

Physiopathologie et virulence des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines

Shiga-toxin producing by *Escherichia coli*: pathophysiology and virulence

P. Mariani-Kurkdjian · É. Bingen

Reçu le 9 janvier 2012 ; accepté le 28 mars 2012
© SRLF et Springer-Verlag France 2012

Résumé Les *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines ou *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables d'infections variées allant de la diarrhée aqueuse à la colite hémorragique et pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique chez l'enfant, principalement de moins de trois ans, ou une micro-angiopathie thrombotique chez l'adulte. La virulence de ces *E. coli* est associée à la présence de toxines appelées Shiga-toxines. Les bovins constituent un important réservoir pour ces bactéries et l'homme se contamine par ingestion d'aliments contaminés. Les EHEC sont considérés comme des pathogènes émergents en santé publique, à l'origine de nombreuses épidémies de par le monde. L'utilisation des antibiotiques est controversée pour le traitement de ces infections. La prévention de ces pathologies graves passe par des règles simples d'hygiène et de prévention alimentaire

Mots clés *E. coli* entérohémorragique · Shiga-toxine · Syndrome hémolytique et urémique · Micoangiopathie thrombotique

Abstract Shiga-toxin producing *Escherichia coli* are emerging food-borne pathogens which cause bloody and non-bloody diarrhoeas and can lead to hemolytic uremic syndrome in children mainly less than three years, or to microangiopathy thrombotic in adults. The virulence of these *E. coli* is associated with the presence of toxin called Shiga-toxins. Cattle are an important source for these bacteria, and most outbreaks are due to the ingestion of fecally contaminated bovine foods or dairy products. EHEC are considered as emerging pathogens in public health, causing numerous epidemics around the world. The use of antibiotics is controversial for the treatment of these infections. The best way to

prevent these severe diseases is to prevent primary infections with Shiga-toxin-producing *E. coli*.

Keywords *E. coli* · Shiga-toxin · Hemolytic uremic syndrome · Thrombotic microangiopathy

Introduction

E. coli est l'espèce prédominante de la flore aérobie-anaérobie facultative du tube digestif chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales. La combinaison des antigènes de surface, flagellaires et capsulaires déterminent en théorie environ 700 000 *E. coli* différents. La grande majorité des *E. coli* appartiennent à la flore commensale digestive et certains peuvent acquérir des facteurs de virulence particuliers et donner soit des pathologies extra-intestinales (méningites, infections urinaires) soit des pathologies intestinales. Parmi les *E. coli* intestinaux, six pathovars intestinaux ont été décrits en fonction principalement des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés : *E. coli* entéropathogènes (EPEC), *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), *E. coli* entéroagréga-tifs (EAgg ou EAEC), *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC) et *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) [1-2] (Fig. 1).

Le pathovar EHEC également appelé STEC (*E. coli* producteurs de Shiga-toxines) ou VTEC (*E. coli* producteurs de vérotoxines) est responsable de troubles variés allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant ou une micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte [3]. Les EHEC sont considérés comme des pathogènes émergents importants en santé publique. En effet, depuis 1982, les EHEC, dont le sérotype majeur est représenté par le sérotype O157:H7, sont à l'origine de nombreuses épidémies de colites hémorragiques sévères consécutives à la consommation d'aliments contaminés par des STEC [4,5].

P. Mariani-Kurkdjian (✉) · É. Bingen
Laboratoire associé au CNR *E. coli*-Shigella,
service de microbiologie, hôpital Robert Debré,
48 boulevard Sérurier, F-75019 Paris
e-mail : patricia.mariani@rdb.aphp.fr

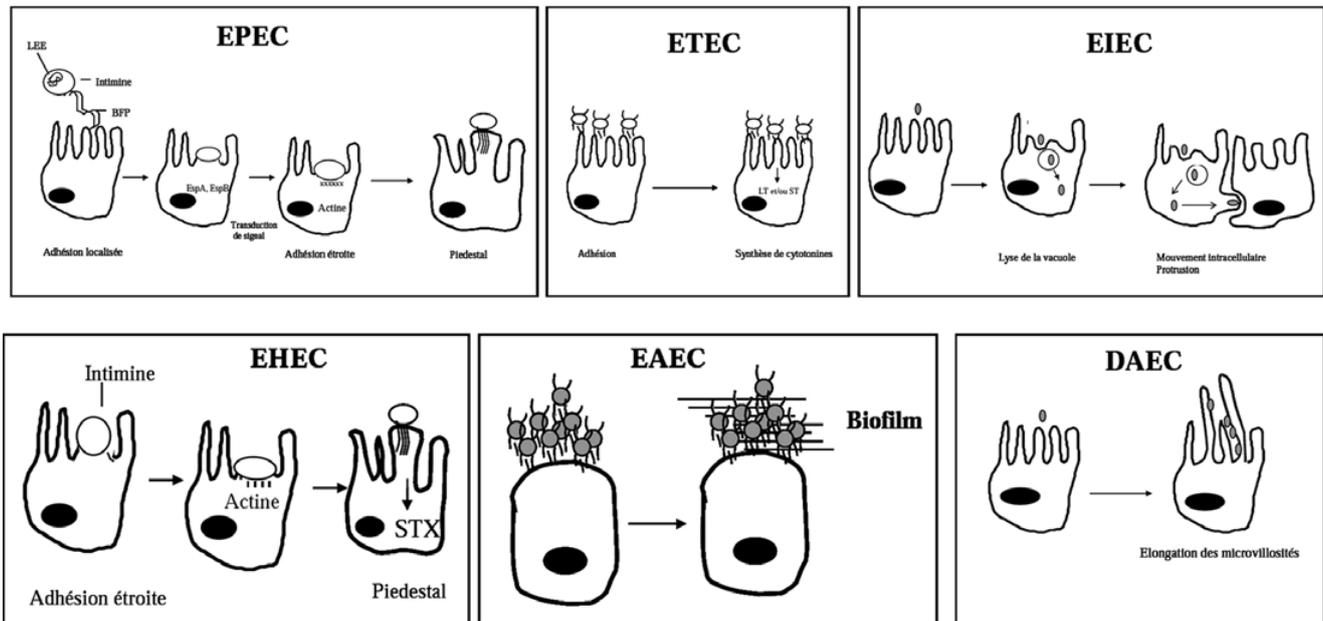


Fig. 1 Les différents pathovars d'*E. coli* intestinaux (d'après [1]). EPE : *E. coli* entéropathogène ; ETEC : *E. coli* entérotoxigène ; EIEC : *E. coli* entéroinvasif ; EHEC : *E. coli* enterohémorragique ; EAEC : *E. coli* entéroagréatif ; DAEC : *E. coli* à adhésion diffuse

Virulence des EHEC

La virulence des EHEC est associée à la présence de toxines appelées Shiga-toxines (Stx) et à la présence du gène *eae*, responsable des lésions d'attachement-effacement au niveau du côlon et du caecum [3].

La liste des facteurs de virulence et des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC n'est pas encore complètement connue. En effet, bien que la production de Stx et la colonisation de la muqueuse colique soient nécessaires, elles ne sont pas suffisantes pour induire la maladie chez l'homme. De nombreux autres facteurs de virulence potentiels ont été décrits [2,3,6].

