

Studio di un caso di SEU causata da un ceppo STEC atipico e identificazione della sorgente di infezione mediante NGS

Stefano Morabito

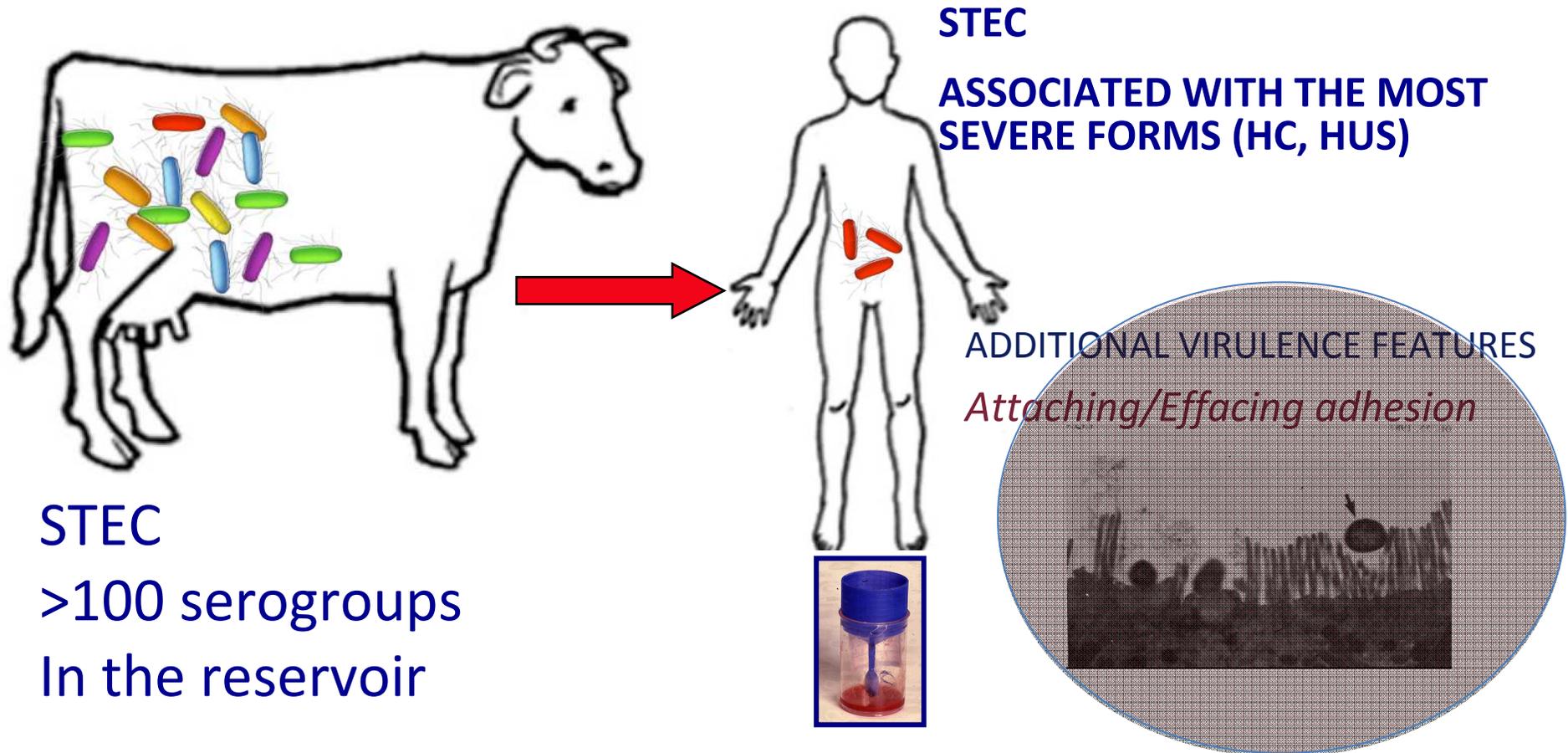
EU RL for *Escherichia coli* including VTEC, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy



Istituto Superiore di Sanità, Department of Veterinary Public Health and Food Safety,
European Reference Laboratory for *Escherichia coli*



STEC Pathogenicity: Empiric Vision ('87)



