



HAL
open science

Facteurs de variation du portage et de l'excrétion des Escherichia coli entérohémorragiques O26:H11 : étude chez les jeunes veaux laitiers en zone AOP lait cru de montagne

Marie Ramette

► To cite this version:

Marie Ramette. Facteurs de variation du portage et de l'excrétion des Escherichia coli entérohémorragiques O26:H11 : étude chez les jeunes veaux laitiers en zone AOP lait cru de montagne. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04616092

HAL Id: dumas-04616092

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04616092v1>

Submitted on 18 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Année 2023

**FACTEURS DE VARIATION DU PORTAGE ET DE
L'EXCRÉTION DES *ESCHERICHIA COLI*
ENTÉROHÉMORRAGIQUES O26:H11: ÉTUDE CHEZ LES
JEUNES VEAUX LAITIERS EN ZONE AOP LAIT CRU DE
MONTAGNE**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de
DOCTEUR VÉTÉRAIRE
présentée et soutenue publiquement devant
la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)
le 21 décembre 2023

par

Marie, Michèle, Julie RAMETTE

sous la direction de
Yves MILLEMANN

JURY

| | | |
|-----------------------------|----------------------------|---|
| Présidente du jury : | Mme Julie RIVIÈRE | Maître de Conférences HDR à l'EnvA |
| Directeur de thèse : | M. Yves MILLEMANN | Professeur à l'EnvA |
| Examinatrice : | Mme Virginie GUÉRIN | Maître de Conférences à l'EnvA |
| Membre invité : | Mme Sabrina RAYNAUD | Responsable de projets à l'Institut de l'Élevage (IDELE) – Service Qualité du lait et des produits laitiers |
| Membre invité : | Mme Élise VANBERGUE | Cheffe de projets à l'Institut de l'Élevage (IDELE) – Service santé et bien-être animal |

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



version décembre 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

| | | | | | |
|-----|-------------------|------------|---------------------------|-------|----|
| M | Adjou | Karim | Professeur | DPASP | 1 |
| M | Audigié | Fabrice | Professeur | DEPEC | 2 |
| M | Bellier | Sylvain | Professeur | DSBP | 3 |
| Mme | Benckekroun | Ghita | Maître de conférences HDR | DEPEC | 4 |
| M | Blaga | Radu | Professeur | DSBP | 5 |
| M | Blot | Stéphane | Professeur | DEPEC | 6 |
| M | Boulouis | Henri-Jean | Professeur émérite | DSBP | 7 |
| Mme | Chahory | Sabine | Professeur | DEPEC | 8 |
| Mme | Chastant | Sylvie | Professeur | DPASP | 9 |
| M | Chateau | Henry | Professeur | DSBP | 10 |
| Mme | Chetboul | Valerie | Professeur | DEPEC | 11 |
| Mme | Crevier-Denoix | Nathalie | Professeur | DSBP | 12 |
| M | Degueurce | Christophe | Professeur | DSBP | 13 |
| M | Denoix | Jean-Marie | Professeur | DEPEC | 14 |
| M | Desquilbet | Loïc | Professeur | DSBP | 15 |
| Mme | Dufour | Barbara | Professeur émérite | DPASP | 16 |
| M | Eloit | Marc | Professeur | DSBP | 17 |
| M | Fayolle | Pascal | Professeur émérite | DEPEC | 18 |
| M | Federighi | Michel | Professeur | DPASP | 19 |
| M | Fontbonne | Alain | Professeur | DEPEC | 20 |
| Mme | Gilbert | Caroline | Professeur | DSBP | 21 |
| M | Grandjean | Dominique | Professeur | DEPEC | 22 |
| Mme | Grimard-Ballif | Bénédicte | Professeur | DPASP | 23 |
| Mme | Haddad-Hoang Xuan | Nadia | Professeur | DPASP | 24 |
| M | Jouvion | Gregory | Professeur | DSBP | 25 |
| M | Kohlhauer | Matthias | Professeur | DSBP | 26 |
| Mme | Le Poder | Sophie | Professeur | DSBP | 27 |
| Mme | Le Roux | Delphine | Maître de conférences HDR | DSBP | 28 |
| M | Manassero | Mathieu | Professeur | DEPEC | 29 |
| Mme | Maurey-Guéneq | Christelle | Professeur | DEPEC | 30 |
| M | Millemann | Yves | Professeur | DPASP | 31 |
| M | Ponter | Andrew | Professeur | DPASP | 32 |
| Mme | Risco-Castillo | Véronica | Maître de conférences HDR | DSBP | 33 |
| Mme | Rivière | Julie | Maître de conférences HDR | DPASP | 34 |
| Mme | Robert | Céline | Professeur | DSBP | 35 |
| M | Tiret | Laurent | Professeur | DSBP | 36 |
| M | Tissier | Renaud | Professeur | DSBP | 37 |
| M | Verwaerde | Patrick | Professeur | DEPEC | 38 |
| Mme | Viateau | Véronique | Professeur | DEPEC | 39 |

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

| | | | | | |
|-----|-------------------|-------------|-------------------------------|-------|----|
| M | Amé | Pascal | Maître de conférences | DPASP | 1 |
| Mme | Barassin | Isabelle | Maître de conférences | DPASP | 2 |
| Mme | Barbarino | Alix | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 3 |
| Mme | Bertoni | Lelia | Maître de conférences | DEPEC | 5 |
| Mme | Canonne-Guibert | Morgane | Maître de conférences | DEPEC | 7 |
| Mme | Chevallier | Lucie | Maître de conférences | DSBP | 8 |
| Mme | Cochet-Faivre | Noëlle | Maître de conférences | DEPEC | 9 |
| Mme | Cordonnier-Lefort | Nathalie | Maître de conférences | DSBP | 10 |
| Mme | Coudry | Virginie | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 11 |
| Mme | Crepeaux | Guillemette | Maître de conférences | DSBP | 12 |
| M | Crozet | Guillaume | Maître de conférences | DPASP | 13 |
| Mme | De Paula Reis | Alline | Maître de conférences | DPASP | 14 |
| M | Delsart | Maxime | Maître de conférences | DPASP | 15 |
| Mme | Denis | Marine | Ingénieur de recherche (DMV) | DPASP | 16 |
| M | Deshuillers | Pierre | Maître de conférences | DSBP | 17 |
| M | Gauthier | Michel | Maître de conférences associé | DPASP | 18 |
| Mme | Guérin | Virginie | Maître de conférences | DSBP | 19 |
| Mme | Guétin-Poirier | Valentine | Maître de conférences | DPASP | 20 |
| Mme | Jacquet | Sandrine | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 21 |
| M | Kurtz | Maxime | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 22 |
| Mme | Lagrée | Anne-Claire | Maître de conférences | DSBP | 23 |
| Mme | Le Dudal | Marine | Ingénieur de recherche (DMV) | DSBP | 24 |
| Mme | Legrand | Chantal | Maître de conférences associé | DSBP | 25 |
| M | Mammeri | Mohamed | Maître de conférences | DSBP | 26 |
| Mme | Manguin | Estelle | Maître de conférences | DEPEC | 27 |
| Mme | Marignac | Genevieve | Maître de conférences | DSBP | 28 |
| Mme | Marotto | Stéphanie | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 29 |
| Mme | Maurice | Emeline | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 31 |
| Mme | Mespoules-Rivière | Céline | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 32 |
| Mme | Mimet | Narjès | Maître de conférences | DPASP | 33 |
| M | Mortier | Jérémy | Maître de conférences associé | DEPEC | 34 |
| M | Nudelmann | Nicolas | Maître de conférences | DEPEC | 35 |
| M | Pignon | Charly | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 36 |
| M | Polack | Bruno | Maître de conférences | DSBP | 37 |
| Mme | Quéré | Emilie | Ingénieur de recherche (DMV) | DEPEC | 38 |
| Mme | Ravary-Plumioën | Bérangère | Ingénieur de recherche (DMV) | DPASP | 39 |
| M | Reyes-Gomez | Edouard | Maître de conférences | DSBP | 40 |
| Mme | Rose | Hélène | Maître de conférences associé | DSBP | 41 |
| M | Tanquerel | Ludovic | Maître de conférences | DEPEC | 42 |

Remerciements

À Mme RIVIÈRE Julie, Présidente du Jury de cette thèse, Maître de conférences à l'EnvA),

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Hommages respectueux.

À M. MILLEMANN Yves, Professeur à l'EnvA,

Pour avoir accepté d'encadrer cette thèse, pour votre très grande disponibilité et votre réactivité tout au long de ce travail, pour tous vos conseils avisés,

Sincères et respectueux remerciements.

À Mme GUÉRIN Virginie, Maître de conférences à l'EnvA,

Pour avoir accepté de prendre part à ce jury de thèse en qualité d'examinatrice,

Sincères remerciements.

À Mme RAYNAUD Sabrina, Responsable de projets à l'Institut de l'Élevage (Service Qualité du lait et des produits laitiers),

Pour avoir été présente du début à la fin de ce travail de thèse et plus largement de ce projet, pour ta grande disponibilité, ta bienveillance et ton accompagnement pendant mon stage à Lyon puis par la suite, pour tous tes conseils, pour ta générosité et ton sens du partage,

Remerciements chaleureux.

À Mme VANBERGUE Élise, Cheffe de projets à l'Institut de l'Élevage (Service santé et bien-être animal)

Pour ta bienveillance et ta gentillesse à mon égard, pour ton accompagnement et tes conseils avisés, pour ces quelques mois passés à travailler avec toi qui ont été un réel plaisir,

Remerciements chaleureux.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Table des matières | 1 |
| Liste des figures | 3 |
| Liste des tableaux | 5 |
| Liste des abréviations | 7 |
| Introduction | 9 |
| Première partie : Étude bibliographique du portage, de l'excrétion des EHEC par les ruminants et des conséquences dans le domaine de la santé publique | 11 |
| 1. Généralités sur les <i>Escherichia coli</i> entéro-hémorragiques et pathogénicité | 11 |
| 1.1. Caractères généraux et structure des <i>Escherichia coli</i> | 11 |
| 1.2. Classification des <i>Escherichia coli</i> et définition des EHEC | 11 |
| 1.3. Facteurs de virulence | 13 |
| 1.3.1. Les shigatoxines | 14 |
| 1.3.2. Le locus d'effacement des entérocytes (LEE)..... | 15 |
| 1.3.3. Autres facteurs de virulence..... | 17 |
| 1.4. Réservoirs des <i>Escherichia coli</i> entérohémorragiques | 18 |
| 1.5. Pathogénicité des EHEC..... | 19 |
| 1.6. Résistance des EHEC et survie dans l'environnement | 20 |
| 2. Les infections à <i>Escherichia coli</i> entérohémorragiques chez l'Homme | 22 |
| 2.1. <i>Escherichia coli</i> entérohémorragiques responsables d'infections chez l'Homme | 22 |
| 2.2. Épidémiologie des infections à EHEC..... | 24 |
| 2.3. Origine de la contamination humaine | 26 |
| 2.4. Physiopathologie des infections humaines à EHEC | 27 |
| 2.5. Épidémies majeures à EHEC..... | 30 |
| 2.6. Épidémies liées aux EHEC dans la filière lait cru..... | 31 |
| 3. Caractéristiques du portage et de l'excrétion des EHEC chez les bovins et facteurs de variation | 32 |
| 3.1. Prévalence des EHEC chez l'animal..... | 32 |
| 3.2. Circulation et transmission des EHEC en élevage..... | 34 |
| 3.3. Excrétion des EHEC en élevage | 36 |
| 3.3.1. Importance du rôle des veaux dans l'excrétion des EHEC | 36 |
| 3.3.2. Caractéristiques de l'excrétion chez les bovins | 36 |
| 3.3.3. Existence d'animaux « super-excréteurs » | 37 |
| 3.3.4. Facteurs de variation du portage et de l'excrétion des EHEC par les bovins | 38 |
| 4. Méthodes de prélèvement en vue de la détection des EHEC | 44 |
| 4.1. Différentes méthodes de prélèvements..... | 44 |
| 4.2. Intérêt de l'écouvillon de la jonction recto-anale dans la détection des EHEC | 45 |
| 4.3. Comparaison entre les différentes méthodes de prélèvement..... | 46 |
| Deuxième partie : étude expérimentale | 49 |
| 1. Introduction | 49 |
| 1.1. Contexte et objectifs de l'étude | 49 |
| 1.2. Autres objectifs du projet ConEHECtion | 50 |
| 2. Matériels et méthodes..... | 51 |
| 2.1. Étude préliminaire | 51 |
| 2.1.1. Recrutement, constitution des lots et protocole | 51 |
| 2.1.2. Identification des points à améliorer..... | 51 |
| 2.2. Recrutement des fermes | 52 |
| 2.3. Recrutement et suivi des animaux | 53 |

| | | |
|--------|---|------------|
| 2.4. | <i>Distribution des ferments et utilisation du matériel d'élevage</i> | 55 |
| 2.5. | <i>Réalisation des prélèvements</i> | 55 |
| 2.6. | <i>Biosécurité</i> | 56 |
| 2.7. | <i>Analyse de première intention des échantillons</i> | 56 |
| 2.8. | <i>Analyse de confirmation des échantillons</i> | 57 |
| 2.9. | <i>Analyse statistique des résultats</i> | 57 |
| 2.9.1. | Concordance entre le prélèvement de selles et l'écouvillon de la jonction recto-anale | 57 |
| 2.9.2. | Analyse des facteurs de variation de l'excrétion et du portage des EHEC | 58 |
| 3. | Résultats | 60 |
| 3.1. | <i>Description de l'échantillon</i> | 60 |
| 3.2. | <i>Transmission verticale des EHEC O26:H11</i> | 60 |
| 3.3. | <i>Caractérisation de l'excrétion</i> | 60 |
| 3.4. | <i>Concordance entre le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale</i> | 61 |
| 3.4.1. | Concordance pour l'analyse de 1 ^{ère} intention | 61 |
| 3.4.2. | Concordance pour les analyses de confirmation | 61 |
| 3.4.3. | Concordance pour le résultat global | 62 |
| 3.5. | <i>Facteurs de variation de l'excrétion et du portage d'EHEC O26:H11</i> | 63 |
| 3.5.1. | Statistiques descriptives | 63 |
| 3.5.2. | Tests bivariés | 69 |
| 3.5.3. | Modèle logistique à mesures répétées | 69 |
| 4. | Discussion | 72 |
| 4.1. | <i>Transmission verticale des EHEC O26:H11</i> | 72 |
| 4.2. | <i>Caractérisation de l'excrétion</i> | 73 |
| 4.3. | <i>Concordance entre le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale</i> | 74 |
| 4.4. | <i>Facteurs de variation de l'excrétion et du portage des EHEC O26:H11</i> | 75 |
| 4.4.1. | Effet de l'âge (variable « prélèvement ») | 75 |
| 4.4.2. | Effet de la ferme | 76 |
| 4.4.3. | Effet des facteurs de stress | 77 |
| 4.4.4. | Effet des variables météorologiques | 77 |
| 4.5. | <i>Limites principales de l'étude et perspectives</i> | 80 |
| | Conclusion | 83 |
| | Liste des références bibliographiques | 85 |
| | Annexe 1 : Protocole distribué aux éleveurs (exemple ferme 7) | 103 |
| | Annexe 2 : Protocole de distribution des yaourts donné aux éleveurs | 109 |
| | Annexe 3 : Aperçu des résultats d'excrétion d'O26:H11 le 20/11/2023 | 111 |
| | Annexe 4 : Graphiques liés aux données météorologiques | 112 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Classification des AEEC, EHEC et STEC (ANSES, 2012) | 13 |
| Figure 2 : Structure et mode d'action des shigatoxines (adaptée de Puente and Finlay, 2001)..... | 15 |
| Figure 3 : Organisation génétique du locus d'effacement des entérocytes d' <i>E. coli</i> O157:H7 (adaptée de Stevens and Frankel, 2014) | 16 |
| Figure 4 : Mode d'action du système de sécrétion de type 3 (T3SS) et formation des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) (adaptée de Nguyen and Sperandio, 2012)..... | 16 |
| Figure 5 : Diversité des facteurs de virulence des EHEC (schéma personnel)..... | 18 |
| Figure 6 : Répartition des sérogroupes de STEC les plus fréquents ($n \geq 10$ isolats) entre 2017 et 2021 et évolution des sérogroupes appartenant au top 7 et O80 de 2011 à 2021 en France (ANSES, 2023) | 23 |
| Figure 7 : Distribution des cas d'infections à STEC confirmés pour 100 000 personnes par âge et genre en Europe (adaptée de ECDC, 2022)..... | 25 |
| Figure 8 : Modes de transmission des EHEC (adaptée de Fairbrother and Nadeau, 2006)..... | 27 |
| Figure 9 : Pathogénie des EHEC à l'origine de maladie chez l'Homme (schéma personnel)..... | 29 |
| Figure 10 : Prévalence d' <i>E. coli</i> O157 estimée chez des bovins à l'échelle internationale (adaptée d'Islam <i>et al.</i> , 2014)..... | 33 |
| Figure 11 : Sources de transmission des EHEC chez les animaux d'élevage (adaptée de Fairbrother et Nadeau, 2006)..... | 35 |
| Figure 12 : Bilan des facteurs liés à une augmentation de l'excrétion des EHEC, STEC ou <i>E. coli</i> O157 décrits dans la littérature (schéma personnel)..... | 44 |
| Figure 13 : Exemple de disposition des cases individuelles en rangées (Ferme 6 et 7) | 54 |
| Figure 14 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de la ferme..... | 64 |
| Figure 15 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de la période de réalisation du prélèvement par rapport à l'âge des veaux | 64 |
| Figure 16 : Répartition des prélèvements positifs par ferme en fonction de l'âge des veaux | 65 |
| Figure 17 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de l'allotement..... | 65 |
| Figure 18 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de l'ébourgeonnage..... | 66 |
| Figure 19 : Résultats du modèle logistique | 72 |
| Figure 20 : Prédiction de la probabilité d'une confirmation positive à EHEC O26:H11 en fonction de l'humidité minimale dans les quatre jours précédant le prélèvement..... | 78 |

Figure 21 : Bilan des variables associées significativement à l'excrétion d'EHEC O26:H11 (schéma personnel) 80

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Nouvelle classification des souches STEC en fonction de leur potentiel de virulence (ANSES, 2023)..... | 24 |
| Tableau 2 : Tableau de contingence entre les résultats obtenus lors des analyses de première intention effectuées sur les prélèvements de bouse d'une part et sur l'écouvillon de la jonction recto-anale d'autre part | 61 |
| Tableau 3 : Tableau de contingence entre les résultats obtenus lors des analyses de confirmation effectuées sur les prélèvements de bouse et l'écouvillon de la jonction recto-anale | 62 |
| Tableau 4 : Tableau de contingence entre le prélèvement de bouse et l'écouvillon pour le résultat global..... | 63 |
| Tableau 5 : Résultats de confirmations d'EHEC O26:H11 pour les variables qualitatives et binaires | 66 |
| Tableau 6 : Médianes des variables quantitatives liées aux conditions météorologiques en fonction de la confirmation d'EHEC O26:H11 | 68 |
| Tableau 7 : Résultats des tests bivariés..... | 69 |
| Tableau 8 : Résultats du modèle de régression logistique | 71 |
| Tableau 9 : Interprétation du Kappa de Cohen (Landis et Koch, 1977)..... | 74 |

Liste des abréviations

A/E : Attachement/effacement

AAF : aggregative adherence fimbriae (fimbriae d'adhésion agrégative)

AEEC : Attaching and Effacing *E. coli* (*Escherichia coli* Attachant-Effaçant)

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

AFSSET : Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail

AGV : acide gras volatil

AIC : Akaike Information Criterion

AIEC : *Escherichia coli* adhérent invasif

ANSES : Agence nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

a_w : activité de l'eau

DAEC : *Escherichia coli* adhérent diffus

E. coli : *Escherichia coli*

eae : *E. coli* attaching and effacing

EAEC : *Escherichia coli* entéroaggrégatif

ECDC : Centre européen de prévention et de contrôle des maladies

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragique

EIEC : *Escherichia coli* entéro-invasif

EPEC : *Escherichia coli* entéro-pathogène

ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogène

ExPEC : *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux

FDR : False Discovery Rate

Gb3 : globotriaosylcéramide 3

Gb4 : globotriaosylcéramide 4

HR : humidité relative

H0 : hypothèse nulle

IDELE : Institut de l'Élevage

IgG : immunoglobuline G

InPEC : *Escherichia coli* pathogènes intestinaux

InVS : Institut de Veille Sanitaire

LEE : Locus d'effacement des entérocytes

LPF : long polar fimbriae

MAT : microangiopathie thrombotique

NM : non motile

NMEC : *Escherichia coli* à l'origine de méningite néonatale

pb : paires de bases

OTU : unité taxonomique opérationnelle

PT : phage type

PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

STEC : *Escherichia coli* producteur de shigatoxines

Stx : shigatoxine

stx : gène codant une shigatoxine

T : température

T3SS : système de sécrétion de type III

TESSy : système européen de surveillance

THI : Temperature-Humidity Index

TIAC : toxi-infection alimentaire collective

Tir : Translocated intimin receptor

UFC : unité formant colonie

UPEC : *Escherichia coli* uropathogène

VPP : valeur prédictive positive

VTEC : *Escherichia coli* producteur de vérotoxines

Introduction

Les *Escherichia coli* (*E. coli*), bacilles à coloration de Gram négative, font communément partie de la microflore intestinale des humains et de nombreuses espèces animales. Bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient inoffensives, certaines d'entre elles sont pathogènes et présentent des gènes de virulence. Parmi celles-ci, les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC) sont responsables d'infections chez l'Homme et peuvent causer des maladies sévères, notamment le Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) (Brugère *et al.*, 2012).

Le SHU représente la principale cause d'insuffisance rénale chez l'enfant de moins de trois ans. Il laisse des séquelles rénales graves dans un tiers des cas et entraîne la mort dans moins de 5 % des cas (AFSSA, 2003). Par conséquent, il s'agit d'une préoccupation importante dans le domaine de la santé publique. La principale voie de contamination de l'Homme est l'ingestion d'aliments contaminés consommés crus ou peu cuits, tels que des produits carnés, des produits au lait cru, des fruits ou légumes crus non pelés ou encore de l'eau non traitée. La filière du lait cru est donc particulièrement concernée, avec notamment plusieurs épidémies récentes d'infections à EHEC en France liées à la consommation de fromage au lait cru : fromage de chèvre en 2004 (Espié *et al.*, 2006b), camembert en 2005 et 2013 (Institut de Veille Sanitaire, 2007; Institut Pasteur, 2013), reblochon en 2018 (Jones et de Valk, 2020) et la consommation suspectée de saint-marcellin et saint-félicien en 2019 (Santé Publique France, 2020).

Les ruminants, et surtout les veaux, sont considérés comme le réservoir majeur des EHEC. Ils hébergent et excrètent ces bactéries de façon asymptomatique, ce qui leur confère un rôle primordial dans la transmission des EHEC aux humains (Kolenda *et al.*, 2015).

Malgré la mise en place de nombreuses mesures de contrôle, la maîtrise de l'excrétion des EHEC en élevage laitier reste problématique et des contaminations ont toujours lieu, notamment dans le secteur du lait cru. C'est dans ce contexte que cette thèse s'inscrit, au sein d'un projet plus large, le projet « ConEHECtion », coordonné par l'Institut de l'Élevage (IDELE). Ce projet, support de deux thèses vétérinaires distinctes, vise à évaluer une solution pour orienter le microbiote digestif des veaux et ainsi réduire leur portage des EHEC : l'utilisation de lait fermenté contenant les bactéries lactiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, en complément d'une ration alimentaire classique colostrum/lait, de la naissance jusqu'au sevrage.

Cette thèse s'articule en deux parties : une première partie bibliographique a permis d'établir une synthèse des connaissances concernant les EHEC, les enjeux qu'ils induisent dans le domaine de la santé publique ainsi que le rôle primordial des veaux dans le portage et l'excrétion de ces bactéries. Une seconde partie expérimentale a abordé, quant à elle, une partie des résultats du projet « ConEHECtion », avec pour objectif de comparer deux méthodes de prélèvement (prélèvement de bouse et écouvillon de la jonction recto-anale), ainsi que d'étudier les facteurs de variations de l'excrétion de ces bactéries chez les jeunes veaux laitiers dans des fermes ayant livré du lait contaminé par des EHEC.

Une seconde thèse vétérinaire aura pour objectif d'exploiter les résultats de l'étude sur les moyens de maîtrise des EHEC en élevage, dont l'administration de lait fermenté aux jeunes veaux laitiers dans le but d'orienter leur microbiote digestif.

Première partie : Étude bibliographique du portage, de l'excrétion des EHEC par les ruminants et des conséquences dans le domaine de la santé publique

1. Généralités sur les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques et pathogénicité

1.1. Caractères généraux et structure des *Escherichia coli*

En 1885, l'allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*) qui ne sera nommée comme telle qu'en 1919 par Castellani et Chalmers (Grimont, 1987). Cette bactérie, qui fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, est considérée comme une bactérie commensale majoritaire du tractus gastro-intestinal des animaux à sang-chaud et du côlon de l'Homme. En effet, les *E. coli* utilisent des nutriments issus de la digestion de son hôte pour sa propre consommation et bénéficient d'un environnement stable, sans que cela n'induisse des effets néfastes pour son hôte (Massot *et al.*, 2016). La plupart des souches d'*E. coli* s'avèrent même être bénéfiques à leurs hôtes et ne possèdent pas de facteurs de virulence (Bedi *et al.*, 2022). Effectivement, ces bactéries stimulent le système immunitaire de leur hôte, modulent son appétit et sa satiété et peuvent entrer en compétition avec des bactéries pathogènes comme les salmonelles et les clostridies en occupant leur niche écologique notamment (Massot *et al.*, 2016). En outre, *E. coli* est très souvent utilisé en tant qu'organisme indicateur de contamination fécale : par exemple, les *E. coli* sont recommandés comme indicateurs du risque de contamination microbienne de l'eau depuis 1892, en raison de leur association avec le tractus digestif (Leclerc *et al.*, 2001).

Escherichia coli est un bacille à coloration Gram-négative, à oxydase négative, capable de se développer que ce soit en conditions anaérobie ou aérobie et préférentiellement à 37°C. Il peut être soit immobile, soit motile avec une ciliature péritriche (Croxen *et al.*, 2013). Ces bacilles ne sporulent pas et mesurent approximativement 0,5 µm de diamètre et entre 1,0 et 3,0 µm de longueur (Moxley, 2022).

1.2. Classification des *Escherichia coli* et définition des EHEC

De façon générale, une classification des souches d'*E. coli* peut être établie à partir de la présence de différents antigènes à la surface de leur paroi et sur leur flagelle :

- les antigènes somatiques « O » déterminent le sérotype, avec plus de 170 sérotypes connus ;
- au sein du sérotype, les antigènes flagellaires « H » déterminent le sérotype et permettent de caractériser plus finement une souche d'*E. coli* (Vernozy-Rozand, 2005; Farrokh *et al.*, 2017).

Cependant d'autres classifications existent. Comme exposé précédemment, la majorité des souches d'*E. coli* sont inoffensives et entretiennent une relation de symbiose avec leur hôte. Néanmoins, certaines de ces souches ont acquis des facteurs de virulence leur conférant un pouvoir pathogène. En fonction des signes cliniques observés chez les malades, les souches pathogènes sont regroupées en pathovars (ou pathotypes), comme les EHEC par exemple. Ces souches pathogènes sont plus largement classées en deux groupes : les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) (Kaper *et al.*, 2004; ANSES, 2023).

Parmi les ExPEC figurent notamment les *E. coli* uropathogènes (UPEC) qui entraînent des infections du tractus urinaire, ou encore les *E. coli* à l'origine de méningites néonatales (NMEC) (Kaper *et al.*, 2004; Moxley, 2022). Au sein des InPEC, on inclut notamment sept pathotypes majoritaires : les *Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC), *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC), *E. coli* entéro-invasifs (EIEC), *E. coli* adhérents diffus (DAEC) et *E. coli* adhérents invasifs (AIEC) (Croxen *et al.*, 2013; Moxley, 2022).

Plus précisément, les EHEC constituent en réalité un sous-groupe des *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC), encore anciennement nommées *E. coli* producteurs de vérotoxines (VTEC).

Il existe deux classes de shigatoxines : les Stx1 et Stx2, codées respectivement par les gènes *stx1* et *stx2* (ANSES, 2012). Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* fait ainsi partie des STEC. Seules les souches de STEC dont la virulence et la pathogénicité chez l'Homme sont établies et se manifestent par des signes cliniques sont considérées comme étant des EHEC (ANSES, 2023). Les troubles provoqués par les EHEC varient d'une diarrhée aqueuse aiguë bénigne ou sévère à une colite hémorragique, pouvant se compliquer en micro-angiopathies thrombotiques (MAT). Parmi les MAT liées aux EHEC figurent principalement le SHU et le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT).

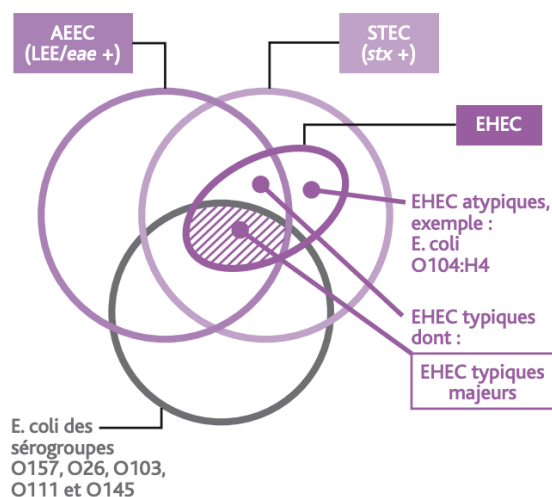
Par ailleurs, un autre gène, le gène *eae* porté par le locus d'effacement des entérocytes (LEE), participe également à la pathogénicité de la majorité des EHEC. Ce gène confère la capacité à induire des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) sur l'épithélium intestinal et plus particulièrement sur les cellules de l'iléon distal et du côlon. Ce gène code une protéine de membrane appelée intimine qui permet l'attachement des bactéries sur les cellules épithéliales. Cette capacité à induire des lésions A/E est aussi partagée avec les EPEC (Stevens et Frankel, 2014). Toutes les souches d'*E. coli* capables de provoquer des lésions A/E sont réunies sous le nom d'AEEC (Attaching and Effacing *E. coli*) (ANSES, 2012). Les EHEC qui possèdent le gène *eae* sont dits « typiques ».

Cependant, toutes les souches d'EHEC ne possèdent pas le gène *eae*, elles sont alors qualifiées « d'atypiques » (Figure 1). D'autres mécanismes leur permettent d'adhérer à la muqueuse intestinale, la colonisation du tube digestif étant une étape majeure de la physiopathologie des EHEC (ANSES, 2023).

De plus, le sérotype *E. coli* O157:H7 est le plus régulièrement étudié dans la littérature. Ainsi, bien que l'étude présentée dans cette thèse porte sur EHEC O26:H11, de nombreux résultats exposés dans cette première partie bibliographique concernent *E. coli* O157:H7, mais peuvent de façon générale être étendus au sérotype O26:H11.

Figure 1 : Classification des AEEC, EHEC et STEC (ANSES, 2012)

Toutes les souches d'*E. coli* possédant le LEE, quels que soient les signes cliniques associés, appartiennent au groupe des AEEC. De même, toutes les souches possédant un gène *stx* sont regroupées sous le nom de STEC, quels que soient les signes associés. Les EHEC sont tous des STEC, néanmoins toutes les souches STEC, même celles possédant le LEE ne sont pas systématiquement associées à la maladie chez l'Homme.



Les données épidémiologiques révèlent que ce sont bien souvent les mêmes sérotypes d'EHEC qui sont impliqués dans les épidémies de SHU et d'infections à EHEC. Ainsi, sur la base des données épidémiologiques de 2008, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), qui a fusionné avec l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (AFSSET) pour donner l'Agence nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) en 2010, a défini les souches EHEC de sérotype « majeurs » : O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7 (AFSSA, 2010; Brugère *et al.*, 2012). Ces cinq sérotypes peuvent aussi être retrouvés sous le nom de « top 5 » (ANSES, 2017). Ces souches étant toutes des EHEC typiques, elles sont dites souches « EHEC typiques majeures ». Néanmoins, les données épidémiologiques ont depuis beaucoup évolué et le dernier rapport de l'ANSES propose une nouvelle classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence (ANSES, 2023). Celle-ci sera abordée dans la partie 2.1.

Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* se nomme STEC. Les EHEC sont des souches de STEC virulentes et pathogènes, provoquant des manifestations cliniques chez l'Homme. Ainsi, ces souches possèdent principalement deux types de facteurs de virulence : les shigatoxines et des facteurs de colonisation de l'épithélium intestinal.

1.3. Facteurs de virulence

Comme mentionné auparavant, la plupart des *E. coli* sont des bactéries commensales, mais certaines sont pathogènes chez l'Homme en raison de facteurs de virulence. Ce sont ces mêmes facteurs de virulence qui sont recherchés et identifiés afin d'évaluer le caractère pathogène d'une souche dans le cadre d'examen bactériologique réalisé en dehors d'un contexte clinique chez l'Homme (AFSSA, 2010).

Ces facteurs de virulence peuvent être transmis entre les pathovars d'*E. coli* via des éléments génétiques mobiles : phages, plasmides ou îlots de pathogénicité.