Les Shiga-toxines

Les Stx ou Verotoxines sont les principaux facteurs de virulence des EHEC. Ce sont des exotoxines ayant un effet cytopathogène sur certaines lignées cellulaires (cellules Vero, HeLa, KB) et présentant une parenté avec la toxine de Shiga produite par *Shigella dysenteriae* type 1 [3,5,6]. La synthèse de ces toxines est codée par des bactériophages [7] contrairement à celle de la toxine de Shiga codée par le chromosome. Deux grands types de Stx, Stx1 et Stx2, et de nombreux variants Stx1 ou Stx2 ont été identifiés : trois variants pour Stx1 et au moins six variants pour Stx2. Le type de variant reflèterait à la fois l'origine des souches (moutons, porcs), leur phylogénie, mais aussi leur pouvoir pathogène. Certains variants semblent associés à des hôtes spécifiques et pourrait influencer directement la virulence des souches [6,8]. La

détermination des différents profils des variants de Stx est considérée comme un facteur prédictif de sévérité des infections à STEC avec évolution vers le SHU, en particulier Stx2d activable [9] et Stx2c [10].

Les facteurs d'adhésion

Lésions d'attachement-effacement

La colonisation du tube digestif par les EHEC est une étape majeure de la physiopathologie et s'accompagne du développement de lésions spécifiques des entérocytes dites d'attachement-effacement (A/E), qui se limitent au côlon et au caecum. Les lésions A/E, d'abord décrites chez le pathovar d'EPEC, se caractérisent par un effacement des microvillosités des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de contact entre la bactérie et la cellule cible [5,11]. Un piédestal, constitué d'actine cellulaire, sur lequel les bactéries peuvent s'enchaîner de façon très étroite, est alors constitué (Fig. 1).

Locus d'effacement des entérocytes (LEE)

Les gènes responsables des lésions A/E sont portés par le locus chromosomique LEE, codant un système de sécrétion particulier, le système de type III, et trois classes de protéines sécrétées par l'intermédiaire de celui-ci :

- le gène *eae* (*E. coli* attaching and effacing) code une protéine de membrane externe de 94 kDa appelée intimine [12]. Plusieurs variants d'intimine ont été identifiés. Ces différents variants seraient impliqués dans le tropisme

cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène des EHEC. Certains variants sont également retrouvés dans des souches EPEC [5,13] ;

- le gène *tir* code le co-récepteur spécifique de l'intimine, Tir (*Translocated intimin receptor*), une protéine de 78 kDa injectée dans le cytoplasme de la cellule eucaryote grâce à un système de sécrétion de type III. Tir s'insère ensuite dans la membrane cytoplasmique de l'entérocyte [5] ;
- les gènes *esp* (*EPEC-secreted protein*) codent pour une seringue moléculaire (*espA*, *espB*, *espD*) impliquée dans la translocation des effecteurs dans la cellule hôte (*Tir*, *map*, *espF*, *espG*, *espH*...) [5] ;
- le système de sécrétion de type III : les protéines Esp ne comportant pas de séquence signal, leur sécrétion a été attribuée au système de type III dont les gènes sont également portés par le LEE. Le mécanisme d'activation du système de sécrétion de type III reste mal connu, de même que les transductions de signaux responsables du réarrangement du cytosquelette des cellules hôtes [5].

Autres facteurs d'adhésion

Des souches LEE-négatives ont cependant été associées à des SHU. Ces souches EHEC atypiques possèdent donc d'autres facteurs d'adhésion permettant une colonisation de la muqueuse colique aussi efficace que l'A/E.

Plusieurs adhésines potentielles ont été décrites chez des souches EHEC atypiques telles que l'adhésine Saa (pour « *STEC autoagglutinating adhesin* ») des souches O113:H21 isolées en Australie en 1998 [14] ou les facteurs d'adhésion enteroaggrégants décrits chez *E. coli* O111:H2 en France en 1996 [15], et chez *E. coli* O104:H4, responsable de l'épidémie allemande et de l'épidémie française de 2011 [16,17].

Autres facteurs de virulence potentiels

D'autres facteurs de virulence potentiels, codés par des gènes présents sur le chromosome ou sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages ou îlots de pathogénicité) ont été décrits chez les souches EHEC [3,5,18]. Ils regroupent en particulier :

- des toxines, telles que l'entérohémolysine (*Ehx*), l'entérohémolysine thermostable EAST1, la *cytotoxine subtilase* (*SubAB*), les cyclomodulines CDT (*Cytolethal distending factor*) et Cif (*Cycle inhibiting factor*) ;
- des protéases, telles que la catalase peroxydase *KatP*, la métalloprotéase *StcE* ; la sérine protéase *EspP* qui est capable de cliver le facteur V de coagulation humaine contribuerait au développement des colites hémorragiques observées chez les patients ;
- des systèmes de captation du fer, notamment le sidérophore codé par l'îlot de pathogénicité HPI (*High pathoge-*

nicity island) retrouvés chez les *E. coli* responsables d'infections extra-intestinales ;

- des systèmes de résistance à l'acidité gastrique.

Le rôle respectif de ces facteurs de virulence potentiels dans la pathogénie des EHEC n'est pas encore démontré

Origine du sérotype O157:H7

L'ancêtre de EHEC O157:H7 est un EPEC de sérotype O55:H7 (β -glucuronidase positive et fermentant le sorbitol). La première étape aurait été l'acquisition du gène *stx₂* par transduction avec des phages, puis l'acquisition d'un plasmide codant des hémolysines et la région *rfb* (nécessaire à la synthèse de l'antigène O157) modifiant l'antigène O55 en O157 suivi du gène de *Stx1*. Ce clone aurait perdu la capacité à fermenter le sorbitol et à produire une activité β -glucuronidase fonctionnelle par une mutation sur le gène *uidA*. Ce clone aurait également acquis le plasmide de virulence pO157 et aurait donné naissance au clone O157:H7 « sorbitol - » de répartition mondiale [5].

Physiopathologie

L'essentiel des signes cliniques est lié à la production des toxines Stx. Cependant, le processus infectieux est multifactoriel, et dépend à la fois de facteurs bactériens et de facteurs de l'hôte [6]. Les étapes essentielles de ce processus sont illustrées dans la figure 2 (Fig. 2). Après ingestion, les STEC doivent résister à l'acidité de l'estomac. Une étape de colonisation du tube digestif est probablement nécessaire : la plupart des souches EHEC sont capables de produire des lésions d'attachement/effacement ; pour les autres, les mécanismes de colonisation sont encore mal connus. Les toxines produites par les bactéries doivent ensuite traverser l'épithélium intestinal, avant de rejoindre le système circulatoire et atteindre les récepteurs spécifiques localisés à la surface des cellules endothéliales, principalement au niveau intestinal, rénal et cérébral. Les toxines Stx entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques. Un rôle des bactéries et/ou des toxines sur l'activation du système immunitaire est également suspecté [19]. À chaque étape, les facteurs de virulence interviennent très probablement dans le risque de survenue du SHU et dans sa gravité.

