe-stec-in-levensmiddelen-voorkomen">https://www.nvwa.nl/onderwerpen/e-coli-bacterien-stec-ehc/hoe-stec-in-levensmiddelen-voorkomen</a> ). En l'absence d'isolement des souches, les mesures peuvent être basées sur la détection des gènes <i>stx</i> .

**ANNEXE 3. SEROGROUPES ET PROFILS DE VIRULENCE (SOUS-TYPES STX, SAA, SUBA) DES SOUCHES STX+ EAE- IMPLIQUEES DANS LES CAS DE DIARRHEE SANGLANTE ADULTES (N = 58) (2017-2021)**





**ANNEXE 4. PROFIL DE VIRULENCE DES SOUCHES IMPLIQUÉES DANS LES INFECTIONS À STEC EN FRANCE (2017-2021)**

Gènes de virulence			SHU	Diarrhée sanglante	Diarrhée aiguë	Autres*/ ASY	Nombre de cas total
Sous-type <i>stx</i>	<i>eae</i>	<i>aggR/saa</i>					
<i>stx2a</i>	<i>eae</i> +		278	44	51	18	391
<i>stx2d</i>	<i>eae</i> +		160	18	59	14	251
<i>stx1a stx2a</i>	<i>eae</i> +		40	21	12	4	77
<i>stx1a</i>	<i>eae</i> +		21	60	86	16	183
<i>stx2c</i>	<i>eae</i> +		16	13	52	8	89
<i>stx2d</i>	<i>eae</i> -		16	5	6	0	27
<i>stx2a stx2c</i>	<i>eae</i> +		13	6	1	2	22
<i>stx2b</i>	<i>eae</i> -		7	18	24	7	56
<i>stx1c</i>	<i>eae</i> -		6	11	23	5	45
<i>stx2a</i>	<i>eae</i> -		4	0	2	0	6
<i>stx1c stx2b</i>	<i>eae</i> -		3	6	21	5	35
<i>stx2a</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	3	5	5	0	13
<i>stx2c</i>	<i>eae</i> -		3	2	3	0	8
<i>stx2a</i>	<i>eae</i> -	<i>aggR</i>	3	2	0	0	5
<i>stx1a stx2c</i>	<i>eae</i> +		2	43	10	0	55
<i>stx1a stx2a</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	2	3	1	2	8
<i>stx1a stx2d</i>	<i>eae</i> +		2	2	3	0	7
<i>stx1a stx2d</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	2	2	1	0	5
<i>stx2d</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	2	1	2	0	5
<i>stx2f</i>	<i>eae</i> +		2	0	0	0	2
<i>stx2a stx2d</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	2	0	0	0	2
<i>stx1a stx2b</i>	<i>eae</i> -		1	5	3	4	13
<i>stx2e</i>	<i>eae</i> -		1	2	4	0	7
<i>stx1a</i>	<i>eae</i> -		1	1	5	1	8
<i>stx2c stx2d</i>	<i>eae</i> +		1	0	1	0	2
<i>stx2b stx2c</i>	<i>eae</i> -		1	0	0	0	1
<i>stx1a stx2g</i>	<i>eae</i> -		1	0	0	0	1
<i>stx1a</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	0	3	3	1	7
<i>stx1a stx2a stx2c</i>	<i>eae</i> +		0	1	2	0	3
<i>stx1d</i>	<i>eae</i> -		0	1	2	1	4
<i>stx2a stx2d</i>	<i>eae</i> +		0	1	0	0	1
<i>stx1a stx2c</i>	<i>eae</i> -	<i>saa</i>	0	1	0	0	1
<i>stx2a stx2b</i>	<i>eae</i> -		0	0	1	0	1
<i>st1c</i>	<i>eae</i> -		0	0	0	1	1
<i>stx2i</i>			0	0	0	1	1
<b>Total</b>			<b>593</b>	<b>277</b>	<b>383</b>	<b>90</b>	<b>1343</b>