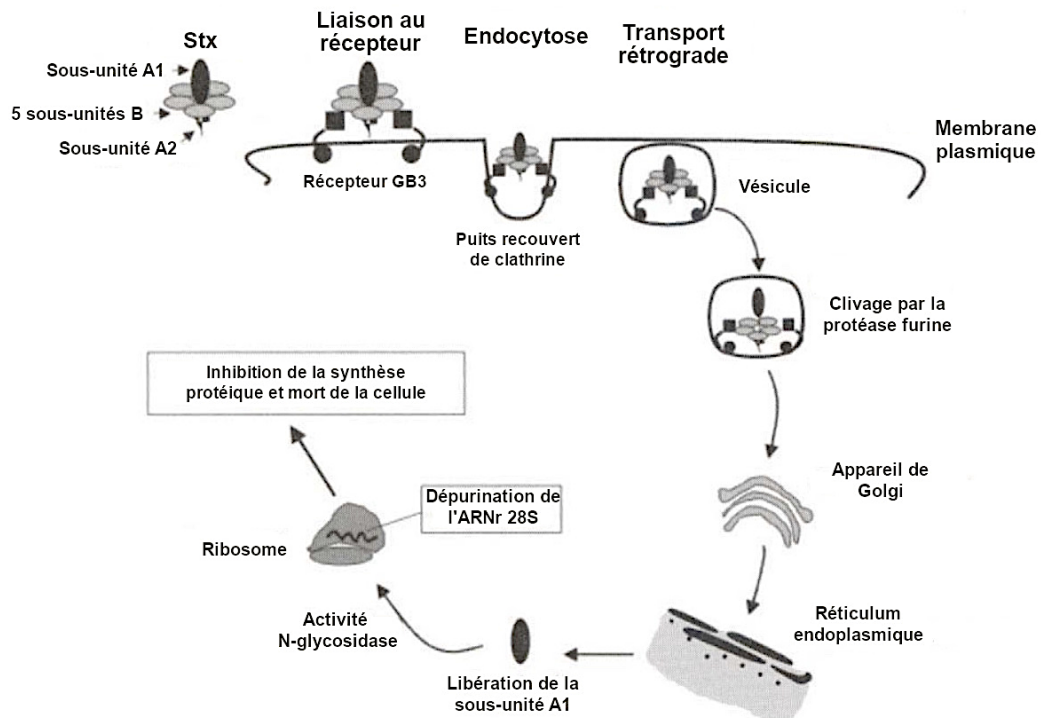
1.3.1. Les shigatoxines

Les shigatoxines représentent le facteur de virulence principal des EHEC. Leur nom dérive d'une homologie avec la toxine de *Shigella dysenteriae* de type 1, d'où l'appellation de *Shiga-like toxin* que l'on peut parfois retrouver dans la littérature (Strockbine *et al.*, 1988). D'autres termes peuvent être également rencontrés, tels que vérotoxine ou vérocytotoxine en raison de sa toxicité sur les cellules Vero, cellules rénales du singe vert d'Afrique (Vernozy-Rozand, 2005).

Il existe deux grandes classes de shigatoxines : Stx1 et Stx2, qui possèdent respectivement 99 % et 56 % d'homologies au niveau de la séquence en acides aminés par rapport à la toxine de type 1 de *Shigella dysenteriae* (Strockbine *et al.*, 1988). Entre elles, ces deux branches de shigatoxines partagent une homologie de 55 à 60 %, elles disposent ainsi d'une structure et d'un mode d'action identiques mais se distinguent par leurs propriétés immunologiques (Vernozy-Rozand et Montet, 2001). En effet, Stx2 n'est neutralisée ni par les anticorps dirigés contre Stx1, ni par ceux dirigés contre la shigatoxine de *S. dysenteriae*, contrairement à Stx1 (Boerlin *et al.*, 1999). Ces deux grandes catégories de shigatoxines se distinguent également par des différences de toxicité *in vitro* et *in vivo* (ANSES, 2012). Stx1 possède trois sous-types (Stx1a, Stx1c et Stx1d) et Stx2, sept sous-types (de Stx2a à Stx2g) (Scheutz *et al.*, 2012). La distinction entre ces sous-types repose sur une activité biologique, une réactivité sérologique et une spécificité de liaison aux récepteurs différentes (Vernozy-Rozand, 2005). Les STEC peuvent produire soit un variant seul de Stx1 ou de Stx2, soit à la fois Stx1 et Stx2, soit une combinaison de sous-types de Stx2. Les souches d'*E. coli* qui détiennent Stx2 sont associées à des maladies plus sévères (dont le SHU) que les souches qui possèdent Stx1 uniquement (Boerlin *et al.*, 1999; Luna-Gierke *et al.*, 2014).

Les shigatoxines sont des hétéropolymères de 70 kDA, composés d'une sous-unité A (pour Activité) liée de manière non-covalente à 5 sous-unités B (pour Binding) identiques (Vernozy-Rozand, 2005). Dans un premier temps, les sous-unités B, en forme d'anneau, se lient à la membrane cytoplasmique de la cellule cible. Pour cela, elles se fixent sur un récepteur glycolipidique : le globotriaosylcéramide Gb3, présent sur la surface des cellules endothéliales. Cela permet ensuite d'internaliser la toxine par un mécanisme classique d'endocytose. Ensuite, le complexe Stx/Gb3 migre par un transport rétrograde vers l'appareil de Golgi puis le réticulum endoplasmique. À ce moment-là, la réduction d'un pont disulfure scinde la sous-unité A en deux parties : A1 et A2. Cela a pour effet d'activer la partie A1, qui, transloquée dans le cytosol, atteint le ribosome, sa cible. Le peptide A1 exerce son activité N-glycosidase et retire un résidu adénine de l'ARN ribosomique 28S, bloquant la sous-unité 60S du ribosome et inhibant par ce biais la synthèse protéique, ce qui conduit finalement à la mort cellulaire (Vernozy-Rozand, 2005; Melton-Celsa, 2014) (Figure 2). La surface des cellules endothéliales humaines de l'intestin, du parenchyme rénal et du système nerveux central sont particulièrement riches en récepteurs Gb3 ce qui fait de ces cellules la cible privilégiée des shigatoxines (Chan et Ng, 2016).

Figure 2 : Structure et mode d'action des shigatoxines (adaptée de Puente and Finlay, 2001)



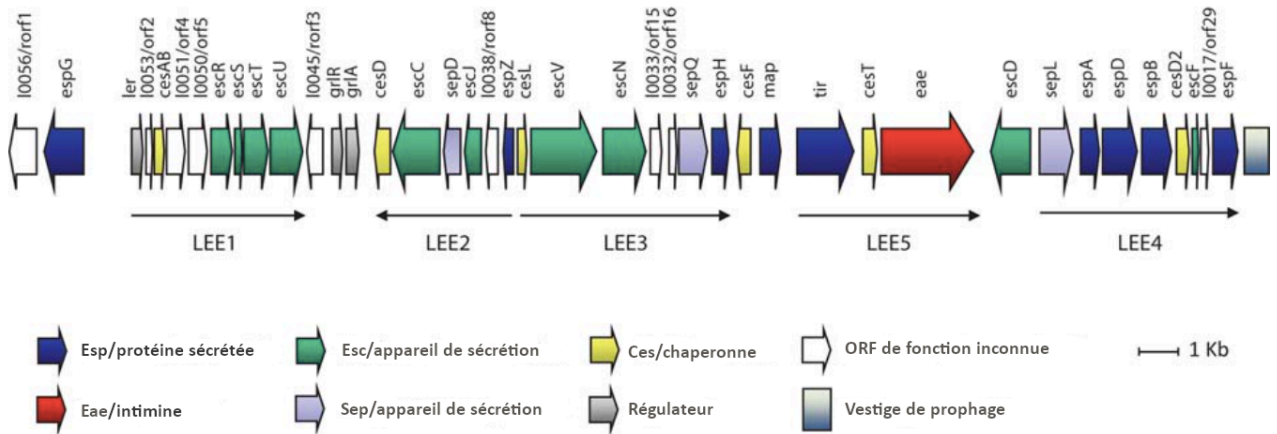
Il est important de souligner que les gènes *stx*, à l'origine de la formation de shigatoxines, sont localisés dans le génome de bactériophages λ , qui sont présents chez leur hôte sous la forme de prophages intégrés au chromosome bactérien. Les toxines sont produites et libérées sous l'effet d'une induction de ces prophages, qui peut être spontanée ou répondre à un stimulus physique ou chimique. Certains antibiotiques peuvent induire l'entrée en phase lytique associée à la production (transcription + traduction) des shigatoxines (Krüger et Lucchesi, 2015; ANSES, 2023).

1.3.2. Le locus d'effacement des entérocytes (LEE)

Le locus d'effacement des entérocytes (LEE) est un îlot de pathogénicité de 35 000 pb présent dans le génome des EHEC, mais également partagé avec les EPEC, pathovar chez qui il a été identifié en premier (McDaniel *et al.*, 1995). Le LEE est organisé en cinq opérons qui contiennent des gènes codant des protéines d'adhésion (Figure 3).

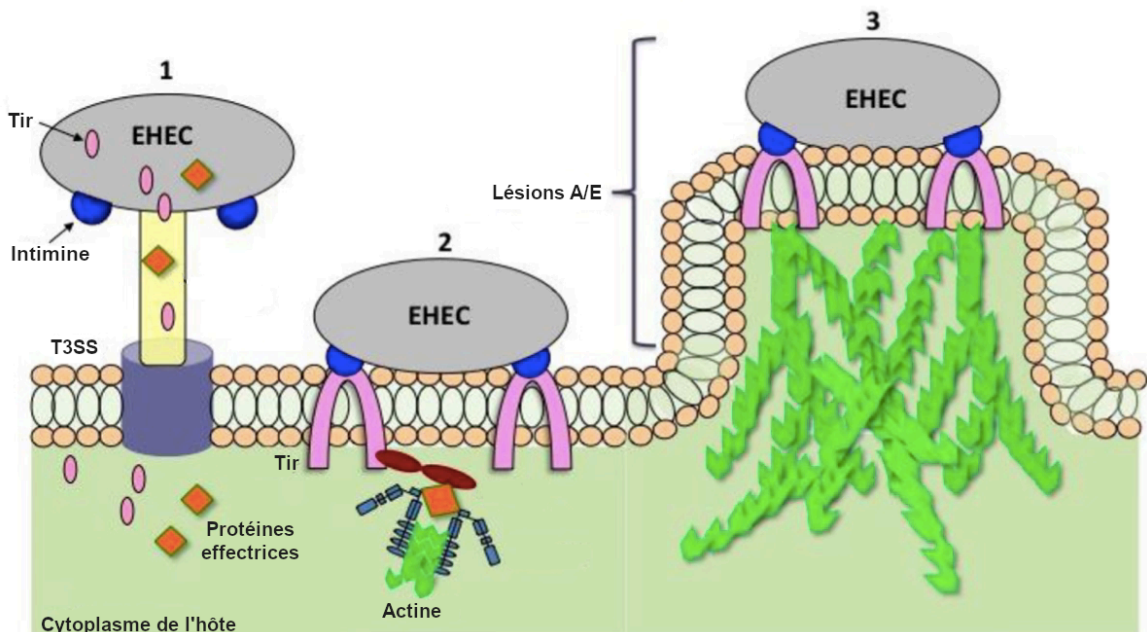
Parmi les protéines codées par le LEE, nous pouvons relever notamment celles formant le système de sécrétion de type III (T3SS), les protéines effectrices injectées dans la cellule hôte par ce même système et enfin une adhésine de la membrane externe appelée intimine, codée plus spécifiquement par le gène *eae* (Stevens et Frankel, 2014).

Figure 3 : Organisation génétique du locus d'effacement des entérocytes d'*E. coli* O157:H7 (adaptée de Stevens and Frankel, 2014)



Le T3SS, en forme de seringue, injecte des protéines effectrices de la bactérie vers la cellule cible. Parmi ces protéines, figure le récepteur spécifique de l'intimine (Tir) qui s'insère sur la membrane cellulaire de l'hôte (Gaytán *et al.*, 2016). Ainsi, l'attachement étroit entre les EHEC et la surface des entérocytes est médié par les interactions entre l'intimine, située sur la membrane externe de la bactérie et son récepteur Tir, qui se trouve sur la cellule cible (Figure 4). D'autres protéines sécrétées permettent la polymérisation et la réorganisation des protéines du cytosquelette de la cellule hôte, formant ainsi une structure en forme de piédestal sur laquelle la bactérie se fixe solidement (Nguyen et Sperandio, 2012).

Figure 4 : Mode d'action du système de sécrétion de type 3 (T3SS) et formation des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) (adaptée de Nguyen and Sperandio, 2012)



L'interaction entre les EHEC et les parois intestinales ainsi établie induit un effacement des microvillosités de l'épithélium intestinal au niveau de la zone de contact. Cela forme les lésions A/E, localisées au côlon et au caecum, permettant aux EHEC « typiques » de coloniser l'intestin.

1.3.3. Autres facteurs de virulence

Des adhésines différentes de l'intimine ont également été mises en évidence, que ce soit chez les souches d'EHEC « typiques » ou « atypiques ». Ces dernières ne possédant pas le locus LEE, ces potentielles adhésines leur permettent de coloniser la muqueuse intestinale en l'absence d'intimine.

Certaines de ces adhésines sont fixées sur les *fimbriae*, fins filaments protéiques développés à la surface de la bactérie, il s'agit d'adhésines fimbriaires. Parmi elles, on retrouve par exemple le LPF (long polar fimbriae), d'abord caractérisé chez *Salmonella*. Des adhésines non fimbriaires, également exposées à la surface des bactéries, sont aussi décrites, telles que l'autotransporteur SAA (McWilliams et Torres, 2014).

Parfois, les souches d'autres pathotypes acquièrent le gène *stx*, ces souches sont alors capables de produire des shigatoxines tout en conservant les facteurs de colonisation propres à leur pathotype (ANSES, 2023). Cela a par exemple été le cas pour la souche d'EAEC responsable des épidémies de 2011 en Allemagne et en France. En effet, ces EAEC de sérotype O104:H4 se caractérisaient par la production de Stx en plus de posséder le mécanisme d'adhésion caractéristique des EAEC. Ce mécanisme repose sur la présence de pili AAF (aggregative adherence *fimbriae*), dont l'expression est régulée par le gène *aggR*.

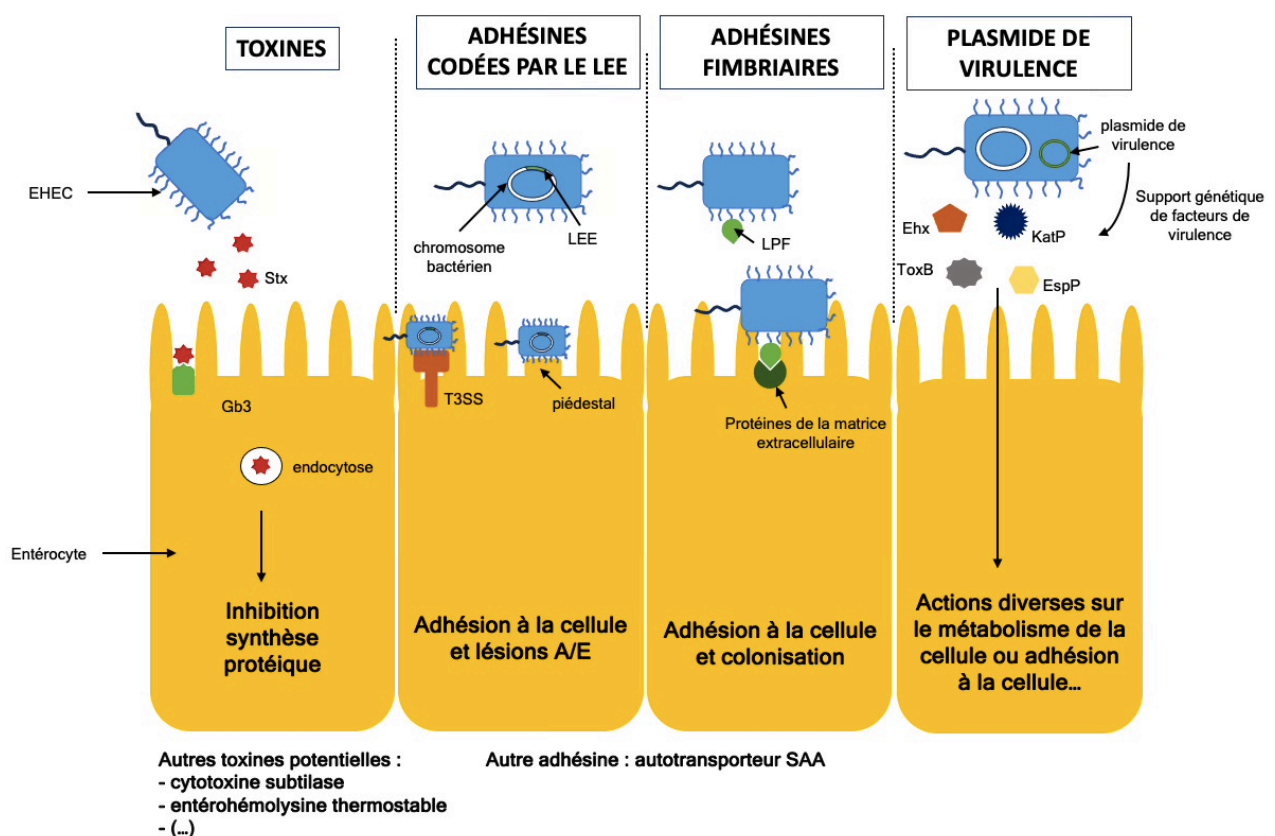
En dehors des shigatoxines, d'autres toxines sont mentionnées dans la littérature chez les EHEC. Ainsi, on retrouve par exemple l'entérohémolysine (Ehx), une toxine formant des pores dans les membranes des érythrocytes et codée par le gène *hlyA*, la cytotoxine subtilase (SubAB) qui clive un régulateur de réponse au stress ou encore l'entérotoxine thermostable EAST1 (Croxen *et al.*, 2013; Gouali et Weill, 2013).

Quasiment toutes les souches d'EHEC portent un grand plasmide contenant des gènes qui codent de nombreux facteurs de virulence. Chez les *E. coli* O157:H7, ce plasmide de virulence, nommé pO157 contient des gènes codant des facteurs de virulence comme l'entérohémolysine Ehx, la catalase peroxydase KatP, la sérine protéase EspP qui clive le facteur de la coagulation V ou encore l'adhésine putative ToxB. Les plasmides retrouvés dans les souches d'EHEC autres que O157 contiennent des gènes similaires à ceux retrouvés dans pO157, avec cependant quelques dissemblances (Karch, 2001; Croxen *et al.*, 2013).

Par ailleurs, de nombreux autres facteurs de virulence potentiels ont été décrits chez les EHEC : des systèmes de captation du fer tels que le sidérophore codé par l'îlot de pathogénicité HPI (High Pathogenicity Island), des protéines de fonctions inconnues telles que les effecteurs Nle (Non LEE-encoded effector), des uréases, des systèmes de résistance à l'acidité gastrique...

Le pouvoir pathogène des EHEC découle de ses facteurs de virulence dont les deux principaux sont les shigatoxines et le LEE (Figure 5). Les shigatoxines agissent en bloquant la synthèse protéique et entraînent ainsi la mort des cellules vasculaires endothéliales. Le LEE code des protéines permettant l'adhésion des EHEC à la cellule cible, ce qui induit des lésions d'attachement/effacement sur les cellules de la paroi intestinale. D'autres très nombreux facteurs de virulence existent, avec des actions diverses. Le nombre de facteurs identifiés ne cesse de s'accroître, bien que leur rôle dans la pathogénie des EHEC n'ait pas toujours été démontré à ce jour (AFSSA, 2010).

Figure 5 : Diversité des facteurs de virulence des EHEC (schéma personnel)



1.4. Réservoirs des *Escherichia coli* entérohémorragiques

Les EHEC, peuvent être hébergés par trois types d'hôtes : les hôtes réservoirs, les hôtes accidentels et les « culs-de-sac épidémiologiques » (Persad et LeJeune, 2014).

Les hôtes réservoirs sont capables de maintenir le portage des EHEC même en l'absence d'exposition et sont une source de transmission de la bactérie. Les ruminants domestiques, et plus spécifiquement les bovins, sont considérés comme le principal réservoir des EHEC (Persad et LeJeune, 2014). Ces animaux sont asymptomatiques dans la quasi-majorité des cas, en raison de l'absence de récepteurs vasculaires aux shigatoxines et ils participent grandement à la dissémination de la bactérie dans l'environnement (Pruimboom-Brees *et al.*, 2000; Gyles, 2007). En France, les principales souches pathogènes d'*E. coli* producteurs de shigatoxines sont retrouvées chez 5,6 % des veaux à l'abattoir, prévalence beaucoup plus élevée que chez les bovins adultes

(1,8 % chez les vaches laitières, 1,0 % chez les vaches allaitantes) (Bibbal *et al.*, 2015; Auvray *et al.*, 2023). Cela souligne l'importance du rôle de réservoir que constituent les jeunes bovins. Les petits ruminants, en particulier les ovins et caprins, jouent aussi un rôle en tant que réservoir d'EHEC, par exemple dans des pays comme l'Australie, la Norvège ou encore la France (Gyles, 2007; Brandal *et al.*, 2012; Raynaud *et al.*, 2018). D'autres ruminants, tels que les cerfs, les élans, les buffles, les bisons ont aussi été décrits comme réservoirs d'EHEC (Persad et LeJeune, 2014).

Les hôtes accidentels sont sujets à la colonisation par la bactérie et peuvent la transmettre, mais en absence d'exposition continue, ils ne maintiennent pas la colonisation. Parmi eux, figurent notamment les chevaux, les chiens, les lapins, les oiseaux et les porcs. Ces derniers possèdent des récepteurs vasculaires spécifiques de la toxine Stx2e et peuvent développer la maladie de l'œdème (Gyles, 2007; Persad et LeJeune, 2014).

Enfin, les « culs-de-sac épidémiologiques » peuvent héberger l'agent pathogène mais sont incapables de le transmettre naturellement. Des *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines ont ainsi déjà été découverts chez des poissons et fruits de mer (Gourmelon *et al.*, 2006). Cette découverte met en exergue le risque de contamination chez l'humain lors de consommation de fruits de mer ou poisson crus ou trop peu cuits.

De très nombreux hôtes peuvent héberger les EHEC, mais les ruminants demeurent le réservoir principal de ces bactéries, en particulier les jeunes bovins. Ces animaux n'expriment quasiment jamais de signes cliniques, facilitant d'autant plus la transmission de la bactérie à d'autres hôtes ou son excrétion dans l'environnement.

1.5. Pathogénicité des EHEC

La pathogénicité des EHEC est surtout connue et documentée chez l'Homme, et cela fera l'objet d'un développement plus important dans la partie 2.4. En revanche, les EHEC passent bien souvent inaperçus dans les autres espèces. En effet, les bovins par exemple sont quasiment toujours asymptomatiques lors d'infection par un EHEC, contrairement à d'autres pathovars (Kolenda *et al.*, 2015). Ceci s'expliquerait notamment par l'absence de récepteurs Gb3 dans l'appareil digestif ou rénal des bovins, empêchant ainsi la liaison des toxines Stx aux cellules et donc l'apparition de signes cliniques (Pruimboom-Brees *et al.*, 2000).

Cependant, plusieurs études ont déjà décrit des signes cliniques chez les bovins associés à une infection par des EHEC. Par exemple, Dean-Nystrom *et al.* (1997) ont décrit des signes de diarrhée et d'entérocologie chez des veaux nouveau-nés auxquels ils avaient inoculé des souches d'EHEC O157:H7. Ces signes cliniques étaient aussi accompagnés de lésions A/E dans l'intestin grêle comme dans le gros intestin. La souche d'EHEC O157:H7 est également plus souvent retrouvée chez des veaux diarrhéiques que chez des veaux sains, et ce de façon particulièrement plus marquée chez des veaux nouveau-nés de moins de deux semaines (Kang *et al.*, 2004). Bien que d'après cette dernière étude, les EHEC O157 semblent être une cause possible de pathogénicité chez des veaux naturellement infectés, la présence d'autres pathogènes entériques n'est pas à écarter puisqu'elle n'a pas été investiguée (Kang *et al.*, 2004).

Plus récemment, Habets *et al.* (2021) ont mis en évidence la présence d'EHEC O80:H2 chez des veaux qui présentaient de la diarrhée et/ou une septicémie. De plus, le séquençage de ces EHEC a démontré qu'ils étaient reliés génétiquement à des EHEC O80:H2 isolés chez des humains, ce qui identifierait les veaux comme étant une source potentielle de contamination de l'Homme par

ces EHEC. Des travaux approfondis sont cependant nécessaires pour confirmer cette hypothèse sur ce sérotype émergent en France (Habets *et al.*, 2021).

La toxémie liée à la production de shigatoxines induit rarement des signes cliniques chez les animaux, même en dehors de la filière bovine. Une seule affection est régulièrement rapportée dans la littérature, spécifique des porcs : la maladie de l'œdème (AFSSA, 2003). Les souches de STEC les plus fréquemment associées à cette maladie appartiennent aux sérogroupes O138, O139, O141 et O147 (Fairbrother et Nadeau, 2019). Plus précisément, les STEC impliquées dans la maladie de l'œdème produisent une shigatoxine particulière : Stx2e, qui se lie préférentiellement à un récepteur différent de Gb3, le récepteur Gb4, présent chez le porc (AFSSA, 2003; Fairbrother et Nadeau, 2019). La colonisation de l'intestin grêle est rendue possible par la présence des adhésines fimbriaires F18 (DebRoy *et al.*, 2009). La maladie de l'œdème touche plus particulièrement les porcs dans les semaines suivant le sevrage. Elle se caractérise par un manque d'appétit, un œdème des paupières, du front, de la sous-muqueuse de l'estomac et du mésocôlon, de l'ataxie, de l'incoordination, ou encore une altération des vocalisations et un stress respiratoire en raison d'un œdème du système respiratoire. Dans certains cas, les cochons sont couchés sur le flanc et meurent (Fairbrother et Nadeau, 2019; Berger *et al.*, 2023).

Les EHEC sont, dans la très grande majorité des cas, asymptomatiques chez les animaux. Chez les veaux, de rares cas de diarrhée et de septicémie associés à des EHEC ont été décrits dans la littérature. Dans les autres espèces animales, seul le porc semble être sensible à la toxémie induite par des shigatoxines lors de maladie de l'œdème, causée par le variant Stx2e.

1.6. Résistance des EHEC et survie dans l'environnement

Au-delà de leur présence au sein de réservoirs animaux, les EHEC sont aussi retrouvés dans l'environnement, où leur survie dépend des conditions environnementales. Parmi les EHEC, *E. coli* O157:H7 est la souche qui a été la plus investiguée dans les études sur la résistance aux facteurs environnementaux.

La température optimale pour la croissance d'*E. coli* O157:H7 se situe à 40°C, température proche de celle retrouvée dans le tube digestif des animaux à sang chaud. Cette bactérie peut tout de même survivre à des températures plus extrêmes, avec une température minimale de croissance estimée à 6°C et une température maximale estimée à 45,5°C (Nauta et Dufrenne, 1999).

La disponibilité en eau est un autre facteur déterminant dans la survie d'*E. coli* dans l'environnement. L'activité de l'eau (a_w) optimale pour obtenir la croissance d'*E. coli* O157:H7 est de 0,995 (ICMSF, 1996), et d'après une étude menée par Nauta et Dufrenne (1999), sous une a_w de 0,952 en moyenne, la croissance de cette bactérie est inhibée.

Néanmoins, ces valeurs sont obtenues en conditions de culture en laboratoire, et diffèrent des conditions réelles d'élevage. Par exemple, Williams *et al.* (2005) ont étudié la survie d'*E. coli* O157:H7 sur des barrières ou des portes issues d'élevage en fonction du matériau, de la température et de l'humidité. Ils ont pu mettre en évidence que *E. coli* O157:H7 peut survivre plus de 28 jours sur ces surfaces agricoles, avec une survie significativement plus longue sur des surfaces en bois qu'en métal galvanisé. De plus, la quantité de bactéries diminue plus vite lorsque le matériel est placé dans des incubateurs réfrigérés à 20°C que sur du matériel maintenu à 5°C. Ce résultat est influencé par le maintien de la barrière ou de la porte dans des conditions humides

par application d'eau de pluie artificielle : les conditions humides permettent de prolonger la survie des bactéries par rapport à un environnement sec (Williams *et al.*, 2005).

Par ailleurs, en conditions d'élevage, *E. coli* O157:H7 peut être contenu dans des fèces de bovins et une nouvelle fois, cela peut amener à des valeurs un peu différentes de celles obtenues en laboratoire. En effet, *E. coli* O157:H7 survit plus longtemps dans des fèces de bovins maintenues à 5°C que dans des fèces à 22°C ou 37°C (Wang *et al.*, 1996). Une meilleure survie peut s'expliquer à la fois par le ralentissement du métabolisme de micro-organismes autochtones (antagonistes ou compétitifs) lors de températures plus faibles, mais également par l'assèchement des fèces qui est plus important à des températures plus élevées (Fremaux *et al.*, 2008). Effectivement, l' a_w est plus faible à 20°C ou à 37°C ($a_w < 0,5$) qu'à 5°C ($a_w = 0,98-0,99$) (Wang *et al.*, 1996). Cela vient renforcer le fait que l' a_w est un facteur essentiel à la survie d'*E. coli* O157:H7. En conditions de laboratoire, *E. coli* O157:H7 peut croître approximativement à un pH maximal de 9,4 et sa croissance est optimale à un pH d'environ 6,9 (AFSSA, 2003). Par ailleurs, Molina *et al.* (2003) ont mis en évidence que les STEC supportent assez bien un environnement acide avec plusieurs souches de STEC capables de survivre à un pH de 2,5-3,0 pendant plus de 4 heures.

Outre leur faculté à survivre dans diverses conditions, certains *E. coli* ont aussi la capacité de former des biofilms, qui sont des amas de bactéries entourées d'une matrice extra-cellulaire autoproduite, leur permettant de persister dans l'environnement. Ainsi, de nombreuses souches d'EHEC sont capables de former des biofilms sur des surfaces variées que l'on peut retrouver dans les usines de transformation de viande telles que l'acier inoxydable, le polystyrène et le verre (Adator *et al.*, 2018; Nesse *et al.*, 2014). De plus, Cooper *et al.* (2007), ont mis en évidence que des STEC peuvent être retrouvés au sein de biofilms dans un milieu aqueux, en l'occurrence dans une rivière à proximité d'une ferme. En revanche, en dépit de la présence démontrée des EHEC au sein d'élevages, que ce soit dans le fumier ou dans les sols, leur capacité à former des biofilms dans de tels milieux n'a pas encore été explorée en détail (Vogeleer *et al.*, 2014). Seules quelques études évoquent la présence de biofilms d'*E. coli* O157:H7 sur des auges ou des abreuvoirs (Crump *et al.*, 2002; Plauche, 2006). Plusieurs caractéristiques des EHEC semblent participer à la formation de biofilms : la présence d'adhésines telles que la protéine curli ou les *fimbriae* de type 1 (uniquement chez les souches non-O157) pour l'étape d'attachement, d'autotransporteurs comme EhaA, EspP, Cah ou encore Ag43 et d'exopolysaccharides comme la cellulose pendant la phase de maturation (Biscola *et al.*, 2011; Vogeleer *et al.*, 2016).

Les biofilms permettent aux bactéries d'être plus résistantes à la dessiccation, aux rayons UV ou encore à l'utilisation de désinfectants. Par exemple, un traitement aux rayons UV seul n'est pas efficace pour réduire significativement la population d'un biofilm de *E. coli* O157:H7, en revanche, ce traitement couplé à une chaleur sèche de 50°C permet d'éliminer efficacement ces pathogènes (Bae et Lee, 2012). De plus, des désinfectants à base d'ammonium quaternaire ou d'acide peroxyacétique se montrent moins efficaces sur des biofilms d'EHEC que sur des bactéries planctoniques (Fouladkhah *et al.*, 2013). Il a aussi été mis en évidence que l'expression de la protéine curli par les souches d'EHEC est corrélée à une meilleure tolérance à l'ammonium quaternaire ainsi qu'à l'eau de javel (Wang *et al.*, 2012). Néanmoins une étude interne à la filière laitière a permis de montrer l'absence de détection d'EHEC sur des surfaces d'atelier de transformation ayant traité du lait contaminé par des souches EHEC et utilisant des méthodes usuelles de nettoyage-désinfection (CNIEL, 2011).

De nombreuses souches d'EHEC sont ainsi capables de former un biofilm avec un potentiel variable, qu'il s'agisse d'EHEC O157 ou non O157 (Vogeleer *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016). En effet, plusieurs études ont démontré que la capacité à former un biofilm est fortement dépendante de la souche d'EHEC plutôt que du sérotype ou même de la présence de gènes de virulence comme l'intimine ou les toxines (Wang *et al.*, 2012; Picozzi *et al.*, 2017). Cette faculté peut se révéler problématique, notamment lorsque ces biofilms formés par *E. coli* sont présents sur les surfaces d'industries de transformation de la viande, participant ainsi à la contamination croisée des produits (Giaouris *et al.*, 2014).

Les EHEC parviennent à persister dans l'environnement grâce notamment à une adaptabilité à diverses températures et à des environnements acides et à la capacité à former des biofilms de certaines souches. Par conséquent, *E. coli* O157:H7 peut survivre 2 semaines à 10 mois dans les environnements aquatiques (Chekabab *et al.*, 2013), 2 mois à plus de 8 mois sur des sols après épandage de fumier (Franz *et al.*, 2011) et 2 mois dans des abreuvoirs (Avery *et al.*, 2008). Enfin, plus généralement, les STEC sont capables de persister pendant 2 mois dans les fèces de bovins et leur présence reste détectable dans le sol jusqu'à au moins 20 cm verticalement (Fremaux *et al.*, 2010).

2. Les infections à *Escherichia coli* entérohémorragiques chez l'Homme

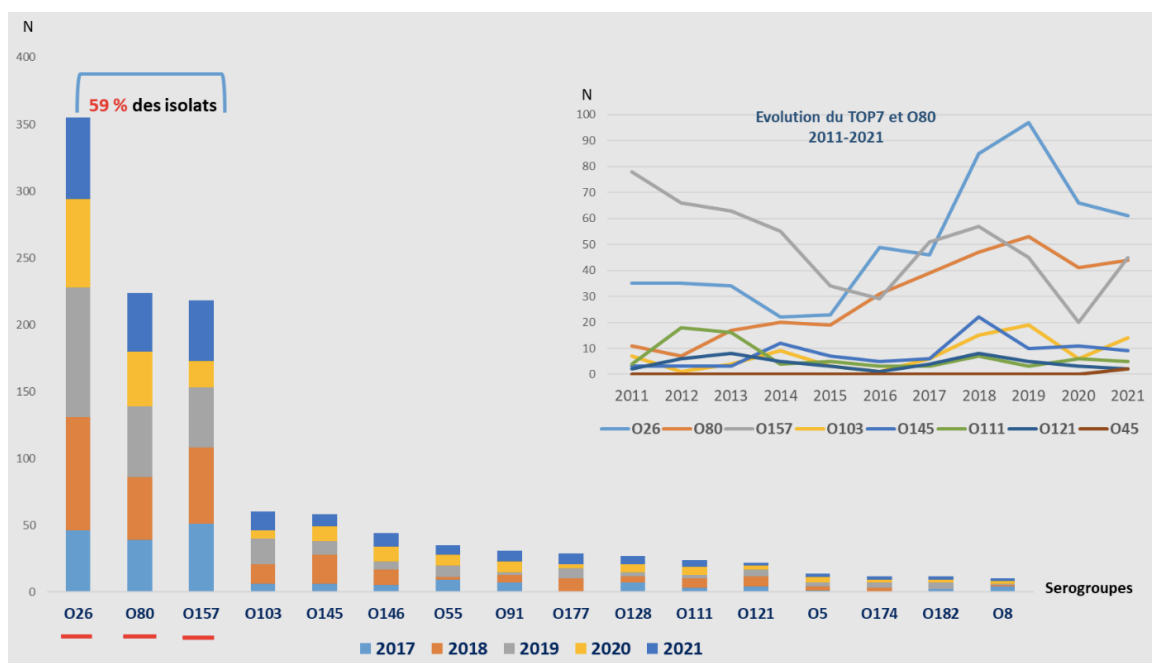
Les *Escherichia coli* entérohémorragiques constituent un danger pour l'Homme, en raison de leur fort potentiel pathogène et de leur capacité de survie et de résistance dans l'environnement. Ils représentent par conséquent une véritable menace pour le secteur de la santé publique.