Action des Shiga-toxines au niveau des cellules cibles

Les Stx sont des toxines de type A-B constituées d'une sous-unité A, responsable de l'activité toxique, et de cinq sous-unités B permettant la liaison de la sous-unité A à son récepteur spécifique glycolipidique, le globotriaosylceramide

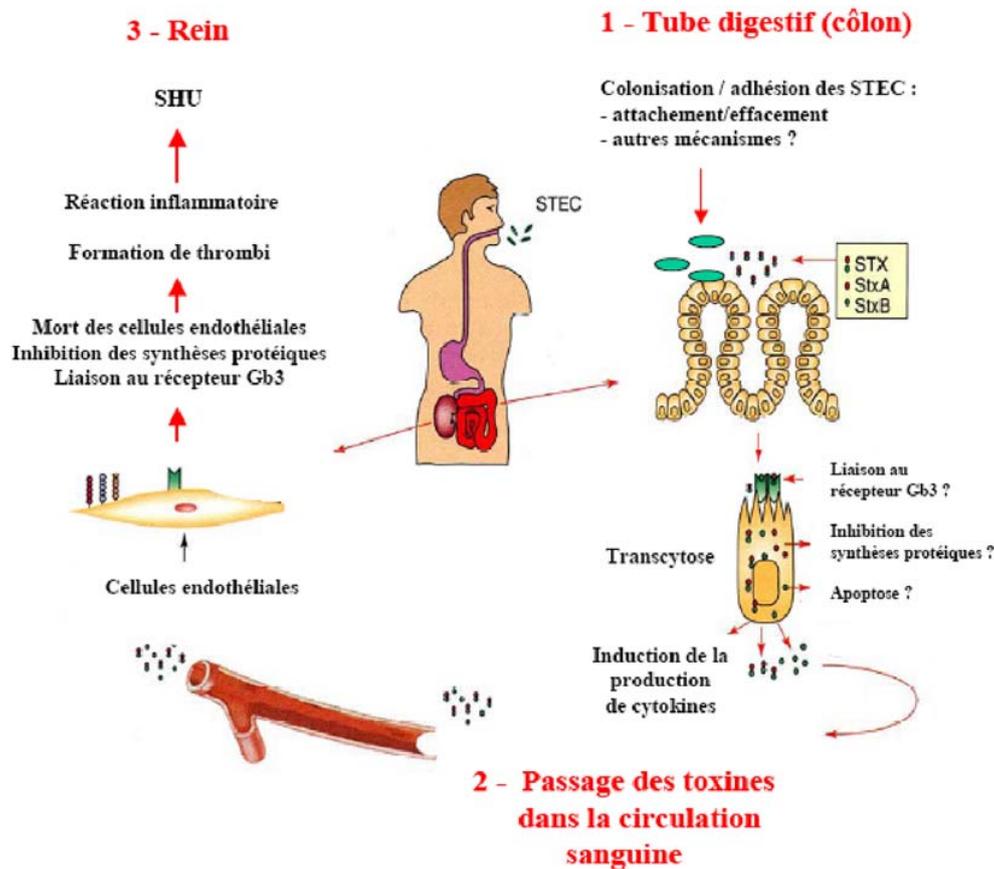


Fig. 2 Principales étapes du processus infectieux des *E. coli* entérohémorragiques (d'après [19]). STEC : *E. coli* producteur de Shiga-toxine ; SHU : syndrome hémolytique et urémique

(Gb3), composant des membranes des cellules endothéliales (rein, système nerveux central...) [3,5,6].

Dans une première étape, il y a fixation de la toxine à la membrane cytoplasmique de la cellule cible : les sous-unités B, assemblées en anneau, se lient à leur récepteur, le globotriosyl céramide Gb3 situé à la surface des cellules eucaryotes [20]. 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. La partie A1 ainsi activée est transloquée dans le cytoplasme, exerce son activité N-glycosidase sur l'ARN ribosomique 28S, bloque la sous-unité 60S du ribosome. Ceci conduit à un arrêt des synthèses protéiques et à la mort cellulaire. La toxine (et en particulier les sous-unités B) pourrait induire la production de cytokines par les cellules épithéliales intestinales [5,21,22] (Fig. 3).

Traversée de l'épithélium intestinal par les Shiga-toxines

Les mécanismes par lesquels les toxines Stx traversent la barrière de l'épithélium intestinal restent mal connus. Les

toxines Stx1 et Stx2 ne semblent pas franchir cette barrière de la même façon : Stx1 pourrait utiliser un mécanisme de translocation impliquant un récepteur cellulaire différent du Gb3, sans endommager les cellules [23], alors que la transmigration des neutrophiles à travers l'épithélium intestinal permettrait le passage des toxines Stx2 par voie paracellulaire [24].

Rôle des Shiga-toxines dans la physiopathologie du SHU

Après avoir traversé l'épithélium intestinal, les toxines seraient capables de diffuser par voie systémique, et d'être véhiculées jusqu'aux organes cibles par la circulation sanguine, soit via les globules rouges, soit par l'intermédiaire des polynucléaires. Elles seraient responsables des thromboses observées au cours des atteintes locales et systémiques par altération des cellules endothéliales [25]. En effet, les cellules endothéliales vasculaires humaines, au niveau colique, au niveau du parenchyme rénal, et au niveau du système nerveux central, sont particulièrement riches en récepteurs Gb3, expliquant les manifestations cliniques observées (diarrhée, insuffisance rénale, troubles neurologiques) [6].

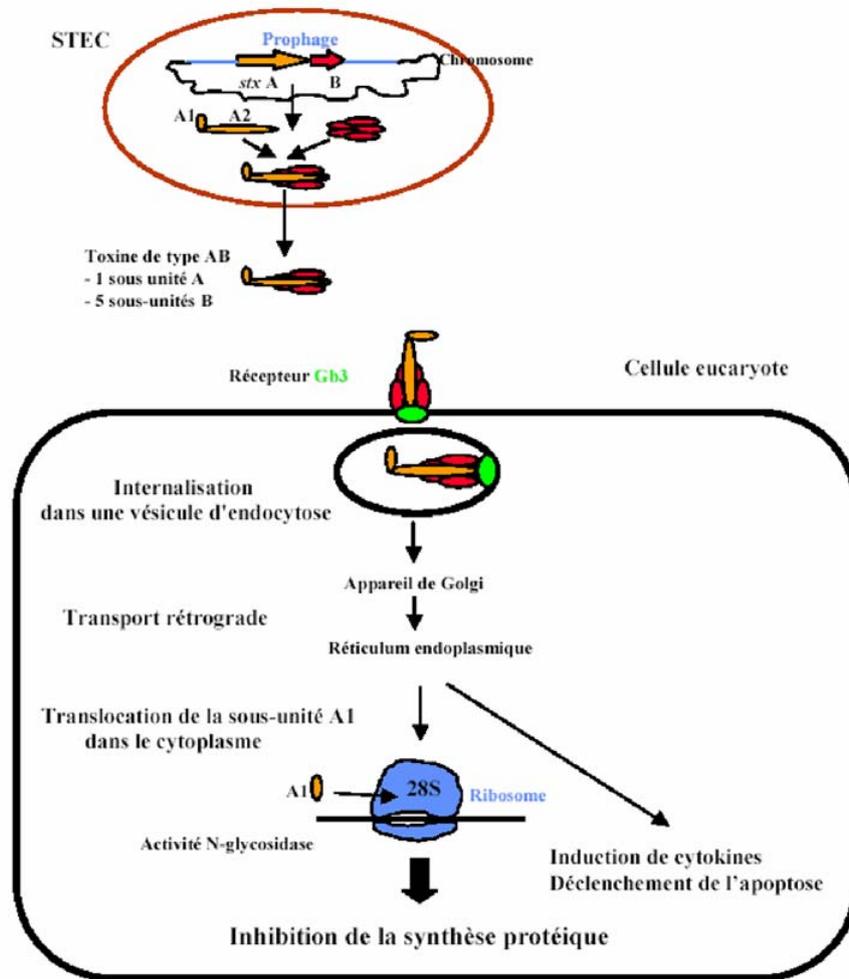


Fig. 3 Mécanismes d'action des Shiga-toxines (d'après [5]). STEC : *E. coli* producteur de Shiga-toxine

Un rôle synergique de Stx et des cytokines a été mis en évidence : Stx induirait la production de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et les monocytes. Les cytokines induiraient alors la production de Gb3 à la surface des cellules, les rendant plus sensibles à l'action de Stx. L'induction des cytokines permettrait le développement de lésions au niveau de la barrière intestinale, donc la dissémination systémique des toxines et favoriserait l'évolution vers un SHU. Ces phénomènes d'induction restent encore à élucider [23,24] (Fig. 4).