O157 O26, O111, O103, O145 cause 90% of HUS cases occurring in the EU each year

LEE-ve STEC

O113;O91 (end of 90s)
eae-ve
saa+ve
SubAB1+ve

Diarrhea; Bloody
Diarrhea;
sometimes HUS

O128;O146 and other
(2005-2010)
eae-ve
tia+ve
SubAB2+ve

Diarrhea;
Bloody
Diarrhea

O104:H4
Aggr+

HUS-
neurological
symptoms

Indagine epidemiologica su casi di SEU

Caso A

SEU con complicanze
neurologiche

Possibile Link epidemiologico con
Fattoria (bovini)

Caso B

SEU con complicanze
neurologiche in area
geografica limitrofa a
quella del Caso A

Nessun Link epidemiologico emerso
dai questionari

Casi da STEC atipici:

stx2a-positivi, *eae*-negativi, *agg*-negativi, *saa* e *tia*-negativi, *subAB*-negative
Sierogruppo non identificato (no top-13) **Assenza di isolamento**

Cluster di casi?

Indagine epidemiologica su casi di SEU

Caso A

Campionati i familiari

Isolato un ceppo STEC LEE-negativo

Caso B

Campionati i familiari

In un primo momento isolamento
negativo

Ceppo STEC :

stx2a-positivo, *eae*-negativo, *agg*-negativo, *saa* e *tia*-negativo, *subAB*-negativo
Sierogruppo non identificato (no top-13)

Cluster di casi??

Isolamento di un ceppo STEC da un familiare del caso A (ED1169)



Sequenziamento del genoma del ceppo isolato



Analisi della sequenza sulla piattaforma ARIES



Galaxy / ARIES - ISS

Virulotyper

stx2a, *sta1*, *astA*

MLST (SRST2)