2.1. *Escherichia coli* entérohémorragiques responsables d'infections chez l'Homme

Des réseaux de surveillance des infections aux EHEC sont mis en place à diverses échelles. A l'échelle nationale, ce réseau est fondé sur la surveillance du SHU chez les enfants de moins de 15 ans dans des services de néphrologie pédiatrique. À l'échelle européenne, le système de surveillance européen (TESSy) collecte, analyse et communique les données des 27 membres de l'Union Européenne sur ce type de maladie. Ces réseaux permettent par exemple de répertorier le sérotype des EHEC impliqués dans des infections chez l'Homme.

En France, entre 2017 et 2021, les sérotypes O26, O80 et O157 sont ceux le plus souvent isolés parmi les souches de EHEC, représentant à eux seuls 59 % des isolats sur cette période (Figure 6). En comparaison avec les différents sérotypes du « top 7 », nom donné aux sérotypes majeurs, la part des sérotypes O26 et O80 a globalement augmenté sur la période allant de 2011 à 2021. En revanche, la proportion d'isolats du sérotype O157 a diminué sur cette même période (ANSES, 2023).

Figure 6 : 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 (ANSES, 2023)



À l'échelle européenne, le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC, 2022) rapporte qu'en 2021, les cinq sérogroupes les plus souvent identifiés dans des cas d'infection à EHEC sont O157 (15,1 %), O26 (14,7 %), O103 (8,4 %), O145 (4,6 %) et O146 (3,7 %), d'après les données recueillies auprès de 23 pays de l'Union Européenne. En 2021, ces cinq sérogroupes représentaient 46,5 % du nombre total d'infections causées par un EHEC dont le séro groupe a été identifié.

Dans le reste du monde, des sérogroupes assez similaires sont identifiés lors des analyses sur les infections à EHEC. Aux États-Unis, les infections dues à des EHEC « non O157 » sont en augmentation, O111 et O26 représentant à eux-seuls 66 % des sérogroupes responsables des épidémies dues à des EHEC « non O157 » entre 1990 et 2010. Ils sont suivis par O45, O103, O121, O145, O104 et O165 (Luna-Gierke *et al.*, 2014). Malgré tout, O157 reste un séro groupe d'importance dans les infections à EHEC aux États-Unis, bien que ces dernières années (2014-2015), le nombre d'infections liées au séro groupe O157 soit significativement plus faible que les années précédentes (Torres, 2017).

La situation est assez similaire au Japon, avec le séro groupe O157 prédominant dans les infections à EHEC mais toutefois en baisse, et d'autres EHEC « non O157 » régulièrement retrouvés : O26, O111, O103, O121 et O145 notamment (Terajima *et al.*, 2014).

En Amérique du Sud, le séro type O157:H7 demeure le séro type le plus souvent associé aux infections à EHEC, les cas de SHU étant principalement localisés dans le sud du continent (Argentine, Uruguay, Chili) (Torres *et al.*, 2018). Plus particulièrement, en Argentine, les séro types les plus communément isolés chez des enfants atteints de SHU, après O157:H7 sont O145:NM (non motile), O26:H11, O113:H21 et O174:H21 (Carbonari *et al.*, 2022).

En Australie, le séro groupe O157 demeure le plus souvent isolé dans les infections à EHEC (58 %), suivi par O111 (13,7 %) et O26 (11,1 %) entre 2001 et 2009 (Vally *et al.*, 2012).

Enfin, le continent africain n'est pas non plus épargné par les infections à EHEC, avec la présence du sérotype O157 rapportée en Afrique du Sud, en Eswatini, en République centrafricaine, au Kenya, au Gabon, au Nigeria et en Côte d'Ivoire (Raji *et al.*, 2006).

Cependant, des rapports et revues récents affirment que le sérotype de STEC ne permet pas de prédire de façon fiable la pathogénicité des STEC et leur capacité à causer des maladies graves (FAO/WHO, 2018; EFSA BIOHAZ *et al.*, 2020). Ainsi, avec la prise en compte des dernières données épidémiologiques françaises et internationales, l'ANSES propose une nouvelle classification des souches de STEC en fonction de leur potentiel de virulence (Tableau 1) (ANSES, 2023). En effet, les souches ont été classées en quatre groupes en fonction de leur capacité à induire des formes cliniques graves, en l'occurrence un SHU ou une diarrhée sanglante. Le critère retenu pour cette classification est la valeur prédictive positive (VPP) du SHU et de la diarrhée sanglante.

Il ressort de cette classification que les souches de STEC détenant le sous-type *stx2a* et/ou *stx2d* et les gènes d'adhésion *eae* ou *aggR* doivent être considérées comme celles présentant le risque le plus élevé de maladie et avec le plus fort potentiel de provoquer un SHU (ANSES, 2023).

Les gènes *aggR* et *aaiC* apparaissant dans cette nouvelle classification sont des gènes typiquement utilisés comme marqueurs du pathotype EAEC. Le gène *aaiC* code une protéine sécrétée par les EAEC, néanmoins son rôle et sa participation à la virulence restent encore obscurs (ANSES, 2023).

Tableau 1 : Nouvelle classification des souches STEC en fonction de leur potentiel de virulence (ANSES, 2023)

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

¹VPP : valeur prédictive positive. Capacité des souches à induire une forme clinique

² 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

³ Variants *stx* seuls ou en combinaison

⁴ Ces souches sont majoritairement impliquées dans les cas de SHU adulte (en majorité les sérogroupes O91, O171, O174 et O148)

Les infections à EHEC ne sont pas un problème uniquement en France, mais en réalité un enjeu international. Malgré des particularités propres à chaque pays, des sérogroupes comparables sont bien souvent en cause dans ce type d'infections : O157, O26, O103, O145, O111, O45 et O121, constituant ce qu'on appelle « le top 7 ». Ces dernières années, en France, les sérogroupes O26 et O80 ont émergé et prennent de plus en plus d'ampleur. Néanmoins, des études récentes ont mis en évidence que le potentiel de virulence d'une souche EHEC ne repose pas sur son sérotype mais plutôt sur le sous-type de shigatoxine et la présence de certains gènes d'adhésion.

2.2. Épidémiologie des infections à EHEC

En France, une étude rétrospective a mis en évidence que 86 % des cas de SHU concernant des enfants de moins de 15 ans hospitalisés entre 1993 et 1996 étaient liés à une infection par des EHEC (Decludt *et al.*, 2000). Ce constat a motivé depuis 1996 la création d'un réseau de surveillance des infections à EHEC, fondé sur la détection des SHU chez les enfants de moins de 15 ans. En

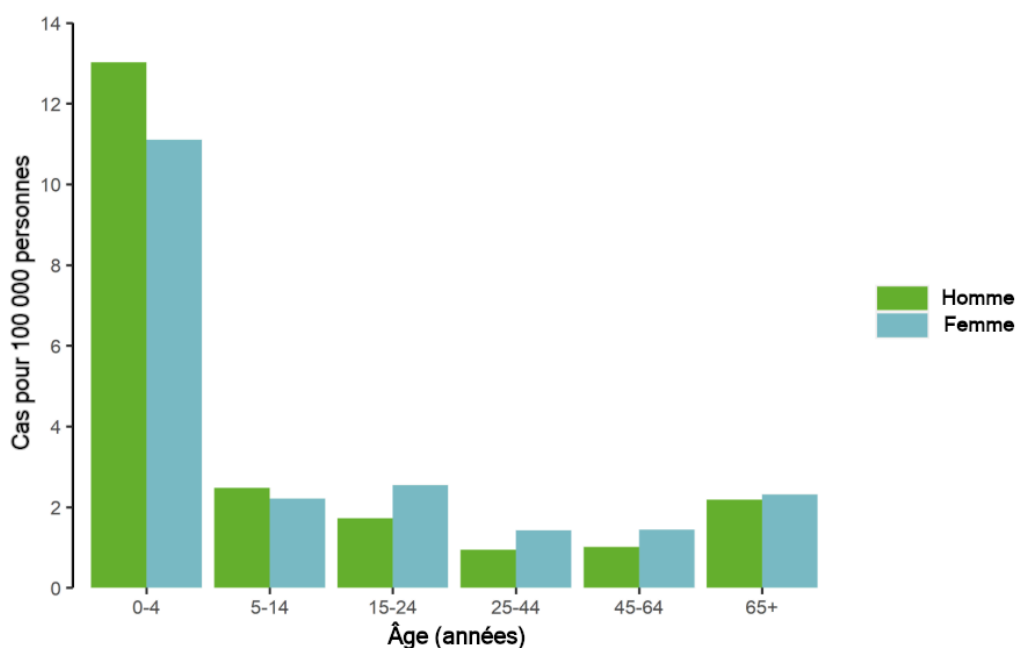
effet, en France la recherche de STEC dans les selles n'est pas réalisée en routine dans les laboratoires, il était donc nécessaire de mettre en place un moyen de surveillance des infections à EHEC (Bruyand *et al.*, 2019). Cette surveillance, mise en place par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), regroupe un réseau de 32 services de néphrologie pédiatrique et de pédiatrie répartis sur tout le territoire métropolitain (Santé Publique France, 2023).

En France, l'incidence annuelle du SHU pédiatrique avoisine un cas pour 100 000 enfants de moins de 15 ans, avec plus précisément une incidence de 1,12 cas pour 100 000 enfants en 2021 (Santé Publique France, 2022a). Elle est cependant en nette augmentation en 2022, avec une incidence atteignant 2,22 cas pour 100 000 enfants (Santé Publique France, 2023). Les services pédiatriques sont les plus concernés par le SHU étant donné qu'il se manifeste aux âges extrêmes de la vie, et en particulier chez le jeune enfant. Effectivement, l'incidence du SHU atteint son maximum chez les enfants âgés de moins de 3 ans avec 4,30 cas pour 100 000 enfants en 2021, puis cette incidence diminue avec l'âge (Santé Publique France, 2022a). Le constat est identique à l'échelle européenne avec la classe d'âge de 0 à 4 ans représentant quasiment deux tiers des cas de SHU en 2021 (Figure 7) (ECDC, 2022).

La répartition entre hommes et femmes est plutôt équilibrée puisque 55 % de cas de SHU pédiatrique notifiés concernent des personnes de sexe féminin, et 45 % d'entre eux concernent des personnes de sexe masculin en 2021 en France (Santé Publique France, 2022a). L'incidence annuelle du SHU présente des disparités au sein même du pays, entre les diverses régions de France : les incidences les plus élevées en 2021 concernent la Bourgogne-Franche Comté (3,3 cas/100 000 enfants de moins de 15 ans) et l'Auvergne-Rhône-Alpes (2,2 cas/100 000 enfants de moins de 15 ans) (Santé Publique France, 2022a).

Enfin, les infections à EHEC sont caractérisées par un pic saisonnier, avec une incidence plus élevée en été jusqu'au début de l'automne (ECDC, 2022; Vally *et al.*, 2012). En 2021, ce pic a été particulièrement marqué au mois d'août en France (Santé Publique France, 2022a).

Figure 7 : Distribution des cas d'infections à STEC confirmés pour 100 000 personnes par âge et genre en Europe (adaptée de ECDC, 2022)



L'incidence du SHU est variable selon les classes d'âges et touche plus particulièrement les jeunes enfants, avec une incidence maximale pour les enfants âgés de 3 ans. Les infections à EHEC présentent aussi une recrudescence estivale.

2.3. Origine de la contamination humaine

Il existe différentes origines par lesquelles l'humain peut être contaminé par des EHEC. La voie de transmission demeure la voie oro-fécale qu'elle soit directe ou indirecte (Smith, 2014).

Parmi les sources de transmission directe, figurent le contact avec des animaux porteurs ou excréteurs ou avec leurs déjections (par exemple lors de visites de fermes pédagogiques), et le contact de personne à personne, notamment dans les crèches, écoles ou au sein même du domicile (Figure 8) (Rangel *et al.*, 2005; Bruyand *et al.*, 2018).

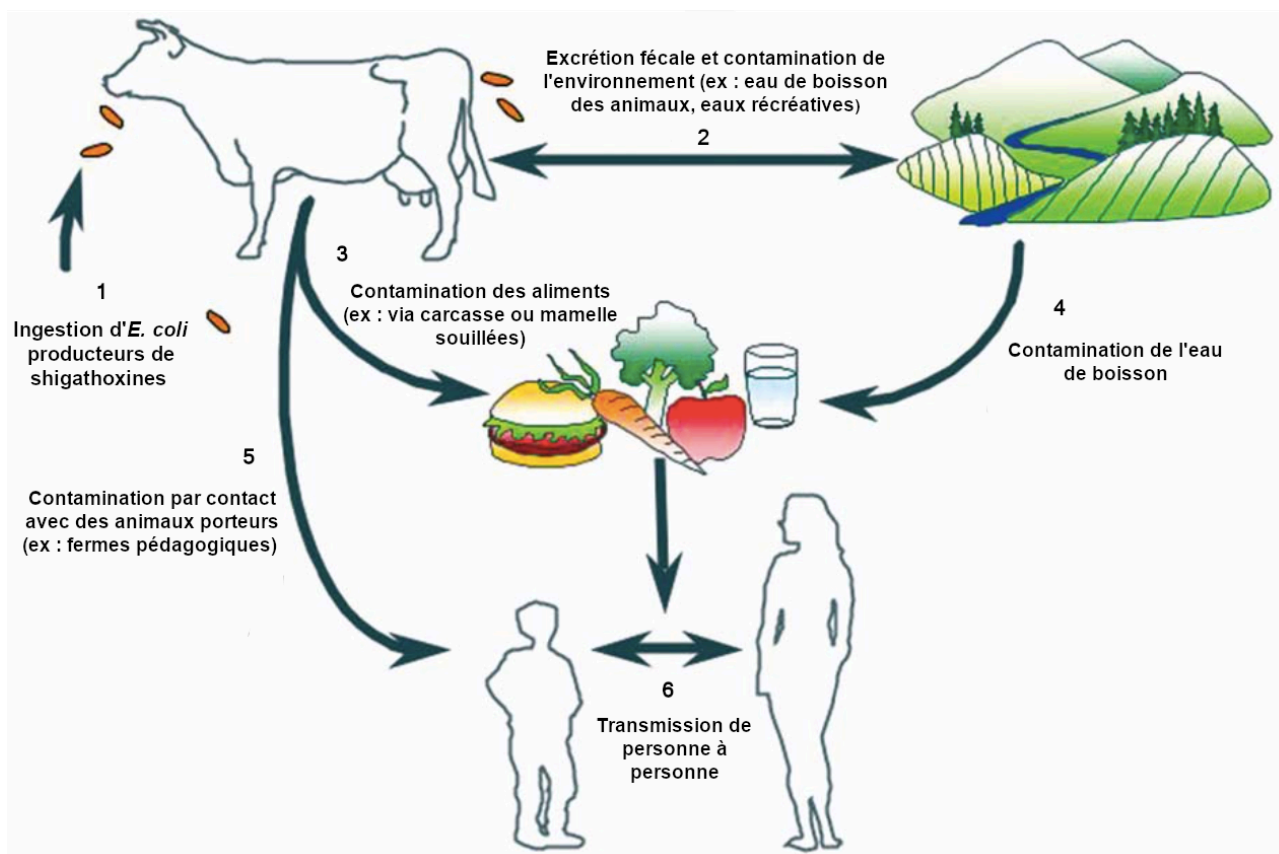
Cependant, les contaminations surviennent le plus souvent par voie indirecte, via la consommation d'aliments ou d'eau de boisson contaminés par un environnement souillé (ANSES, 2012). Les aliments concernés peuvent être d'origine animale, en particulier des produits carnés tels que la viande de bœuf principalement mais également la viande de porc ou encore de mouton (King *et al.*, 2009, 2010; Torso *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2022). La contamination de la viande intervient notamment à l'abattoir lors de la dépouille ou l'éviscération des animaux, et les produits carnés s'avèrent dangereux lorsqu'ils sont consommés crus ou insuffisamment cuits, comme par exemple sous forme de viande hachée ou dans les hamburgers (King *et al.*, 2010; ANSES, 2022). Par ailleurs, le lait ou les produits laitiers non pasteurisés peuvent aussi être mis en cause lors d'épidémies à EHEC, la contamination ayant lieu lors de la traite via des mamelles souillées (Mohammadi *et al.*, 2013; ANSES, 2022).

Par ailleurs, les aliments d'origine végétale tels que la salade, l'épinard, le poireau, le radis, les graines germées, les concombres crus ou les herbes aromatiques peuvent aussi représenter une voie de transmission des EHEC, la contamination ayant lieu lors de l'épandage de fumier ou d'effluents de ruminants sur les sols où les végétaux sont cultivés ou encore lors d'utilisation d'eau d'irrigation contaminée (EFSA, 2011; Shakerian *et al.*, 2016; ANSES, 2022; Santé Publique France, 2022b). D'autres aliments peuvent aussi être incriminés, comme la farine suspectée d'être à l'origine de la contamination de pizzas surgelées (Santé Publique France, 2023).

Enfin, l'ingestion d'eau peut aussi donner lieu à des infections à EHEC, notamment lorsqu'elle est souillée par des matières fécales d'animaux infectés (Probert *et al.*, 2017; Santé Publique France, 2021).

Plus généralement, Rangel *et al.* (2005) ont mis en évidence qu'aux États-Unis, les épidémies à *E. coli* O157:H7 sont le plus souvent rattachées à une origine alimentaire (52 %), puis à une transmission de personne à personne (14 %) et moins fréquemment à l'ingestion d'eau contaminée (9 %) ou à un contact avec un animal (3 %), sans compter qu'un nombre non négligeable d'épidémies (21 %) reste néanmoins d'origine indéterminée.

Figure 8 : Modes de transmission des EHEC (adaptée de Fairbrother and Nadeau, 2006)



Les EHEC se transmettent par voie oro-fécale. Les humains se contaminent principalement par l'ingestion d'aliments contaminés, mais aussi par de l'eau de boisson contaminée, par contact avec des animaux porteurs de la bactérie ou encore par contact de personne à personne. Parmi les aliments, le plus souvent incriminé dans les infections à EHEC reste la viande de bœuf crue ou insuffisamment cuite.

2.4. Physiopathologie des infections humaines à EHEC

Chez l'Homme, l'infection aux EHEC peut se manifester par des troubles variés, allant d'un portage asymptomatique à une colite hémorragique, aspect le plus fréquemment retrouvé (AFSSA, 2003; Bryan *et al.*, 2015). Cependant, cette affection peut se compliquer et évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) surtout chez l'enfant ou les personnes âgées, ou un purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) chez l'adulte (AFSSA, 2003).

Le SHU et le PTT sont deux formes possibles de microangiopathie thrombotique (MAT). La MAT se caractérise par des lésions des cellules endothéliales : gonflement et détachement de la membrane basale et formation de thrombi dans la microcirculation. Il s'ensuit une anémie hémolytique mécanique due à la fragmentation des érythrocytes dans la microvascularisation, une thrombocytopénie et une défaillance d'organe variable. L'affection qui en résulte dépend du lit vasculaire le plus atteint : atteinte des reins dans le cas du SHU, du cerveau pour le PTT (AFSSA, 2003; Thompson et Kavanagh, 2022).

L'ingestion de moins de 100 bactéries est suffisante pour provoquer une infection à EHEC (Bryan *et al.*, 2015). L'ingestion est suivie d'une période d'incubation d'une durée de trois à quatre

jours, le temps pour les bactéries de traverser l'estomac puis l'intestin grêle avant de parvenir aux cellules épithéliales du côlon, site de colonisation (Melton-Celsa *et al.*, 2012; Bryan *et al.*, 2015) (Figure 9). Celle-ci est rendue possible par les adhésines qui provoquent des lésions A/E, comme exposé précédemment (1.3.2.). Cela entraîne une diarrhée aqueuse, associée à des crampes abdominales, qui dans 90 % des cas évolue après deux à trois jours en une diarrhée sanglante pouvant être accompagnée de nausées, de vomissements ou de fièvre (Hunt, 2010; Bryan *et al.*, 2015; Cody et Dixon, 2019). Dans la majorité des cas, la diarrhée se résout au bout d'une semaine environ, autrement, celle-ci évolue en SHU dans 10 à 15 % des cas (Keir *et al.*, 2012). En effet, les EHEC libèrent ensuite des shigatoxines, qui traversent la bordure en brosse des cellules épithéliales et rejoignent la circulation sanguine, probablement grâce à des récepteurs globotriaosylcéramide Gb4 (Keir *et al.*, 2012). Par ailleurs, les toxines ne circulent pas librement dans le sang mais sont liées à des plaquettes, des polynucléaires neutrophiles, des monocytes ou des érythrocytes (Bruyand *et al.*, 2018; Thompson et Kavanagh, 2022). Ainsi transportés, les shigatoxines parviennent jusqu'aux organes possédant des récepteurs Gb3 (pour lesquels elles ont plus d'affinité que les récepteurs Gb4), tels que les reins, les intestins, le cerveau, le pancréas ou encore le cœur (Bruyand *et al.*, 2018; Thompson et Kavanagh, 2022). Comme détaillé dans le 1.3.1., les shigatoxines sont par la suite internalisées par endocytose, effectuent un transport rétrograde puis finissent par entraîner la mort de la cellule par apoptose.

Lorsque les shigatoxines atteignent les reins, leur action entraîne le gonflement et le détachement des cellules endothéliales et l'accumulation de débris dans l'espace sous-endothélial. Cela conduit finalement à une occlusion partielle ou complète des vaisseaux et à la formation de microthrombi dans les capillaires rénaux, synonyme de microangiopathie thrombotique (Keir *et al.*, 2012). Par conséquent, cela mène au SHU, défini par la triade composée d'une insuffisance rénale aiguë, d'une thrombocytopénie et d'une anémie hémolytique microangiopathique (Thompson et Kavanagh, 2022).

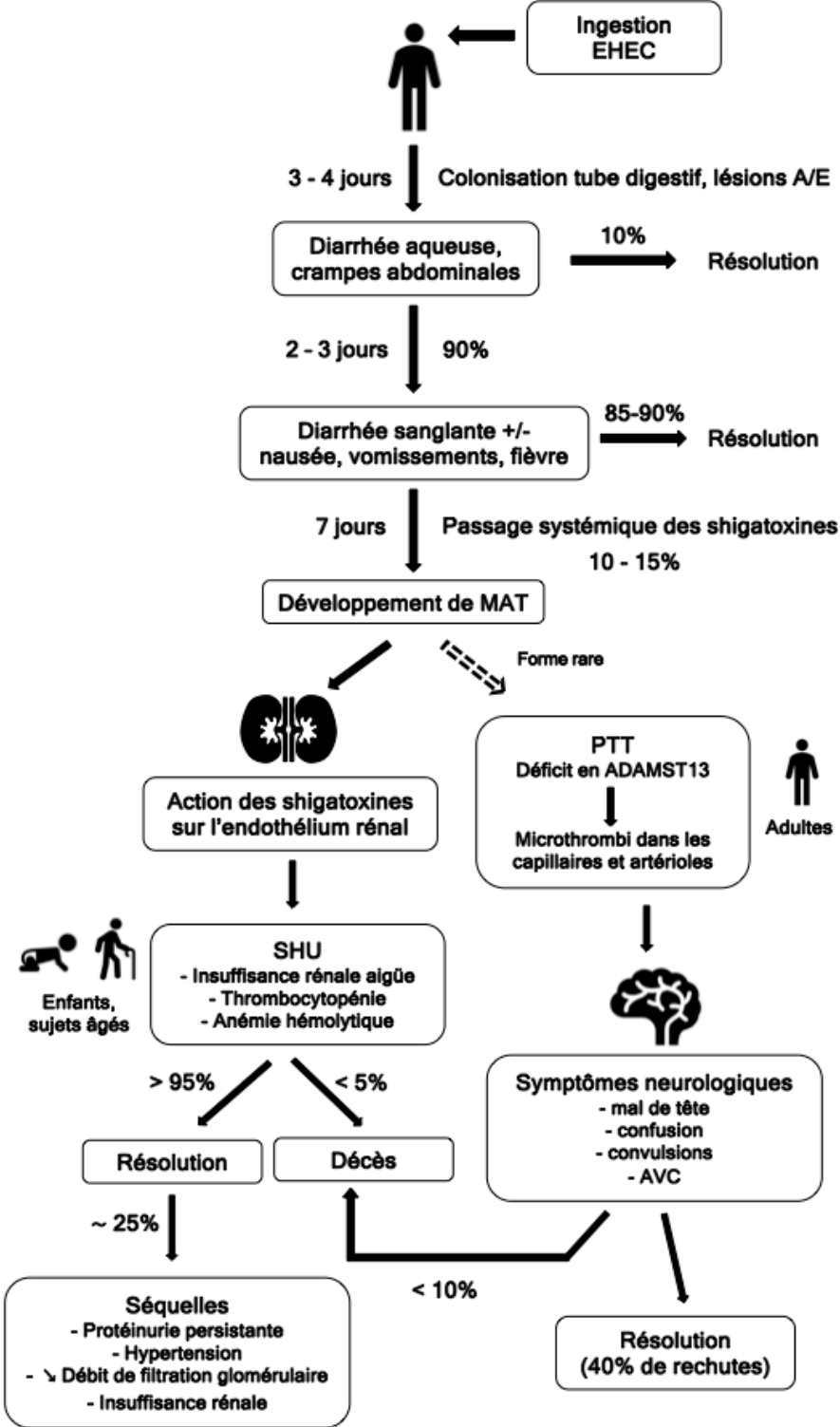
Les patients atteints du SHU présentent de la fatigue, un teint pâle, des vertiges, parfois des pétéchies ou des contusions, un souffle court, de l'œdème et un volume d'urine diminué (Bruyand *et al.*, 2018). En outre, environ 20 % des patients atteints d'un SHU développent des symptômes extra-rénaux, les plus communs étant neurologiques, mais il peut aussi s'agir de pancréatite, de nécrose ou de perforation intestinale, d'infarctus du myocarde ou de myocardiopathie ischémique (Gülhan et Özaltın, 2021).

Le taux de létalité du SHU suite à une infection à EHEC varie entre 3 et 5 % et ce syndrome laisse des séquelles à long-terme chez approximativement 25 % des survivants (Bryan *et al.*, 2015). Parmi ces séquelles figurent une protéinurie persistante, une hypertension, un débit de filtration glomérulaire diminué, une insuffisance rénale terminale ou chronique (Rosales *et al.*, 2012).

Hormis le SHU, une infection à EHEC peut provoquer un purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), forme rare de MAT plus fréquemment retrouvée chez l'adulte. Il se manifeste par un déficit enzymatique sévère d'une métalloprotéase (ADAMTS13) qui intervient dans le clivage du facteur de von Willebrand (Coppo et Veyradier, 2005; Thompson et Kavanagh, 2022). Ce dernier a un rôle indispensable lors de brèche vasculaire : il permet l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium et leur agrégation. Lors de PTT, l'absence de clivage résulte en la formation de grands multimères du facteur de von Willebrand qui s'accumulent ce qui mène finalement à la production de microthrombi au sein des capillaires et artérioles (Coppo et Veyradier, 2005; Thompson et Kavanagh, 2022). Les manifestations du PTT sont essentiellement neurologiques :

mal de tête, confusion, accident vasculaire cérébral ou encore convulsions. Il s'agit d'une urgence médicale avec un taux de létalité de 90 % sans traitement (Thompson et Kavanagh, 2022). Le taux de létalité tombe à moins de 10 % lorsque le patient est traité, avec 40 % de risques de rechute en moyenne 20 mois après l'épisode initial (Trachtman, 2013).

Figure 9 : Pathogénie des EHEC à l'origine de maladie chez l'Homme (schéma personnel)



Les infections à EHEC peuvent avoir des conséquences très néfastes sur la santé humaine. Effectivement, celles-ci peuvent être à l'origine de graves maladies comme le SHU, qui est mortel dans 3 à 5 % des cas et qui laisse de lourdes séquelles à long terme chez environ un quart des survivants.

2.5. Épidémies majeures à EHEC

Les EHEC peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). La première description de TIAC due à un EHEC évoque une épidémie ayant eu lieu en 1982, aux États-Unis, dans les états de l'Oregon et du Michigan (Riley *et al.*, 1983). Quarante-sept personnes ont contracté des symptômes gastro-intestinaux similaires après avoir consommé des hamburgers dans une chaîne de restauration rapide. Aucun décès n'a été déploré et l'épidémie a finalement été rattachée à *E. coli* O157:H7, isolée dans l'un des steaks hachés provenant d'un lot suspect. Depuis, de nombreuses épidémies à EHEC se sont succédées, élevant cette bactérie au stade de réel enjeu dans le domaine de la santé publique.

L'épidémie la plus importante liée à EHEC a eu lieu au Japon en 1996 au sein d'écoles élémentaires, avec 9 451 cas répertoriés (Michino *et al.*, 1999). Des analyses ont permis d'isoler la bactérie *E. coli* O157:H7 chez 129 des écoliers et au total 12 morts ont été comptabilisés. Une enquête de cohorte et une enquête de traçabilité ont mis en évidence que la source probable de l'infection était des graines germées de radis blanc, peu cuites, qui étaient servies au cours des repas dans les établissements concernés (Michino *et al.*, 1999).

Entre octobre et novembre 2005, la France a connu sa plus grande épidémie à EHEC (King *et al.*, 2009). L'épidémie, apparue dans le sud-ouest de la France, a impliqué 69 personnes dont l'âge médian était de 5 ans. Parmi ces personnes contaminées, 17 ont par la suite développé un SHU mais aucun patient n'est décédé. La souche à l'origine de l'épidémie a été identifiée comme étant *E. coli* O157:H7, retrouvée dans des steaks hachés d'hamburgers surgelés d'une même marque, consommés par l'ensemble des malades. Cette épidémie, au-delà d'être la plus grande connue dans le pays, correspond aussi à la première fois que des steaks d'hamburgers surgelés, insuffisamment cuits, véhiculaient *E. coli* O157:H7 lors d'une épidémie en France (King *et al.*, 2009). En France, de manière générale, une grande partie des épidémies se retrouvent liées à la consommation de viande, bien souvent de bœuf mais également de mouton, qu'elle soit congelée ou fraîche (Espié *et al.*, 2006a; King *et al.*, 2009, 2010; Santé Publique France, 2012; Barret *et al.*, 2013; Santé Publique France, 2023).

Enfin, une des épidémies ayant profondément marqué l'Europe reste celle qui s'est déroulée en Allemagne entre mai et juillet 2011. En effet, un total de 3 816 personnes ont été infectées par *E. coli* O104:H4, bactérie alors rarement isolée dans un contexte d'épidémie (Frank *et al.*, 2011). Parmi les personnes infectées, 845 soit 22 % ont développé un SHU et 54 personnes sont décédées. En outre, contrairement à d'autres épidémies, la majorité (88 %) des personnes ayant développé un SHU étaient adultes. De plus, les femmes représentaient la majorité des cas avec 68 % des malades (Frank *et al.*, 2011). Une souche d'*E. coli* O104:H4, étroitement liée à celle à l'origine de l'épidémie en Allemagne, a aussi provoqué une épidémie de bien moindre proportion en France en juin 2011 (Grad *et al.*, 2012). Après des investigations menées par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) (2011), il s'est avéré que la source la plus probable commune aux deux épidémies était un lot de graines de fenugrec importées d'Égypte. Enfin, des analyses de séquençage, bien qu'ayant mis en évidence la présence du gène *stx2*, ont néanmoins relevé l'absence de gène *eae* qui code l'intimine (Rohde *et al.*, 2011). Il a donc été suggéré que la souche responsable de

l'épidémie fait à l'origine partie des *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC), capables d'adhérer aux cellules épithéliales, mais cette souche particulière a acquis le gène *stx2* grâce à un transfert du phage et est donc capable de produire des shigatoxines (Rohde *et al.*, 2011).

Depuis 1982, des épidémies dues à des EHEC de plus ou moins grande ampleur se produisent, partout dans le monde, avec des origines diverses bien qu'essentiellement alimentaires. *E. coli* O157:H7 a été responsable d'un grand nombre de ces épidémies mais, ces dernières années notamment, d'autres souches ont émergé et provoqué de graves intoxications.

2.6. Épidémies liées aux EHEC dans la filière lait cru

Les *E. coli* sont détruits par la pasteurisation, mais survivent aux températures de réfrigération et de congélation, bien que leur multiplication soit dans ce cas stoppée (ATLA et ACTILAIT, 2012). Ainsi, les fromages au lait cru, qui ne subissent pas de traitement thermique, peuvent parfois véhiculer la bactérie pathogène.

En France, plusieurs infections à EHEC ont été reliées à la consommation de fromages au lait cru. Par exemple, en 2004, trois personnes d'une même famille ont été infectées par *E. coli* O157:H7, parmi lesquelles deux personnes ont développé un SHU (Espié *et al.*, 2006b). La contamination s'est produite suite à la consommation de fromage au lait de chèvre non pasteurisé.

Le nord-ouest de la France a connu deux épidémies liées à la consommation de camembert au lait cru. La première, entre octobre et décembre 2005, a été la plus importante : elle a causé 16 cas de SHU sans décès, avec une médiane d'âge de 15 mois (Institut de Veille Sanitaire, 2007). L'infection était due à deux souches d'*E. coli* : O26:H11 et O80:H2. La seconde épidémie a eu lieu en mai 2013, avec un total de 8 cas identifiés dont 5 ont développé un SHU et une nouvelle fois aucun décès (Institut Pasteur, 2013). Cette fois, l'infection était due à une souche d'*E. coli* O157:H7.