Aspects cliniques des infections à EHEC

La période d'incubation de deux à dix jours (moyenne de trois à quatre jours) est plus longue que celle observée pour les autres diarrhées infectieuses [25]. L'évolution clinique

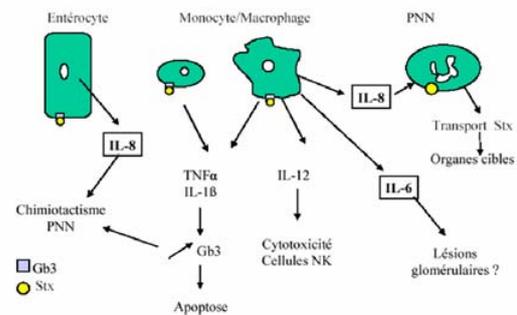


Fig. 4 Rôle synergique des Shiga-toxines et des cytokines (d'après [24]). IL : interleukine ; NK : natural-killer ; PNN : polynucléaire neutrophile ; TNFα : *Tumor necrosis factor-alpha*

des infections à EHEC est schématisée dans la figure suivante (Fig. 5).

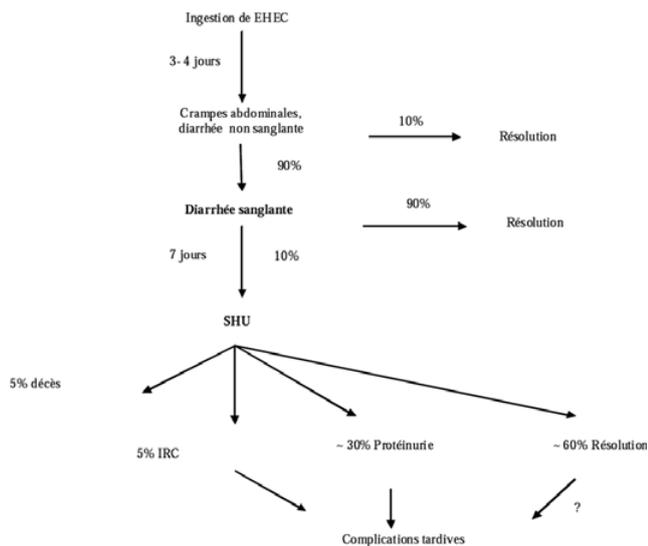


Fig. 5 Évolution clinique des infections à *E. coli* entérohémorragique (d'après [5]). EHEC : *E. coli* entérohémorragique ; IRC : insuffisance rénale chronique ; SHU : syndrome hémolytique et urémique

Colite hémorragique

Principale manifestation clinique de l'infection à EHEC, la colite hémorragique est caractérisée par des crampes abdominales, une diarrhée initialement aqueuse puis sanglante chez un patient généralement apyrétique ou subfébrile. La diarrhée sanglante est retrouvée dans 90 % des cas diagnostiqués. L'évolution est généralement spontanément favorable en quelques jours [25,26].

Les EHEC ne représentent pas les seuls micro-organismes potentiellement responsables de diarrhées sanglantes. Des bactéries telles que *Campylobacter* sp., *Shigella* sp., *Clostridium difficile*, certains virus et certains parasites (amibes) peuvent également être incriminés dans l'étiologie des diarrhées sanglantes.

Le syndrome hémolytique et urémique (SHU)

Le SHU est défini par l'association d'une anémie hémolytique microangiopathique avec présence d'hématies fragmentées (schizocytes), d'une thrombopénie et d'une insuffisance rénale aiguë. Il correspond à des lésions de microangiopathie thrombotique (MAT), touchant les reins et éventuellement d'autres viscères, caractérisées par un épaissement des parois des capillaires glomérulaires et/ou des artérioles, et la présence de micro-agrégats plaquettaires dans les capillaires et les artérioles [27-29]. Le SHU constitue la première cause d'insuffisance rénale de l'enfant de moins de trois ans.

Le SHU typique ou post-diarrhée (SHU D+) touche surtout l'enfant de moins de trois ans et survient brutalement

après une diarrhée prodromique sanglante dans la majorité des cas. L'apparition du SHU se fait en moyenne une semaine après le début des symptômes digestifs.

Au cours du SHU, d'autres organes que le rein peuvent être atteints [27,29] :

- une atteinte du système nerveux central est observée dans environ 20 % des cas et peut conditionner le pronostic vital. Les symptômes les plus fréquents sont des convulsions focales ou généralisées, une torpeur, voire un coma ;
- une colite hémorragique sévère est observée dans 10 à 20 % des cas, avec un méléna prolongé, des douleurs abdominales, des vomissements, un état subocclusif ou un prolapsus rectal. Plus rarement une invagination, une nécrose avec perforation de la paroi colique et sténose secondaire peuvent survenir. L'intestin grêle peut également être touché ;
- une pancréatite aiguë est observée dans environ 20 % des cas ;
- une atteinte hépatique, le plus souvent bénigne, est observée dans environ 40 % des cas ;
- une atteinte cardiaque (< 1 % des cas) avec myocardite, choc cardiogénique.

Des facteurs de sensibilité individuelle de l'hôte semblent jouer un rôle déterminant dans le déclenchement de la maladie.

La proportion de cas d'infection intestinale à EHEC qui évolue vers un SHU va de 3 à 9 % dans les cas sporadiques, à 20 % dans certaines épidémies. Cette incidence est supérieure chez l'enfant et les personnes âgées : 10 % chez les enfants de moins de dix ans et 10 à 20 % chez les sujets âgés [25]. Ces SHU typiques représentent 95 % de l'ensemble des SHU de l'enfant [27-31].

Les SHU dits atypiques (SHUa) représentent 5 à 10 % des SHU de l'enfant : ils ne sont pas liés à une infection à STEC, surviennent à tout âge, peuvent être familiaux, et ont un pronostic réservé, plus de 50 % des patients évoluant rapidement vers l'insuffisance rénale terminale. Soixante-dix pour cent des patients atteints de SHUa ont des mutations d'un des gènes qui codent pour des protéines du complément : le facteur H, le facteur I, la *membrane cofactor protein* (MCP), le facteur B ou le C3 [32].

Autres aspects cliniques

Récemment, des auteurs ont décrit le développement de SHU au décours d'infections urinaires dues à des souches de STEC [33], l'apparition de purpuras thrombotiques thrombocytopéniques isolés [34], de SHU sans diarrhée prodromique associé à des critères d'infection à STEC (présence d'anticorps anti-lipoplysaccharides) [35].

Portage asymptomatique

Dans l'entourage de patients atteints de SHU, la prévalence du portage chez les sujets contacts semble beaucoup plus importante comme le montre l'étude de Te Loo et al. et peut atteindre 20 % [36]. Cependant, la fréquence du portage humain est à ce jour difficile à apprécier. Des facteurs de susceptibilité de l'hôte ont été associés au déclenchement de la maladie (âge, système immunitaire, groupe sanguin...) [5].

Chez l'homme, *E. coli* O157 peut être retrouvé dans les selles plusieurs semaines après la résolution des symptômes. Les sujets ayant acquis une souche d'*E. coli* O157:H7 au contact d'un patient peuvent rester porteurs asymptomatiques pendant plusieurs jours ; ce portage apparaît plus long chez les jeunes enfants que chez les sujets plus âgés et que chez les adultes [25,37]. Une étude réalisée à Clermont-Ferrand (France) sur 403 enfants hospitalisés ne présentant pas de diarrhée, a permis de mettre en évidence une prévalence de 2,7 % de STEC par une *polymerase chain reaction* (PCR) directe sur les selles [38].