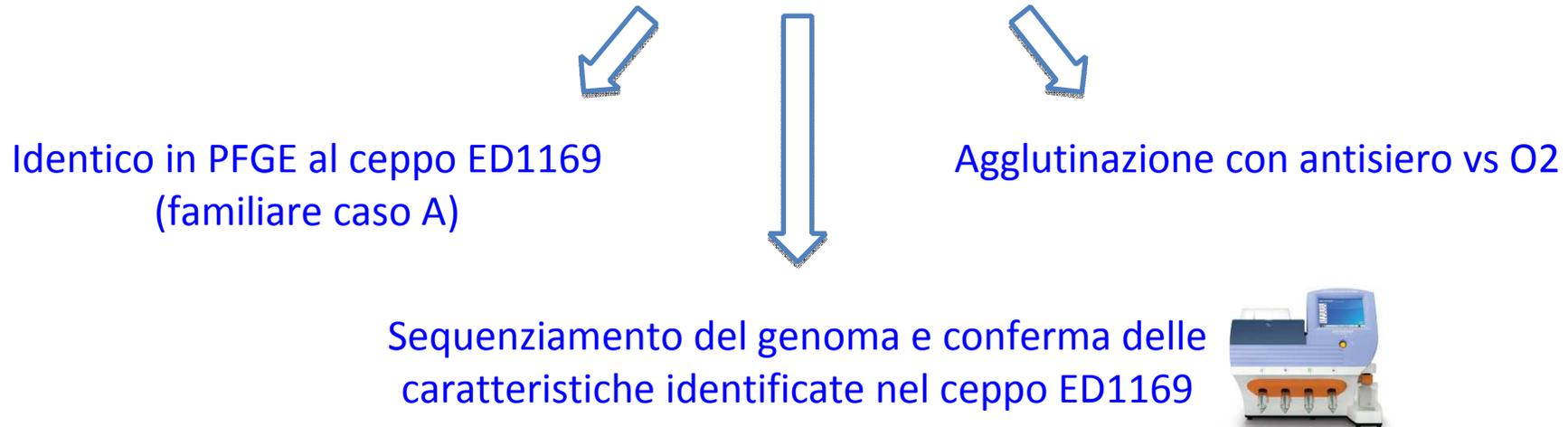
ST10

Serotyping

O2:H27

Ceppo Ibrido ETEC/STEC

**Isolamento di un ceppo STEC da feci
animali della fattoria collegata al caso A
presso l'IZS Venezia
(ED1172)**



**CONFERMA COLLEGAMENTO
DEL CASO A CON LA
FATTORIA!!**

Indagine epidemiologica su casi di SEU

Caso A

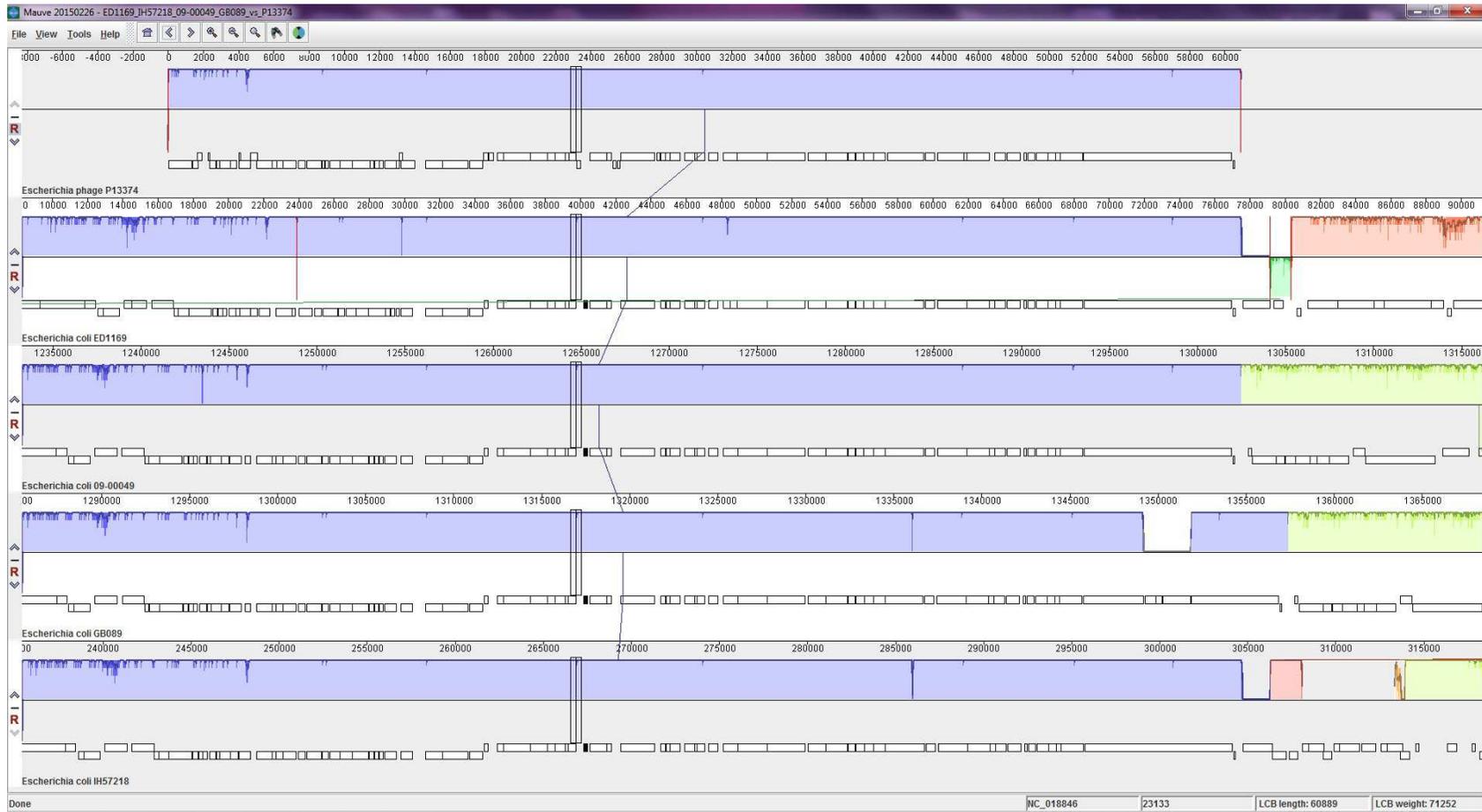
ELISA positivo per
sierogruppo O2

Caso B

ELISA negativo per
sierogruppo O2

Probabilmente escluso cluster di casi!!!!