Enfin, deux épidémies plus récentes ont eu lieu dans la filière lait cru en France. Entre mars et mai 2018, 13 cas confirmés et un cas probable d'infection à EHEC ont été identifiés, tous âgés de moins de cinq ans (Jones et de Valk, 2020). Parmi les malades, 13 ont présenté un SHU et l'un d'eux est décédé. L'épidémie a pu être rattachée à une souche O26:H11, isolée dans 13 des 14 cas. L'enquête de traçabilité a mis en évidence la consommation de reblochon produit en Haute-Savoie pour 13 cas et pour l'un des cas, une consommation par la famille uniquement. Bien que la souche incriminée n'ait pas pu être isolée dans les reblochons suspectés, elle a néanmoins été retrouvée lors d'investigations complémentaires dans les filtres à lait de deux producteurs fournissant le site de fabrication du reblochon (Jones et de Valk, 2020). Entre mars et mai 2019, ce sont 19 cas qui ont été identifiés dont 17 SHU et avec un âge médian de 22 mois. Une nouvelle fois, c'est une souche d'*E. coli* O26 possédant les gènes *stx2* et *eae* qui a été mise en cause, isolée chez 18 des 19 cas. La consommation de fromages saint-félicien et/ou saint-marcellin a été rapportée dans 15 des cas soit par le malade lui-même, soit par son entourage, mais les analyses effectuées sur les fromages suspects se sont toutes révélées négatives (Santé Publique France, 2020).

Chacune de ces épidémies entraîne des mesures de retraits et de rappels des marchandises incriminées, causant un impact économique non négligeable (Espié *et al.*, 2006b; Institut Pasteur, 2013; Jones et de Valk, 2020; Santé Publique France, 2020). Cet impact est d'autant plus important qu'il faut rappeler que la France possède une filière de fromages au lait cru particulièrement développée et de qualité : en 2022, plus de 150 000 T de fromages AOP au lait cru sont produits en France, représentant plus de 75 % de l'ensemble des fromages AOP (INAO et CNAOL, 2023).

Néanmoins, malgré la présence des EHEC dans les fromages au lait cru, le nombre d'épidémies qui y sont liées reste relativement moins important que le nombre d'épidémies liées à la consommation de viande (Loukiadis *et al.*, 2012; DGAL, 2019). Une des hypothèses permettant de l'expliquer suggère que la présence de globules gras dans les fromages, pour lesquels les STEC possèdent une affinité, serait un facteur d'inhibition de l'adhésion des STEC à la barrière intestinale (Bagel, 2022).

La France dispose d'une filière fromagère d'une diversité, d'une richesse et d'une qualité exceptionnelles. Cependant, la filière du lait cru souffre parfois de la mauvaise réputation liée à des épidémies d'infection à EHEC qui se multiplient ces dernières années, avec notamment l'émergence de souches comme *E. coli* O26. Au-delà des conséquences évidentes pour la santé publique, ces épidémies engendrent des conséquences économiques et sociétales désastreuses pour la filière et ses acteurs, notamment les éleveurs. Mieux comprendre et maîtriser cette bactérie est donc une nécessité.

3. Caractéristiques du portage et de l'excrétion des EHEC chez les bovins et facteurs de variation

Les bovins représentent le principal réservoir des EHEC. De nombreux facteurs font varier leur excrétion. Il est important d'identifier les modalités de cette excrétion afin de mettre en place les mesures permettant de la contrôler au mieux et de prévenir du danger des EHEC.

Les méthodes d'analyse utilisées dans les études revêtent pour ce faire un intérêt particulier. En effet, certaines études évaluent la prévalence du gène *stx* sans nécessairement passer par l'isolement de la bactérie via une culture (Farrokh *et al.*, 2013). Néanmoins, il faut être vigilant étant donné que les gènes *stx* peuvent être présents par exemple dans des organismes non-pathogènes ou portés par des phages, sans pour autant être associés à des bactéries. Ainsi, la prévalence du gène *stx* seule est inappropriée pour évaluer le risque lié à la sécurité alimentaire. Ceci dit, il faut rester vigilant à la présence de ces gènes, puisqu'ils peuvent mener à l'émergence de souches d'STEC en s'intégrant au génome d'*E. coli*.

3.1. Prévalence des EHEC chez l'animal

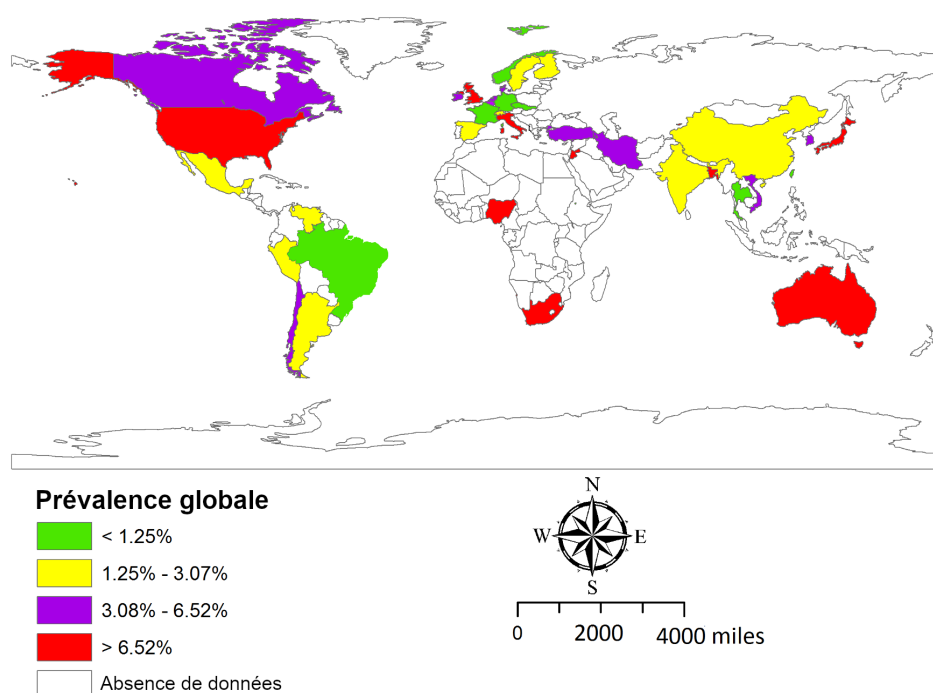
Entre 2010 et 2011, Bibbal *et al.* (2015) ont mené une étude sur la prévalence des EHEC chez les bovins adultes en France à l'abattoir. Celle-ci a révélé une prévalence globale des EHEC appartenant au « top 5 » de 1,8 % chez les bovins adultes abattus en France pour la production de viande hachée de bœuf. Plus spécifiquement, la prévalence des EHEC du top 5 s'élevait à 4,5 % chez les jeunes bovins laitiers, 2,4 % chez les jeunes bovins à viande, 1,8 % chez les vaches laitières et 1 % chez les vaches à viande. Sur l'ensemble des échantillons prélevés, 33 souches de EHEC du top 5 ont été isolées dont notamment 55 % d'O157:H7 et 24 % d'O103:H2.

Une étude plus récente a également permis de caractériser le portage des STEC par les veaux : 5,6 % des veaux provenant d'ateliers d'engraissement et abattus en France hébergeaient une souche de STEC appartenant au « top 7 » (Auvray *et al.*, 2023). De plus, 18,5 % des ateliers d'engraissement de cette étude comprenaient au moins un veau porteur de STEC du « top 7 ». Parmi les souches isolées, les sérotypes O103:H2 et O26:H11 étaient majoritaires, représentant 43 % et 30 % des souches respectivement. Plus généralement, le bouillon d'enrichissement des échantillons de fèces de 87,6 % des animaux de l'étude étaient positifs pour le gène *stx*, les variants *stx1* et *stx2* étant détectés dans des proportions voisines (69,4 % et 75,4 % respectivement).

A l'échelle internationale, Islam *et al.* (2014) ont fait une méta analyse sur la base des données de 140 publications parues entre 1980 à 2012. Ils ont estimé ainsi une prévalence globale d'*E. coli* de sérotype O157 (H7 ou non) chez les bovins de 5,68 %, avec des données provenant de 38 pays différents au total. Ce chiffre global masque néanmoins une hétérogénéité très importante entre les données qui estimaient des prévalences allant de 0,13 % à 61,77 %. Cette hétérogénéité est la conséquence de divers facteurs de variation entre les études tels que la région du monde concernée, le type de production (laitier, allaitant, engraissement), la méthode de prélèvement de l'échantillon ainsi que la méthode d'enrichissement de l'échantillon.

Dans cette même étude, la prévalence moyenne d'*E. coli* O157 la plus élevée a été relevée pour l'Afrique (31,20 %) et la plus faible pour l'Amérique Latine et Caraïbes (1,65 %) (Figure 10). Cependant, il est important de préciser que seuls deux pays d'Afrique étaient représentés dans les données. L'Europe se classe légèrement en dessous de la prévalence internationale estimée, avec 5,15 % (Islam *et al.*, 2014).

Figure 10 : Prévalence d'*E. coli* O157 estimée chez des bovins à l'échelle internationale (adaptée d'Islam *et al.*, 2014)



Dans les autres filières animales, il existe très peu de données de prévalence des EHEC en France. Dans la filière porcine, une étude menée en France a testé des échantillons provenant de carcasses de porcs, avec, pour chaque carcasse, huit sites investigués : cinq échantillons de peaux (ventre, patte, épaule, longe et bajoue) et trois échantillons de muscles (patte, ventre et muscle abdominal) (Bouvet *et al.*, 2001). Cette étude a révélé que 12,7 % des échantillons (au stade de bouillon d'enrichissement) présentaient le gène *stx* et que celui-ci était détecté dans 50 % des carcasses elles-mêmes (Bouvet *et al.*, 2001). En revanche, la souche d'*E. coli* O157:H7 n'a pas été isolée.

Concernant les petits ruminants, aucune donnée de prévalence n'a été publiée en France, même si les plans de surveillance font état de contamination par les STEC dans les fromages au lait cru (DGAL, 2019). De plus, des études de cas ont démontré la présence de STEC dans des

élevages caprins et ovins laitiers (Raynaud *et al.*, 2018). Des études de prévalence ont été réalisées dans d'autres pays, par exemple en Grande-Bretagne où le portage fécal de STEC O157 chez les moutons à l'abattoir a été estimé à 0,7 %, ou encore en Italie où cette même prévalence était évaluée à 0,3 % chez les agneaux sevrés à l'abattoir (Battisti *et al.*, 2006; Milnes *et al.*, 2008). En Espagne, la proportion de troupeaux de moutons positifs à *E. coli* O157:H7 s'élève à 8,7 %, avec une prévalence individuelle d'excrétion de 7,3 % (Oporto *et al.*, 2008). De plus, les souches de STEC non O157 étaient les plus fréquentes, avec 50,8 % des troupeaux de moutons positifs.

Enfin, en ce qui concerne les caprins, les prévalences varient fortement selon les études. Par exemple, en Arabie Saoudite, *E. coli* O157:H7 a été retrouvé dans 1,4 % des fèces et sur 8,2 % des peaux des chèvres (Bosilevac *et al.*, 2015). Sur les îles de Trinité-et-Tobago, la fréquence de fèces positives pour les gènes *stx* a été estimée à 46 % chez les chèvres (Persad *et al.*, 2022). Parmi les souches isolées, aucune n'appartenait au sérotype O157. Pour finir, Vu-Khac et Cornick (2008) ont estimé qu'au Vietnam, 38,5 % des chèvres hébergeaient à la fois des STEC et des souches possédant l'intimine, et ils ont retrouvé des STEC dans toutes les fermes caprines incluses dans l'étude.

En France, la prévalence globale des EHEC du « top 5 » a été estimée à 1,8 % chez les bovins adultes abattus en France (Bibbal *et al.*, 2015). Chez les veaux, la prévalence des STEC du « top 7 » a été quant à elle évaluée à 5,6 % (Auvray *et al.*, 2023). À l'échelle mondiale, une prévalence des *E. coli* O157 de 5,68 % a été évaluée chez les bovins (Islam *et al.*, 2014). Des données à l'échelle des troupeaux ne sont pas disponibles en France. En ce qui concerne les autres filières, très peu d'études de prévalence sont disponibles en France.

3.2. Circulation et transmission des EHEC en élevage

Comme chez l'Homme, la contamination des animaux d'élevage par les EHEC se déroule par voie féco-orale. Les animaux se contaminent soit par contact direct avec les autres animaux de l'élevage soit indirectement, par l'eau, la nourriture ou leur environnement principalement (Fairbrother et Nadeau, 2006; Plateforme de Surveillance de la Chaîne Alimentaire, 2022).

Les sources d'eau peuvent participer à la transmission de la bactérie aux animaux au sein des élevages. La contamination de l'eau peut se produire notamment par le ruissellement de l'eau provenant de la ferme ou des pâturages où paissent les bovins porteurs des EHEC, qui vient souiller les eaux potables de surface, telles que les rivières, les étangs et les lacs, ainsi que les eaux souterraines alimentant les puits et les sources (Figure 11) (Fairbrother et Nadeau, 2006; Plateforme de Surveillance de la Chaîne Alimentaire, 2022).

En élevage, l'alimentation représente un mode de contamination possible, dès lors que l'aliment est souillé par des matières fécales contenant des EHEC. Cela concerne par exemple l'herbe pâturée, les fourrages ou les concentrés au stade de la fabrication, du stockage ou de la distribution (Fairbrother et Nadeau, 2006; Plateforme de Surveillance de la Chaîne Alimentaire, 2022). Effectivement, l'épandage de lisier ou de fumier, voire directement la défécation par des animaux excréteurs d'EHEC, peut participer à transmettre la bactérie aux animaux pâturant sur les parcelles concernées ou à contaminer les champs cultivés, par exemple si un délai suffisant n'est pas respecté entre épandage et pâturage ou récolte (Fairbrother et Nadeau, 2006; Plateforme de Surveillance de la Chaîne Alimentaire, 2022).

3.3. Excrétion des EHEC en élevage

3.3.1. Importance du rôle des veaux dans l'excrétion des EHEC

Comme exposé dans le 1.4, les bovins constituent le principal réservoir des EHEC. Plus précisément, les veaux présentent une prévalence élevée d'infection par les EHEC, qui, associée chez eux à l'absence de récepteurs aux shigatoxines sur l'endothélium vasculaire, en font un réservoir important (Kolenda *et al.*, 2015). En effet, les veaux ne développent généralement pas de maladie systémique lors d'infection à EHEC et ce pathotype est parfois détecté plus souvent chez des animaux sains que chez des animaux diarrhéiques (Kolenda *et al.*, 2015).

De nombreuses études démontrent une prévalence de l'infection par la bactérie plus élevée chez les veaux par rapport à celle retrouvée chez des bovins adultes, ce qui souligne une fois de plus l'importance du rôle de réservoir qu'ils peuvent jouer (Jaros *et al.*, 2016; Mir *et al.*, 2016; Engelen *et al.*, 2021; Auvray *et al.*, 2023). Une explication possible à cette différence de prévalence est fournie par les analyses métagénomiques : la colonisation par les STEC est corrélée à une faible diversité de la microflore intestinale, qui s'accroît au fur et à mesure que le bovin vieillit (Mir *et al.*, 2016).

3.3.2. Caractéristiques de l'excrétion chez les bovins

Il est d'autant plus difficile de détecter les veaux excréteurs des EHEC que l'excrétion de ces bactéries est intermittente (Robinson *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2013). L'excrétion de ces bactéries est également parfois qualifiée de transitoire, lorsque le pathogène n'est isolé qu'à l'occasion d'un seul prélèvement (Williams *et al.*, 2013; Engelen *et al.*, 2021). Enfin, les périodes d'excrétion peuvent différer selon les études : Smith *et al.* (2010) ont estimé chez les veaux une durée moyenne d'excrétion des STEC O157 de plus d'un mois, avec un maximum atteignant 98 jours. Dans une autre étude, Widiastih *et al.* (2004) ont évalué que l'excrétion des STEC O157 persiste de moins d'une semaine jusqu'à dix semaines, tandis que les STEC O26 sont excrétés pendant moins de trois semaines. Plusieurs éléments pourraient potentiellement expliquer l'obtention de résultats de durée d'excrétion différents entre les études : souches étudiées différentes, variabilité de l'âge des veaux et de la période de l'année où ont eu lieu les prélèvements, etc.

L'excrétion des EHEC suit un schéma constitué de périodes de forte excrétion par un grand nombre d'animaux suivies de périodes plus longues, marquées par une faible prévalence (Stevens *et al.*, 2002). Enfin, il est important de souligner qu'*E. coli* O157:H7 est capable de se transmettre à des doses infectantes extrêmement faibles (jusqu'à moins de 300 unités formant colonie (UFC)), d'où une transmission entre les animaux aisée (Besser *et al.*, 2001).

Enfin, il est important de souligner que l'excrétion peut aussi être persistante chez certains animaux. En effet, Liebana *et al.* (2005) ont détecté la même souche d'*E. coli* O157 à un intervalle d'au moins sept mois chez le même bovin. Dans une autre étude, le même phage-type d'*E. coli* O157 a été retrouvé chez le même animal à quatre reprises, soit sur une durée d'au moins sept mois (Joris *et al.*, 2013). Dans ces deux études, les auteurs se questionnent sur ces résultats : ils ne peuvent pas réellement conclure entre l'hypothèse d'une excrétion persistante ou celle d'une ré-infection due à une contamination résiduelle de l'environnement.

Le rôle des veaux dans l'excrétion des EHEC est capital, notamment en raison de la forte prévalence de l'infection dans cette catégorie d'animaux et de la difficulté à détecter les animaux excréteurs. Cette dernière découle de l'absence de signes cliniques et du fait que l'excrétion est intermittente. Néanmoins, certains animaux peuvent parfois témoigner d'une excrétion très longue, jusqu'à 7 mois. Enfin, la transmission de la bactérie est possible à très faible dose.

3.3.3. Existence d'animaux « super-excréteurs »

Au sein même du réservoir d'EHEC que constituent les bovins, il existe une variabilité concernant le niveau d'excrétion de la bactérie entre les animaux. En effet, les études de terrain démontrent qu'environ 75 % des échantillons de fèces fournissant un résultat positif pour la bactérie contiennent moins de 100 UFC/g de fèces, alors que certains animaux excrètent jusqu'à 10^7 UFC/g de fèces (Chase-Topping *et al.*, 2007).

Les bovins excréteurs les EHEC à un seuil supérieur à 10^4 UFC/g de fèces sont considérés comme étant des « super-excréteurs » (Omisakin *et al.*, 2003; Matthews *et al.*, 2006; Chase-Topping *et al.*, 2008). Le phénomène de « super-excrétion » se définit par un faible nombre d'individus d'une population donnée qui excrète l'agent pathogène en très forte quantité (Kempf *et al.*, 2022).

Ces « super-excréteurs » ont un impact colossal sur la prévalence des EHEC dans les fermes ainsi que sur leur transmission dans l'environnement. Omisakin *et al.* (2003) ont indiqué que les « super-excréteurs » représentent seulement 9 % des bovins abattus et trouvés positifs à *E. coli* O157, mais qu'ils sont en réalité responsables de plus de 96 % des *E. coli* O157 excrétés par l'ensemble des animaux testés. De plus, la présence d'un « super-excréteur » d'*E. coli* O157:H7 à l'intérieur d'un camion est significativement corrélée à la probabilité que, suite à l'abattage, l'une des carcasses du chargement soit positive pour cette bactérie (Jacob *et al.*, 2010). Enfin, la présence d'un « super-excréteur » au sein d'un lot augmente la contamination des peaux par *E. coli* O157:H7 dans le lot, notamment chez les animaux n'étant pas « super-excréteurs » (Stephens *et al.*, 2009). Ce résultat peut être lourd de conséquence lorsque l'on sait que les peaux sont source de contamination des carcasses à l'abattoir.

Pour mieux mesurer l'impact que représente un « super-excréteur », il faut souligner qu'un animal « super-excréteur », libérant 10^4 UFC/g de fèces, excrète le même nombre de bactéries que 1 000 animaux libérant chacun 10 UFC/g de fèces.

Malgré de nombreuses études à ce sujet, l'origine et les facteurs déterminants des « super-excréteurs » restent encore méconnus à ce jour. Certains travaux ont mis en évidence des différences entre des animaux « super-excréteurs » et des animaux qui n'excrètent pas la bactérie.

Par exemple, les travaux de Xu *et al.* (2014) ont suggéré une relation entre la composition et la diversité du microbiote digestif et l'excrétion d'*E. coli* O157:H7. En effet, les « super-excréteurs » d'O157:H7 témoignent d'une plus vaste richesse et diversité bactérienne du microbiote que les individus non excréteurs. Cette étude a mené à l'identification de soixante-douze unités taxonomiques opérationnelles (OTU) montrant une différence d'abondance entre les microbiotes de ces deux catégories d'animaux. Ces OTU appartiennent en particulier aux phyla des *Firmicutes* et des *Bacteroidetes* (Xu *et al.*, 2014). Zaheer *et al.* (2017) retrouvent cette différence de richesse du microbiote intestinal des « supers-excréteurs » ainsi qu'un nombre plus important d'OTU, mais uniquement dans une portion précise du tube digestif, le côlon spiralé. Enfin, une autre étude a mis en évidence une différence dans la composition du microbiote associé à la muqueuse de la jonction

recto-anale : deux OTU, membres des *Bacteroidetes* et *Clostridium*, étaient uniques aux « super-excréteurs », et sept OTU n'ont été retrouvés que chez les non excréteurs (Wang *et al.*, 2018).

Au Royaume-Uni, les souches d'*E. coli* O157 sont également discriminées en fonction de leur sensibilité à un panel de seize bactériophages (Dallman *et al.*, 2015). Ainsi, des travaux ont souligné que le phénomène de « super-excrétion » se retrouvait plus souvent chez les animaux infectés par des souches d'*E. coli* O157:H7 caractérisées par le phage-type (PT) 21/28 (Chase-Topping *et al.*, 2007; Fitzgerald *et al.*, 2019). Les souches PT21/28 produisent les variants Stx2a et Stx2c soit seuls, soit en combinaison (Dallman *et al.*, 2015; Fitzgerald *et al.*, 2019). Il a été en réalité démontré que la présence du variant Stx2a est associée à la « super-excrétion » ; or, ce sous-type de shigatoxine est également connu pour être l'un des plus à risque de provoquer une maladie chez l'humain (Matthews *et al.*, 2013; Fitzgerald *et al.*, 2019; ANSES, 2023). Cependant, les raisons conduisant à une « super-excrétion » lors de la présence du sous-type Stx2a demeurent obscures. Fitzgerald *et al.* (2019) suspectent un lien avec la grande activité de Stx2a sur l'épithélium gastro-intestinal, qui aurait une incidence sur la régénération et le renouvellement de l'épithélium colonisé.

Néanmoins, des études ont remis en question le rôle des « super-excréteurs ». En effet, les durées de forte excrétion ont été estimées comme étant très courtes chez ces animaux, la « super-excrétion » n'étant parfois pas retrouvée d'une journée à l'autre voire même deux fois au cours de la même journée (Munns *et al.*, 2014; Williams *et al.*, 2015a). Ainsi, Williams *et al.* (2014) proposent le terme d'« événement de super-excrétion » plutôt que « animal super-excréteur », pour décrire au mieux la « super-excrétion », celle-ci étant considérée comme sporadique.

Certains animaux, excrétaient la bactérie à plus de 10^4 UFC/g de fèces, ont été nommés « super-excréteurs ». Ils participeraient grandement à la transmission de la bactérie ainsi qu'à la contamination des carcasses à l'abattoir. Ce statut de « super-excréteur » est en lien avec la composition et la richesse du microbiote intestinal. La production de shigatoxines de sous-type Stx2a a aussi été associée à la « super-excrétion ». Cependant, ce statut a été remis en cause par des études considérant la « super-excrétion » comme un événement sporadique et indépendant d'individus spécifiques.

3.3.4. Facteurs de variation du portage et de l'excrétion des EHEC par les bovins

De nombreux éléments, inhérents à l'animal ou au contraire dépendant de conditions externes, sont susceptibles de faire varier le portage et l'excrétion des EHEC chez les bovins. Cependant, il est important de souligner que peu d'études citées dans cette partie portent directement sur les EHEC, mais elles sont bien souvent dédiées à *E. coli* O157:H7, qui est le sérotype le plus régulièrement étudié dans les revues littéraires.

3.3.4.1. Effet de l'âge, de la parité, du sexe, de la race et du gain de poids

En premier lieu, de très nombreuses études ont mis en évidence que l'âge de l'animal constitue un facteur important de variation dans l'excrétion des EHEC (Cobbaut *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2013; Mir *et al.*, 2016; McCabe *et al.*, 2019). Certaines d'entre elles indiquent que les veaux excrètent plus d'EHEC dans leurs six premiers mois de vie (Zhao *et al.*, 2013; Mir *et al.*, 2016). Des travaux portant sur des animaux plus âgés ont souligné une plus faible prévalence d'excréteurs de STEC O157 et O26 chez les bovins âgés de plus de 37 mois (McCabe *et al.*, 2019). Cette même observation a été réalisée, lors d'une étude portant sur des bovins âgés de 12 à 30 mois, avec une prévalence plus

faible de STEC O157 dans les lots comportant des bovins plus âgés (Gunn *et al.*, 2007). Enfin, Mir *et al.* (2015) ont révélé un pic de prévalence des STEC chez les vaches âgées de 2 ans, puis une prévalence qui diminue avec l'âge. La diversification de la microflore intestinale et fécale avec l'âge est une explication avancée pour justifier cette excrétion plus importante chez les animaux plus jeunes (Zhao *et al.*, 2013; Mir *et al.*, 2016).

La parité semble aussi jouer un rôle : les génisses excrètent moins souvent de STEC que les vaches (Mir *et al.*, 2015). Lors de cette étude, portant sur 40 génisses et 50 vaches, la prévalence de STEC était en effet significativement plus faible chez les génisses que chez les vaches (37,5 % vs. 70 %). Les explications avancées par les auteurs incluent divers facteurs physiologiques : l'absence de gestation et/ou du stress de la lactation chez les génisses, ou encore des différences dans les systèmes immunitaires des animaux avec la mise en place de l'immunité acquise mais dans un intervalle limité. D'autre part, les vaches dans leur première lactation sont plus à risque d'excréter des STEC qu'au cours des lactations suivantes (Venegas-Vargas *et al.*, 2016).

Contrairement à l'âge, la race ou le sexe des veaux ne semble pas avoir d'influence sur le portage ou l'excrétion des EHEC (Mir *et al.*, 2016; Irshad *et al.*, 2017; McCabe *et al.*, 2019).

Concernant l'influence du poids sur le portage et l'excrétion des STEC, Mir *et al.* (2016) ont réalisé une étude sur 260 veaux de boucherie, prélevés régulièrement dans leur première année de vie avec des écouvillons de la jonction recto-anale. Les auteurs n'ont pas mis en évidence d'association significative entre la prévalence de STEC et le gain de poids des veaux, avec des poids qui s'évaluaient de 100 à 300 kg.

3.3.4.2. Effet de l'alimentation et de l'abreuvement

Les effets de l'alimentation sur l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 sont également controversés dans la littérature, notamment concernant les effets d'un régime riche en fibres par rapport à un régime riche en concentrés (Callaway *et al.*, 2009).

Berry *et al.* (2006) ont testé l'effet de deux régimes alimentaires sur l'excrétion d'*E. coli* O157 dans les fèces sur 51 jeunes bovins, après le sevrage : un régime composé à 100 % de foin de brome haché, l'autre composé majoritairement d'ensilage de maïs (87 %). Après 119 jours, une transition alimentaire de l'ensemble des bœufs était réalisée vers le même régime de finition à base principalement de farine de maïs (70 %) et d'ensilage de maïs (24 %). Pendant la période de post-sevrage un échantillon de fèces sur 156 était positif à *E. coli* O157 dans le lot nourri à base de foin, huit échantillons sur 150 étaient positifs dans le lot nourri à base d'ensilage de maïs. Pendant la période de finition, le lot anciennement nourri au foin avait sept échantillons positifs sur 104 et le lot ensilage avait cinq positifs sur 100 échantillons. Que ce soit sur la période post-sevrage ou celle de finition, les auteurs n'ont pas trouvé d'effet significatif entre le régime alimentaire distribué en post-sevrage et l'excrétion d'*E. coli* O157 dans les fèces (Berry *et al.*, 2006).

Van Baale *et al.* (2004) ont révélé que, chez douze bovins infectés expérimentalement par *E. coli* O157:H7, l'excrétion fécale du pathogène est plus longue chez ceux nourris à base de fourrages (85 % de fourrages, 15 % de céréales) que ceux nourris avec une ration à base de céréales (15 % de fourrages, 85 % de céréales). Les fourrages étaient du foin de prairie et du foin de luzerne et les céréales comprenaient du maïs concassé, de la farine de soja, de la farine de gluten de maïs, de l'urée et des suppléments en vitamines et minéraux. Les auteurs lient ce résultat à la fermentation des aliments : les régimes riches en concentrés génèrent des concentrations élevées en acides gras volatils (AGV) et un pH faible. À l'inverse, un régime à base de fourrages a

pour effet des concentrations plus faibles en AGV et un pH plus élevé, fournissant des conditions plus propices à la survie et la croissance d'*E. coli* O157:H7 (Van Baale *et al.*, 2004).

Cependant, Tkalcic *et al.* (2000) ont obtenu des résultats contradictoires à travers une étude sur neuf veaux laitiers âgés de 2 à 3 mois, auxquels ils ont inoculé *E. coli* O157:H7 puis distribué soit une ration riche en concentrés (1,85 kg de foin d'herbe des Bermudes, 3,8 kg d'un mélange de concentrés par jour), soit une ration riche en fibres (3,8 kg de foin d'herbe des Bermudes, 1,85 kg d'un mélange de concentrés par jour). Cette étude a mis en évidence une plus faible concentration en AGV et un pH ruminal plus élevé dans le groupe de veaux nourris principalement de fibres, avec un différentiel de pH allant de 0,4 à 0,8 par rapport à l'autre groupe. Cela rejoint l'hypothèse émise par Van Baale *et al.* (2004), néanmoins cette étude a montré au contraire que les veaux nourris principalement à base de concentrés excrétaient de plus grandes quantités d'*E. coli* O157:H7 que les veaux recevant la ration à base de fibres (Tkalcic *et al.*, 2000). Une hypothèse apportée pour expliquer ce résultat contradictoire est le développement d'une résistance à l'acidité par les *E. coli* O157:H7 dans le rumen des veaux nourris à base de concentrés, leur permettant de survivre au passage dans l'abomasum et de proliférer dans le côlon.

Par ailleurs, une étude menée dans un parc d'engraissement sur plus de 10 000 jeunes bovins aux États-Unis a évalué l'effet d'un régime alimentaire à base d'orge (91 % d'orge, 7 % d'ensilage et 2 % de supplément) par rapport à un régime à base de maïs (86 % de maïs, 7 % d'ensilage, 2 % de supplément et 5 % de supplément protéique à base de canola et d'urée) sur l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 dans des fèces prélevés sur le sol (Berg *et al.*, 2004). Les bovins recevant le régime à base d'orge présentent une prévalence de l'infection (2,4 % vs. 1,3 %) et une quantité d'*E. coli* O157:H7 excrétés plus élevées en comparaison avec ceux nourris avec un régime à base de maïs (Berg *et al.*, 2004). Les auteurs suggèrent que l'amidon issu de l'orge est fermenté plus rapidement dans le rumen et en plus grande quantité que celui du maïs conduisant à une proportion d'amidon non digéré plus faible arrivant au gros intestin. Or, la plus grande fermentation d'amidon dans le gros intestin des veaux nourris au maïs entraîne la production d'AGV et donc une baisse du pH, moins favorable à la survie des *E. coli* O157:H7 (Berg *et al.*, 2004).

L'influence potentielle d'un régime alimentaire sur l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 semble liée aux changements se produisant dans le gros intestin plutôt qu'à ceux ayant lieu au niveau du rumen, le gros intestin constituant la portion du système digestif qu'*E. coli* O157:H7 colonise (Berry et Wells, 2010).

En ce qui concerne l'abreuvement, chez les bovins au pâturage, la prévalence moyenne d'*E. coli* O157 est plus faible lorsque l'eau à leur disposition provient d'une source naturelle (Gunn *et al.*, 2007). En effet, des sédiments contaminés par *E. coli* O157 se déposent dans les abreuvoirs via les fèces de bovins, ce qui augmente la probabilité que l'eau soit contaminée et que les bovins excrètent la bactérie (LeJeune *et al.*, 2001; Sargeant *et al.*, 2003).

De plus, une étude effectuée dans un parc d'engraissement au Texas a recherché l'effet d'un apport en eau réduit sur l'excrétion fécale d'*E. coli* O157:H7. Ainsi, 18 lots ont reçu un niveau moindre d'eau pendant trois semaines par rapport aux 17 lots constituant le groupe témoin. L'étude a ainsi démontré une association significative entre la réduction du niveau d'eau dans l'abreuvoir et la prévalence d'*E. coli* O157:H7 dans les matières fécales (Beauvais *et al.*, 2018). Diverses hypothèses sont apportées par les auteurs pour expliquer ce résultat. Tout d'abord, à même nombre de bactéries présentes dans deux abreuvoirs, celui dont le niveau d'eau est normal bénéficie d'un effet de dilution des pathogènes par rapport à l'abreuvoir à niveau réduit, ce qui signifie qu'en buvant

la même quantité d'eau, un bovin risque d'ingérer plus de bactéries dans l'abreuvoir au niveau d'eau réduit et ainsi se contaminer plus facilement. Une seconde explication s'appuie sur le fait que les sédiments contaminés étaient plus facilement remis en suspension dans l'abreuvoir au niveau réduit lorsqu'un animal buvait, la probabilité d'en ingérer était donc plus grande.

L'alimentation a fait l'objet de nombreuses études aux résultats parfois contradictoires quant à de potentiels facteurs de variation de l'excrétion d'*E. coli* O157:H7, en particulier, concernant l'effet d'un régime riche en fourrages par rapport à un régime riche en concentrés. Ces travaux s'accordent tout de même sur l'importance de la concentration des AGV et donc du pH dans l'excrétion d'*E. coli* O157:H7. En outre, un régime riche en orge, à l'origine d'une hausse du pH dans le gros intestin, augmente l'excrétion du pathogène. L'abreuvement des animaux peut aussi faire varier l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 : l'utilisation d'eau provenant d'une source naturelle au pâturage la diminue, alors que des niveaux d'eau réduits dans les abreuvoirs l'augmente.