En dehors du facteur âge, le portage est variable en fonction de l'environnement. Plusieurs études ont montré une prévalence de portage chez les personnes vivant au contact d'animaux (3,5 % à 6,5 %) [39].

Surveillance du SHU

La surveillance des cas de SHU D+ chez l'enfant a été mise en place en France en 1996 par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), en collaboration avec la Société de Néphrologie Pédiatrique, à la suite d'une étude qui avait montré qu'en 1995-1996, 86 % des SHU D+ de l'enfant en France étaient survenus à la suite d'une infection à STEC [35].

Les partenaires du réseau de surveillance sont les 25 services ou unités de néphrologie pédiatrique répartis dans les ventres hospitalo-universitaires sur tout le territoire métropolitain, le centre national de référence (CNR) *E. coli*-Shigella (Institut Pasteur, Paris) et le laboratoire associé au CNR *E. coli*-Shigella (le service de microbiologie de l'hôpital Robert Debré, à Paris). Chaque année, 75 à 105 cas de SHU D+ surviennent en France chez des enfants de moins de 15 ans [31]. Le SHU D+ fait ainsi partie des maladies rares, avec une incidence annuelle moyenne de 0,71 cas/10⁵ enfants de moins de 15 ans, similaire à celle d'autres pays d'Europe de l'Ouest [40, 41]. L'infection à STEC est démontrée dans 75 à 85 % des cas [31]. Le sérotype O157:H7 est prédominant, mais la proportion de STEC non-O157 augmente, constituant ces dernières années 20 à 50 % des cas d'infection à STEC aux États-Unis [42], en France [31] et dans d'autres pays d'Europe [28,40,41]. Dans environ 50 % des cas, une ou plusieurs personnes de la famille ou de l'entourage (crèche, école) ont une diarrhée à STEC, sans SHU [31]. La mortalité à

la phase aiguë est de 1 à 2 %, principalement liée à l'atteinte du SNC [27,29,31,43]. Avec un recul moyen de quatre ans, le taux de décès ou d'insuffisance rénale terminale est de 10 à 15 %, le taux de séquelles (insuffisance rénale chronique, hypertension artérielle ou protéinurie) de 20 à 30 % [43].

Mode de transmission

Réservoir animal

Le réservoir des STEC est représenté par les bovins. La colonisation du tube digestif des bovins est asymptomatique et transitoire. L'excrétion est influencée par le stress, l'alimentation, les pratiques d'élevage et les saisons. D'autres animaux d'élevage ou des animaux sauvages dont certains gibiers peuvent également être porteurs sains de STEC. Les études réalisées chez les bovins montrent qu'en fonction des élevages, de 20 à 80 % des animaux peuvent être porteurs de STEC mais le sérotype majeur *E. coli* O157:H7 n'est isolé que chez peu d'animaux (0 à 3 %). La persistance de souches de STEC dans les cheptels est due au portage digestif par les animaux et à la contamination par contact d'animal à animal, mais aussi à la contamination des sols (prairies, champs) et des eaux superficielles à partir des déjections animales ou d'engrais de ferme contaminés (fumiers, lisiers) épandus pour fertiliser les terres agricoles. Les aliments (herbe, fourrages) et l'eau d'abreuvement des animaux peuvent ainsi être contaminés. Les STEC peuvent survivre pendant plusieurs semaines dans l'environnement de la ferme (tels que les sédiments d'abreuvoir, les fèces ou le fumier sur le sol). Différents végétaux consommés par l'homme peuvent être contaminés par des STEC, soit par les fumures obtenues à partir d'animaux contaminés, soit quand de l'eau contaminée est utilisée pour l'irrigation [5].

Transmission à l'homme

Selon les résultats rapportés dans les enquêtes épidémiologiques, la quantité de cellules ingérées entraînant la maladie semble être plutôt faible (quelques cellules à plusieurs centaines de cellules) [5]. Le principal mode de transmission est la consommation d'aliments contaminés : denrées alimentaires directement liées au réservoir animal de STEC, ou produits en contact direct ou indirect avec des fèces animales et consommés crus ou peu cuits [5,44] (Fig. 6).

Ainsi, l'homme se contamine en consommant de la viande (essentiellement steaks hachés insuffisamment cuits), du lait ou des produits laitiers non pasteurisés, de l'eau (eau de puits, baignade dans un lac, une mare, une piscine d'eau non chlorée), des fruits ou des légumes contaminés, du cidre ou du jus de pomme non pasteurisés. La contamination se

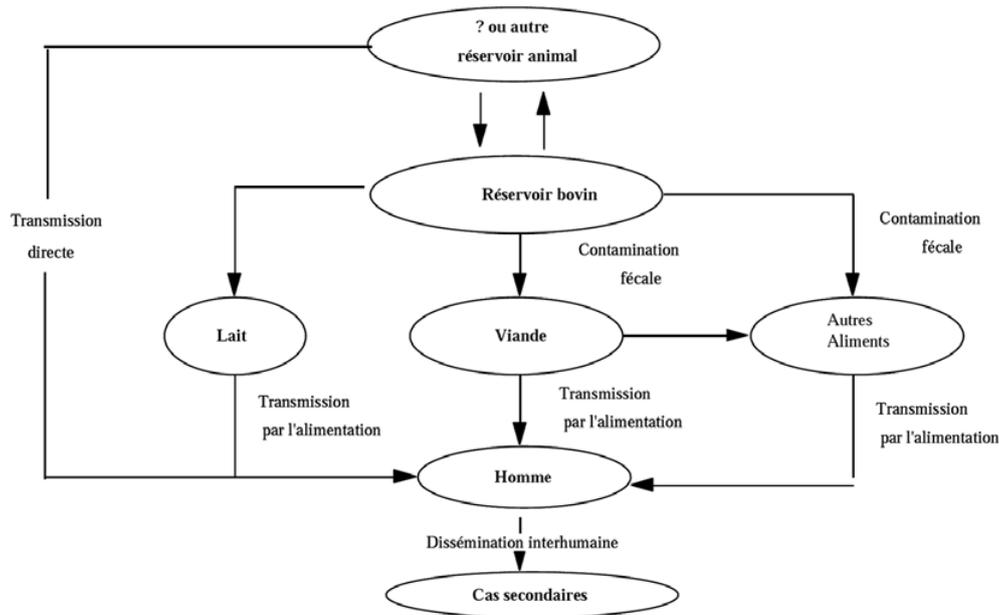


Fig. 6 Réservoirs et modes de transmission des *E. coli* producteurs de Shiga-toxine (d'après [44])

fait aussi par contact avec des animaux où leur environnement, et par transmission de personne à personne (famille, crèche....) [5,26,29].

Épidémiologie

Les États-Unis, le Canada et le Royaume-Uni sont les pays où la fréquence d'isolement du sérotype O157:H7 est la plus importante. Ce sérotype a également été décrit dans différents pays européens (France, Belgique, Italie, République tchèque, Espagne) mais également en Australie, Argentine, Afrique du Sud, Thaïlande, Israël, Chine et Japon [5].

D'une manière générale, les EHEC constituent la cause majeure des diarrhées hémorragiques et des SHU dans les pays à climat tempéré. Le continent Nord-Américain est le plus touché : entre 1982 et 2002, 350 épidémies ont été recensées avec 8600 cas, 4 % de SHU et 0,5 % de décès. Le Royaume-Uni reste le pays où l'incidence est la plus importante, évaluée à plus de 2/100 000, alors qu'en France elle n'atteint que 0,8/100 000. Le sérotype O157:H7 représente 63 à 97 % des EHEC à l'origine de SHU. Les autres sérotypes fréquemment impliqués dans les épidémies appartiennent aux sérotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 [5,45,46].