Batteriofago *stx2a*



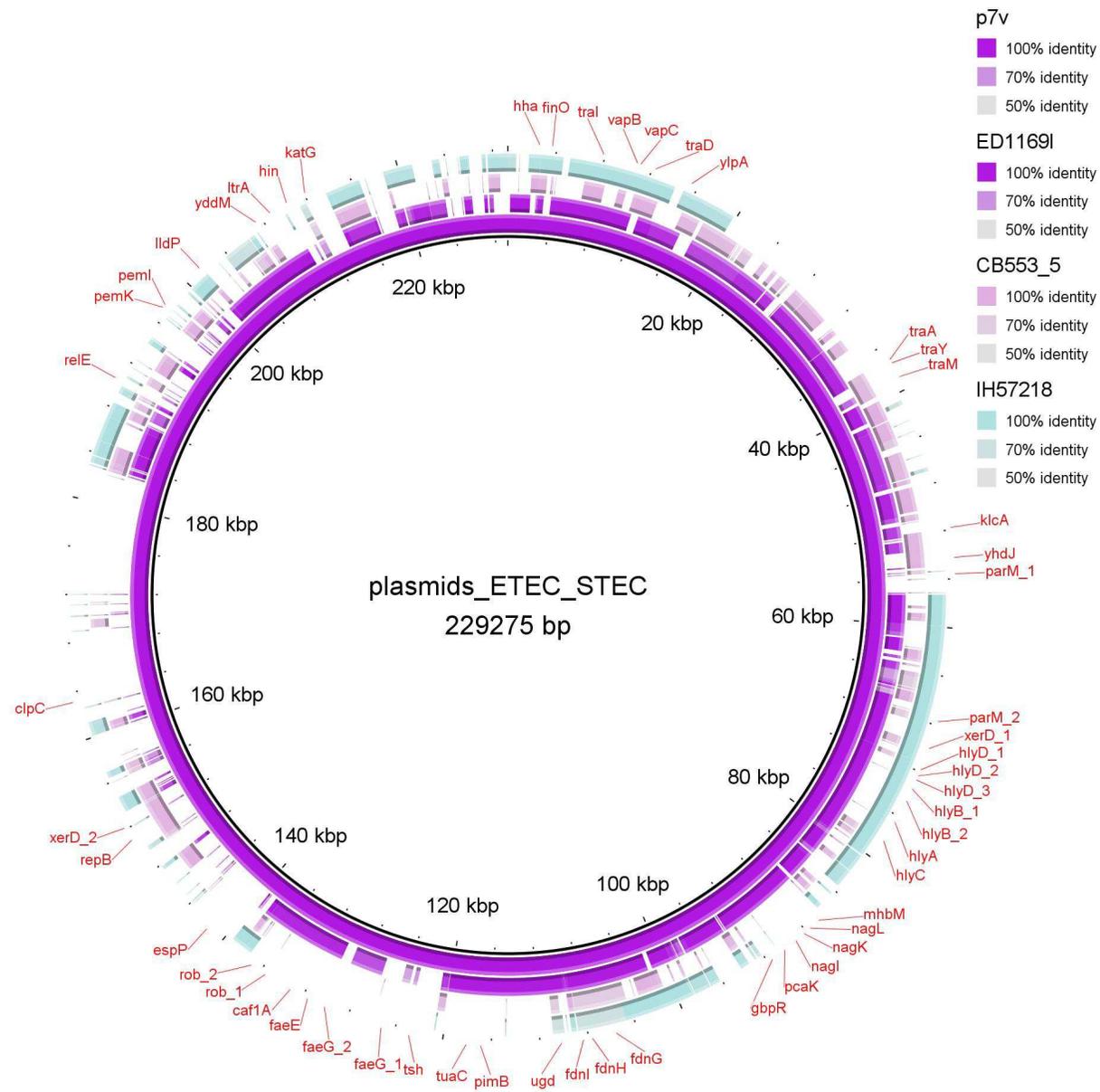
Integrato in *wrbA*

Identico a P13374 (identificato in O104:H4 e in altri ceppi STEC da SEU)

Analisi delle origini di replicazione identificate in genomi di ceppi ETEC-STEC

	Serogroup	H-type	Plasmid replicon
06-00048_plasmid_pCFSAN004178P_02	O36	H14	IncFIB(AP001918)
08-00022_plasmid_pCFSAN004179G	O136	H16	IncFIB(AP001918)
CB553_5	O166	H15	IncFIB(AP001918)
GB089plasmid_pCFSAN004181P	O168	H8	IncFIB(AP001918)
09-00049_plasmid_pCFSAN004180G	O168	H8	IncFIB(AP001918)
TW15838_ASM20848v2	O2	H45	IncFIB(AP001918)
plasmid_p7v	O2	H25	IncFIB(AP001918)
ED1914_ASM165055v1	O2	H25	IncFIB(AP001918)
1_2741_ASM19417v2	O2	H25	IncFIB(AP001918)
FE95160	O2	H25	IncFIB(AP001918)
IH57218	O2	H27	IncFII_1
● ED1172	O2	H27	IncI2
● ED1169	O2	H27	IncI2