\*Diarrhée chronique, douleurs abdominales, rectorragie ; asymptomatique ; inconnu

## ANNEXE 5. DONNEES CONCERNANT LES INFECTIONS A STEC REPORTEES PAR 28 PAYS ENTRE 2012 ET 2019 (SOURCE ECDC)

Tableau 5.1. Données concernant les infections à STEC reportées par 28 pays entre 2012 et 2019 (Extraction base de données TESSy de l'ECDC)

Définition du cas	Effectifs
Cas totaux	60 723
Cas totaux confirmés	59 621
Cas totaux confirmés chez les enfants de moins de 15 ans	25 140
Cas totaux confirmés chez les adultes	34 481
Cas totaux confirmés de SHU	3 123
Cas totaux confirmés de SHU chez les enfants de moins de 15 ans	2 646
Cas totaux confirmés de SHU chez les adultes	477
Cas totaux confirmés de SHU chez les enfants de moins de 15 ans en France	803
Cas totaux confirmés de SHU chez les adultes en France	92
Cas confirmés avec profil <i>stx1 stx2 eae</i> connu	29 653
Cas confirmés de SHU avec profil <i>stx1 stx2 eae</i> connu	1 966

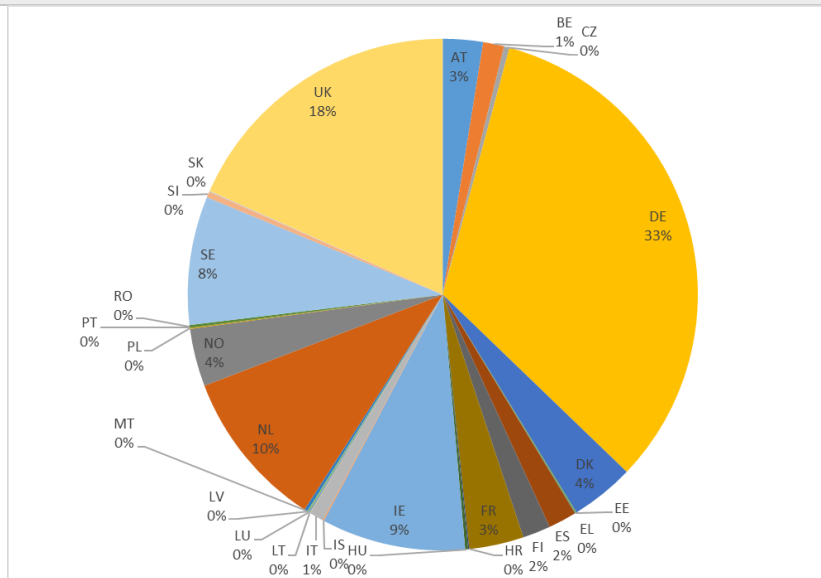


Figure 5.1. Répartition des cas confirmés notifiés par pays

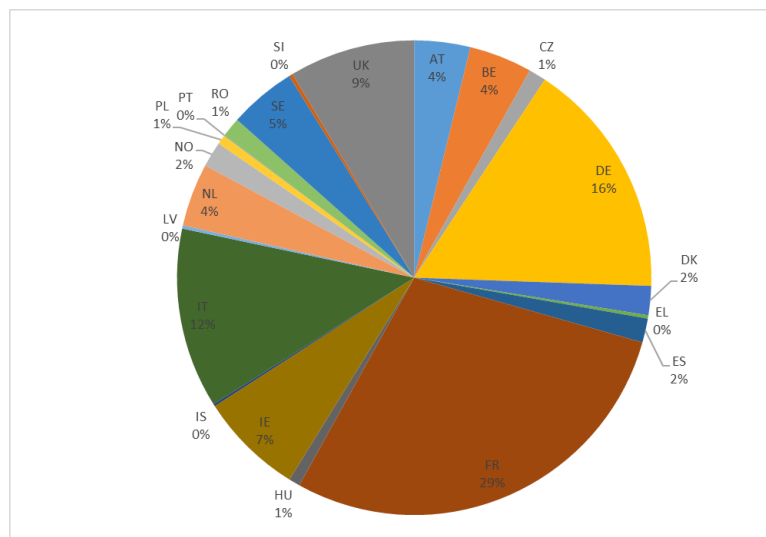


Figure 5.2. Répartition des cas confirmés de SHU notifiés par pays

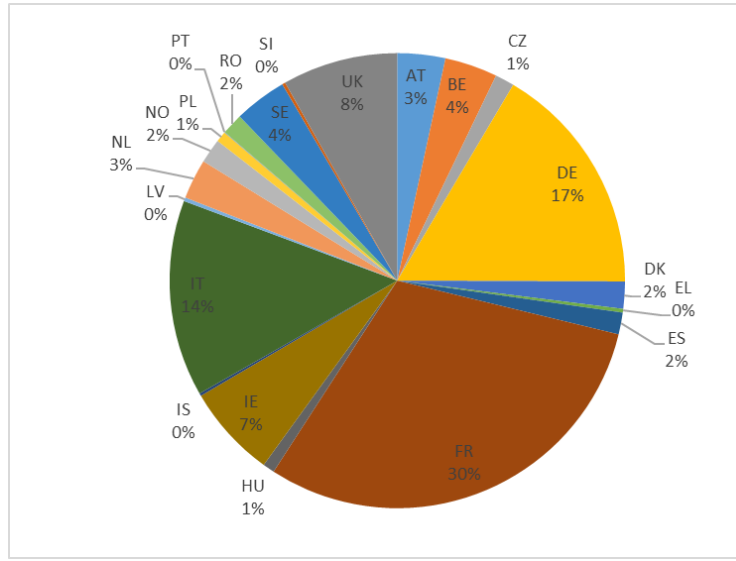


Figure 5.3. Répartition des cas confirmés de SHU pédiatriques notifiés par pays

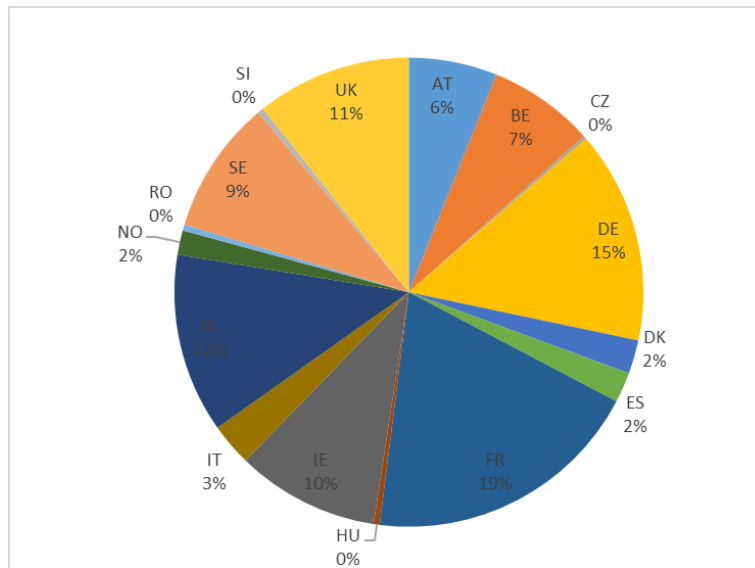


Figure 5.4. Répartition des cas confirmés de SHU chez les adultes notifiés par pays

Tableau 5.2. Proportion des 7 sérogroupes les plus fréquents dans les cas de SHU pour lesquels un antigène O est identifié chez les enfants et les adultes

Sérogroupes	Enfants	Adultes
O26	33 %	13 %
O80	6 %	1 %
O91	0 %	7 %
O103	2 %	5 %
O111	6 %	2 %
O145	7 %	4 %
O157	37 %	44 %
Somme	90 %	76 %