Par ailleurs, il existe une variation saisonnière marquée de l'infection. Depuis la mise en place de la surveillance des SHU en 1996 en France, une recrudescence pendant la période estivale (juin-septembre) est observée. Cette augmentation estivale est également observée dans d'autres pays européens. Ceci est lié au fait que le taux d'excrétion

fécale des STEC chez les animaux porteurs est plus important en été qu'en hiver [5].

De nombreuses épidémies, s'ajoutant aux nombreuses apparues depuis les années 1980, ont été rapportées [5]. En France, la première épidémie due au sérotype O157:H7 liée à la consommation de steak haché a eu lieu en 2005. Une épidémie due au sérotype O26 liée à la consommation de camembert au lait cru a eu lieu la même année [5].

En mai-juin 2011, une épidémie atypique a eu lieu en Allemagne avec 4320 infections, 850 cas de SHU et 82 décès. Les sujets atteints étaient majoritairement des adultes (90 %) dont 2/3 de femmes. L'incubation moyenne était de huit jours versus trois à quatre jours dans les autres épidémies à EHEC. La virulence était inhabituelle avec un quart des formes ayant évolué vers des formes graves (1/10 habituellement) [47]. En France, en juin 2011 une épidémie touchant 24 patients (22 adultes et deux enfants) a eu lieu à Bègles avec les mêmes caractéristiques épidémiologiques : adultes, incubation longue. L'étude épidémiologique a montré que ces deux souches étaient associées à la consommation, après leur germination, de graines de fenugrec contaminées [48]. Les souches responsables de ces deux épidémies appartenaient au sérotype *E. coli* O104:H4 et étaient génétiquement reliées (Fig. 7a). Cette souche est un pathogène hybride possédant à la fois des facteurs de virulence d'EHEC (gène *stx2*), des facteurs d'adhésion des EAEC (aggr+) et des facteurs de pathogénicité des ExPEC (HPI, aérobactine). La souche avait en plus acquis un plasmide CTXM-15 conférant à la souche une résistance par bêtalactamase à spectre étendu. [16,17]. L'origine de la souche a été associée à une souche humaine EAEC O104:H4 isolée en 1989 en

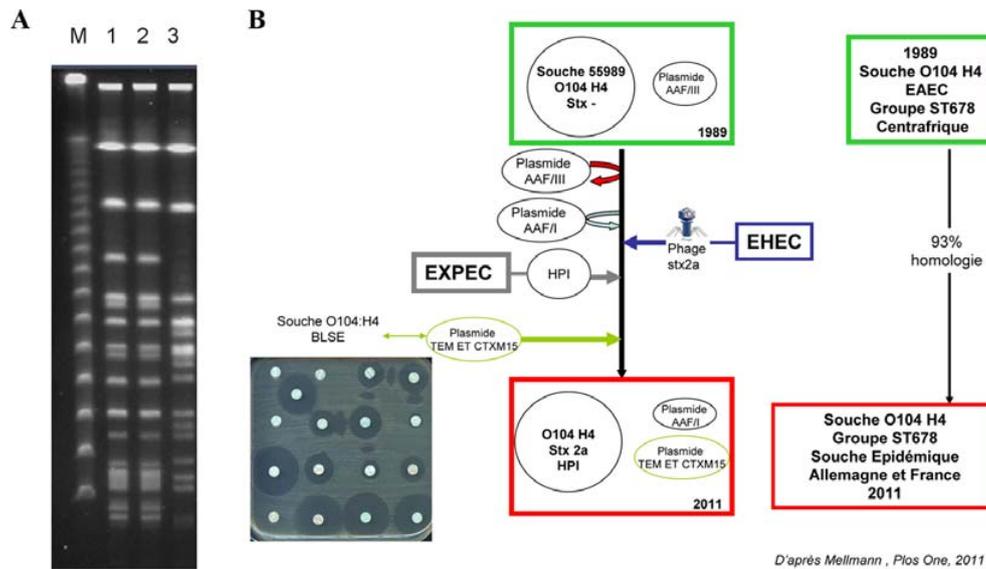


Fig. 7 A : Pulsotype après digestion enzymatique par NotI d'une souche représentative de l'épidémie allemande (piste 1) et d'une souche représentative de l'épidémie française (piste 2). Piste 3 : souche non reliée. M : marqueur de poids moléculaire. B : Origine de la souche O104:H4 épidémique (d'après Mellmann et al. [49]). EHEC : *E. coli* entérohémorragique ; EXPEC : *extraintestinal pathogenic E. coli* ; BLSE : bêta-lactamase à spectre élargi

Centrafrique chez un patient VIH et qui, au cours de son évolution, a perdu des facteurs de virulence (plasmide AAF/III) et en a acquis d'autres (plasmide AAF/I, plasmide TEM-CTXM15, HPI, phage stx2a) (Fig. 7b) [49].

Diagnostic microbiologique

Le diagnostic des infections à STEC est difficile, ces bactéries étant rapidement éliminées du tube digestif. De plus, et en particulier au moment du SHU, la diarrhée peut être absente et il est alors indispensable de pratiquer un écouvillonnage rectal pour la recherche des EHEC. Le recueil des selles doit s'effectuer au maximum quatre à six jours après le début des prodromes digestifs. Le diagnostic repose d'une part sur la mise en évidence, directement dans les selles et/ou sur la culture, des gènes de virulence principaux (*stx* et *eae*) des EHEC et d'autre part sur la présence d'anticorps spécifiques anti-lipoplysaccharide (LPS) [5,50] (Fig. 8)

Isolement, détection et typage des souches

Les EHEC sont présents en quantité parfois très faible dans les selles, il est donc indispensable de réaliser un enrichissement de ces dernières. Après cette phase d'enrichissement, la selle est mise en culture sur des milieux spécifiques. Les méthodes phénotypiques de détection d'*E. coli* O157:H7 sont aisées à mettre en œuvre, la majeure partie des souches de ce sérotype ne fermentent pas le sorbitol et ne produisent pas de

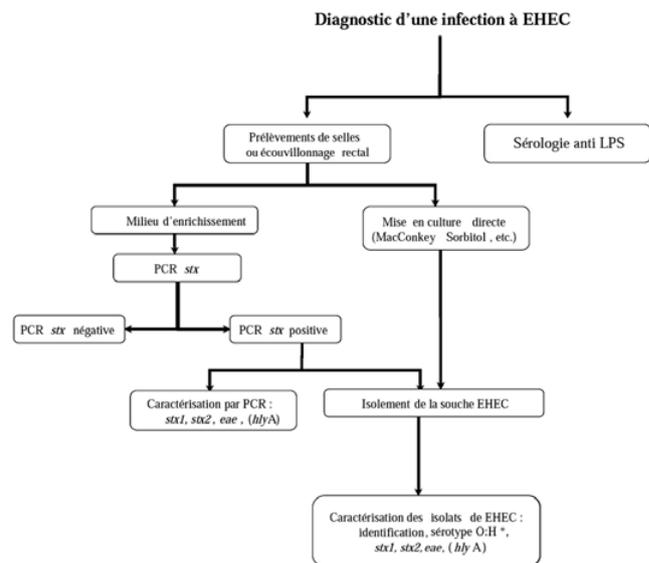


Fig. 8 Diagnostic d'une infection à EHEC [49]. EHEC : *E. coli* entérohémorragique ; LPS : lipopolysaccharide ; PCR : *polymerase chain reaction*

β -glucuronidase, ce qui permet l'utilisation de milieu dédié comme le milieu de Mac Conkey Sorbitol (SMAC). Il existe cependant des souches fermentant le sorbitol. Les STEC non-O157 n'ont pas de propriété biochimique commune permettant leur isolement sélectif sur un milieu particulier. Leur recherche nécessite d'avoir recours à des méthodes moléculaires pour rechercher les facteurs de virulence.