3.3.4.3. Facteurs de stress et pratiques d'élevage

Dans la vie des veaux, plusieurs événements à l'origine de stress se succèdent. Parmi eux, le sevrage a été régulièrement décrit comme augmentant l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 et *E. coli* O26:H11 et ce, que ce soit chez des veaux laitiers ou allaitants (Cobbald et Desmarchelier, 2000; Paiba *et al.*, 2003; Chase-Topping *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2014). De même, l'allotement des veaux représente un facteur de risque d'augmentation d'excrétion d'*E. coli* O157 (Schouten *et al.*, 2005; Mohammed *et al.*, 2023).

En outre, les conditions de logement des bovins peuvent aussi influencer l'excrétion des EHEC. Une étude réalisée sur 952 fermes en Écosse a exploré divers facteurs de risque d'excrétion d'*E. coli* O157:H7, grâce à des prélèvements de selles fraîchement émises (Gunn *et al.*, 2007). Parmi les variables étudiées, il a été démontré que parmi les fermes possédant des animaux excréteurs d'*E. coli* O157:H7, la prévalence était significativement plus élevée dans les fermes où les animaux étaient logés en bâtiment. De même, Mohammed *et al.* (2023) ont identifié le logement des veaux en intérieur comme un risque d'excrétion d'*E. coli* O157:H7, un nombre significativement plus grand d'animaux logés en bâtiment étant positifs à des prélèvements de fèces dans le rectum. Cela peut s'expliquer notamment par le fait qu'en bâtiment, la densité des animaux est plus élevée qu'en pâture. Effectivement, une forte densité de bovins est plus à risque d'être associée à une prévalence élevée d'*E. coli* O157:H7 (Vidovic et Korber, 2006). Les auteurs justifient ce résultat par l'augmentation des contacts entre animaux infectés et non infectés lors de forte densité d'enclos. De plus, une forte densité peut constituer une source de stress pour le troupeau, ce qui peut se traduire par une excrétion plus importante de l'agent pathogène (Vidovic et Korber, 2006).

De plus, l'introduction d'un bovin provenant d'un autre élevage augmente significativement la probabilité qu'un troupeau possède au moins un animal excréteur de STEC O157 (Nielsen *et al.*, 2002). Cette caractéristique n'a pas été retrouvée dans les travaux menés par Cobbaut *et al.* (2009), dans lesquels l'introduction de nouveaux bovins n'était pas associée à une plus forte prévalence d'*E. coli* O157:H7. Plusieurs études ont montré que la taille du cheptel n'influence pas la prévalence à *E. coli* O157:H7 (Dodson et LeJeune, 2005; Cobbaut *et al.*, 2009).

Par ailleurs, diverses pratiques d'élevage peuvent aussi influencer sur l'excrétion des EHEC. Par exemple, Gunn *et al.* (2007) ont testé de nombreux facteurs de risque potentiels d'excrétion d'*E. coli* O157:H7 dans des fermes de bovins en Écosse. Ils ont mis en évidence que, parmi les fermes dont les animaux étaient sur des pâtures, celles épandant du lisier sur les pâturages sont plus

susceptibles de détenir un animal excréteur d'*E. coli* O157:H7 que celles qui épandent du fumier. Pour expliquer ce résultat, les auteurs évoquent le fait que les effets du compostage des tas de fumier réduisent les niveaux de bactéries dans les fèces. Cependant, Fremaux *et al.* (2008) indiquent que, bien que les différences entre fumier et lisier puissent modifier les paramètres physico-chimiques et pourraient ainsi avoir un impact sur les populations microbiennes contenues dans les fèces de bovins, ce n'est pas retrouvé en pratique. En effet, plusieurs études montrent des durées de survie similaires (90 jours) d'*E. coli* O157:H7 et de STEC O26:H11 dans le fumier et dans le lisier dans des conditions de température voisines (Fremaux *et al.*, 2008).

En élevage laitier, un traitement antibiotique récent augmente le risque d'excréter des EHEC (Stenkamp-Strahm *et al.*, 2017). L'administration d'antibiotiques modifierait en effet la microflore du bovin, ce qui faciliterait la colonisation par les EHEC. De plus, les vaches laitières possédant un meilleur score d'hygiène sont moins à risque d'excréter le pathogène (Stenkamp-Strahm *et al.*, 2017). Effectivement, le score d'hygiène reflète à la fois la propreté des animaux mais également de l'environnement : ainsi, un faible nombre d'éléments souillés dans la ferme s'accompagne de meilleurs scores d'hygiène mais aussi d'une plus faible probabilité de circulation de la bactérie.

Enfin, la présence de porcs sur l'exploitation augmente la probabilité d'avoir un lot contenant un bovin excréteur d'*E. coli* O157:H7 (Gunn *et al.*, 2007).

3.3.4.4. Effet saisonnier

Tout comme l'occurrence des infections à EHEC (et plus particulièrement de SHU) chez l'humain, l'excrétion des EHEC par les bovins semble être influencée par un effet saisonnier.

Bien qu'il existe de nombreux travaux sur le sujet, la majorité d'entre eux s'accordent pour situer la période maximale d'excrétion des EHEC entre l'été et le début de l'automne (Callaway *et al.*, 2009; Schneider *et al.*, 2018; McCabe *et al.*, 2019; Henry *et al.*, 2019). Schneider *et al.* (2018) ont réalisé 85 prélèvements de fèces de vaches au sol à partir de quatre élevages, pendant les quatre saisons, puis effectué des analyses sur les EHEC appartenant au « top 7 ». Les auteurs ont ainsi pu mettre en évidence que la plus grande prévalence pour chaque sérotype était obtenue à chaque fois l'été. D'autre part, les travaux de McCabe *et al.* (2019) portaient sur 1 317 bovins laitiers ou allaitants prélevés avec un écouvillon de la jonction recto-anale dans trois grands abattoirs de République d'Irlande, sur une période de 18 mois. Un pic de prévalence de STEC O157 a été observé entre août et octobre. Enfin, l'étude menée par Henry *et al.* (2019) a rassemblé les données de 110 exploitations en Écosse (2 763 échantillons de fèces) et 159 exploitations (2 866 échantillons) en Angleterre et au Pays de Galles, recueillies lors de deux études transversales. L'analyse de l'ensemble des échantillons de fèces ramassés au sol a mis en évidence que les prélèvements étaient plus susceptibles d'être positifs pour *E. coli* O157 en automne qu'au printemps.

Certains auteurs préfèrent s'appuyer plutôt sur les températures : une augmentation de la température moyenne de la semaine ou une température supérieure à 28,9°C dans les jours précédant le prélèvement sont associées à une excrétion plus importante d'EHEC par les bovins (Williams *et al.*, 2015b; Venegas-Vargas *et al.*, 2016; Stenkamp-Strahm *et al.*, 2017). En effet, Williams *et al.* (2015b) ont réalisé des prélèvements de fèces dans le rectum ainsi qu'un échantillon de la jonction recto-anale sur une cohorte de 52 génisses, et ont montré qu'une température supérieure à 37°C pendant un à deux jours dans les 14 jours précédant le prélèvement augmentait la probabilité d'excrétion de *E. coli* O157 par la génisse. De même, Venegas-Vargas *et al.* (2016) ont démontré, lors d'une étude sur 1 096 bovins appartenant à six troupeaux laitiers et cinq

troupeaux allaitants, qu'une température moyenne supérieure à 28,9°C dans les un à cinq jours précédant le prélèvement augmentait de façon significative la probabilité de retrouver des STEC dans les fèces prélevées dans le rectum des bovins laitiers. Enfin, dans une étude sur 899 bovins laitiers, il a été observé qu'une augmentation de la température dans la semaine précédant le prélèvement était associée à une excrétion plus importante d'EHEC dans les fèces prélevées dans le rectum (Stenkamp-Strahm *et al.*, 2017).

Certaines études se sont également intéressées à l'impact des précipitations sur l'excrétion des EHEC, avec des résultats parfois variés. Schneider *et al.* (2018) indiquent qu'un évènement pluvieux se produisant dans les 7 jours avant le prélèvement diminue la détection d'EHEC O45 dans les fèces de bovins. D'un autre côté, Williams *et al.* (2015b) ont démontré que les précipitations sont associées à une augmentation de l'excrétion d'*E. coli* O157 par les bovins. De même, Lammers *et al.* (2015) ont mis en évidence que des précipitations se produisant dans la semaine précédant le prélèvement augmentait de façon significative les évènements d'excrétion d'*E. coli* O157, lors d'une étude sur 23 vaches allaitantes, prélevées deux fois par semaine pendant neuf mois. En effet, les précipitations rendent les conditions plus humides et donc favoriseraient la multiplication des bactéries dans l'environnement, augmentant ainsi l'exposition des bovins au pathogène (Lammers *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 2015b). Une autre explication apportée est que les précipitations peuvent affecter la composition du fourrage, entraînant des altérations de l'intestin des bovins, favorisant la prolifération du pathogène (Lammers *et al.*, 2015). Enfin, Williams *et al.* (2015b) évoquent également les conditions boueuses engendrées par les précipitations, qui diminuent la propreté des peaux et faciliteraient la transmission de la bactérie.

Les mécanismes régissant l'influence de la température ambiante sur l'excrétion des EHEC restent obscurs. Diverses hypothèses ont été apportées pour expliquer cette plus forte excrétion d'EHEC lors des mois les plus chauds, dont notamment une meilleure survie des STEC dans l'environnement en été, en particulier sur les surfaces présentes dans la ferme et dans les abreuvoirs (Gautam *et al.*, 2011; Venegas-Vargas *et al.*, 2016). En effet, la transmission du pathogène par l'eau est amplifiée lorsque la quantité d'eau stagnante est élevée, pendant les mois les plus chauds : une température ambiante élevée, associée à un taux de remplacement de l'eau plus lent provoque l'augmentation de la quantité de pathogènes dans l'eau à disposition pour les bovins (Gautam *et al.*, 2011).

Cependant, une autre théorie avance que la plus forte excrétion d'*E. coli* O157 par exemple serait plutôt associée à l'augmentation de la durée des jours (Edrington *et al.*, 2006). Ainsi, dans l'étude d'Edrington *et al.* (2006), menée dans un parc d'engraissement, quatre lots d'en moyenne 129 bovins ont été inclus dans le groupe exposé à la lumière et quatre autres lots d'en moyenne 201 bovins constituaient le groupe témoin. En pratique, 40 à 60 prélèvements de fèces fraîches au sol ont été réalisés par enclos après 25 et 53 jours d'exposition à la lumière puis 28 et 43 jours après l'arrêt de l'exposition. Les bovins du groupe contrôle excrétaient moins d'*E. coli* O157 que ceux exposés à une lumière artificielle cinq heures par jour, pendant 53 jours ($p = 0,008$). La prévalence du groupe exposé à la lumière a diminué 43 jours après l'arrêt du traitement lumineux. Les auteurs ont alors suggéré un effet d'hormones telles que la mélatonine, mais ont ensuite obtenu des résultats contrastés (Schultz *et al.*, 2006; Edrington *et al.*, 2008).

L'excrétion des EHEC par les bovins est influencée par de nombreux facteurs (Figure 12), comme l'âge, la parité, la source d'eau à disposition ou encore l'alimentation. Des facteurs de stress tels que le sevrage ou l'allotement sont aussi connus pour augmenter le taux d'excrétion chez les veaux. Enfin, cette excrétion dépend aussi de certaines pratiques d'élevage (densité des animaux, épandage, utilisation d'antibiotiques) mais aussi des conditions environnementales, notamment lors de températures plus élevées en été. Pour conclure, il faut tout de même garder en tête qu'il est possible de retrouver des STEC dans quasiment toutes les fermes, au moins de façon intermittente (Hancock *et al.*, 2001).

Figure 12 : Bilan des facteurs liés à une augmentation de l'excrétion des EHEC, STEC ou *E. coli* O157 décrits dans la littérature (schéma personnel)



4. Méthodes de prélèvement en vue de la détection des EHEC

4.1. Différentes méthodes de prélèvements

De multiples méthodes de prélèvements existent pour permettre la détection des EHEC chez les bovins. Certaines d'entre elles permettent d'obtenir des résultats à l'échelle collective ou d'évaluer le degré de contamination de l'environnement, comme par exemple le prélèvement de bouse directement sur le sol ou encore l'utilisation de pédichiffonnettes (Cobbaut *et al.*, 2008, 2009; Widgren *et al.*, 2013, 2015; Bibbal *et al.*, 2022). Ce type de prélèvement à l'échelle collective peut être intéressant notamment chez les bovins à l'engraissement, secteur dans lequel les animaux sont régulièrement répartis en groupes (Cobbaut *et al.*, 2008). Enfin, dans la filière laitière, les filtres des machines de traite sont régulièrement utilisés à des fins de recherche des EHEC du top 5 lors d'investigation (ANSES, 2019; Jones et de Valk, 2020). Dans ce dernier cas, il est important de signaler que les analyses sur les filtres de lait ne sont pas représentatives de la probabilité de retrouver les *E. coli* producteurs de shigatoxines dans les produits laitiers. Ainsi, elles ne sont pas

recommandées lors d'une surveillance de routine mais plutôt dans le cadre d'une investigation ou d'une surveillance renforcée (Plateforme de Surveillance de la Chaîne Alimentaire, 2022).

Néanmoins, la plupart des prélèvements sont réalisés (et traités) individuellement et bien souvent par prélèvement de selles dans le rectum (Cobbaut *et al.*, 2008; Islam *et al.*, 2014). Cependant, cette méthode n'est pas idéale d'un point de vue du bien-être animal car elle peut être génératrice de stress chez l'animal, mais aussi par rapport au temps qu'elle nécessite pour sa réalisation (Cobbaut *et al.*, 2008). D'autres méthodes ont déjà été documentées, en particulier l'écouvillon de la jonction recto-anale, qui sera abordé de façon plus détaillée dans la partie suivante (4.2.). L'écouvillonnage de la surface de la peau des bovins, que ce soit à l'aide d'une éponge ou d'un coton-tige stérile, a également été réalisé dans plusieurs études, à des localisations variées : mufle, encolure, épaule, flanc, abdomen, jarret, zone périnéale ou encore dos (Stephens *et al.*, 2007; Cobbaut *et al.*, 2008; Fegan *et al.*, 2009). Enfin, l'écouvillonnage de la cavité buccale à l'aide d'éponge stérile a été aussi expérimenté comme moyen de détection des *E. coli* O157 (Stephens *et al.*, 2007).

4.2. Intérêt de l'écouvillon de la jonction recto-anale dans la détection des EHEC

L'une des alternatives au prélèvement de selles dans la détection des EHEC chez le bovin est l'écouvillon de la jonction recto-anale.

La jonction recto-anale est une région située à l'extrémité terminale du tractus gastro-intestinal (Naylor *et al.*, 2003; Kudva et Dean-Nystrom, 2011). Elle est localisée entre le côlon descendant et le début du canal anal. D'un point de vue histologique, elle se caractérise par la transition brutale entre l'épithélium cylindrique associé au rectum et l'épithélium pavimenteux stratifié du canal anal (Naylor *et al.*, 2003). À environ 3 à 5 cm de la jonction recto-anale se trouve une densité importante de follicules lymphoïdes, recouverts par une strate de cellules épithéliales, formant ce qui l'on appelle l'épithélium associé aux follicules (Kudva et Dean-Nystrom, 2011).

Il se trouve que les *E. coli* O157:H7 ciblent préférentiellement ce tissu de la jonction recto-anale, ce qui en fait un site de colonisation de prédilection (Naylor *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2007; Cobbold *et al.*, 2007; Bellec, 2017). En revanche, la colonisation par les autres sérotypes d'EHEC, tels que EHEC O26, apparaît consistante tout le long du gros intestin, sans site de colonisation préférentiel (Naylor *et al.*, 2003; van Diemen *et al.*, 2005; Lim *et al.*, 2007).

En s'appuyant sur cette observation, Rice *et al.* (2003) ont développé une méthode alternative de prélèvement pour la détection d'*E. coli* O157:H7 : l'écouvillon de la jonction recto-anale. Il s'est avéré que cette méthode est efficace pour détecter la colonisation d'*E. coli* O157:H7 chez les bovins infectés naturellement et expérimentalement (Rice *et al.*, 2003). D'autres travaux ont aussi mis en évidence qu'il s'agissait d'une méthode appropriée pour la détection de l'excrétion d'EHEC O26 ainsi que pour établir le statut de « super-excréteur » chez un bovin (Murphy *et al.*, 2016; McCabe *et al.*, 2019).

Diverses méthodes de prélèvements existent afin de détecter les EHEC chez les bovins. La plus connue consiste en un prélèvement de selles directement dans le rectum mais des études ont mis en évidence un site de colonisation préférentiel des *E. coli* O157:H7 : la jonction recto-anale. Cela a permis la mise au point d'une méthode de prélèvement alternative : l'écouvillon de la jonction recto-anale, qui permet de détecter la colonisation par différents sérogroupes d'EHEC, tout en étant plus respectueux du bien-être animal par une technique moins invasive.

4.3. Comparaison entre les différentes méthodes de prélèvement

Il est intéressant d'avoir un grand éventail de méthodes de prélèvement destinées à la détection des EHEC, mais il faut dans ce cas s'assurer de la fiabilité des différentes techniques. Cobbaut *et al.* (2008), cherchant une méthode alternative au prélèvement de selles dans le rectum, ont comparé cette méthode avec des écouvillons de la peau du mufle, de l'encolure, de l'épaule, du flanc et du dos, l'utilisation de pédichiffonettes, des écouvillons des barrières d'enclos et enfin des échantillons d'aliment et d'eau. Finalement, seule l'utilisation de pédichiffonettes s'est révélée être un bon substitut au prélèvement de selles dans le rectum pour évaluer le statut d'une ferme ou d'un lot par rapport à *E. coli* O157:H7 (Cobbaut *et al.*, 2008). Widgren *et al.* (2013) ont également souligné l'intérêt de prélèvements environnementaux comme les pédichiffonettes pour qualifier les troupeaux de bovins possédant un ou plusieurs animaux excréteurs d'*E. coli* O157:H7. Par ailleurs, à l'échelle individuelle, l'écouvillon de la région périnéale représente 1,85 fois plus de chances de détecter *E. coli* O157:H7 que le prélèvement de fèces (Stephens *et al.*, 2009). Concernant la filière laitière, l'analyse des filtres provenant des machines à traire est jugée comme plus sensible que l'analyse du lait directement (ANSES, 2018).

Néanmoins, les deux méthodes les plus documentées et comparées dans la littérature sont le prélèvement de selles dans le rectum et l'écouvillon de la jonction recto-anale. La grande majorité des travaux entrepris sur le sujet ont démontré que l'écouvillon de la jonction recto-anale présente une sensibilité équivalente, voire bien souvent plus grande, que le prélèvement de selles pour la détection des EHEC (Rice *et al.*, 2003; Greenquist *et al.*, 2005; Davis *et al.*, 2006; Lim *et al.*, 2007; Agga *et al.*, 2017). Cette plus grande sensibilité peut s'expliquer par le fait que l'écouvillonnage permet un échantillonnage du site de colonisation d'*E. coli* O157 (Greenquist *et al.*, 2005). Rice *et al.* (2003) précisent en effet que l'écouvillon de la jonction recto-anale permet de déceler les animaux colonisés par *E. coli* O157:H7 dès le début, contrairement au prélèvement de selles. Enfin, Greenquist *et al.* (2005) ont mis en évidence plus de 95 % de similitude d'un point de vue génomique entre l'isolat provenant de l'écouvillon et celui provenant des fèces d'un même animal, et ce pour l'ensemble des 24 paires d'échantillons étudiés. Cela suggère que les souches colonisant la jonction recto-anale sont les mêmes que celles isolées dans les fèces. Cela vient renforcer l'hypothèse de Naylor *et al.* (2003) selon laquelle les fèces se recouvrent des bactéries au contact de la muqueuse colonisée.

Une autre manière de comparer les méthodes de prélèvement consiste à utiliser le kappa de Cohen qui mesure un degré de concordance entre deux méthodes. Les études ayant utilisé le kappa de Cohen pour l'écouvillon de la jonction recto-anale et le prélèvement de selles ont trouvé des degrés de concordance très faibles ($\text{kappa} < 0,2$) à modérés ($\text{kappa} = 0,6$) (Khaita *et al.*, 2005; Agga *et al.*, 2017).

Malheureusement, l'utilisation de différentes méthodes de prélèvement pour la détection des EHEC chez les animaux rend la comparaison des résultats et prévalences obtenus difficile voire

impossible. Par conséquent, le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies insiste sur la nécessité d'harmoniser au maximum les méthodes de prélèvement (ECDC, 2022). Cela permettrait une meilleure compréhension et connaissance du pathogène, afin de gérer au mieux les dangers qu'il représente.

À l'échelle d'un lot ou d'une ferme, l'utilisation de pédichiffonettes s'est révélée être une méthode de choix comme substitut au prélèvement de fèces. À l'échelle individuelle, l'écouvillon de la jonction recto-anale apparaît dans de nombreuses études comme étant une méthode plus sensible que le prélèvement de fèces, cependant le degré de concordance entre les deux méthodes reste faible à modéré. L'écouvillon de la jonction recto-anale détecte plutôt les animaux colonisés par les EHEC. Le manque d'harmonisation entre les méthodes de prélèvement est identifié comme une faiblesse par l'ECDC.

Deuxième partie : étude expérimentale

1. Introduction

1.1. Contexte et objectifs de l'étude

Le Syndrome Hémolytique et Urémique représente une grave menace dans le secteur de la santé publique, touchant chaque année plus d'un enfant sur 100 000 en France depuis 2017 (Santé Publique France, 2022a). Ce syndrome s'avère être mortel dans 3 à 5 % des cas et laisse des séquelles chez environ un quart des survivants (Bryan *et al.*, 2015). Le SHU est majoritairement causé par les *Escherichia coli* entérohémorragiques, bactéries qui produisent des shigatoxines et possèdent des facteurs d'adhésion à l'épithélium intestinal, provoquant des lésions d'attachement/effacement (ANSES, 2023).

Les ruminants, et plus particulièrement les bovins, représentent le principal réservoir des EHEC (Persad et LeJeune, 2014). La détection des animaux excréteurs de la bactérie s'avère être particulièrement difficile, étant donné que ces derniers sont quasiment toujours asymptomatiques lors d'infection par les EHEC (Pruimboom-Brees *et al.*, 2000).

La transmission de la bactérie aux humains se fait par voie féco-orale, par contact direct avec des animaux excréteurs, ou de façon indirecte, notamment lors de l'ingestion de denrées alimentaires ou d'eau contaminée par des matières fécales contenant des EHEC (ANSES, 2012; Bruyand *et al.*, 2018). Les principaux aliments responsables d'infection par les EHEC comprennent notamment la viande crue ou insuffisamment cuite, les produits laitiers non pasteurisés, ou encore certains végétaux consommés crus (ANSES, 2022).

Le secteur du lait cru a été particulièrement touché en France ces dernières années, avec plusieurs épidémies dont l'origine a été rattachée de façon certaine ou seulement suspectée à la consommation de fromages au lait cru (Institut Pasteur, 2013; Jones et de Valk, 2020; Santé Publique France, 2020). Au-delà des répercussions évidentes sur la santé des personnes infectées par les EHEC, de telles épidémies impactent la confiance du consommateur dans les produits concernés et entraînent aussi des conséquences économiques importantes sur les acteurs du secteur.

Deux des dernières épidémies en date en France et liées au secteur du lait cru (origine confirmée en 2018 et fortement suspectée en 2019), ont toutes deux été provoquées par une souche d'EHEC O26:H11 (Jones et de Valk, 2020; Santé Publique France, 2020). Ce sérotype semble donc représenter un enjeu important au sein de cette filière.

Il devient impératif de mieux comprendre ce pathogène notamment au travers de l'identification des facteurs qui font varier son excrétion chez les bovins. Parmi eux, l'âge des animaux, les événements générateurs de stress ainsi que les conditions environnementales comme la température ont été rapportés comme étant susceptibles de faire varier l'excrétion des EHEC (Cobbold et Desmarchelier, 2000; Paiba *et al.*, 2003; Schouten *et al.*, 2005; Chase-Topping *et al.*,

2007; Callaway *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2013, 2014; Mir *et al.*, 2016; Schneider *et al.*, 2018; McCabe *et al.*, 2019; Henry *et al.*, 2019; Mohammed *et al.*, 2023).

Enfin, l'identification d'individus excréteurs au sein des élevages nécessite la mise en place de méthodes de prélèvement adaptées. Celles-ci doivent être à la fois pratiques à mettre en œuvre sur le terrain, fiables mais aussi les moins invasives et moins stressantes possible pour les animaux, dans un contexte de bien-être animal de plus en plus prégnant de nos jours. La recherche des EHEC est faite classiquement à partir de prélèvements de selles dans le rectum, mais de plus en plus d'études utilisent l'écouvillon de la jonction recto-anale pour réaliser des analyses (Rice *et al.*, 2003; Murphy *et al.*, 2016; McCabe *et al.*, 2019). La sensibilité de l'écouvillon de la jonction recto-anale est bien souvent qualifiée de supérieure à celle du prélèvement de selles (Rice *et al.*, 2003; Greenquist *et al.*, 2005; Lim *et al.*, 2007; Agga *et al.*, 2017).

Cette étude comprenait ainsi de multiples objectifs : (i) évaluer le passage des bactéries de la mère au veau lors de la naissance, caractériser l'excrétion intermittente, transitoire et/ou persistante, (ii) estimer la concordance entre deux méthodes de prélèvement, le prélèvement de selles et l'écouvillon de la jonction recto-anale et enfin (iii) identifier des facteurs de variation de l'excrétion et du portage d'EHEC O26:H11 chez les jeunes veaux laitiers de la naissance jusqu'au sevrage.

1.2. Autres objectifs du projet ConEHECtion

Ce travail de thèse s'inscrit au sein du projet ConEHECtion, coordonné par IDELE, qui vise un objectif plus large : évaluer une solution innovante afin de réduire voire prévenir le portage des EHEC O26:H11 par les veaux laitiers. Cette solution consiste à orienter la colonisation du microbiome par la distribution de lait fermenté à partir des souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, en complément d'une ration classique à base de colostrum et de lait.

En effet, le portage et l'excrétion des EHEC par les veaux ont été identifiés comme un point problématique dans la maîtrise de cette bactérie. L'orientation de la mise en place du microbiome dans les premières semaines de vie à l'aide de lait fermenté pourrait permettre d'influencer le microbiome à long terme, et apparaîtrait alors comme une possible stratégie de contrôle de l'excrétion et du portage des EHEC.

Par ailleurs, un objectif concomitant dans ce projet est l'identification de nouveaux biomarqueurs microbiens des phénotypes de portage et d'excrétion des EHEC chez les veaux, ainsi que d'éventuelles communautés microbiennes ayant un effet inhibiteur sur la colonisation par les EHEC. Cet objectif a donc nécessité le suivi de la composition du microbiome fécal à travers des analyses métagénomiques et de caractérisation du colibiome, c'est-à-dire de l'ensemble des génomes de la population d'*E. coli* présente chez un individu.

Les résultats liés à ces autres objectifs ne seront pas abordés dans cette thèse mais feront l'objets de publications supplémentaires, dont une seconde thèse vétérinaire.

2. Matériels et méthodes

2.1. Étude préliminaire

Dans un premier temps, une étude préliminaire a été réalisée en 2022-2023, afin de valider la faisabilité du protocole et d'identifier les points d'amélioration possible en vue de l'étude principale, réalisée par la suite.

2.1.1. Recrutement, constitution des lots et protocole

L'étude préliminaire a été menée en 2022-2023 dans deux fermes appartenant à une zone AOP lait cru de montagne et situées dans le même département. Les deux fermes avaient récemment fait l'objet d'une contamination du lait livré par EHEC.

Dans chaque ferme, des veaux femelles ont été recrutées dès leur naissance jusqu'au sevrage en étant réparties en deux lots. Dans la ferme 1, 14 veaux femelles Abondance ont été divisées en deux lots égaux de sept veaux chacun, dans la ferme 2, 11 veaux de race Montbéliarde ont été recrutés, six dans le lot témoin et cinq dans le lot dit « yaourt ». Les lots ont été constitués dans l'ordre des naissances : les sept premiers veaux nés ont été assignés au lot yaourt et les veaux suivants au lot témoin. En effet, les difficultés liées à la conduite des deux lots (yaourt et témoin) en parallèle ont motivé la décision de les constituer l'un après l'autre. Cependant, il n'a pas été possible de recruter le nombre suffisant de veaux dans la ferme 2, en raison d'un nombre trop faible de naissances de veaux femelles. En effet, l'objectif était de recruter 14 veaux dans chaque ferme, répartis dans deux lots de sept veaux chacun, et seuls 11 veaux ont été recrutés dans la ferme 2.

Le lot yaourt a reçu, tout au long de l'étude, un yaourt par jour, contenant les ferments *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, en plus de sa ration habituelle (identique à celle du lot témoin). Les prélèvements ont eu lieu d'août 2022 à mars 2023. Chaque veau recruté dans l'étude a fait l'objet de trois prélèvements : le prélèvement 1 (P1) était réalisé dans les sept jours à 12 jours après l'allotement, le prélèvement 2 (P2) dans les sept jours à 12 jours après l'ébourgeonnage et le prélèvement 3 (P3) dans les sept jours à 12 jours après le sevrage. Lors de chaque période de prélèvement, deux échantillons différents étaient prélevés sur les veaux : un prélèvement de bouse dans le rectum et un écouvillon de la jonction recto-anale.

Chaque prélèvement a ensuite été transporté sous couvert du froid positif dans une glacière jusqu'au laboratoire, qui, après un enrichissement du prélèvement, l'a analysé pour une recherche des gènes *stx1*, *stx2* et *eae* ainsi que de gènes spécifiques au séro groupe O26. Si la présence de la souche EHEC O26:H11 était suspectée, elle était envoyée pour confirmation dans un autre laboratoire.

2.1.2. Identification des points à améliorer

L'étude préliminaire a permis d'identifier les points faibles du protocole et par conséquent a permis de le parfaire. La première difficulté a consisté en l'obtention d'un nombre de vêlages suffisant sur une période restreinte, ce qui a conduit à un étalement de l'étude préliminaire jusqu'en mars 2023. Cela a souligné la nécessité de recruter des fermes avec des vêlages à la fois nombreux et relativement groupés.

De plus, pour des raisons de praticité pour les éleveurs, les lots témoin et yaourt n'ont pas été conduits en parallèle mais l'un après l'autre. Cela a entraîné deux faiblesses : un décalage de temps entre les deux lots qui a potentiellement provoqué un biais dû à l'effet saison, et d'autre part,

l'absence de tirage au sort et d'appariement pour les lots, rendant l'étude non randomisée ce qui a également pu induire un biais. Cela n'avait pas d'impact sur la représentativité de l'échantillon, puisque tous les veaux femelles nées étaient recrutés quoi qu'il arrive jusqu'à arriver à un total de 14 veaux. En revanche, cela a pu influencer la comparabilité des groupes : en effet, les veaux des lots « yaourt » sont nés plutôt en été, contrairement à ceux appartenant aux lots témoins, nés en automne. Or, la température et la saison ont déjà été décrits dans la littérature comme des facteurs ayant un effet sur l'excrétion des EHEC (Callaway *et al.*, 2009; Schneider *et al.*, 2018; McCabe *et al.*, 2019; Henry *et al.*, 2019). De plus, le fait de réaliser les prélèvements suite à un événement précis a induit des différences d'âge entre les veaux pour une même période de prélèvement (P1, P2 et P3), impactant à nouveau la comparabilité des lots. Par conséquent, il est apparu nécessaire d'à la fois mener les lots en parallèle, de tirer au sort l'attribution des veaux à l'un des deux lots pour l'étude principale et également de placer des prélèvements à temps fixes, sans qu'ils soient rattachés à des événements comme l'allotement et l'ébourgeonnage.

Enfin, les veaux des différents lots avaient la possibilité d'entrer en contact les uns avec les autres à travers les barrières des enclos, et le matériel utilisé (seaux à tétine, milk-bars) n'était pas différencié entre les lots. Ainsi, des contaminations entre les deux lots de l'étude préliminaire ont pu se produire, altérant l'effet de l'utilisation du yaourt sur l'excrétion d'EHEC O26.

Cette étude préalable a donc servi d'étude de faisabilité et n'était pas rigoureusement exploitable pour une analyse de résultats.

2.2. Recrutement des fermes

Plusieurs critères étaient nécessaires pour l'inclusion des fermes dans l'étude. Tout d'abord, le critère majeur était un historique de contamination par EHEC O26:H11 du lait livré par la ferme dans les quatre années précédant l'étude. Ensuite, les fermes ont été recrutées sur le critère du nombre de vêlages prévus durant le printemps et l'été, dans l'objectif de pouvoir recruter suffisamment de veaux femelles sur la durée de l'étude. Pour cela, la proportion de vêlages sexés a également pesé dans le choix des fermes. Enfin, les éleveurs des fermes concernées devaient consentir à élever les deux lots en parallèle, et ont accepté de faire en sorte de séparer le lot yaourt du lot témoin, ce qui était aussi une condition à leur participation à l'étude.

En prenant en compte ces critères, cinq fermes appartenant à la même zone AOP lait cru de montagne ont été recrutées, nommées ferme 3, 4, 5, 6 et 7 dans l'étude. Malheureusement, les éleveurs de la ferme 5 ont finalement choisi de se désister avant le démarrage de l'étude, par conséquent quatre fermes seulement ont été incluses au total. Les vaches appartenant à ces quatre fermes sont de race Montbéliarde et leurs éleveurs possèdent des pratiques similaires en ce qui concerne l'alimentation des veaux.

Avant le démarrage de l'étude, une analyse a été réalisée dans chaque ferme recrutée pour attester de la circulation effective d'EHEC O26:H11 ou non dans la ferme. Ainsi, pour chaque ferme, des fèces fraîches ont été ramassées au sol dans les lots de veaux, à raison d'environ une bouse par lot pour avoir un échantillon représentatif, soit au total environ quatre à cinq bouses par ferme. L'analyse a ensuite été réalisée sur un pool des fèces ramassées. Des souches EHEC O26:H11 ont été confirmées dans les fermes 3 et 6, mais pas dans les fermes 4 et 7. Malgré tout, ces deux dernières fermes ont tout de même été recrutées dans l'étude étant donné que dans les deux cas, bien qu'aucune souche EHEC O26:H11 n'ait été confirmée, l'analyse de 1^{ère} intention (réalisée fin mars-début avril 2023) était revenue positive à la fois pour le sérotype O26, pour au moins un des

deux gènes *stx* et pour le gène *eae*. De plus, au vue de leur historique de contamination du lait par O26:H11, de l'excrétion intermittente de la bactérie mais également des difficultés de recrutement des fermes, la décision de recruter ces fermes a été confirmée.