Identificazione del plasmide nel ceppo ETEC/STEC ED1169 (allineato su p7v)



Geni di virulenza plasmidici in ED1169 e ED1172

sta1

Tossina termostabile

astA

Enterotossina EAST1

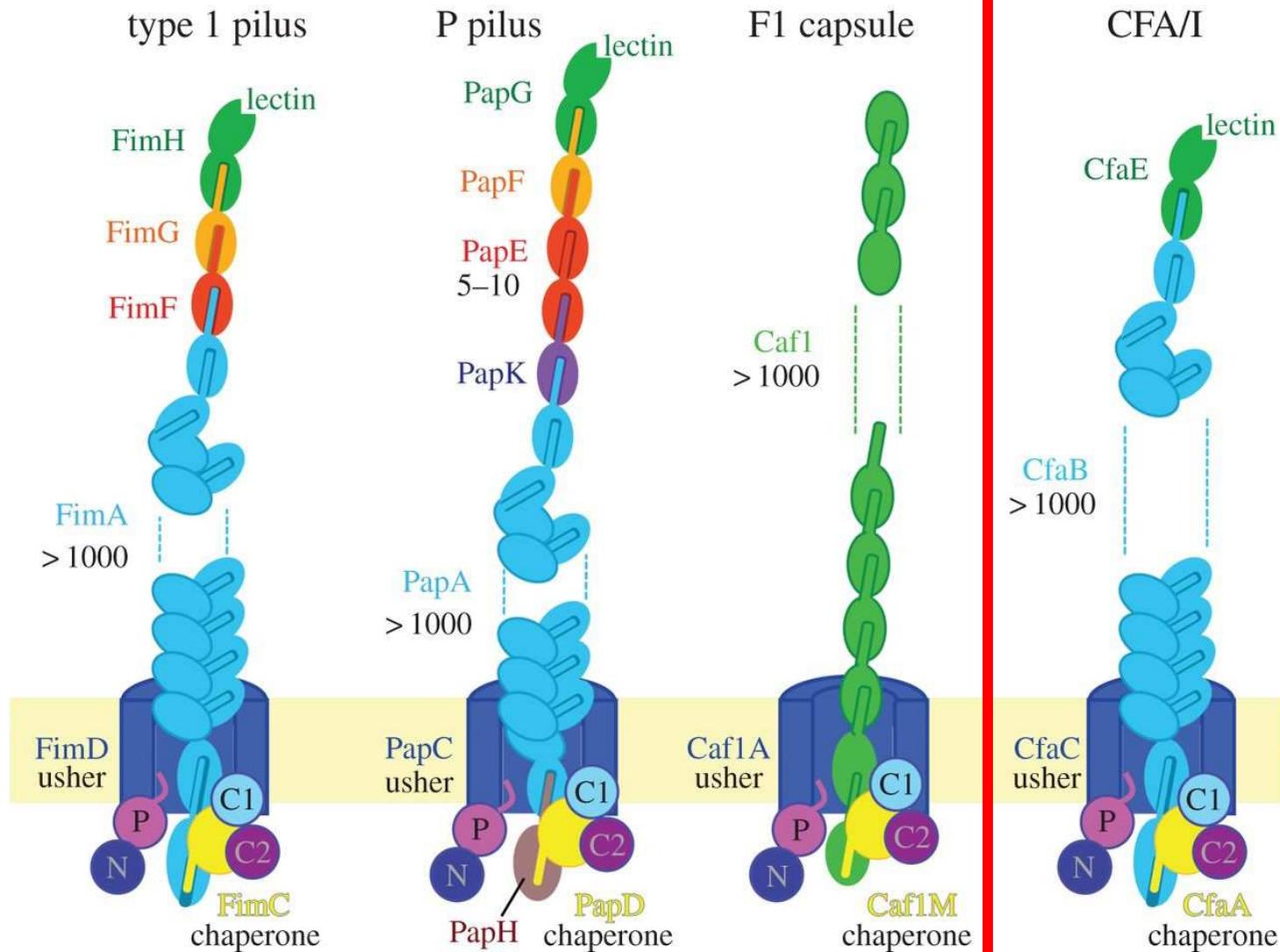
faeG K88-like

Proteina fimbriale

ehxA

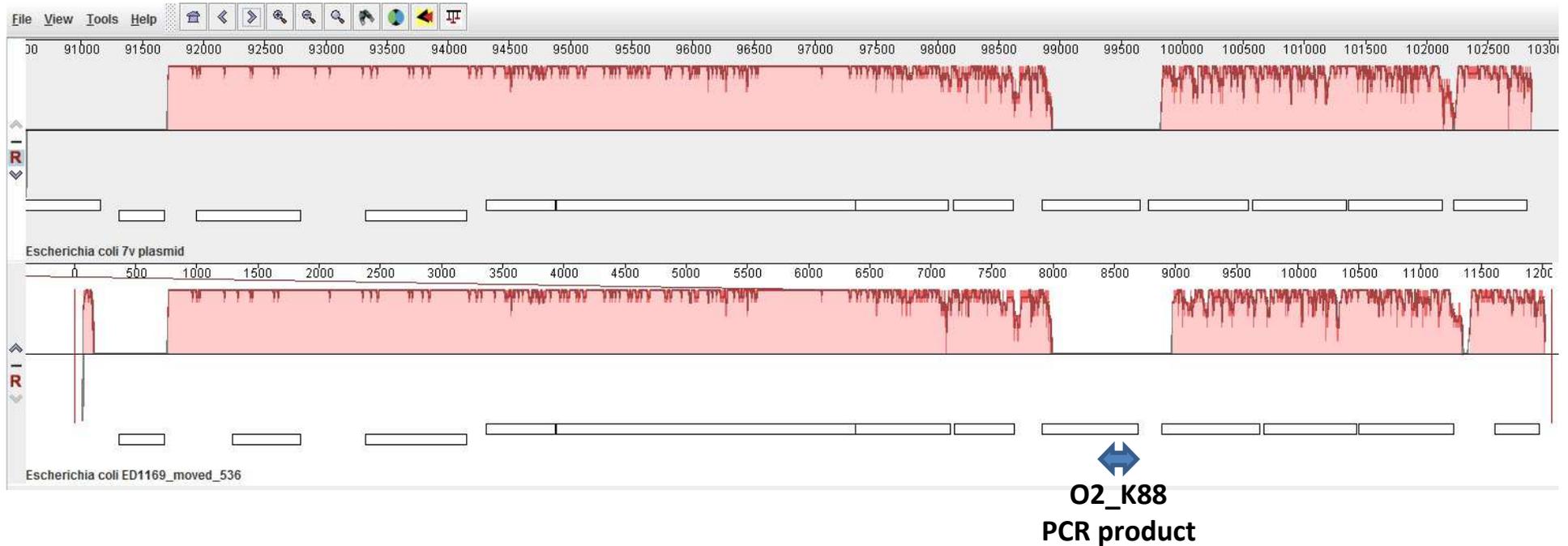
Enteroemolisina

Plasmide coniugativo

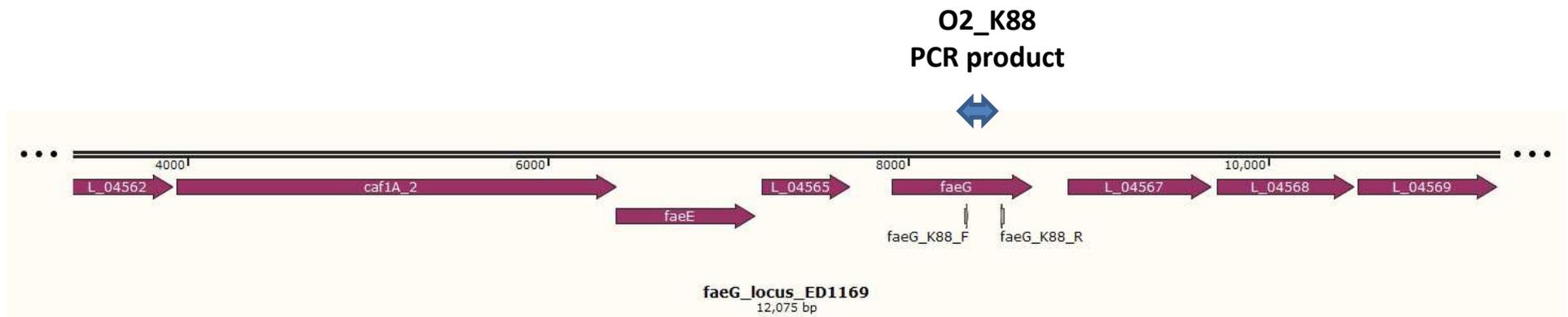


