

**Titre : Emergence d'infections à *Escherichia coli* de pathotype hybride, producteurs d'une Shiga toxine et associés à une virulence extra-intestinale : caractérisation moléculaire et optimisation de leur prévention et de leur prise en charge**

**Résumé:** L'épidémiologie des *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) responsables de Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU), s'est considérablement modifiée ces dernières années. Un clone atypique de sérotype O80:H2 (Sequence-type ST301) responsable de SHU et d'infections invasives a récemment émergé en Europe. Ce clone possède à la fois des facteurs de virulence (FVs) typiques des EHEC (intimine - *eae-ξ*, Shiga toxine - *stx*, entérohémolysine - *ehxA*), des FVs caractéristiques des *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) et une multirésistance aux antibiotiques (ATB).

L'objectif de ce travail est de caractériser sur le plan moléculaire et phénotypique cet hétéropathotype afin de comprendre son émergence et de contribuer à l'amélioration du diagnostic, du traitement et de la prévention des infections liées à ce pathogène.

Le clone EHEC O80:H2 a acquis un plasmide mosaïque (pR444\_A) hautement similaire au plasmide pS88, un déterminant majeur de la virulence des ExPEC, porteur de multiples FVs extra-intestinaux et au sein duquel une cassette de résistance aux ATB s'est insérée. Ce profil d'hétéropathotype ExPEC/EHEC n'est pas restreint à ce seul sérotype puisque au moins 3 autres sérotypes (O55:H9, O45:H2 et O186:H2) porteurs d'un plasmide similaire ont été identifiés au sein du ST301. Une particularité métabolique associée à une cicatrice génétique hautement spécifique du ST301, a été exploitée pour développer une PCR en temps réel (Se=100%, Sp=98,4%) et un milieu de culture (Se=85%, Sp=85%) sélectifs de ces clones. En cas d'infections invasives imposant une antibiothérapie, la production comparée de Stx en présence de différents ATB conduit à recommander l'association d'une bêta-lactamine à un inhibiteur de la synthèse protéique.

Au travers d'une caractérisation étendue incluant des analyses phénotypiques, génotypiques, phylogénétiques, moléculaires et métaboliques, ce travail participe à l'amélioration de la connaissance des hétéropathotypes ExPEC/EHEC de ST301 et de la prise en charge des infections liées à ces clones. L'importante capacité de ces clones à acquérir du matériel génétique étranger souligne leur extrême plasticité génomique dont les facteurs génétiques sous-jacents restent à découvrir. L'application de ces deux nouvelles méthodes diagnostiques dans l'industrie agro-alimentaire pourrait participer à l'identification du réservoir du clone O80:H2 inconnu jusqu'alors et ainsi contribuer à la prévention de ces infections.

**Mots clefs :** *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC), Shiga toxine, pS88, virulence extra-intestinale, hétéropathotype, ST301, antibiorésistance

**Title: Emergence of infections with hybrid pathotype *Escherichia coli* producing a Shiga toxin and associated with extra-intestinal virulence: molecular characterization and improvement of their prevention and management**

**Abstract:** The epidemiology of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) involved in Hemolytic and Uremic Syndrome (HUS) has strongly changed in recent years. An atypical clone of serotype O80:H2 (Sequence-type ST301) responsible for HUS and invasive infections has recently emerged in Europe. This clone harbors both virulence factors (VFs) typical of EHEC (intimin - *eae*- $\xi$ , Shiga toxin - *stx*, enterohemolysin - *ehxA*), characteristic VFs of Extra-intestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) and multi-drug resistance traits (MDR).

The aim of this work is to perform a molecular and phenotypic characterization of this heteropathotype to understand its emergence and to contribute to the improvement of diagnosis, treatment and prevention of the infections caused by this pathogen.

The EHEC O80:H2 clone acquired a mosaic plasmid (pR444\_A) strongly related to the plasmid pS88, a major determinant of ExPEC virulence, carrying multiple extra-intestinal VFs and within which a MDR cassette inserted itself. This ExPEC/EHEC heteropathotype pattern is not restricted to this single serotype since at least 3 other serotypes (O55:H9, O45:H2 and O186:H2) carrying a similar plasmid have been identified within the ST301. A metabolic feature associated with a genetic scar highly specific of ST301, was exploited to develop a real-time PCR (Se=100%, Sp=98.4%) and a culture medium (Se=85%, Sp=85%) selective of these clones. In the case of invasive infections requiring antibiotherapy, the comparative production of Stx in presence of different antibiotics leads to recommend the combination of a beta-lactam and a protein synthesis inhibitor.

Through an extensive characterization including phenotypic, genotypic, phylogenetic, molecular and metabolic analysis, this study contributes to the improvement of knowledge on ExPEC/EHEC heteropathotypes of ST301 and the management of their infections. The high capacity of these clones to acquire foreign genetic material underlines their extreme genomic plasticity whose the underlying genetic factors remain to be discovered. The use of these two new diagnostic methods in the food industry could help for identifying the still unknown reservoir of the O80:H2 clone and thus contribute to the prevention of these infections.

**Key words:** Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Shiga toxin, pS88, extra-intestinal virulence, heteropathotype, ST301, multidrug resistance