2.3. Recrutement et suivi des animaux

Dans chaque ferme, 14 veaux femelles de race Montbéliarde ont été recrutés, de leur naissance jusqu'au sevrage. Avant le début de l'étude, un tirage au sort a été effectué pour assigner les veaux à un des deux lots. Ainsi, dans chaque ferme, un veau sur deux était tiré au sort : le premier veau, celui tiré au sort, était assigné à l'un des lots, et le second était automatiquement attribué à l'autre lot. Par conséquent, les veaux constituaient des blocs de « jumeaux » virtuels, ce qui permettait d'apparier les veaux pour qu'ils aient des âges équivalents, ce qui permettait également de diminuer les biais de confusion éventuels.

À leur naissance, les veaux étaient logés dans des cases ou des niches individuelles, selon la pratique de la ferme (Figure 13A et B). Pour éviter les contacts entre deux veaux appartenant à des lots différents, deux options étaient possibles : soit les cases possédaient des parois sans ouverture sur les côtés ce qui excluait les contacts, soit ce n'était pas le cas et les éleveurs organisaient les cases individuelles selon le futur lot du veau, une rangée pour les veaux recevant du yaourt, en face de la rangée des veaux témoins.

Figure 13 : Exemple de disposition des cases individuelles en rangées (Ferme 6 et 7)

A. Rangée des veaux du lot sans yaourt ferme 6 ; B. Rangée des veaux du lot yaourt ferme 6 ;
C. Logements collectifs ferme 7



Par la suite, les veaux étaient allotés selon le lot auquel ils étaient assignés, toujours avec une attention portée à l'absence de contact entre les lots. Certaines fermes avaient la possibilité d'éloigner les lots dans l'espace ou disposaient de niches collectives, sans barrière commune entre deux lots (Figure 13C). Pour les autres fermes, des panneaux de contreplaqué ont été installés entre les lots, pour obstruer les ouvertures des barrières entre un lot « yaourt » et les autres veaux, du lot témoin ou non.

Tout au long de l'étude, les éleveurs disposaient d'un classeur, dans lequel ils répertoriaient tous les événements ayant eu lieu concernant les veaux de l'étude : maladies, traitements, vaccins, antiparasitaires, veau n'ayant pas bu son lait, allotement, ébourgeonnage, sevrage, etc. Dans ce classeur figurait également le plan d'inclusion des veaux, les contacts des divers intervenants de l'étude et le protocole de l'étude (Annexe 1).

2.4. Distribution des ferments et utilisation du matériel d'élevage

Les veaux du lot « yaourt » ont reçu, en plus du régime alimentaire classique à base de colostrum, de lait entier de vache puis de poudre de lait, des yaourts contenant les souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Le protocole de distribution fourni aux éleveurs figure en annexe 2.

Chaque veau de ce lot recevait ainsi dès sa première buvée un yaourt de 150 g par jour, délayé dans le lait, et ce toujours au même moment de la journée (matin ou soir selon la préférence de l'éleveur). Concernant le matériel utilisé, il fallait veiller à ce que tout le matériel entrant en contact avec les yaourts soit séparé du matériel utilisé pour les autres veaux. En effet, le but était d'éviter que les veaux n'appartenant pas au lot « yaourt » ne reçoivent par inadvertance des résidus des ferments subsistant sur le matériel, en plus de prévenir d'éventuelles contaminations croisées d'EHEC entre les lots. Ainsi, les seaux tétine, les milk-bars ou encore le fouet pour délayer le yaourt, étaient identifiés et utilisés uniquement pour ce lot.

Les yaourts étaient fournis par l'un des partenaires de l'étude. Leur date limite de consommation étant de 10 jours, les yaourts étaient récupérés puis livrés une fois par semaine dans les fermes. Pour le transport entre le fournisseur des yaourts et les fermes, les yaourts étaient gardés au frais dans une glacière puis directement stockés dans un réfrigérateur une fois livrés à la ferme. La livraison des yaourts hebdomadaire avait lieu le même jour que les prélèvements, ce qui permettait d'accompagner les éleveurs dans la mise en place de l'étude dans leur élevage de façon régulière.

2.5. Réalisation des prélèvements

Contrairement à l'étude préliminaire, des prélèvements à temps fixes ont été préférés aux prélèvements succédant des événements stressants. Effectivement, les éleveurs possédaient des pratiques assez différentes concernant l'âge à l'allotement, au sevrage ou à l'ébourgeonnage, cela a donc permis d'éviter d'avoir des âges trop éloignés entre les prélèvements d'un même événement ce qui aurait pu conduire à un biais de confusion. Seul le dernier prélèvement est resté lié à un événement : le sevrage. En effet, le sevrage ayant un impact très important sur le microbiote et sur l'excrétion des EHEC d'après la littérature, il était important de conserver ce prélèvement.

Ainsi, chaque veau de l'étude était prélevé quatre fois au total :

- Prélèvement 0 (P0) : dans les sept jours suivant la naissance du veau ;
- Prélèvement 1 (P1) : entre 21 et 30 jours d'âge
- Prélèvement 2 (P2) : à huit semaines d'âge
- Prélèvement 3 (P3) : dans les 7 à 14 jours suivant le sevrage

Les prélèvements analysés dans cette thèse ont eu lieu du mois d'avril jusqu'au mois d'octobre 2023. Cependant, l'étude n'était pas terminée au moment de la rédaction de cette thèse et les prélèvements se sont prolongés ensuite, mais ceux effectués après le mois d'octobre n'ont pas été pris en compte dans ce travail.

Pour chaque prélèvement, deux échantillons étaient réalisés : un échantillon de fèces puis un écouvillon de la jonction recto-anale. L'échantillon de fèces était réalisé par stimulation à l'aide d'un écouvillon, voire éventuellement par stimulation digitale. Dans les cas d'absence de défécation du veau, le prélèvement était réalisé à partir d'une bouse fraîche dans le cas où le veau était toujours

en case individuelle, sinon il était réalisé dans les jours suivants. Les fèces étaient récupérées dans un pot stérile identifié de 180 mL.

Après avoir prélevé les selles, un écouvillon de la jonction recto-anale était réalisé. L'écouvillon stérile était inséré à environ 2 à 5 cm dans l'anus, et deux aller-retours étaient effectués sur chaque cadran de la paroi du rectum.

Les mères des veaux étaient également prélevées une fois, lors du P0. Un prélèvement de fèces était réalisé directement dans le rectum à l'aide d'un gant de fouille puis recueilli dans un pot stérile identifié de 180 mL.

L'ensemble des prélèvements était ensuite gardé sous couvert du froid dans une glacière, le temps d'être acheminé au laboratoire. Afin de pouvoir réaliser les analyses de microbiote et de colibiote (diversité de la population d'*E. coli* présente chez un individu), pour chaque prélèvement de fèces (veau ou vache), une partie du prélèvement était utilisée et répartie dans quatre tubes Eppendorf, dont deux contenaient une solution au glycérol. Un gramme de fèces était extrait du pot stérile pour remplir chaque tube Eppendorf, puis l'ensemble des tubes Eppendorf étaient stockés au congélateur à -80°C en attendant d'être analysés.

Enfin, les prélèvements (pots de fèces et écouvillons) étaient envoyés au laboratoire pour les analyses de première intention.

2.6. Biosécurité

Lors des prélèvements, une attention particulière était portée à la biosécurité et au risque de contamination croisée entre les lots. Ainsi, la personne qui effectuait le prélèvement portait des surbottes, une combinaison et des gants. Les surbottes et la combinaison étaient changées entre les prélèvements de veaux appartenant à des lots différents et les gants étaient changés à chaque prélèvement. Les mains du préleveur étaient désinfectées à l'aide de gel hydroalcoolique après chaque passage dans une ferme.

2.7. Analyse de première intention des échantillons

L'analyse de première intention a pour but, après avoir enrichi l'échantillon, de rechercher dans le bouillon d'enrichissement les gènes *stx*, le gène *eae* ainsi que des gènes spécifiques des sept sérogroupes O26, O157, O45, O121, O145, O103 et O111, selon une méthode fondée sur la spécification technique européenne ISO 13 136.

Lors de l'arrivée des échantillons, une prise d'essai des fèces de 10 g était réalisée après mélange dans le pot. Pour les écouvillons, la tige était coupée à l'aide de ciseaux stériles afin de ne conserver que la partie ouatée de l'écouvillon. L'échantillon était ensuite dilué au dixième dans 90 mL (100 mL pour les écouvillons) de tryptone soja modifié additionné de novobiocine à 16 mg/L. Le milieu d'enrichissement était ensuite incubé à 37°C pendant 16h. Cette procédure d'enrichissement a été mise au point spécialement pour les échantillons fécaux et a déjà été employée pour l'analyse d'échantillons fécaux dans une autre étude (Bibbal *et al.*, 2015).

Un prélèvement d'1 mL du bouillon d'enrichissement était réalisé puis il était centrifugé pendant cinq minutes à 500 g afin d'éliminer les débris accumulés dans le culot. Puis, le surnageant était à nouveau centrifugé à 10 000 g pendant 5 minutes, le surnageant jeté et le culot (contenant les bactéries) était lavé avec 1 mL de solution saline tamponnée au phosphate. Cette étape de centrifugation puis de lavage du culot bactérien était répétée une nouvelle fois. L'extraction de l'ADN

bactérien était ensuite effectuée à l'aide d'un kit (« Food Extraction Pack 01 », de Pall Corporation) initialement développé pour extraire l'ADN de matrices alimentaires. Ainsi, 500 µL de la solution finale étaient prélevés puis transférés dans un tube de lyse. Une centrifugation à 10 000 g pendant 5 min était effectuée avant d'éliminer le surnageant, d'ajouter 200 µL de solution tampon de dilution, de mélanger brièvement au vortex puis de laisser incuber à 10 min à 100°C pour lyser. Enfin, une dernière centrifugation à 10 000 g pendant 5 min était réalisée avant de pipeter le surnageant, contenant l'ADN bactérien. L'ADN ainsi extrait était ensuite analysé par PCR avec un premier disque (GeneDisc® Technologies de Pall Corporation) pour les gènes *stx1*, *stx2* et *eae*, puis sur un second disque pour les gènes spécifiques des sérogroupes du top 7. Les personnes réalisant l'analyse n'avaient pas connaissance du lot auquel le veau appartenait.

Lorsque l'analyse de première intention d'un écouvillon revenait positive à la présence d'un gène *stx* (*stx1* ou *stx2*), du gène *eae* et du gène *wzx*_{O26}, spécifique du séro groupe O26, l'échantillon était considéré comme « suspect ». Le bouillon d'enrichissement était alors envoyé en analyse de confirmation dans un second laboratoire, sous couvert du froid.

2.8. Analyse de confirmation des échantillons

Lorsqu'un échantillon était positif lors de l'analyse de première intention, une analyse de confirmation était alors réalisée à partir du bouillon d'enrichissement. En premier lieu, une centrifugation à 500 g pendant cinq minutes était effectuée afin d'éliminer les particules les plus lourdes puis une immuno-séparation magnétique était réalisée avec des billes magnétiques recouvertes d'anticorps anti-O26. Puis les colonies étaient isolées sur deux milieux de confirmation distincts : Tryptone-Bile-Glucuronate (TBX) et milieu de Bjorn Possé. Dix colonies distinctes étaient isolées de ces deux milieux, puis chacune d'entre elle était remise en suspension dans une solution aqueuse stérile, ensuite portée à ébullition pendant cinq minutes afin de lyser les bactéries. Une dernière centrifugation était réalisée et l'ADN était extrait à partir du surnageant. Enfin, la présence d'*E. coli* était confirmée par PCR et les gènes codant les antigènes O26, H11 et les gènes *stx1*, *stx2* et *eae* étaient recherchés sur chacun de ces extraits d'ADN par PCR également.

Un échantillon était considéré positif à la confirmation EHEC O26:H11 lorsque la recherche de PCR donnait un résultat positif pour les antigènes O26, H11 et pour le gène *eae* et l'un ou les deux gènes *stx*.

2.9. Analyse statistique des résultats

2.9.1. Concordance entre le prélèvement de selles et l'écouvillon de la jonction recto-anale

Concernant la concordance entre les deux méthodes de prélèvements réalisées, trois résultats différents ont été évalués :

- La concordance des méthodes pour la suspicion d'EHEC O26:H11 dans le bouillon d'enrichissement ;
- La concordance pour la confirmation d'EHEC O26:H11 : seuls les veaux ayant obtenu un résultat de 1^{ère} intention positif à la fois pour le prélèvement de fèces et pour l'écouvillon ont été pris en compte pour ce calcul de concordance, afin de pouvoir comparer les deux prélèvements entre eux ;

- La concordance pour le résultat global : c'est-à-dire estimer si, à la fin, les deux méthodes donnent le même résultat, que les prélèvements aient été envoyés en confirmation ou non. Par exemple, si à l'analyse de 1^{ère} intention, le prélèvement de fèces est négatif et que l'écouvillon de la jonction recto-anale revient quant à lui positif, il existe deux possibilités. Soit l'écouvillon est négatif à l'analyse de confirmation, les deux méthodes de prélèvement donnent alors globalement un résultat négatif pour EHEC O26:H11 et sont donc concordantes. Soit à l'inverse l'écouvillon revient positif en analyse de confirmation, les méthodes ne sont alors pas concordantes sur ce prélèvement.

La concordance a été évaluée à l'aide du kappa de Cohen, qui sert à mesurer l'accord entre deux évaluateurs ou entre deux méthodes de classification.

2.9.2. Analyse des facteurs de variation de l'excrétion et du portage des EHEC

2.9.2.1. Obtention des données et élaboration des variables

Tout au long de l'étude, diverses données ont été recueillies, afin d'évaluer leur influence sur l'excrétion et le portage des EHEC O26:H11 par les veaux de l'étude. Parmi celles-ci figurent notamment les événements d'allotement, d'ébourgeonnage ou de sevrage, les maladies et traitements antibiotiques et parasitaires ainsi que leur voie d'administration.

De plus, deux capteurs météorologiques ont été placés : l'un dans la ferme 3, le second dans la ferme 4. En effet, la ferme 4 était assez proche de la ferme 6 et de la ferme 7 (environ 15 et 20 km respectivement), les données météorologiques de ces fermes ont donc été considérées comme voisines. En revanche la ferme 3 était plus excentrée, d'où la décision d'y placer son propre capteur.

Ainsi, des valeurs de température et d'humidité ont été enregistrées toutes les 15 minutes, tout au long de l'étude. Différentes variables ont été ainsi créées, notamment les température et humidité minimale, maximale et moyenne la veille du prélèvement (de minuit à minuit) et les quatre jours précédents le prélèvement afin de voir la tendance globale de ces paramètres et leur impact sur l'excrétion des EHEC O26:H11. De plus, un index pour évaluer le stress thermique des animaux, le THI (Temperature-Humidity Index) a également été calculé à l'aide de la formule suivante :

$THI = 0,8 * T + (HR / 100) * (T - 14,4) + 46,4$ où T représente la température et HR l'humidité relative (Mader *et al.*, 2006).

Ainsi, comme pour les autres variables, les variables de THI minimal, maximal et moyen la veille du prélèvement et sur les quatre jours précédant le prélèvement ont été calculées. En plus de cela, la variable du THI moyen entre 12 et 20h la veille du prélèvement a également été déterminée afin d'identifier les pics de stress thermique la veille du prélèvement.

En conclusion, nous avons obtenu :

- La variable d'intérêt, variable binaire : l'excrétion et/ou portage d'EHEC O26:H11. La variable était considérée comme « OUI » lorsque la bactérie avait été isolée en confirmation, peu importe l'échantillon (fèces ou écouvillon), « NON » sinon ;
- Deux variables qualitatives : la ferme (3, 4, 6 ou 7) et le prélèvement (P0, P1, P2 et P3, qui donne également une indication sur l'âge du veau) ;
- Deux variables binaires : l'allotement et l'ébourgeonnage, qui étaient définies par « OUI » pour le prélèvement avant lequel l'évènement avait eu lieu, « NON » dans les autres cas

(veau pas encore alloté/ébourgeonné ou alloté/ébourgeonné avant le précédent prélèvement).

- 19 variables quantitatives pour les données météorologiques : les valeurs de température, humidité et THI minimales (T_min, HR_min et THI_min), maximales (T_max, HR_max et THI_max), et moyennes (T_moy, HR_moy et THI_moy) la veille du prélèvement, les mêmes variables pour les quatre jours précédant le prélèvement (T_min_4prec, HR_min_4prec, THI_min_4prec, T_max_4prec, HR_max_4prec, THI_max_4prec, T_moy_4prec, HR_moy_4prec, THI_moy_4prec) et enfin, le THI moyen entre 12 et 20h la veille du prélèvement (THI_moy_12_20h).

Les variables concernant l'ébourgeonnage et les traitements antibiotiques et antiparasitaires n'ont pas été conservées que ce soit pour les tests bivariés ou pour le modèle logistique en raison d'un nombre trop faible de données.

2.9.2.2. Tests bivariés

Des tests ont été réalisés pour apprécier l'existence d'une différence significative ou non entre la présence d'excrétion d'EHEC O26:H11 et chacune des variables qualitatives ou binaires. Ainsi, pour chacune de ces variables, le test exact de Fisher a été effectué, afin de déterminer si les deux variables (celle testée et la variable d'intérêt binaire O26) étaient indépendantes ou si un lien existait entre elles. L'utilisation du test du Chi² n'était pas envisageable dans notre étude car les conditions n'étaient pas réunies : en effet, certains effectifs attendus étaient inférieurs à cinq. Pour les tests bivariés, le seuil de significativité a été fixé à 0,05.

Les hypothèses nulles (H0) relatives à ces tests bivariés sont les suivantes :

- H0 n°1 : Parmi les jeunes veaux laitiers en France, il n'existe pas d'association entre l'excrétion d'EHEC O26:H11 par un veau et un événement d'allotement ayant eu lieu avant le prélèvement ;
- H0 n°2 : Parmi les jeunes veaux laitiers en France, il n'existe pas d'association entre l'excrétion d'EHEC O26:H11 par un veau et la ferme à laquelle appartient ce veau ;
- H0 n°3 : Parmi les jeunes veaux laitiers en France, il n'existe pas d'association entre l'excrétion d'EHEC O26:H11 et l'âge du veau au moment du prélèvement.

2.9.2.3. Modèle de régression logistique (modèle multivarié)

Enfin, un modèle multivarié a été élaboré afin de prendre en compte d'éventuelles variables représentant un biais de confusion. La variable d'intérêt (excrétion d'EHEC O26:H11) étant binaire, nous avons opté pour un modèle de régression logistique.

De plus, dans notre étude les données ne sont pas indépendantes. En effet, le même animal est mesuré plusieurs fois à des temps différents. Cela a justifié l'utilisation d'un modèle logistique à mesures répétées (ou modèle linéaire généralisé à effets mixtes).

Au vu du nombre élevé de variables (dont de nombreuses variables liées aux conditions météorologiques), il a fallu sélectionner celles qui étaient les plus pertinentes. Ainsi, cinq modèles incluant des variables différentes ont été comparés afin de retenir celui avec l'Akaike Information Criterion (AIC) le plus faible possible. L'AIC est un critère de mesure de qualité du modèle.

Les tests statistiques et l'élaboration du modèle logistique ont été réalisés par Alison Stocchetti, du service DATA'STAT de l'Institut de l'Élevage à l'aide du logiciel R.

3. Résultats

Nous précisons une nouvelle fois que cette section ne traitera que d'une partie des résultats de l'étude « ConEHEction », la rédaction de cette thèse ayant été réalisée alors que l'ensemble des résultats n'avaient pas encore été recueillis.

3.1. Description de l'échantillon

Au cours de l'étude, 57 veaux ont été recrutés, qui se répartissaient en 14 veaux pour chacune des fermes 3, 6 et 7 et 15 veaux pour la ferme 4, pour laquelle un des veaux est décédé au cours de l'étude, ce qui a nécessité le recrutement d'un veau supplémentaire. Entre avril et octobre 2023, 30 veaux (soit 52,6 %) ont excrété la bactérie lors d'au moins une période de prélèvement. Pour la partie concernant la caractérisation de l'excrétion uniquement (partie 3.3.), les résultats du mois de novembre ont également été intégrés, ce qui a porté le nombre de veaux positifs à 34 soit 59,6 % des veaux recrutés.

Nous avons réalisé au total 367 prélèvements : 211 prélèvements de fèces (156 sur les veaux et 55 sur les vaches) et 156 écouvillons de la jonction recto-anale. Pour l'analyse de 1^{ère} intention, 34 veaux ont présenté au moins un résultat positif pour le prélèvement de fèces et 33 pour l'écouvillon de la jonction recto-anale. Pour l'analyse de confirmation, 24 veaux ont présenté au moins un résultat positif au prélèvement de fèces et 25 veaux un résultat positif à l'écouvillon.

Quatre vaches (sur les 55 prélevées) ont présenté un résultat positif en analyse de 1^{ère} intention et le résultat a été confirmé pour une seule d'entre elles.

Concernant les périodes de prélèvements, le P0 (0-7 jours) a été effectué sur les 57 veaux, le P1 (21-30 jours) sur 54 veaux, le P2 (56-64 jours) sur 43 veaux et le P3 (7 à 14 jours post-sevrage) sur seulement deux veaux. Sur les 57 veaux, 47 ont été allotés et 14 ont été ébourgeonnés.

3.2. Transmission verticale des EHEC O26:H11

Au total, 57 veaux ont été inclus dans l'étude et parmi eux, deux veaux ont présenté un résultat positif lors de l'analyse de confirmation (fèces et/ou écouvillon) lors du prélèvement 0, c'est-à-dire dans les 7 jours suivant la naissance. Cinquante-cinq vaches ont été prélevées au total (en raison de la naissance de deux paires de jumeaux au cours de l'étude), avec un unique prélèvement de fèces revenu positif pour EHEC O26:H11 après l'analyse de confirmation.

Pour l'ensemble des 57 couples mère-veau, aucun des couples n'a présenté un résultat positif à EHEC O26:H11 à la fois pour la mère et le veau. Ainsi, le passage de la bactérie de la mère au veau dans les sept jours suivant la naissance du veau était dans notre étude de 0 %.

3.3. Caractérisation de l'excrétion

Sur les 57 veaux inclus dans l'étude, 34 ont présenté au moins un résultat positif en confirmation que ce soit pour le prélèvement de fèces ou pour l'écouvillon entre avril et novembre 2023 (Annexe 3). Pour cette partie sur la caractérisation de l'excrétion, la période de recueil des résultats s'est échelonnée d'avril à novembre 2023, soit environ un mois de plus que pour les résultats sur les

facteurs de variation de l'excrétion. L'objectif était de recueillir le maximum de résultats pour caractériser l'excrétion le plus précisément possible, alors que les résultats sur les facteurs de variation ont dû être arrêtés plus tôt afin de pouvoir élaborer le modèle et réaliser les analyses statistiques.

Nous avons prêté attention au caractère transitoire de l'excrétion des EHEC O26:H11, parmi les veaux positifs à EHEC O26:H11. L'excrétion des veaux était considérée comme transitoire lorsque, chez un même veau, un résultat de confirmation positif (ou une série de résultats positifs) était suivi de résultats toujours négatifs. Cela a été le cas pour 16 des 34 veaux positifs soit pour 47 % [30 % ; 64 %]_{95%} des veaux positifs.

De plus, l'excrétion intermittente a été définie comme l'isolement d'une souche d'EHEC O26:H11 à plusieurs reprises, mais de façon non consécutive. Dans notre étude, six des 34 veaux positifs au moins une fois l'ont été de façon intermittente, soit 18 % [5 % ; 30 %]_{95%} des veaux positifs.

Enfin, un des veaux de notre étude a excrété la bactérie lors de trois prélèvements consécutifs, soit pendant une période de 132 jours, bien qu'on ne puisse pas affirmer que ce veau était excréteur entre les prélèvements.

3.4. Concordance entre le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale

3.4.1. Concordance pour l'analyse de 1^{ère} intention

Un total de 312 prélèvements a été réalisé sur les veaux entre avril et octobre, sur 57 veaux, consistant en 156 prélèvements de fèces dans le rectum et 156 écouvillons de la jonction recto-anale. Lors de chaque événement de prélèvement d'un même veau, les résultats de l'analyse de 1^{ère} intention sur le prélèvement de bouse et sur l'écouvillon de la jonction recto-anale ont été comparés. Les résultats obtenus pour les analyses de 1^{ère} intention sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Tableau de contingence entre les résultats obtenus lors des analyses de première intention effectuées sur les prélèvements de bouse d'une part et sur l'écouvillon de la jonction recto-anale d'autre part

| BOUSE | ÉCOUVILLON | NOMBRE D'OCCURRENCES |
|--------------|-------------------|-----------------------------|
| NON | NON | 91 |
| OUI | NON | 21 |
| NON | OUI | 11 |
| OUI | OUI | 33 |

Les analyses de suspicion ont donné des résultats concordants sur 79 % des prélèvements. Le kappa de Cohen a ensuite été calculé sur la base des résultats obtenus, avec un kappa de 0,53 [0,38 ; 0,67]_{95%} pour les analyses de suspicion.

3.4.2. Concordance pour les analyses de confirmation

La même démarche a été réalisée pour les analyses de confirmation. Les calculs ont porté sur 66 prélèvements au total (33 prélèvements de fèces, 33 écouvillons). Les résultats obtenus pour les analyses de confirmation sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Tableau de contingence entre les résultats obtenus lors des analyses de confirmation effectuées sur les prélèvements de bouse et l'écouvillon de la jonction recto-anale

| BOUSE | ÉCOUVILLON | NOMBRE D'OCCURRENCES |
|-------|------------|----------------------|
| NON | NON | 9 |
| OUI | NON | 2 |
| NON | OUI | 4 |
| OUI | OUI | 18 |

Les analyses de confirmation ont donné des résultats concordants sur 82 % des prélèvements. Le kappa de Cohen a ensuite été calculé sur la base des résultats obtenus, avec un kappa de 0,61 [0,33 ; 0,89]_{95%} pour les analyses de confirmation.

3.4.3. Concordance pour le résultat global

Enfin, nous avons voulu déterminer la concordance entre les deux méthodes de façon globale, c'est-à-dire si les méthodes donnaient ou non le même résultat à la fin, que les prélèvements aient été envoyés en confirmation ou non. Ainsi, les différents cas où les méthodes sont jugées comme concordantes sont :

- Lorsque les deux méthodes ont donné un résultat négatif en analyse de 1^{ère} intention ;
- Lorsque les deux méthodes ont donné un résultat positif en analyse de confirmation ;
- Lorsqu'une méthode a donné un résultat négatif alors que l'autre a donné un résultat positif en analyse de 1^{ère} intention, mais que la confirmation revient finalement négative pour cette dernière. Finalement, les deux prélèvements sont négatifs, aucune souche d'EHEC O26:H11 n'étant isolée à l'issue des analyses.

Dans tous les autres cas, les méthodes sont jugées comme non concordantes. Ainsi, le calcul a porté sur l'ensemble des 312 prélèvements (156 prélèvements de bouse, 156 écouvillons) et sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Tableau de contingence entre le prélèvement de bouse et l'écouvillon pour le résultat global

| BOUSE | ÉCOUVILLON | NOMBRE D'OCCURRENCES |
|-------|------------|----------------------|
| NON | NON | 119* |
| OUI | OUI | 18** |
| OUI | NON | 9*** |
| NON | OUI | 10*** |

* Parmi ces résultats, on retrouve les 9 résultats négatifs pour les deux prélèvements en analyse de confirmation et les 110 restants signifient que les deux prélèvements étaient d'emblée négatifs en 1ère intention ou alors que l'un des deux prélèvements était positif en 1ère intention mais finalement négatif en confirmation.

**Il s'agit des 18 résultats positifs pour les deux types de prélèvements en analyse de confirmation.

***Cela correspond aux autres situations, où l'un des deux prélèvements était positif en confirmation et l'autre était négatif (soit d'emblée en 1ère intention, soit finalement en confirmation).

De façon globale, les résultats d'analyse ont été concordants sur 88 % des prélèvements. Le kappa de Cohen a ensuite été calculé à 0,58 [0,41 ; 0,75]_{95%} pour le résultat global.

3.5. Facteurs de variation de l'excrétion et du portage d'EHEC O26:H11

3.5.1. Statistiques descriptives

Au total, entre les mois d'avril et d'octobre, 57 veaux ont été prélevés et 30 d'entre eux ont présenté un résultat positif en confirmation entre avril et octobre 2023, que ce soit pour le prélèvement de fèces, pour l'écouvillon de la jonction recto-anale ou pour les deux prélèvements, soit 52,6 % des veaux de notre étude. Plus précisément, dans notre étude, concernant l'analyse de confirmation, 24 veaux ont présenté au moins un résultat positif au prélèvement de fèces et 25 veaux un résultat positif à l'écouvillon, soit respectivement 80 % et 83 % des 30 veaux positifs.

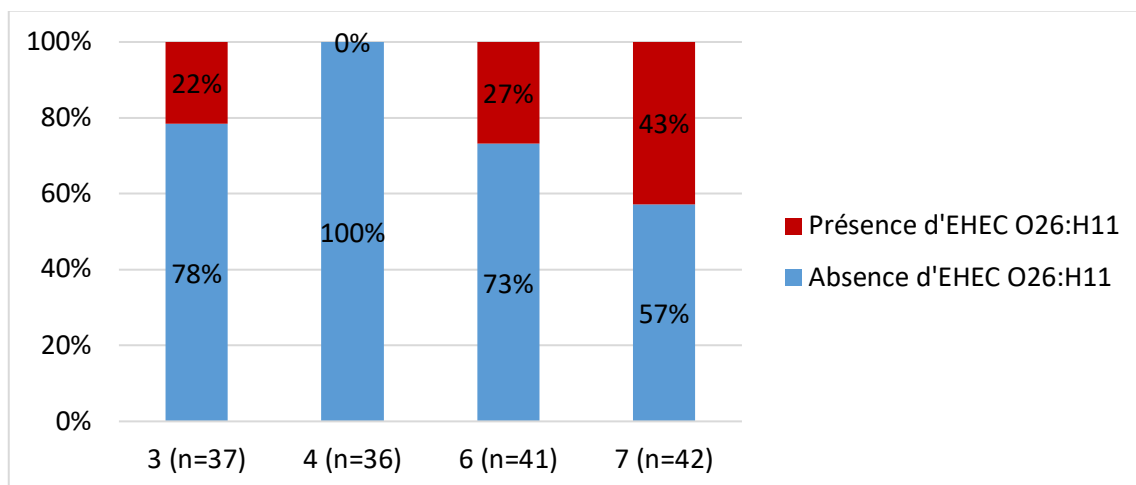
Dans cette partie, un résultat est considéré comme positif à EHEC O26:H11 lorsque pour un veau à une période donnée, au moins l'un des deux prélèvements (fèces/écouvillon) a donné lieu à l'isolement d'EHEC O26:H11 lors de l'analyse de confirmation.

Avant de commencer l'étude des facteurs de variation d'EHEC O26:H11, nous nous sommes intéressés à l'effet de la distribution de yaourt aux veaux : dans le lot témoin, 76 % des prélèvements étaient négatifs à EHEC O26:H11 et 24 % étaient positifs, et dans le lot « yaourt », 77 % étaient négatifs et 23 % positifs. Au vu des faibles différences de pourcentages entre les deux lots, nous avons dès lors considéré que la distribution du yaourt n'interférait pas dans l'étude des facteurs de variation de l'excrétion d'EHEC O26:H11.

Les 57 veaux prélevés se répartissaient comme suit entre les fermes : 14 veaux pour les fermes 3, 6 et 7 et 15 veaux pour la ferme 4. En effet, l'un des veaux de la ferme 4 est décédé entre le prélèvement 1 et le prélèvement 2, ce qui a donc nécessité le recrutement d'un autre veau. Dans la ferme 4, aucun veau n'a présenté de résultat de confirmation positif à EHEC O26:H11. Dans les autres fermes, nous avons comptabilisé 8 résultats positifs sur 37 dans la ferme 3, 11 positifs sur 41

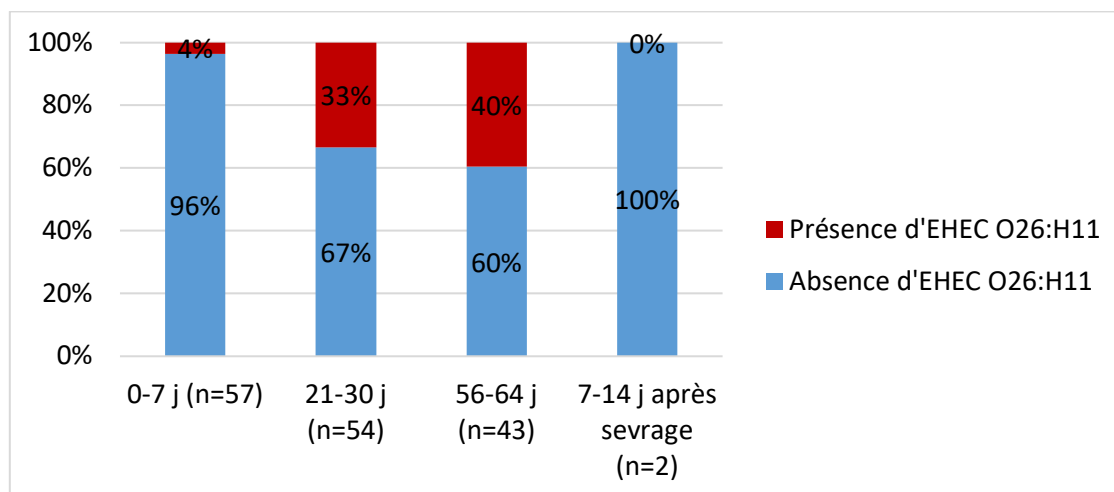
dans la ferme 6 et 18 positifs sur 42 dans la ferme 7. Ces résultats sont représentés dans la figure 14 sous forme de pourcentages ainsi que dans le tableau 5.