Differenze in gene *faeG*

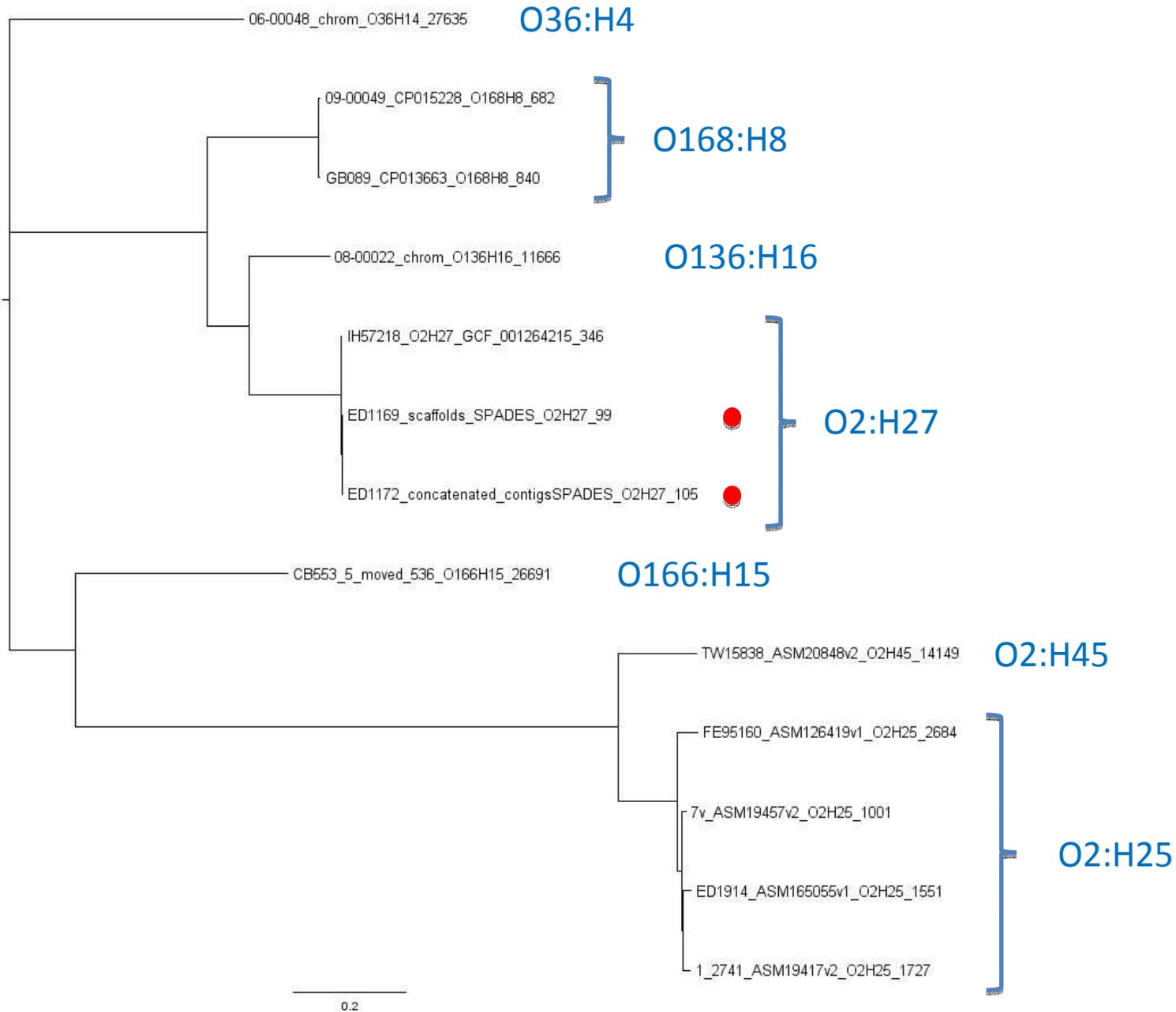
FaeG è il componente fimbriale K88 responsabile della specificità di legame sulle cellule ospiti