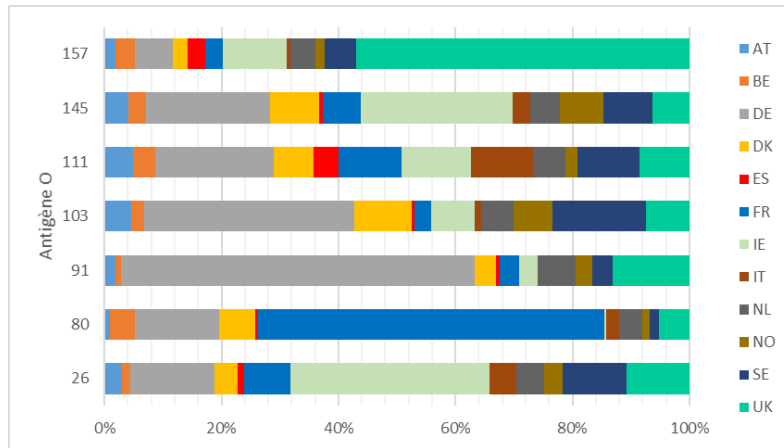


Figure 5.5. Pourcentage de cas confirmés d'infection associés aux sérogroupes O26, O80, O91, O103, O111, O145 et O157 par pays (12 pays déclarants le plus)

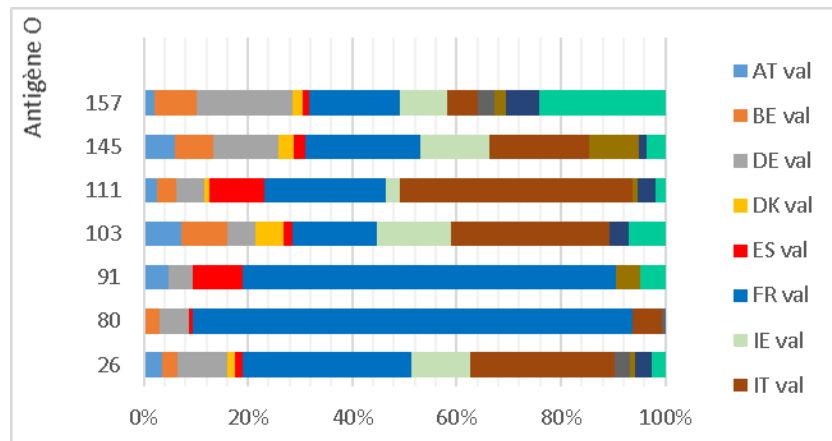


Figure 5.6. Pourcentage de cas confirmés de SHU associés aux sérogroupes O26, O80, O91, O103, O111, O145 et O157 par pays (12 pays déclarants le plus)

Tableau 5.3. Profil de virulence (*stx1*, *stx2*, *eae*) des souches à l'origine des cas de SHU pédiatrique\*

Gènes	eae+	eae-	Total
<i>stx1</i> +	29	8	37
<i>stx2</i> +	1 350	159	1 509
<i>stx1</i> +, <i>stx2</i> +	222	10	232
Total	1 601	177	1 778

\*Cas de SHU pour lesquels le profil complet des souches (*stx1*, *stx2* et *eae*) est connu

Tableau 5.4. Proportion des sous-types du gène *stx2* parmi les souches *stx2*+ associées à un cas de SHU pédiatrique pour lesquelles le sous-type est identifié (n = 331)

Sous-type <i>stx2</i>	% des souches dont le sous-type <i>stx2</i> est identifié
<i>stx2a</i>	79,1 %
<i>stx2a_stx2c</i>	12,4 %
<i>stx2c</i>	3,6 %
<i>stx2d</i>	1,8 %
<i>stx2f</i>	1,8 %
<i>stx2b</i>	0,9 %
<i>stx2g</i>	0,3 %
Total général	100 %