Figure 14 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de la ferme



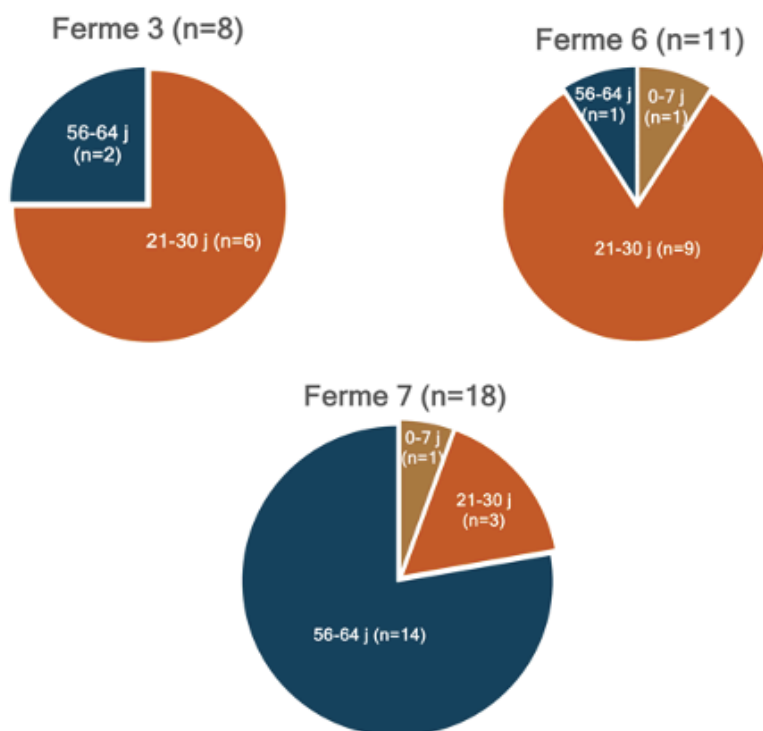
Pendant l'étude, les prélèvements étaient réalisés à des temps précis, ce qui a permis de donner une information sur l'âge des veaux. Ainsi, P0 correspondait à des veaux âgés de 0 à 7 jours, P1 à des veaux âgés de 21 à 30 jours, P2 à des veaux âgés de 56 à 64 jours et enfin P3 à des veaux sevrés depuis une à deux semaines. Au total, nous avons comptabilisé 2 résultats positifs sur 57 pour P0, 18 positifs sur 54 pour P1, 17 positifs sur 43 pour P2 et aucun positif sur les 2 veaux sevrés. Ces résultats sont représentés dans la figure 15 sous forme de pourcentages ainsi que dans le tableau 5.

Figure 15 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de la période de réalisation du prélèvement par rapport à l'âge des veaux



Plus précisément, dans la ferme 3, 75 % des prélèvements positifs étaient des prélèvements de veaux de 21-30 jours (P1), les 25 % restants étaient des prélèvements de veaux âgés de 56 à 64 jours (P2). Dans la ferme 6, 82 % des prélèvements positifs étaient des prélèvements de veaux de 21 à 30 jours, 9 % des veaux de moins d'une semaine et 9 % des veaux de 56 à 64 jours. Enfin, dans la ferme 7, la plus grande partie des prélèvements positifs concernaient des veaux âgés de 56 à 64 jours (78 %), puis des veaux âgés de 21 à 30 jours (6 %) et enfin des veaux âgés de moins d'une semaine (5 %) (Figure 16).

Figure 16 : Répartition des prélèvements positifs par ferme en fonction de l'âge des veaux



Au cours de l'étude, 47 veaux ont été allotés et 14 ont été ébourgeonnés au total. Plus précisément, 24 des veaux allotés avant le prélèvement ont présenté un résultat positif et pour les 109 prélèvements des veaux non allotés ou déjà allotés au prélèvement précédent, 13 résultats positifs ont été comptabilisés. Concernant l'ébourgeonnage, un seul veau a présenté un résultat positif sur les 14 veaux ébourgeonnés et 36 des 142 prélèvements des veaux non ébourgeonnés ou déjà ébourgeonnés au prélèvement précédent étaient positifs. Ces résultats sont représentés sous forme de pourcentages dans la figure 17 pour l'allotement et dans la figure 18 pour l'ébourgeonnage ainsi que dans le tableau 5.

Figure 17 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de l'allotement

NON = veau non alloté ou alloté avant le prélèvement précédent ; OUI = veau alloté avant le prélèvement

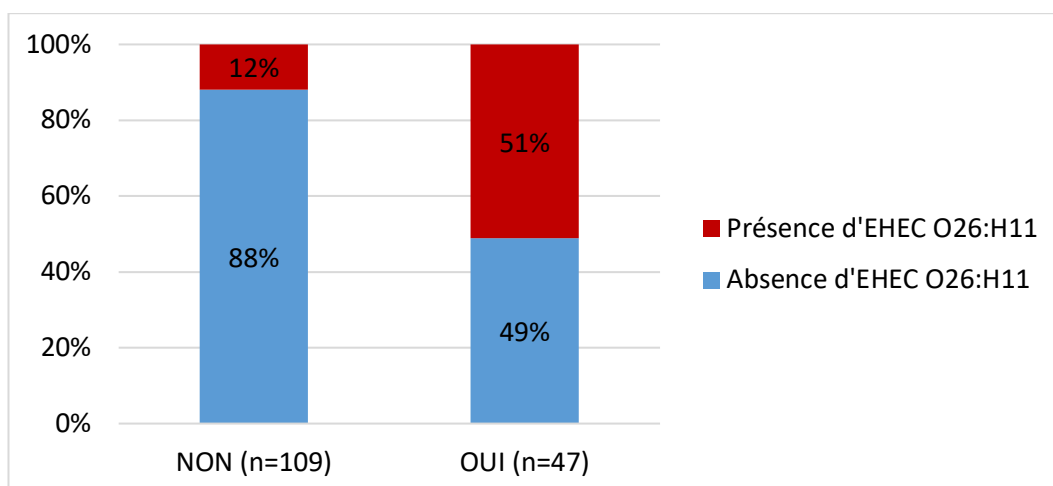


Figure 18 : Pourcentages de confirmation d'EHEC O26:H11 en fonction de l'ébourgeonnage

NON = veau non ébourgeonné ou ébourgeonné avant le prélèvement précédent ; OUI = veau ébourgeonné avant le prélèvement

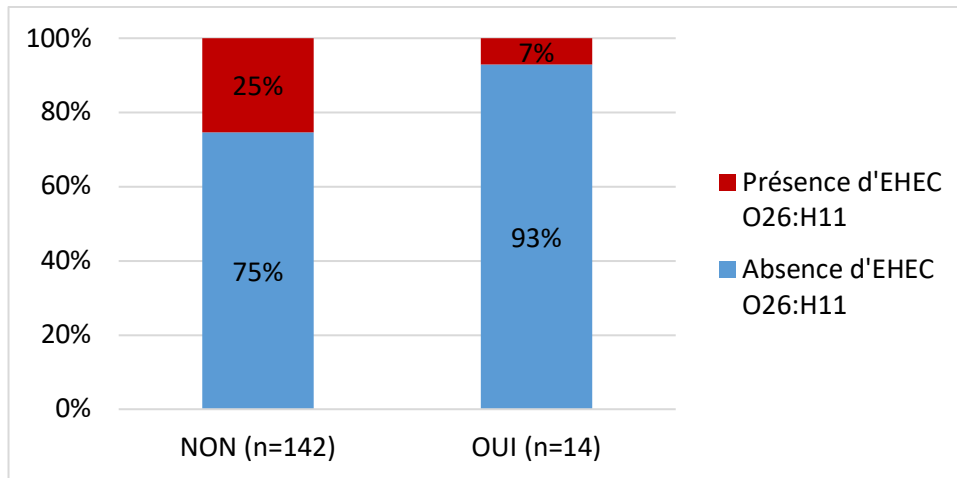


Tableau 5 : Résultats de confirmations d'EHEC O26:H11 pour les variables qualitatives et binaires

| Variable | Absence d'EHEC O26:H11 (% effectif total) | Confirmation d'EHEC O26:H11 (% effectif total) | Effectif total |
|---------------------------|---|--|----------------|
| FERME | | | |
| 3 | 29 (78 %) | 8 (22 %) | 37 |
| 4 | 36 (100 %) | 0 (0 %) | 36 |
| 6 | 30 (73 %) | 11 (27 %) | 41 |
| 7 | 24 (57 %) | 18 (43 %) | 42 |
| PRÉLÈVEMENT | | | |
| 0-7 j (P0) | 55 (96 %) | 2 (4 %) | 57 |
| 21-30 j (P1) | 36 (67 %) | 18 (33 %) | 54 |
| 56-64 j (P2) | 26 (60 %) | 17 (40 %) | 43 |
| 7-14 j après sevrage (P3) | 2 (100%) | 0 (0 %) | 2 |
| ALLOTEMENT | | | |
| NON | 96 (88 %) | 13 (12 %) | 109 |
| OUI | 23 (49 %) | 24 (51 %) | 47 |
| ÉBOURGEONNAGE | | | |
| NON | 106 (75 %) | 36 (25 %) | 142 |
| OUI | 13 (93 %) | 1 (7 %) | 14 |

Enfin, chaque jour de prélèvement a été associé à des valeurs de température, humidité et THI, grâce aux deux capteurs placés dans les fermes 3 et 4. Ainsi, 156 valeurs de température, d'humidité relative et de THI moyennes, minimales et maximales la veille du prélèvement et les quatre jours précédant le prélèvement, et valeurs de THI moyen entre 12 et 20h la veille du

prélèvement ont été établies. Elles se répartissaient en 37 valeurs pour lesquelles le résultat de confirmation d'EHEC O26:H11 était positif, et 119 pour lesquelles il était négatif. Les médianes et les écarts médians absolus, donnant une indication sur la dispersion des données, sont répertoriées dans le tableau 6.

Dans ce tableau, pour chaque variable, les médianes entre les prélèvements revenus positifs et ceux revenus négatifs en analyse de confirmation sont relativement proches entre elles. Plus précisément, concernant les valeurs de température, les médianes des températures lors d'absence d'EHEC O26:H11 étaient légèrement plus élevées que lorsqu'EHEC O26:H11 était isolé pour la température moyenne la veille du prélèvement, de même que les températures moyenne, minimale et maximale dans les quatre jours précédant le prélèvement (entre 0,1 à 1,6°C de différence). Pour les températures minimale et maximale la veille du prélèvement, les médianes étaient égales qu'EHEC O26:H11 soit isolée ou non.

Concernant l'humidité relative, les médianes étaient légèrement plus basses en cas d'absence d'EHEC O26:H11 que lorsque la bactérie était présente pour l'humidité relative moyenne et maximale la veille du prélèvement et moyenne et minimale dans les quatre jours précédant le prélèvement (d'1,5 % à 5 % de différence). Dans le cas de l'humidité relative minimale la veille du prélèvement et maximale dans les quatre jours précédant le prélèvement, la médiane était plus basse lorsque la bactérie n'était pas isolée que lorsqu'elle l'était (3 % et 0,9 % de différence respectivement).

Enfin, concernant le THI, les différences de THI entre les prélèvements positifs et négatifs en confirmation étaient assez faibles, avec une différence maximale d'1,8 entre les deux modalités pour le THI minimal pendant les quatre jours précédant le prélèvement.

Les différentes variables liées aux conditions météorologiques sont également décrites dans l'annexe 4, à l'aide de boîtes à moustaches.

Tableau 6 : Médianes des variables quantitatives liées aux conditions météorologiques en fonction de la confirmation d'EHEC O26:H11

(NON = absence d'EHEC O26:H11 ; OUI = EHEC O26:H11 confirmé)

| Variable | Médiane | Dispersion de la médiane (écart médian absolu) |
|-------------------------|---------|---|
| T_MOY (°C) | | |
| NON | 20,9 | 2,8 |
| OUI | 20,3 | 3,4 |
| T_MIN (°C) | | |
| NON | 15,5 | 3,0 |
| OUI | 15,5 | 4,0 |
| T_MAX (°C) | | |
| NON | 28 | 4,0 |
| OUI | 28 | 4,0 |
| HR_MOY (%) | | |
| NON | 59,1 | 6,5 |
| OUI | 61,3 | 5,0 |
| HR_MIN (%) | | |
| NON | 41,5 | 10,7 |
| OUI | 38,5 | 8,0 |
| HR_MAX (%) | | |
| NON | 78,5 | 8,0 |
| OUI | 83,5 | 5,4 |
| THI_MOY | | |
| NON | 67,1 | 3,8 |
| OUI | 66,8 | 4,1 |
| THI_MIN | | |
| NON | 59,7 | 4,8 |
| OUI | 59,7 | 6,4 |
| THI_MAX | | |
| NON | 74,8 | 2,9 |
| OUI | 74,5 | 3,4 |
| THI_MOY_12_20H | | |
| NON | 71,8 | 3,9 |
| OUI | 71,8 | 3,7 |
| T_MOY_4PREC (°C) | | |
| NON | 20,6 | 2,4 |
| OUI | 20,5 | 2,2 |
| T_MIN_4PREC (°C) | | |
| NON | 12,5 | 2,0 |
| OUI | 11,6 | 1,9 |
| T_MAX_4PREC (°C) | | |
| NON | 31,1 | 4,4 |
| OUI | 29,5 | 3,4 |
| HR_MOY_4PREC (%) | | |
| NON | 61,8 | 5,5 |
| OUI | 65,3 | 7,2 |
| HR_MIN_4PREC (%) | | |
| NON | 31,5 | 6,0 |
| OUI | 33,0 | 3,9 |
| HR_MAX_4PREC (%) | | |
| NON | 90,8 | 6,2 |
| OUI | 89,7 | 7,3 |
| THI_MOY_4PREC | | |
| NON | 66,3 | 3,1 |
| OUI | 66,3 | 2,4 |
| THI_MIN_4PREC | | |
| NON | 55,1 | 3,0 |
| OUI | 53,3 | 3,1 |
| THI_MAX_4PREC | | |
| NON | 77,5 | 3,8 |
| OUI | 77,1 | 3,8 |

3.5.2. Tests bivariés

Pour les variables qualitatives, le test exact de Fisher a été réalisé. Ce test a donc permis d'évaluer l'association entre la variable testée et la variable d'intérêt (le résultat de confirmation global d'EHEC O26:H11). De plus, la correction de Benjamini-Hochberg, qui fait partie de la famille de correction de type FDR (False Discovery Rate) a été appliquée sur les valeurs de p. En effet, plusieurs tests ont été réalisés sur les mêmes données, ce qui augmente la probabilité d'un faux positif (c'est-à-dire dans notre cas que l'une des associations apparaisse significative alors qu'elle ne l'est pas en réalité). La correction de Benjamini-Hochberg est donc un moyen d'identifier le plus grand nombre possible de variables significatives tout en ayant une proportion relativement faible de faux positifs. Les résultats sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Résultats des tests bivariés

| Variable | Test réalisé | Valeur de p | Valeur de p ajustée |
|--------------------|--------------|-------------|---------------------|
| FERME | Fisher | 0,00002 | 0,00015 |
| PRÉLÈVEMENT | Fisher | 0,00001 | 0,00011 |
| ALLOTEMENT | Fisher | 0 | 0 |

Dans ce tableau, on s'aperçoit que les trois variables (ferme, prélèvement (P0, P1, P2, P3) et allotement) sont significativement associées avec la présence d'EHEC O26:H11 ($p < 0,05$). Ainsi, d'après ces résultats, on peut rejeter les trois hypothèses nulles (H_0 n°1, n°2 et n°3) au risque $\alpha = 5\%$. Cependant, ces résultats ne prennent pas en compte d'éventuels biais de confusion, d'où la nécessité d'élaborer un modèle de régression multivarié.

Malheureusement, les variables quantitatives n'ont pas pu faire l'objet d'une analyse par un test bivarié. En effet, il n'existe aucun test bivarié correspondant rigoureusement à nos variables quantitatives du fait notamment de l'absence d'indépendance entre les deux groupes étudiés (les veaux positifs à O26 et les veaux négatifs d'un autre côté). En effet, certains veaux étaient à la fois dans le groupe « OUI » et dans le groupe « NON » du fait de l'excrétion intermittente de la bactérie. Ces variables ont toutefois été étudiées dans le modèle logistique.

3.5.3. Modèle logistique à mesures répétées

3.5.3.1. Choix des variables et élaboration du modèle

Dans notre modèle, certaines des variables ont plusieurs modalités, il est donc nécessaire de choisir une modalité de référence, à partir desquels les coefficients seront calculés. La modalité de référence choisie pour la variable d'intérêt est « NON », ce qui correspond à l'absence d'excrétion/portage d'EHEC O26:H11. Dans le cas de la variable « ferme », la ferme 4 a été choisie comme modalité de référence car elle ne comportait aucun veau positif à EHEC O26:H11. Enfin, dans le cas du prélèvement, P0 a été défini comme la modalité de référence, s'agissant du premier prélèvement mais également du prélèvement pour lequel la proportion de « NON » pour la variable d'intérêt était la plus élevée (hormis P3 qui n'a que deux données).

Certaines variables n'ont pu être intégrées lors de l'élaboration du modèle, afin de respecter au maximum les conditions d'application de celui-ci. En effet, le nombre d'événements (c'est-à-dire lorsque la variable d'intérêt O26 = « OUI ») conditionne le nombre de variables incluses dans le modèle. Ainsi, il n'était pas possible de garder toutes les variables, notamment celles liées aux

conditions météorologiques, d'autant plus que certaines d'entre elles sont corrélées (THI étant un calcul lié à la température et à l'humidité relative par exemple).

Par conséquent, cinq modèles différents ont été comparés, en sélectionnant à chaque fois des variables météorologiques différentes. Le modèle dont l'AIC était le plus faible et qui a finalement été retenu comportait les variables qualitatives (ferme, prélèvement, allotement) et les variables quantitatives se rapportant à la météo sur les quatre jours précédant le prélèvement ($T_{\text{moy_4prec}}$, $T_{\text{min_4prec}}$, $T_{\text{max_4prec}}$, $HR_{\text{moy_4prec}}$, $HR_{\text{min_4prec}}$, $HR_{\text{max_4prec}}$, $THI_{\text{moy_4prec}}$, $THI_{\text{min_4prec}}$ et $THI_{\text{max_4prec}}$). En outre, ce modèle ne comporte pas de différence significative avec le modèle complet (qui contient l'ensemble des variables excepté la ferme) ($p=1$ avec un test du χ^2), tout en étant plus parcimonieux.

3.5.3.2. Validation du modèle

Des tests ont été réalisés dans l'optique de vérifier les conditions d'application du modèle. En effet, la multicollinéarité, problème qui survient lorsque plusieurs variables mesurent le même phénomène, a été étudiée. Il en a résulté une absence de corrélation pour les variables « ferme » et « allotement », une corrélation légère pour la variable « prélèvement » (qui se justifie par des mesures répétées sur un même veau), et une corrélation importante pour les variables concernant la météo. Or, nous sommes dans le cas où certaines variables incluent le produit d'autres variables (le THI est une combinaison de la température et de l'humidité relative), cas dans lequel la multicollinéarité n'a pas de conséquences négatives et n'affecte pas les valeurs de p . En conclusion, les résultats de multicollinéarité indiquent ici que les coefficients individuels peuvent être interprétés de façon fiable.

D'autres tests ont été réalisés :

- Un test de Kolmogorov-Smirnov qui vérifie si la distribution observée de l'échantillon s'éloigne de la distribution théorique ;
- Un test de dispersion qui vérifie s'il y a sous-dispersion ou surdispersion des données ;
- Un test des valeurs aberrantes, qui vérifie s'il y a plus de valeurs aberrantes que ce qui est attendu.

Ces trois tests étant non significatifs ($p = 0,54616$, $p = 0,864$ et $p = 1$ respectivement), les tests n'ont décelé aucune anomalie dans le modèle.

Enfin, un calcul de matrice de confusion a été réalisé, c'est-à-dire la réalisation d'un tableau croisé des valeurs observées et celles des valeurs prédites par le modèle en l'appliquant aux données d'origine. Il en est ressorti que le modèle a mal prédit 23 événements (huit faux positifs et 15 faux négatifs) sur 152, menant à un taux de mauvais classement de 15,1 %.

3.5.3.3. Résultats du modèle

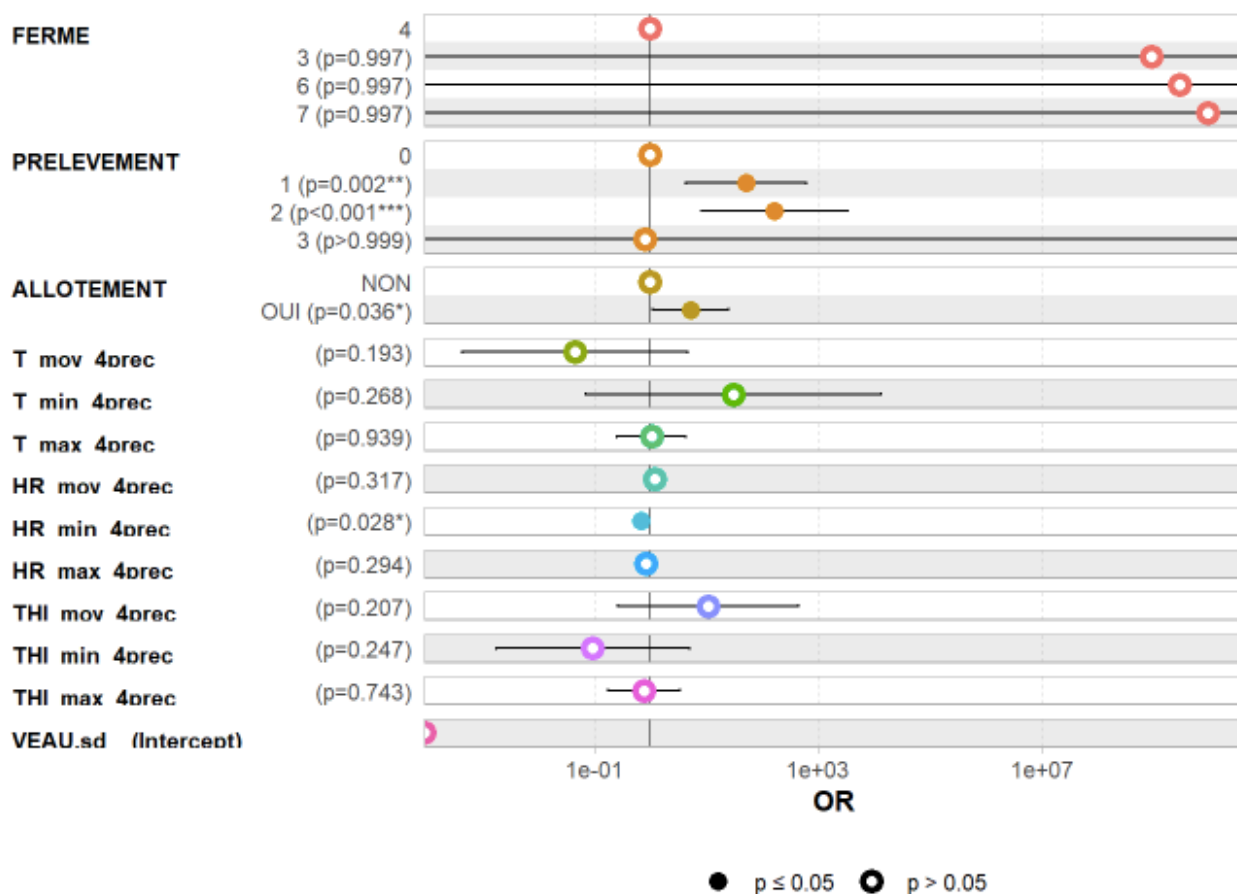
Les résultats du modèle sont présentés dans le tableau 8 et dans la figure 19.

Tableau 8 : Résultats du modèle de régression logistique

**En gras figurent les valeurs de p dont le résultat est significatif (p < 0,05)*

| Variable | Odds Ratio | Valeur de p |
|----------------------|---------------|--------------------|
| FERME | | 0,2 |
| 4 | - | |
| 3 | 868 992 267 | > 0,9 |
| 6 | 2 786 951 712 | > 0,9 |
| 7 | 8 719 168 667 | > 0,9 |
| PRÉLÈVEMENT | | 0,008* |
| 0 | - | |
| 1 | 51,4 | 0,002* |
| 2 | 167 | < 0,001* |
| 3 | 0,81 | > 0,9 |
| ALLOTEMENT | | 0,036* |
| NON | - | |
| OUI | 5,25 | 0,036* |
| T_MOY_4PREC | 0,05 | 0,2 |
| T_MIN_4PREC | 30,8 | 0,3 |
| T_MAX_4PREC | 1,06 | > 0,9 |
| HR_MOY_4PREC | 1,23 | 0,3 |
| HR_MIN_4PREC | 0,69 | 0,028* |
| HR_MAX4_PREC | 0,86 | 0,3 |
| THI_MOY_4PREC | 10,9 | 0,2 |
| THI_MIN_4PREC | 0,10 | 0,2 |
| THI_MAX_4PREC | 0,78 | 0,7 |

Figure 19 : Résultats du modèle logistique



Ainsi, le modèle a permis de mettre en évidence trois variables significativement associées à la variable d'intérêt sur l'excrétion d'EHEC O26:H11 : la période de prélèvement pour P1 et P2, l'allotement et l'humidité relative minimale sur les quatre jours précédant le prélèvement. Plus précisément, les veaux âgés de 21 à 30 jours et de 56 à 64 jours excrétaient plus souvent la bactérie que les veaux âgés de moins de 7 jours (OR = 51,4 et p = 0,002 ; OR = 167 et p < 0,001 respectivement). De même, un veau alloté avant le prélèvement excrétrait plus souvent EHEC O26:H11 qu'un veau non alloté ou alloté à distance du prélèvement (OR = 5,25 ; p = 0,036). Enfin, une augmentation de l'humidité relative minimale dans les quatre jours précédant le prélèvement diminuait le risque d'excrétion de la bactérie (OR = 0,69 ; p = 0,028).

4. Discussion

4.1. Transmission verticale des EHEC O26:H11

Dans notre étude, nous n'avons observé aucun couple mère-veau qui soient tous deux positifs à EHEC O26:H11 dans les sept jours suivant la naissance du veau, et ce pour les 57 veaux inclus (0 %). Ce résultat semble indiquer une absence de transmission verticale identifiable de la bactérie.

Pourtant, une étude de cohorte réalisée sur trois fermes en Australie a montré que, sur 13 vaches excrétaient des STEC immédiatement avant ou après le vêlage, trois ont donné naissance à des veaux excrétaient également des STEC, et que sur les 66 vaches dont les prélèvements étaient négatifs, sept veaux excrétaient également des STEC. Ainsi, il a été conclu qu'un veau présente plus de deux fois plus de chances d'excréter des STEC s'il est issu d'une mère également positive, indiquant une possible transmission verticale de la bactérie (Cobbold et Desmarchelier, 2000).

Néanmoins, cette étude ne précise pas si des souches identiques étaient isolées chez le veau et sa mère, ce qui laisse toujours possible l'hypothèse d'une contamination par l'environnement ou via d'autres animaux.

Les résultats obtenus par Pearce *et al.* (2004) au cours d'une étude sur 49 veaux et leurs 45 mères dans une ferme mixte bovine et ovine en Écosse sont en revanche proches de ceux obtenus dans notre étude. En effet, après avoir réalisé des prélèvements de fèces des veaux et des mères au moment de la naissance et effectué des analyses, les auteurs ont mis en évidence une absence d'association significative entre l'excrétion des STEC O26 par les mères et l'excrétion de cette même bactérie par les veaux pendant la première semaine de vie ($p = 1,00$). Ils sont arrivés à la même conclusion pour les STEC O157. De plus, sur la même cohorte, Shaw *et al.* (2004) ont démontré que les STEC de sérotype O26, O91 et O113 détectés dans les prélèvements de fèces des mères au moment du vêlage ont été retrouvés chez d'autres veaux, suggérant que les veaux peuvent acquérir des souches de STEC chez d'autres adultes que leur mère. Finalement, ces résultats, tout comme ceux obtenus dans notre étude, indiquent que la transmission horizontale, que ce soit par l'environnement ou les animaux autres que la mère, représente une source de transmission probable des STEC O26, plus importante que la transmission verticale. Cependant, il faut également prendre du recul sur ce résultat : il est possible que la période de la première semaine de vie ne soit pas suffisante pour juger de la transmission verticale du pathogène. En effet, si l'on considère que la période d'incubation de la bactérie chez les bovins est similaire à celle des humains (c'est-à-dire de trois à huit jours, avec une médiane de trois à quatre jours (World Health Organization, 2018)), il se peut que, si le veau se contamine via sa mère, il ne soit lui-même excréteur de la bactérie qu'après sa première semaine de vie.

4.2. Caractérisation de l'excrétion

Sur l'ensemble des veaux positifs de l'étude entre avril et novembre 2023 (soit 34 veaux), 47 % [30 % ; 64 %]_{95%} se sont révélés être excréteurs transitoires et 18 % [5 % ; 30 %]_{95%} des excréteurs intermittents d'EHEC O26:H11. Cependant, concernant l'excrétion transitoire, ce chiffre a pu être sous-estimé, étant donné qu'il manquait au moment de la rédaction des résultats certains résultats d'analyse pour des prélèvements effectués lors de la période de sevrage, qui auraient pu faire augmenter le pourcentage. De plus, trois individus ont excrété la bactérie pendant deux prélèvements consécutifs et ne l'ont plus excrétée lors des prélèvements suivants, ils étaient donc considérés comme excréteurs transitoires. Il n'est néanmoins pas exclu qu'ils aient arrêté d'excréter la bactérie entre les deux prélèvements positifs, sans que l'on puisse en attester, ce qui aurait alors fait d'eux des excréteurs intermittents. Enfin, un individu a excrété la bactérie pendant trois prélèvements consécutifs soit l'équivalent de 132 jours. De nouveau, il est impossible de savoir si l'excrétion était continue pendant cette période ou si elle s'est arrêtée entre deux prélèvements positifs.

L'excrétion transitoire a déjà été rapportée dans diverses études. En effet, dans une étude menée par Engelen *et al.* (2021), sur les 66 animaux prélevés à plusieurs reprises pour la recherche d'*E. coli* O157 et O26, seuls cinq d'entre eux (8 %) ont été retrouvés positifs pour le même sérotype d'*E. coli* et les mêmes gènes de virulence à plusieurs reprises. L'excrétion transitoire suggère ici d'après les auteurs des expositions et contaminations répétées au pathogène plutôt qu'une persistance réelle de l'infection (Engelen *et al.*, 2021). Il est aussi possible qu'une immunité s'installe, permettant l'arrêt de l'excrétion du pathogène.

En outre, Williams *et al.* (2013) ont trouvé dans leur étude que neuf bovins du parc d'engraissement (soit 6 % du nombre total d'animaux) prélevés excrétaient de façon intermittente *E. coli* O157 et 50 bovins (29,8 %) l'ont excrété de façon transitoire.

Ces résultats nous poussent à nous interroger sur l'individu dont l'excrétion a persisté pendant 132 jours au cours de notre étude : il devient en effet difficile de faire la part entre une réelle persistance de l'infection et une excrétion intermittente qui n'aurait pas été mise en évidence, ou même des événements de recontamination. Effectivement certains prélèvements étant séparés de plus d'un mois, il n'est pas exclu que le veau en question ait arrêté d'excréter la bactérie sans que l'on s'en aperçoive.

4.3. Concordance entre le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale

Nous avons au cours de notre étude pu évaluer la concordance entre deux méthodes, le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale, à la fois lors de l'analyse de 1^{ère} intention, lors de l'analyse de confirmation et enfin de façon globale.

Ainsi, nous avons obtenu un accord important pour l'analyse de confirmation ($\kappa = 0,61$ [0,33 ; 0,89]_{95%}) et un accord modéré pour l'analyse de 1^{ère} intention et le résultat global (respectivement $\kappa = 0,53$ [0,38 ; 0,67]_{95%} et $\kappa = 0,58$ [0,41 ; 0,75]_{95%}) (Tableau 9).

Tableau 9 : Interprétation du Kappa de Cohen (Landis et Koch, 1977)

| Kappa | Interprétation |
|-------------|------------------------|
| < 0 | Accord médiocre |
| 0,00 - 0,20 | Accord léger |
| 0,21 – 0,40 | Accord faible |
| 0,41 – 0,60 | Accord modéré |
| 0,61 – 0,80 | Accord important |
| 0,81 – 1,00 | Accord presque parfait |

Bien que nous soyons dans la limite haute de l'accord modéré pour ce qui est du résultat global, la part de désaccord entre les deux méthodes de prélèvement peut tout de même paraître importante. On pourrait expliquer cette différence par le fait que l'écouvillon de la jonction recto-anale évalue le portage de la bactérie à son site de colonisation plutôt que son excrétion (Rice *et al.*, 2003). La présence du pathogène dans les fèces renseignerait quant à elle sur l'excrétion de la bactérie. Or, dans notre étude, le nombre de prélèvements trouvés positifs en analyse de confirmation était sensiblement le même pour l'écouvillon que pour le prélèvement de fèces (29 vs. 27 prélèvements). Cela nous pousse à nous interroger sur la capacité de l'écouvillon de la jonction recto-anale à détecter un portage des EHEC, en tout cas dans le cas d'EHEC O26:H11, qui contrairement à *E. coli* O157:H7, ne colonise pas préférentiellement la jonction recto-anale (Naylor *et al.*, 2003; van Diemen *et al.*, 2005).

D'autres études ont également étudié la concordance entre ces deux méthodes. Effectivement, Khaitsa *et al.* (2005) ont prélevé 144 bœufs appartenant à deux troupeaux, à quatre reprises, et recherché *E. coli* O157:H7, obtenant un accord léger lors des 1^{ère}, 3^{ème} et 4^{ème} périodes de prélèvements ($\kappa < 0,2$) et un accord modéré lors du 2^{ème} prélèvement ($\kappa = 0,6$). D'autre part, Agga *et al.* (2017) ont également comparé les deux méthodes en recherchant les EHEC appartenant au « top 7 » sur 176 bœufs, avec une concordance globale faible pour les sept sérogroupes ($\kappa = 0,31$ [0,17 ; 0,44]_{95%}). La concordance s'échelonnait de légère pour O111 et O121 ($\kappa = 0$), à modérée pour O145 ($\kappa = 0,49$ [0,06 ; 0,92]_{95%}) en passant par faible pour O103, O157 et O45 ($\kappa = 0,29$ [0,08 ; 0,51]_{95%}, 0,34 [0,15 ; 0,53]_{95%} et 0,35 [0,22 ; 0,49]_{95%} respectivement).

Hormis pour la 2^{ème} période de prélèvement de l'étude de Khaitsa *et al.* (2005), ces deux études fournissent des résultats de concordance globalement plus faibles que ceux que nous avons mis en évidence. Cela peut s'expliquer par le fait que dans ces deux études, contrairement au protocole mis en place dans la nôtre, l'écouvillon de la jonction recto-anale était réalisé avant le prélèvement de fèces. En effet, le risque est alors de contaminer l'écouvillon par des matières fécales, qui contiennent d'autres bactéries, ce qui pourrait ainsi diminuer la sensibilité de l'écouvillon.