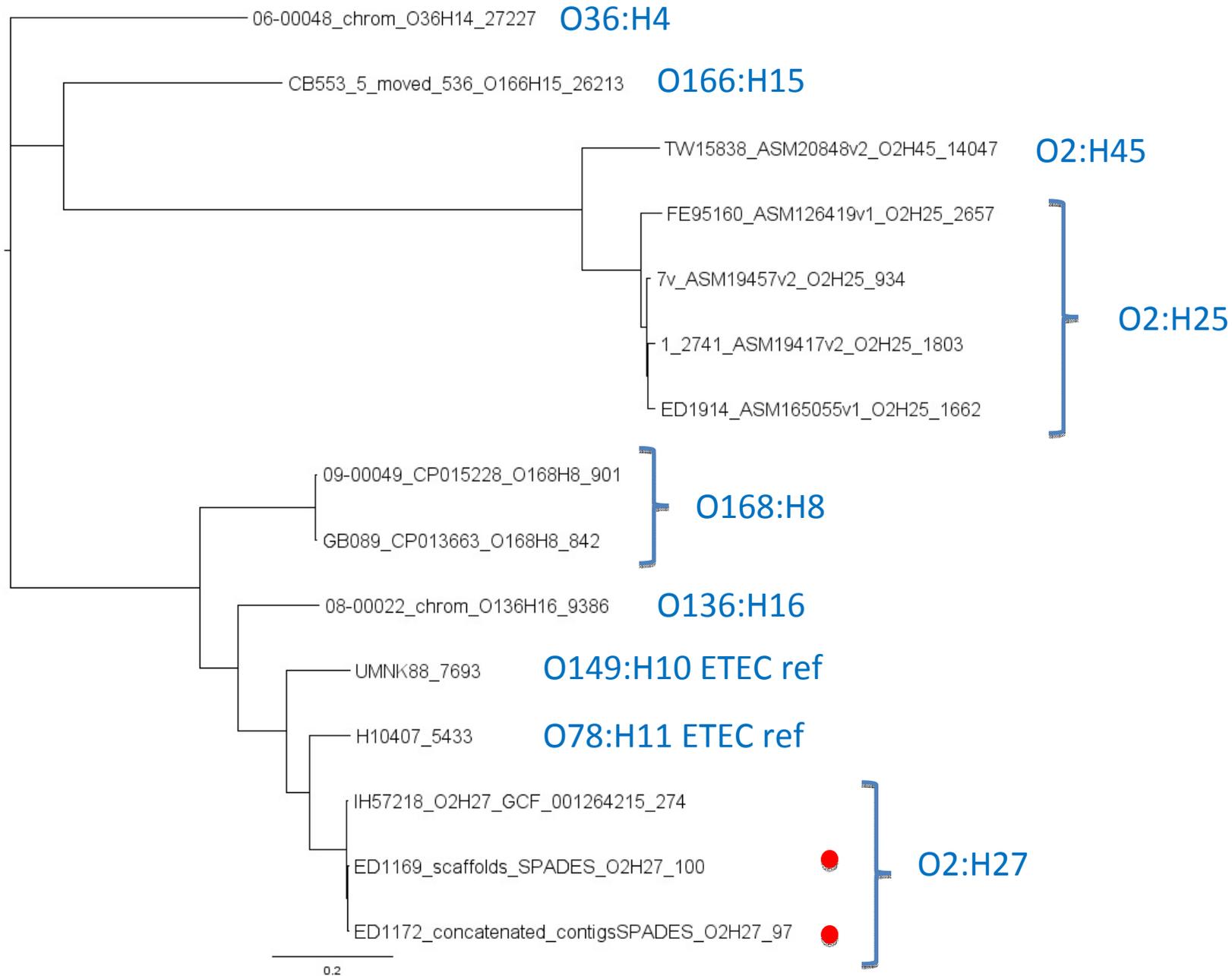
Disegno di una coppia di primers specifica per il sottotipo *faeG* tipico del ceppo O2



Phylogeny: ETEC-STE C



Phylogeny: ETEC-STE C



Ceppo STEC isolato dal familiare del caso B

stx2-positivo, *eae*-negativo, *aggR*-negativo, *saa* e *tia*-negativo,

subAB-negativo, STa1-negativo

Negativo per *faeG* specifico per K88 del ceppo O2

Sierogruppo O174

ELISA sul siero del paziente Caso B positivo per O174

Conferma definitiva dell'esclusione di un Cluster di casi

Conclusioni

- Investigazione di casi di infezione da STEC mediante NGS può consentire di mettere a punto saggi ad hoc per tracciare i ceppi durante le indagini
- Investigazione di casi di infezione da STEC mediante NGS può consentire di escludere cluster di casi
- NGS applicato allo studio delle infezioni umane da STEC consente di identificare ceppi atipici e di studiarne le relazioni filogenetiche e le dinamiche di emergenza