Tableau 5.5. Profil de virulence (*stx1*, *stx2*, *eae*) des souches à l'origine des cas de SHU adulte\*

Gènes	<i>eae</i> +	<i>eae</i> -	Total
<i>stx1</i> +	19	10	29
<i>stx2</i> +	148	89	237
<i>stx1</i> +, <i>stx2</i> +	105	25	67
Total	166	124	333

\*Cas de SHU pour lesquels le profil complet des souches (*stx1*, *stx2* et *eae*) est connu

Tableau 5.6. Proportion des sous-types du gène *stx2* parmi les souches *stx2*+ associées à un cas de SHU adulte pour lesquelles le sous-type est identifié (n = 71)

Sous-type <i>stx2</i>	% des souches dont le sous-type <i>stx2</i> est identifié
<i>stx2a</i>	56,3 %
<i>stx2c</i>	14,1 %
<i>stx2d</i>	9,9 %
<i>stx2a</i> <i>stx2c</i>	8,4 %
<i>stx2f</i>	5,6 %
<i>stx2b</i>	2,8 %
<i>stx2a</i> <i>stx2d</i>	1,4 %
<i>stx2b</i> <i>stx2d</i>	1,4 %
Total général	100 %

Tableau 5.6. Sérogroupes identifiés dans les cas de diarrhée sanglante sans SHU (10 premiers sérotypes)

Sérogroupe O	Enfants	Adultes	Enfants+ adultes
157	43,23 %	43,58 %	43,46 %
26	15,14 %	6,83 %	9,71 %
103	3,46 %	3,40 %	3,42 %
145	3,96 %	2,57 %	3,06 %
91	0,76 %	1,32 %	1,13 %
146	0,59 %	1,30 %	1,05 %
111	1,64 %	0,65 %	0,99 %
128	0,30 %	0,63 %	0,51 %
NT	3,88 %	4,52 %	4,30 %
NULL	27,04 %	35,21 %	32,37 %
Total général	100,00 %	100,00 %	100,00 %

**ANNEXE 6. CLASSIFICATION DES SOUCHES DE STEC EN FONCTION DE LEUR FREQUENCE D'IMPLICATION DANS LES CAS D'INFECTION (SHU, DS, DA) ET SELON L'AGE DES PATIENTS EN FRANCE (2017-2021)**
**Enfants de moins de 15 ans**

Groupe	Gènes	SHU (n = 485)	Diarrhée sanglante (n = 140)	Diarrhée aiguë (n = 267)	Sérogroupe (n > 2 isolats)
		%	%	%	
I	<i>(stx2a et/ou stx2d)<sup>1+</sup>, (eae ou aaiC / aggR)<sup>+</sup></i>	92 [90 - 94]	41 [35 - 53]	39 [33 - 46]	<b>O26, O80, O157, O145, O55, O121, O111, O103, O177</b>
II	<i>Autres stx<sup>+</sup>, (eae ou aaiC/aggR)<sup>+</sup></i>	5 [3 - 7]	41 [34 - 52]	45 [39 - 52]	<b>O157, O26, O103, O177, O145, O5, O111, O182</b>
III	<i>Autres stx<sup>+</sup>, (eae ou aaiC / aggR)<sup>-</sup></i>	2 [0 - 4]	14 [4 - 0,22]	15 [9 - 22]	O146, O128, O91, O8, O78, O27
IV	<i>(stx2a et/ou stx2d)<sup>1+</sup>, (eae ou aaiC / aggR)<sup>-</sup></i>	1 [0 - 3]	3 [0 - 10]	1 [0 - 8]	O91