Méthodes génétiques de détection des STEC

Compte tenu de la présence en faible quantité des EHEC dans les selles, l'amplification génique *in situ* par PCR des gènes codant pour Stx1 et Stx2 dans les selles représente la méthode la plus sensible (10^2 UFC) et doit être utilisée en priorité lors d'une recherche d'EHEC dans les selles. Ainsi, de nombreux systèmes PCR ont été décrits et les gènes de virulence *stx* (*stx*₁, *stx*₂ et variants) et *eae* peuvent être recherchés séparément [5,50]. Dans le cas d'une réponse positive de la PCR sur selles, l'isolement de la bactérie responsable est indispensable pour caractériser la souche pathogène. Cependant, l'isolement de la souche est parfois très difficile.

Sérodiagnostic

Dans la majorité des cas, les malades développent des anticorps anti-lipoplysaccharides dont la détection est facilement réalisable [5,6]. Le diagnostic sérologique est réalisé sur un sérum précoce et le cas échéant, un sérum tardif, afin d'observer une augmentation du titre des anticorps attestant de l'infection. L'importance de la réponse immunitaire est directement liée à la sévérité de la maladie.

La détection des anticorps anti-lipoplysaccharide de huit sérogroupes est réalisée avec différentes techniques : ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), immunoblotting, hémagglutination. Les trois classes d'anticorps (IgG, IgM et IgA) sont détectables précocement, à un titre souvent très élevé pour les IgM et les IgA, et permettent d'attester de l'infection même plusieurs semaines après le début des prodromes digestifs. La recherche de ces anticorps est indispensable pour le diagnostic et pour des études épidémiologiques lorsque la mise en évidence directe des gènes codant pour les Stx et/ou des EHEC dans les selles est impossible [5,50]. La plus grande prévalence des infections à *E. coli* O157:H7 paraît être surestimée en raison de la difficulté à mettre en évidence les autres sérotypes.

Traitement des infections à STEC

Traitement préventif

Les mesures de prévention des infections à STEC, bien expliquées dans la fiche d'information éditée en 2006 par l'InVS (<http://www.invs.sante.fr>), restent malheureusement mal connues des jeunes parents, et même des professionnels s'occupant de jeunes enfants. Des précautions aussi simples que la cuisson à cœur des steaks hachés, la règle de ne jamais donner des produits laitiers (ou autres) non pasteurisés aux jeunes enfants et le lavage des mains doivent être rappelées

aux parents et à ceux qui s'occupent des jeunes enfants. Actuellement, le traitement reste purement symptomatique.

Faut-il ou non administrer des antibiotiques au stade de l'infection gastro-intestinale à STEC ?

Plusieurs études rétrospectives et prospectives suggèrent que les antibiotiques augmentent le risque de SHU, probablement par relargage des Stx lors de la lyse bactérienne [51]. Une méta-analyse des vingt études qui ont comparé le risque de SHU selon que les patients avaient ou non reçu des antibiotiques au stade de la diarrhée, concernant près de 2500 patients, n'a pas permis de conclure [52]. À ce jour, il est donc plutôt recommandé de ne pas donner d'antibiotiques aux patients ayant une diarrhée à EHEC.

Toutefois, des études *in vitro* montrent que les rifamycines [53] n'induisent pas de lyse des EHEC et de relargage des Stx. De plus, Rakita et al. ont montré que de fortes concentrations intracellulaires d'azythromicine réduisaient significativement la viabilité intracellulaire des *Salmonella*, *Shigella* [54]. Les macrolides se fixent à la sous-unité 50S du ribosome bactérien et inhibent la synthèse protéique en bloquant la transpeptidation. Ce mécanisme d'action inhibe le relargage des Stx et diminue la mortalité dans un modèle expérimental murin d'infection à *E. coli* O157:H7 [55]. En France, l'azythromycine est le traitement recommandé dans les gastroentérites à *S. sonnei* de l'enfant [56,57]. L'efficacité de ce type d'antibiotiques chez l'homme ayant une infection intestinale à STEC, pour prévenir le SHU, reste à évaluer.

Traitements de demain

- Traitements neutralisant les Stx : le Synsorb Pk, silice porteuse de récepteurs saccharidiques fixant les Stx, donné par voie orale, étudié dans un essai en double aveugle randomisé, n'a pas montré d'effet bénéfique [58]. D'autres capteurs de Stx avec une affinité plus forte pour les Stx (10 000 à 100 000 fois supérieure à celle du Synsorb Pk) sont à l'étude chez l'animal : polymères du récepteur Gb3 administrés par voie orale, analogues solubles du récepteur Gb3 administrés par voie intraveineuse ou encore des probiotiques donnés par voie orale qui produisent un analogue du récepteur Gb3. Ces substances protègent la souris de doses létales d'EHEC [29,30]. Les études chez l'homme sont en cours d'évaluation.
- Anticorps monoclonaux humanisés anti-Stx : les anticorps monoclonaux anti-Stx préviennent la toxicité des Stx sur les cellules Hela, prolongent la survie des souris infectées par des EHEC, et sont efficaces dans le modèle de SHU chez le cochonnet : la survie est de 90 % chez les animaux traités, contre 10 % chez les animaux contrôles [30].
- Anticorps monoclonaux inhibant l'activation du complément : l'utilisation d'un anticorps monoclonal inhibant

l'activation du complément a récemment (Eculizimab) montré son efficacité dans le traitement du SHU post-diarrhée sévère de l'enfant [59]. Des études complémentaires sont en cours chez l'homme.