<sup>1</sup>Variants *stx* seuls ou en combinaison

**Adultes**

Groupe	Gènes	SHU (n = 108)	Diarrhée sanglante (n = 137)	Diarrhée aiguë (n = 116)	Sérogroupe (n > 2 isolats)
		%	%	%	
I	<i>(stx2a et/ou stx2d)<sup>1+</sup>, (eae ou aaiC / aggR)<sup>+</sup></i>	49 [40 - 59]	26 [17 - 35]	22 [13 - 32]	<b>O80, O157, O26, O145, O111, O103, O55</b>
II	<i>(stx2a et/ou stx2d)<sup>1+</sup>, (eae ou aaiC / aggR)<sup>-</sup></i>	22 [13 - 32]	10 [1 - 19]	12 [3 - 22]	O91, O171, O174, O148, O183
III	<i>Autres stx<sup>+</sup>, (eae ou aaiC/aggR)<sup>+</sup></i>	16 [7 - 26]	42 [33 - 51]	25 [16 - 35]	<b>O157, O26, O103, O5, O182</b>
IV	<i>Autres stx<sup>+</sup>, (eae ou aaiC / aggR)<sup>-</sup></i>	13 [4 - 23]	22 [14 - 32]	41 [32 - 51]	O146, O128, O166, O8, O91, O113, O76, O174, O78

<sup>1</sup>Variants *stx* seuls ou en combinaison

## ANNEXE 7. PREVALENCE DE CONTAMINATION ET CARACTERISTIQUES DES SOUCHES ISOLEES AU COURS DES PLANS DE SURVEILLANCE DE 2017 A 2021 EN FRANCE

Type de produits	Viandes				Produits laitiers
	Viandes hachées de bœuf surgelées	Viandes hachées de bœuf	Viandes hachées de bœuf	Viandes hachées de bœuf	Fromages au lait cru
Année	2017	2018	2019	2021	2018
Stade chaîne alimentaire	Production	Distribution	Production	Distribution	Distribution
Nombre d'échantillons analysés	595	599	578	579	490
Pourcentage d'échantillons stx+	6,6 %	7,5 %	6,6 %	6,6 %	22 %
Nombre de souches STEC	9	19	19	22	37
Nombre souches STEC Top 5/7	0	3	1	3	4
Prévalence et intervalle de confiance à 95 % pour les STEC Top 5/7	0 % [0 – 0,7]	0,5 % [0,1-1,4]	0,17 % [0,03-0,97]	0,5 % [0,1-1,5]	0,8 % [0,2-2]
<b>Caractéristiques des souches de STEC eae +isolées TOP 5</b>					
		O26:H11 stx2a eae O26:H11 stx1a eae O145:H28 stx1 eae	O157:H7 stx1a stx1c eae	O157:H7 stx2c eae O157:H7stx1a stx2c eae O26:H11 stx1a eae	O157:H7 stx2c eae O26:H11 stx1a eae (2) O103:H2 stx1a eae
<b>Caractéristiques des souches de STEC (eae+ et eae-) isolées non TOP 5/7</b>					
	O113 stx2d NT stx2a (2) NT stx1a stx2a NT stx1a eae NT stx1d (3) NT stx2b stx2c	NT stx2a eae NT stx 2d NT stx2 NT stx1a-stx2a NT stx2b stx2c NT stx 2c NT stx 2g NT stx 1c NT stx 1d (8)	O113 stx2d NT stx2a NT stx2c stx2d (3) NT stx1a stx2a (2) NT stx1a NT stx2b stx2c NT stx2c NT stx1d (8)	O113 stx2d (2) O104 stx 1a stx2a NT stx2a (2) NT stx2a stx2d NT stx1a stx2a (3) NT stx2d NT stx1a NT stx1c NT stx2c (3) NT stx1d (4)	O55 stx2a eae O91 stx2d O113 stx2d NT stx2a (3) NT stx2a stx2g NT* stx 2c eae (2) NT stx1a eae (2) O113 stx1c stx2b O55 stx1a NT stx1c NT stx1a (4) NT stx1c (4) NT stx1c stx2b (4) NT stx1d (3) NT stx2b stx2c NT stx2g (3)

NT\* : non typé parmi les 13 sérogroupes testés O26, O103, O111, O145, O157, O45, O55, O80, O91, O113, O121, O128 et O146