Conclusion

Décrits pour la première fois dans les années 1980, et qualifiés ainsi de pathogènes émergents, les EHEC sont responsables de toxi-infections alimentaires pouvant être à l'origine de pathologies graves. De par leur potentiel épidémique, ils représentent une préoccupation en santé publique, en particulier chez l'enfant de moins de trois ans. De nouvelles thérapeutiques apparaissent très prometteuses mais seules les études cliniques permettront de confirmer leur intérêt. La prévention de ces pathologies graves passe par des règles de prévention simples qui doivent être connues de tous.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- Nataro JP, Kaper JB (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 11:142–201
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol 2:123–40
- Gyles GL (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. J Anim Sci 85:E45–E62
- Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C (1983) Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet 1:619–20
- Afssa (2003) Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC)
- Paton JC, Paton AW (1998) Pathogenesis and diagnosis of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin Microbiol Rev 11:450–79
- Strockbine NA, Marques LR, Newland JW et al (1986) Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. Infect Immun 53: 135–40
- Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, et al (2002) *Escherichia coli* harboring Shiga-toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. J Infect Dis 185:74–84
- Bielaszewska M, Friedrich AW, Aldick T, et al (2006) Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome. Clin Infect Dis 43:1160–7
- Orth D, Grif K, Khan AB, et al (2007) The Shiga toxin genotype rather than the amount of Shiga toxin or the cytotoxicity of Shiga toxin in vitro correlates with the appearance of the hemolytic uremic syndrome. Diagn Microbiol Infect Dis 59:235–42
- Donnenberg MS, Kaper JB (1992) Enteropathogenic *Escherichia coli*. Infect Immun 60:3953–61
- Jerse AE, Gicquelais KG, Kaper JB (1991) Plasmid and chromosomal elements involved in the pathogenesis of attaching and effacing *Escherichia coli*. Infect Immun 59: 3869–75
- Oswald E, Schmidt H, Morabito S, et al (2000) Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. Infect Immun 68:64–71
- Paton AW, Srimanote P, Woodrow MC, Paton JC (2001) Characterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. Infect Immun 69:6999–7009
- Morabito S, Karch H, Mariani-Kurkdjian P, et al (1998) Enteroreggregative, Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. J Clin Microbiol 36:840–2
- Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, et al (2011) Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. Lancet Infect Dis 11:671–6
- Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, Gault G, et al (2011) *Escherichia coli* O104:H4 south-west France, June 2011. Lancet Infect Dis 11:732–3
- Croxen MA, Finlay BB (2010) Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. Nat Rev Microbiol 8:26–38
- Heyderman RS, Soriani M, Hirst TR (2001) Is immune cell activation the missing link in the pathogenesis of post-diarrhoeal HUS? Trends Microbiol 9:262–6
- Lingwood CA, Law H, Richardson S, et al (1987) Glycolipid binding of purified and recombinant *Escherichia coli* produced verotoxin in vitro. J Biol Chem 262:8834–9
- Acheson DW, Moore R, De Breucker S, et al (1996) Translocation of Shiga toxin across polarized intestinal cells in tissue culture. Infect Immun 64:3294–300
- Hurley BP, Thorpe CM, Acheson DW (2001) Shiga toxin translocation across intestinal epithelial cells is enhanced by neutrophil transmigration. Infect Immun 69:6148–55
- Yamasaki C, Natori Y, Zeng XT, et al (1999) Induction of cytokines in a human colon epithelial cell line by Shiga toxin 1 (Stx1) and Stx2 but not by non-toxic mutant Stx1 which lacks N-glycosidase activity. FEBS Lett 442:231–4
- Tatewaki M, Nakao K, Nogami H, Abe J (2000) A subunit of Shiga toxin type 2 induces interleukine-12 expression from peripheral blood mononuclear cells via activated nuclear transcription factor kB. In: 4th International Symposium and Workshop on "Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections". Abstract 316, Kyoto, Japan
- Griffin PM, Tauxe RV (1991) The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev 13:60–98
- Tarr PI (1995) *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. Clin Infect Dis 20:1–8
- Loirat C, Taylor CM (2004) Hemolytic uremic syndromes. In: Pediatric Nephrology, Avner ED, Harmon WE, Niaudet P Eds, Lippincott Williams and Wilkins, 5th edition, pp 887–915
- Noris M, Remuzzi G (2005) Hemolytic uremic syndrome. J Am Soc Nephrol 16:1035–50
- Siegler R, Oakes R (2005) Hemolytic uremic syndrome; pathogenesis, treatment, and outcome. Curr Opin Pediatr 17:200–4
- Thorpe CM (2004) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. Clin Infect Dis 38:1298–303
- King LA, Espié E, Haeghebaert S, et al (2009) Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de 15 ans et moins en France, 1996-2007. BEH 14:7 avril 2009

32. Sellier-Leclerc AL, Fremaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, et al (2007) Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical haemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 18:2392–400
33. Miedouge M, Hacini J, Watine J (2000) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* urinary tract infection associated with hemolytic-uremic syndrome in an adult and possible adverse effect of ofloxacin therapy. *Clin Infect Dis* 30:395–6
34. Ludwig K, Petric M, Blanchette V, Karmali M (1998) Isolated thrombocytopenic purpura associated with infection due to verocytotoxin (Shiga toxin)-producing *Escherichia coli* serotype O26:H11. *Clin Infect Dis* 27:660–1
35. Decludt B, Bouvet P, Mariani-Kurkdjian P, et al (2000) Haemolytic uraemic syndrome and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in children in France. *Epidemiol Infect* 124:215–20
36. Te Loo DM, Heuvelink AE, De Boer E, et al (2001) Vero cytotoxin binding to polymorphonuclear leukocytes among households with children with hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis* 184:446–50
37. Belongia EA, Osterholm MT, Soler JT, et al (1993) Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Minnesota child day-care facilities. *JAMA* 269:883–8
38. Pradel N, De Champs C, Palcoux JB, et al (2000) Verotoxin-producing *Escherichia coli* infections: study of its prevalence in children in the Auvergne region. *Arch Pediatr* 7 Suppl 3:544s–550s
39. Stefan R, Raggetli S, Untermann F (2000) Prevalence and characteristics of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in stools samples from asymptomatic human carriers working in the meat processing industry in Switzerland. *J Appl Microbiol* 88:335–41
40. Gerber A, Karch H, Allerberger F, et al (2002) Clinical course and the role of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* infection in the haemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997–2000, in Germany and Austria: a prospective study. *J Infect Dis* 186:493–500
41. Lynn RM, O'Brien SJ, Taylor CM, et al (2005) Childhood Hemolytic Uremic Syndrome, United Kingdom and Ireland. *Emerg Infect Dis* 11:590–6
42. Johnson KE, Thorpe CM, Sears CL (2006) The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis* 43:1587–95
43. Garg AX, Suri RS, Barrowman N, et al (2003) Long-term renal prognosis of diarrhea-associated haemolytic uremic syndrome: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *JAMA* 290:1360–70
44. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG (1996) Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol Rev* 18:29–51
45. Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, et al (2003) Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *J Clin Microbiol* 41:4930–40
46. EFSA (2007) Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from Efsa on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. *The EFSA Journal* 579:1–61.
47. Frank C, Werber D, Cramer JP, et al (2011) Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med* 365:1771–80
48. Gault G, Weill FX, Mariani-Kurkdjian P, et al (2011) Outbreak of haemolytic uraemic syndrome and bloody diarrhoea due to *Escherichia coli* O104:H4, south-west France. *Euro Surveill* 16(26)
49. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, et al (2011) Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One* 6:e22751
50. Espié E, Mariani-Kurkdjian P, Filliol I, et al (2008) Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines en France : aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. *RFL* 400:59–65
51. Scheiring J, Andreoli SP, Zimmerhackl LB (2008) Treatment and outcome of Shiga-toxin-associated haemolytic uremic syndrome (HUS) *Pediatr Nephrol* 23:1749–60
52. Panos GZ, Betsi GI, Falagas ME (2006) Systematic review: are antibiotics detrimental or beneficial for the treatment of patients with *Escherichia coli* O157:H7 infection? *Aliment Pharmacol Ther* 24:731–42
53. Ochoa TJ, Chen J, Walker CM, et al (2007) Rifaximin does not induce toxin production or phagemediated lysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 51:2837–41
54. Rakita RM, Jacques-Palaz K, Murray BE (1994) Intracellular activity of azithromycin against bacterial enteric pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 38:1915–21
55. Hiramatsu K, Murakami J, Kishi K (2003) Treatment with rokitamycin suppresses the lethality in a murine model of *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Int J Antimicrob Agents* 21:471–7
56. Houdouin V, Doit C, Mariani P, et al (2004) A pediatric cluster of *Shigella dysenteriae* serotype 1 diarrhea with haemolytic uremic syndrome in 2 families from France. *Clin Infect Dis* 38:96–9
57. Afssaps (2004) Traitement antibiotique des gastro-entérites à *Shigella sonnei*. *Presse Med* 33:1538–45
58. Trachtman H, Cnaan A, Christen E, et al (2003) Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated haemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial. *JAMA* 290:1337–44
59. Lapeyraque AL, Malina M, Fremaux-Bacchi V, et al (2011) Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *N Engl J Med* 364:2561–3