Concernant l'étude de Khaitsa *et al.* (2005) plus précisément, qui s'est focalisée sur *E. coli* O157:H7, les auteurs reconnaissent que leur technique d'écouvillonnage a pu manquer le site exact de la jonction recto-anale, site préférentiel de colonisation pour *E. coli* O157:H7, diminuant ainsi la sensibilité de l'écouvillon. Or, les autres sérotypes d'*E. coli*, contrairement à *E. coli* O157:H7, sont retrouvés à la fois au niveau de la jonction recto-anale mais aussi à des niveaux constants tout au long du gros intestin (Naylor *et al.*, 2003; van Diemen *et al.*, 2005). Ainsi, même si le site exact de la jonction recto-anale avait été manqué dans notre étude portant sur EHEC O26:H11, cela n'aurait pas eu les mêmes implications que dans celle de Khaitsa *et al.* (2005).

4.4. Facteurs de variation de l'excrétion et du portage des EHEC O26:H11

4.4.1. Effet de l'âge (variable « prélèvement »)

Dans notre étude, la variable « prélèvement » représentait l'âge des veaux avec quatre classes d'âge : 0 à 7 jours, 21 à 30 jours, 56 à 64 jours et après le sevrage. Dans un premier temps, le test exact de Fisher réalisé a permis de mettre en évidence une association entre un résultat de confirmation positif pour EHEC O26:H11 et la variable prélèvement. Ensuite, le modèle logistique a précisé ce résultat en indiquant que seuls P1 (21 à 30 jours) et P2 (56 à 64 jours) étaient significativement associés à la variable O26. Ainsi, l'excrétion d'EHEC O26:H11 était plus fréquente parmi les animaux âgés de 21 à 30 jours et parmi les animaux âgés de 56 à 64 jours que chez les animaux âgés de moins d'une semaine (OR = 51,4, $p = 0,002$ et OR = 167 et $p < 0,001$ respectivement).

Néanmoins, il est important de préciser d'une part que les animaux sevrés étant très peu nombreux (deux P3 uniquement), ce qui limite très fortement ce résultat et que, d'autre part, les âges des animaux au sevrage étaient très variables d'une ferme à l'autre voire même au sein d'une même ferme.

Dans la littérature, plusieurs études mentionnent une excrétion de la bactérie très tôt dans la vie du veau. En effet, Cobbold et Desmarchelier (2000) ont décrit une excrétion fécale de STEC dès les 48 à 72h d'âge, montrant ainsi que les veaux laitiers étaient exposés au pathogène dès la naissance. Dans notre étude, seuls deux veaux (4 %) ont excrété la bactérie durant la première

semaine de vie. En s'intéressant plus précisément à *E. coli* O26, Pearce *et al.* (2004) ont révélé que 25 % des veaux de leur étude ont commencé à excréter la bactérie dans leur première semaine de vie, et 50 % dans les deux semaines suivant leur naissance. Les auteurs ont également noté une poussée de l'excrétion entre la 3^{ème} et la 7^{ème} semaine de vie, ce qui corrobore nos données, P1 et P2 étant les prélèvements avec une plus grande prévalence (33 et 40 % de confirmations d'EHEC O26:H11 respectivement).

Diverses hypothèses pourraient expliquer la moindre excrétion d'EHEC O26:H11 chez les veaux âgés de moins d'une semaine par rapport aux veaux plus vieux. La première consiste à dire que plus le veau vieillit, plus il a d'occasions d'être exposé à la bactérie. D'autant plus que certains veaux ont été prélevés très tôt après la naissance (dans les 24 à 48h) et qu'ils n'ont peut-être pas eu le temps d'excréter la bactérie avant le prélèvement. Une seconde hypothèse pourrait faire intervenir la réponse immunitaire des veaux face au pathogène. En effet, l'augmentation de l'excrétion au cours des premières semaines de vie pourrait alors correspondre à une diminution des anticorps maternels dirigés contre les EHEC. Une étude s'est intéressée aux anticorps dirigés contre les shigatoxines (Fröhlich *et al.*, 2009). En effet, les shigatoxines peuvent interférer avec le début d'une réponse immunitaire acquise chez des animaux naïfs, prolongeant ainsi la durée d'excrétion des STEC. L'étude, menée sur 27 veaux de la naissance jusqu'à leur 24^{ème} semaine de vie, montre que les titres sériques en anticorps anti-Stx1 atteignaient des valeurs maximales entre 24h après la naissance et pour certains animaux après une semaine de vie. Puis les titres sériques en anticorps anti-Stx1 ont rapidement diminué, devenant indétectables chez la majorité des veaux âgés de trois mois (Fröhlich *et al.*, 2009). Concernant Stx2, de très faibles titres d'anticorps anti-Stx2 ont été détectés chez trois veaux et aucun n'a présenté de séroconversion. Enfin, l'étude a mis en évidence que les premières infections à STEC coïncident fréquemment avec une absence d'anticorps maternels et acquis spécifiques dans le sérum des animaux.

4.4.2. Effet de la ferme

Dans notre étude, hormis la ferme 4, toutes les fermes ont obtenu des résultats de confirmation positifs pour EHEC O26:H11. Bien que le test exact de Fisher ait indiqué une association significative entre la ferme et l'obtention d'une confirmation positive pour EHEC O26:H11 ($p = 0,00015$), cela n'a pas été le cas avec le modèle logistique ($p = 0,2$).

Cependant, il faut garder à l'esprit que les fermes recrutées dans notre étude avaient toutes un historique de contamination du lait par EHEC O26:H11, ce qui a pu impacter le résultat.

Au contraire, une autre étude a pu mettre en évidence une variation significative de la prévalence des STEC en fonction de la ferme étudiée, mais a préféré être prudente sur la valeur de ce résultat, en rappelant qu'il nécessitait des études supplémentaires pour identifier d'éventuels facteurs écologiques ou paysagers qui pourraient impacter la prévalence des STEC (Venegas-Vargas *et al.*, 2016).

Enfin, il est important de signaler que les critères de recrutement ont sélectionné des fermes finalement peu représentatives de la zone AOP lait cru en question. En réalité, dans cette zone, les élevages sont généralement de plus faible effectif, avec des vèlages plutôt concentrés en automne. Ainsi, même si nous avons pu mettre en évidence une association significative entre l'excrétion d'EHEC O26:H11 et la ferme à laquelle appartient le veau, il aurait été difficile de pouvoir l'étendre à l'ensemble des fermes de la zone.

4.4.3. Effet des facteurs de stress

Le principal facteur de stress étudié au sein de nos travaux a été l'allotement. Il se trouve que le test de Fisher a mis en évidence une association significative entre la variable d'allotement et la variable O26 ($p = 0$). Le modèle logistique a lui aussi confirmé ce résultat, indiquant que les veaux allotés juste avant le prélèvement avaient de plus grandes chances d'excréter la bactérie que les veaux n'ayant pas été allotés ou ayant été allotés à distance du prélèvement ($OR = 5,25$ et $p = 0,036$).

Ce résultat peut s'expliquer à la fois parce que l'allotement est un facteur de changement et de stress pour les animaux, mais également parce qu'il permet la mise au contact d'animaux avec d'autres animaux éventuellement infectés par EHEC O26:H11, favorisant ainsi la circulation de la bactérie. Il faut noter que, dans notre étude, le fait d'avoir effectué des prélèvements à temps fixes a pu créer de grands écarts de temps entre l'événement d'allotement et le prélèvement (entre deux et 33 jours d'écart). Ainsi, on peut aisément imaginer que des veaux qui excrétaient la bactérie suite à leur allotement n'étaient plus positifs lors du prélèvement, lorsque celui-ci était très éloigné de l'événement.

Des études ont mis en évidence que le logement en groupe était plus favorable à l'excrétion du pathogène. Ainsi, Schouten *et al.* (2005) a démontré lors d'une étude sur 454 troupeaux (dont 42 (9,3 %) étaient positifs à *E. coli* O157), une association significative entre les troupeaux de bovins en lots (par rapport à un logement individuel) et la présence de la bactérie. De même, Mohammed *et al.* (2023) ont réalisé une étude sur 27 fermes avec un total de 2 162 prélèvements de fèces et ont indiqué une détection plus fréquente d'*E. coli* O157:H7 dans les fermes dont les veaux étaient allotés.

Un autre facteur de stress abordé dans notre étude est l'ébourgeonnage. Celui-ci n'a malheureusement pu être analysé qu'en statistique descriptive étant donné le faible nombre de données dont nous disposons. Ces données indiquent un plus grand pourcentage de confirmations d'EHEC O26:H11 positives chez les veaux non ébourgeonnés ou dont le prélèvement a été fait à distance de l'ébourgeonnage que chez les veaux ébourgeonnés (25 % vs. 7 %). Cependant, ce résultat est à prendre avec précaution au vu du faible nombre de valeurs (14 veaux ébourgeonnés) et du fait que, parmi les veaux du groupe ébourgeonnés, l'ébourgeonnage avait été fait à distance du prélèvement en question (64 % des veaux ébourgeonnés l'étaient depuis plus d'une semaine au moment du prélèvement).

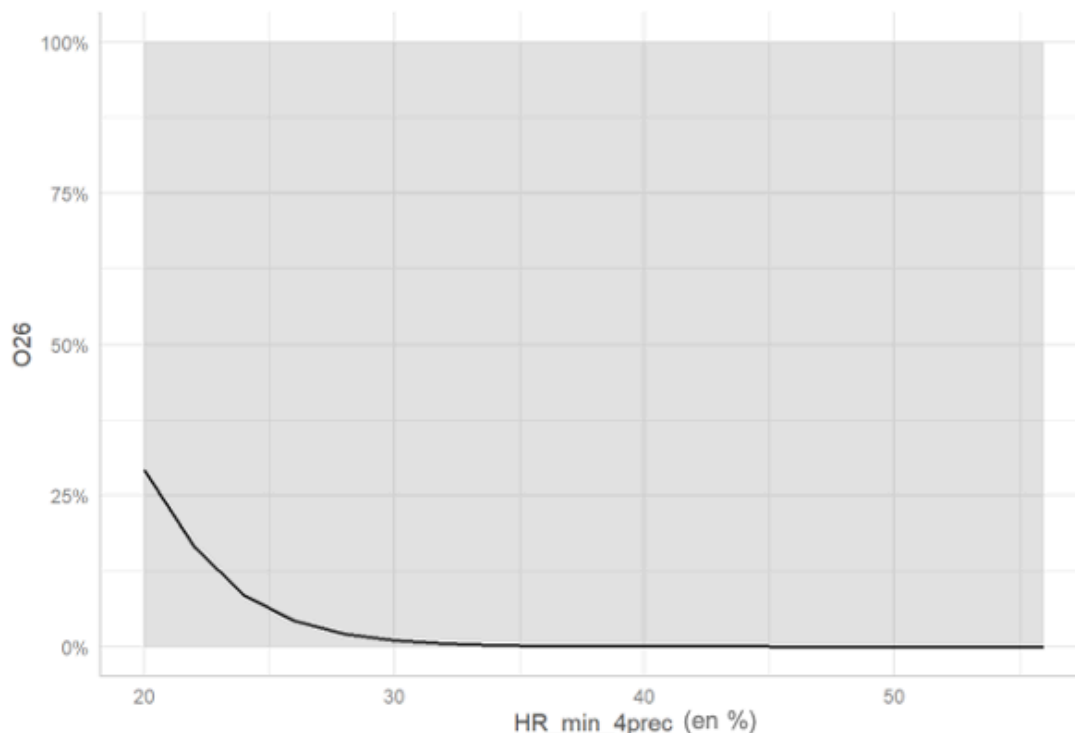
Une étude menée par Stenkamp-Strahm *et al.* (2018) sur un total de 1 358 veaux (dont 34 soit 2,5 % étaient positifs à *E. coli* O157) n'a pas mis en évidence d'association significative entre l'écornage et la détection d'*E. coli* O157 dans les fèces ($p = 1,00$). Cela vient donc renforcer le fait que la tendance obtenue dans notre étude est à interpréter prudemment et nécessiterait d'être étudiée plus en profondeur avec plus de données.

4.4.4. Effet des variables météorologiques

Enfin, notre étude comprenait de nombreuses variables météorologiques concernant la température, l'humidité relative et le THI. La statistique descriptive semblait indiquer des résultats peu tranchés entre les valeurs des variables météorologiques entre le groupe des prélèvements avec une confirmation d'EHEC O26:H11 et le groupe des prélèvements négatifs. Cette tendance a été en grande partie confirmée dans notre modèle logistique dans lequel quasiment toutes les variables météorologiques intégrées n'ont pas montré d'association significative avec l'excrétion d'EHEC O26:H11 ($p > 0,05$). En effet, seule l'humidité relative minimale au cours des quatre jours précédant

le prélèvement a montré une association significative avec le fait d'excréter le pathogène (OR = 0,69 et $p = 0,028$). Ainsi, dans notre étude, une humidité relative minimale plus élevée dans les quatre jours précédant le prélèvement diminuait la probabilité que celui-ci soit positif lors des analyses de confirmation pour EHEC O26:H11 (Figure 20).

Figure 20 : Prédiction de la probabilité d'une confirmation positive à EHEC O26:H11 en fonction de l'humidité minimale dans les quatre jours précédant le prélèvement



Des résultats similaires ont déjà été mis en évidence dans la littérature. En effet, Schneider *et al.* (2018) ont démontré sur un total de 85 écouvillons qu'un événement de précipitation ayant lieu dans la semaine précédant un prélèvement diminuait les chances pour que celui-ci soit positif pour EHEC O45 (OR = 0,07 [0,006 ; 0,8]_{95%}).

En revanche, plusieurs études apportent des résultats contradictoires. Par exemple, Williams *et al.* (2015b), lors d'une étude sur 52 génisses laitières avec un taux de détection d'*E. coli* O157 de 44,6 % sur 933 prélèvements (fèces et écouvillons) réalisés, ont révélé que l'humidité relative et la survenue de précipitations étaient positivement associées à une augmentation d'excrétion de la bactérie. L'humidité relative était relevée à deux moments fixes de la journée et les précipitations étaient mesurées en nombre de jours pour lesquels une précipitation de plus de 10 mm avait été enregistrée au cours de la semaine précédant le prélèvement.

Lammers *et al.* (2015) ont également démontré que la survenue de précipitations dans la semaine précédant le prélèvement augmente l'excrétion d'*E. coli* O157, au cours d'une étude sur 23 vaches allaitantes ($p < 0,01$). En revanche, dans cette étude, il n'y avait pas d'association significative entre l'humidité (donnée recueillie une fois par jour à temps fixe dans l'étude) et l'excrétion d'*E. coli* O157 ($p = 0,99$). Ce résultat peut sembler un peu contradictoire avec le précédent mais, toutefois, rappelons que dans notre étude, l'humidité maximale et moyenne dans les quatre jours précédant le prélèvement n'étaient pas non plus associées à l'excrétion d'EHEC O26:H11.

Ainsi, une hypothèse plausible par rapport à ce résultat serait que l'humidité a un effet sur l'augmentation d'excrétion du pathogène uniquement à partir d'un certain seuil d'humidité minimale, qui permettrait la multiplication du pathogène dans l'environnement mais que passé ce seuil, l'augmentation de l'humidité n'augmente plus l'excrétion de la bactérie.

Diverses explications sont notamment apportées par les auteurs pour justifier cette association significative : la multiplication du pathogène est favorisée par des conditions humides, la diminution de la propreté des animaux du fait des conditions plus boueuses, qui sont deux éléments augmentant l'exposition des bovins et la transmission de la bactérie (Lammers *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 2015b). Dans notre cas, les veaux étaient logés en bâtiment, par conséquent leur propreté n'a pas forcément été impactée par les intempéries.

Ainsi, les résultats obtenus dans notre étude peuvent paraître surprenants en comparaison à ceux obtenus dans ces deux études. Néanmoins, il est important de rappeler que ces deux études portaient sur *E. coli* O157 et non sur EHEC O26:H11. Or, Schneider *et al.* (2018) ont mis en évidence que, dans leur étude portant sur sept sérogroupes d'EHEC distincts, les facteurs de risque d'excrétion des EHEC liés aux conditions météorologiques étaient différents selon le séro groupe d'EHEC en question.

Concernant les variables liées à la température, aucune d'entre elles n'a mis en évidence d'association significative avec l'excrétion d'EHEC O26:H11 dans le modèle logistique, comme le laissait présumer l'étude de statistique descriptive où les écarts ne semblaient pas importants entre les deux groupes. Pourtant, dans la littérature, de nombreux auteurs se sont intéressés au sujet, en montrant notamment que l'augmentation de la température était corrélée positivement à l'excrétion des EHEC. En effet, Stenkamp-Strahm *et al.* (2017) ont observé qu'une augmentation de la température moyenne était associée significativement à une plus forte excrétion d'EHEC O157 chez des vaches laitières ($p < 0,003$). De plus, Venegas-Vargas *et al.* (2016) ont démontré une association significative entre une température moyenne supérieure à 28,9°C dans les cinq jours précédant le prélèvement et l'excrétion de STEC par les bovins laitiers (OR = 2,5 [1,25 ; 4,91]_{95%}). Enfin, Williams *et al.* (2015b) ont mis en évidence sur une cohorte de 52 génisses que, lorsque la température dépasse 37°C pendant un à deux jours dans les 14 jours précédant le prélèvement, celui-ci a significativement plus de chances de revenir positif pour *E. coli* O157.

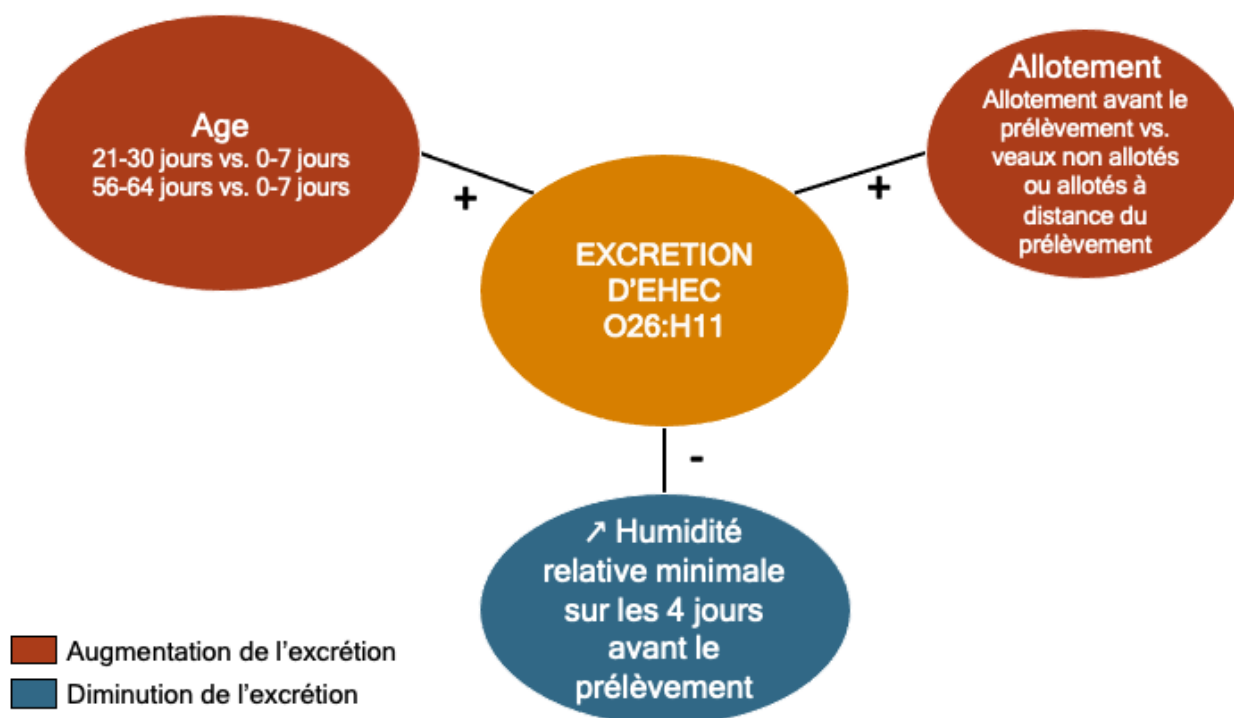
Ces résultats n'ont pas été retrouvés dans notre étude. Ainsi, il est possible de remettre en question le postulat selon lequel les fermes 6 et 7 n'étaient pas suffisamment éloignées de la ferme 4 pour avoir des conditions météorologiques significativement différentes. En effet, seuls deux capteurs avaient été placés, un dans la ferme 3 et l'autre dans la ferme 4, mais il aurait peut-être été préférable que chaque ferme dispose de son propre capteur.

Enfin, les variations de THI, qui est une combinaison de la température et de l'humidité relative, n'ont pas non plus montré d'influence sur l'excrétion des EHEC O26:H11 dans notre étude. Une étude en particulier s'est intéressée à l'effet du THI sur l'excrétion d'*E. coli* O157 chez des jeunes veaux, mais également de l'interaction de ce paramètre avec les niveaux d'immunoglobulines G (IgG) (Stenkamp-Strahm *et al.*, 2018). En effet, cette étude, portant sur 1 358 veaux laitiers, a indiqué que, comparé à un THI neutre ($50 \leq \text{THI} < 70$), un THI élevé ($\text{THI} \geq 70$) était significativement plus susceptible d'être associé à la présence d'*E. coli* O157 dans les fèces des veaux (OR = 1,057 [1,023 ; 1,089]_{95%}). En revanche, un THI faible ($\text{THI} < 50$) était significativement associé à probabilité plus faible de présence d'*E. coli* O157 dans les fèces, par rapport à un THI neutre (OR = 0,974

[0,955 ; 0,993]_{95%}). En outre, les effets combinés du THI et du niveau d'IgG ont aussi été investigués dans cette étude : les veaux dont les titres sériques en IgG étaient faibles (< 10 g/L) avaient plus de chances d'excréter *E. coli* O157 avec un THI neutre ou élevé et les veaux dont les titres sériques en IgG étaient modérés (compris entre 10 g/L et 14,9 g/L) avaient plus de chances d'excréter *E. coli* O157 avec un THI élevé, en comparant à des veaux avec des titres sériques en IgG élevés (\geq 15 g/L) (Stenkamp-Strahm *et al.*, 2018). Il faut noter que cette étude utilisait une formule pour obtenir le THI différente de celle utilisée pour notre étude. Ceci dit, tout comme Stenkamp-Strahm *et al.* (2018), il aurait pu être intéressant de créer des classes de THI plutôt que de laisser cette variable continue. L'absence d'association entre le THI et l'excrétion d'EHEC O26:H11 dans notre étude peut, tout comme les résultats obtenus pour la température, avoir pâti de l'utilisation de seulement deux capteurs plutôt qu'un capteur météorologique par ferme.

En résumé, un bilan reprenant les variables significativement associées à l'excrétion d'EHEC O26:H11 apparaît dans la figure 21.

Figure 21 : Bilan des variables associées significativement à l'excrétion d'EHEC O26:H11 (schéma personnel)



4.5. Limites principales de l'étude et perspectives

Plusieurs limites ressortent de notre étude. La première d'entre elles est intrinsèquement liée aux conditions expérimentales, l'étude ne se déroulant pas en conditions de laboratoire mais directement sur le terrain. Ainsi, il était difficile de contrôler l'ensemble des paramètres : par exemple, certaines variables comme la date d'allotement ou d'ébourgeonnage n'ont pu être imposées aux éleveurs car cela les aurait conduits à bouleverser leurs pratiques d'élevage. Or, la difficulté de recruter les fermes pour l'étude nous a obligés à effectuer certaines concessions. Il a donc été décidé de fixer les dates de prélèvements à des temps fixes plutôt que de les effectuer en fonction des événements d'intérêt,

ce qui aurait eu comme effet des âges de veaux très différents pour un même prélèvement. Par conséquent, certaines dates d'allotement ou d'ébourgeonnage se sont retrouvées éloignées du prélèvement suivant, ce qui a pu impacter les résultats.

D'un autre côté, toutes les données de l'étude n'étaient pas recueillies au moment de la rédaction de cette thèse, notamment les prélèvements qui suivaient le sevrage (P3). Or, le sevrage a déjà été reconnu comme un événement important à l'origine de changements dans le microbiote du veau et d'une augmentation de l'excrétion du pathogène (Cobbold et Desmarchelier, 2000; Paiba *et al.*, 2003; Chase-Topping *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2014). Il aurait donc été très intéressant de pouvoir exploiter ces données.

Concernant les données météorologiques, il aurait été intéressant que chaque ferme ait son propre capteur météorologique (plutôt que deux capteurs, dans les fermes 3 et 4). En effet, malgré la proximité des fermes 4, 6 et 7, nous ne pouvons être sûrs que cela n'ait pas influencé les résultats liés à la température, à l'humidité et au THI.

De plus, malgré un historique récent de contamination du lait par EHEC O26:H11, aucune souche de ce sérotype n'a été isolée au cours de l'étude dans la ferme 4. Cela a pu ainsi impacter les résultats, diminuant la prévalence globale d'EHEC O26:H11 dans l'étude. Nous avons choisi de recruter cette ferme malgré le fait que les prélèvements environnementaux réalisés avant l'étude étaient revenus négatifs lors de l'analyse de confirmation (mais positif lors de l'analyse de 1^{ère} intention (détection des gènes *stx1*, *stx2*, *eae* et gènes spécifiques d'O26 dans le bouillon d'enrichissement)), notamment car nous n'avions pas d'autre ferme volontaire pour l'étude et que la ferme avait un historique de contamination du lait par des EHEC O26.

Enfin, notre modèle logistique était imparfait, étant donné que le taux de mauvais classement s'élevait à 15,1 % d'après la matrice de confusion réalisée. Un nombre plus important de données ou un plus grand nombre de facteurs de variations informatives aurait pu pallier à ce problème.

Cette étude a permis d'explorer les facteurs de variation de l'excrétion d'EHEC O26:H11 et offre ainsi des perspectives sur l'impact de certaines variables. De plus, après avoir évalué les facteurs faisant varier l'excrétion du pathogène, il serait intéressant d'approfondir en étudiant d'éventuels moyens de maîtrise de la bactérie directement à la ferme : utilisation de lait contenant des ferments, vaccination, pratiques d'élevage... Ces études pourraient éventuellement être réalisées au sein d'installations expérimentales permettant une meilleure maîtrise des paramètres que dans les fermes. L'utilisation de ferments dans le but de limiter l'excrétion des EHEC O26:H11 fera l'objet de la seconde thèse découlant de l'étude ConEHECtion.

Conclusion

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques représentent un réel défi, notamment dans le secteur de la santé publique, puisqu'ils sont à l'origine d'infections chez l'Homme. Ces infections peuvent se compliquer en maladie sévère, dont la plus connue est le Syndrome Hémolytique et Urémique, qui touche notamment les jeunes enfants de moins de cinq ans, mortel dans 3 à 5 % des cas. Le principal réservoir de ces bactéries est constitué par les bovins, qui excrètent le pathogène de façon asymptomatique.

La contamination par ces bactéries s'effectue par voie féco-orale, notamment lors d'ingestion de denrées alimentaires contaminées. Au sein de la filière du lait cru, les EHEC de sérotype O26:H11 représentent une préoccupation, étant les plus fréquemment isolées et induisant des pertes économiques importantes, et pouvant conduire à une perte de confiance du consommateur lors d'épidémies liées à des produits contenant du lait cru. Il est primordial de mieux comprendre cette bactérie ainsi que les paramètres pouvant impacter son excrétion.

Notre étude a porté sur quatre fermes d'une même zone AOP lait cru de montagne. Elle a inclus 57 veaux et 55 vaches laitières, avec un total de 367 prélèvements (211 prélèvements de fèces et 156 écouvillons de la jonction recto-anale). L'objectif de cette étude était dans un premier temps d'évaluer la concordance entre deux techniques de prélèvement chez les bovins : le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale. La concordance de ces deux méthodes s'est révélée modérée sur le résultat global ($\kappa = 0,58 [0,41 ; 0,75]_{95\%}$). Plus précisément, la concordance de l'analyse de 1^{ère} intention a été évaluée modérée et celle de l'analyse de confirmation importante (respectivement $\kappa = 0,53 [0,38 ; 0,67]_{95\%}$ et $\kappa = 0,61 [0,33 ; 0,89]_{95\%}$).

De plus, cette étude avait pour objectif d'explorer les facteurs de variation de l'excrétion d'EHEC O26:H11 chez les veaux. Ainsi, un allotement récent augmentait significativement l'excrétion d'EHEC O26:H11 (OR = 5,25 et $p = 0,036$). De même, l'âge des veaux (21-30 jours et 56-64 jours vs. 0-7 jours) était significativement associé à l'excrétion du pathogène (OR = 51,4, $p = 0,002$ et OR = 167 et $p < 0,001$ respectivement). En outre, une diminution de l'humidité relative minimale au cours des quatre jours précédant le prélèvement augmentait significativement l'excrétion d'EHEC O26:H11 (OR = 0,69 et $p = 0,028$). Les autres variables testées (effet de la ferme, de la température et du THI) n'étaient pas significativement associées à l'excrétion d'EHEC O26:H11.

Enfin, notre étude n'a mis en évidence aucune transmission verticale de la mère au veau sur l'ensemble des veaux (0 %). Elle a également permis de caractériser un peu plus l'excrétion de la bactérie avec 47 % [30 % ; 64 %]_{95%} des veaux positifs qui se sont révélés être excréteurs transitoires et 18 % [5 % ; 30 %]_{95%} qui étaient des excréteurs intermittents.

Ce travail apporte de nouvelles informations à la fois sur les méthodes de prélèvement des EHEC O26:H11 mais également sur les facteurs de variation de son excrétion chez les jeunes veaux laitiers. Ces informations sont précieuses afin de mieux appréhender la gestion des prélèvements sur le terrain mais aussi pour développer des moyens adaptés pour réduire et maîtriser au mieux l'excrétion des EHEC dans les élevages. Ainsi, l'une des perspectives de ce travail est l'étude de

moyens de maîtrise tels que l'utilisation de lait fermenté dans le but de réduire l'excrétion du pathogène.

Liste des références bibliographiques

ADATOR, E.H., CHENG, M., HOLLEY, R., *et al.* (2018) Ability of Shiga toxigenic *Escherichia coli* to survive within dry-surface biofilms and transfer to fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology* vol. 269, p. 52-59. [<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.014>]

AFSSA (2010) Avis de l'AFSSA du 27 mai 2010 relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis de l'AFSSA du 15 juillet 2008. [<https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0031.pdf>] (consulté le 04/07/2023).

AFSSA (2003) Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). In *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*. [<https://www.anses.fr/fr/content/bilan-des-connaissances-relatives-aux-escherichia-coli-producteurs-de-shigatoxines-stec-0>] (consulté le 01/09/2023).

AGGA, G.E., ARTHUR, T.M., HINKLEY, S., *et al.* (2017) Evaluation of Rectoanal Mucosal Swab Sampling for Molecular Detection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Beef Cattle. *Journal of Food Protection* vol. 80, n° 4, p. 661-667. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-435>]

ANSES (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. [<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2020SA0095.pdf>] (consulté le 26/06/2023).

ANSES (2022) Que sont les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) et comment s'en prémunir ? In *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*. [<https://www.anses.fr/fr/content/que-sont-ehec-et-comment-se-premunir>] (consulté le 18/09/2023).

ANSES (2019) Extrait de NOTE AST de l'Anses relative à l'établissement d'un cahier des charges en vue d'une étude épidémiologique relative au risque lié aux *E. coli* entérohémorragiques (et *E. coli* O26 en particulier) dans la filière reblochon. In *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*. [<https://www.anses.fr/fr/content/extrait-de-note-ast-de-lanses-relative-%C3%A0-l%E2%80%99%C3%A9tablissement-d%E2%80%99un-cahier-des-charges-en-vue-d>] (consulté le 09/11/2023).

ANSES (2018) Avis de l'Anses relatif au protocole de reprise de la commercialisation de reblochons proposé par l'entreprise Chabert. In *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*. [<https://www.anses.fr/fr/content/avis-de-l%E2%80%99anses-relatif-au-protocole-de-reprise-de-la-commercialisation-de-reblochons>] (consulté le 09/11/2023).

ANSES (2017) Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la détection des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) considérés comme hautement pathogènes en filière viande hachée bovine. [<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0121.pdf>] (consulté le 27/06/2023).

ANSES (2012) Bulletin épidémiologique Santé animale - Alimentation, Spécial Risques alimentaires microbiologiques. n° 50.

ATLA, ACTILAIT (2012) Guides de Bonnes Pratiques d'Hygiène (GBPH) - Collecte de lait cru et fabrication de produits laitiers. In *Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire*.

[<https://agriculture.gouv.fr/guides-de-bonnes-pratiques-dhygiene-gbph>] (consulté le 26/09/2023).

AUVRAY, F., BIÈCHE-TERRIER, C., UM, M.M., *et al.* (2023) Prevalence and characterization of the seven major serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in veal calves slaughtered in France. *Veterinary Microbiology* vol. 282, p. 109754. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2023.109754>]

AVERY, L.M., WILLIAMS, A.P., KILLHAM, K., *et al.* (2008) Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in waters from lakes, rivers, puddles and animal-drinking troughs. *Science of The Total Environment* vol. 389, n° 2, p. 378-385. [<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.08.049>]

BAE, Y.-M., LEE, S.-Y. (2012) Inhibitory effects of UV treatment and a combination of UV and dry heat against pathogens on stainless steel and polypropylene surfaces. *Journal of Food Science* vol. 77, n° 1, p. M61-64. [<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02476.x>]

BAGEL, A. (2022) Étude de l'adhésion des STEC aux globules gras du lait cru : une clé dans la prévention du danger STEC dans la filière lait cru et fromage au lait cru ? Thèse de doctorat en Biologie. Université Claude Bernard - Lyon I.

BARRET, A.-S., CHARRON, M., MARIANI-KURKDJIAN, P., *et al.* (2013) Shopper cards data and storage practices for the investigation of an outbreak of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157 infections. *Médecine et Maladies Infectieuses* vol. 43, n° 9, p. 368-373. [<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.05.004>]

BATTISTI, A., LOVARI, S., FRANCO, A., *et al.* (2006) Prevalence of *Escherichia coli* O157 in lambs at slaughter in Rome, central Italy. *Epidemiology and Infection* vol. 134, n° 2, p. 415-419. [<https://doi.org/10.1017/S0950268805005236>]

BEAUVAIS, W., GART, E.V., BEAN, M., *et al.* (2018) The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding in feedlot pens is affected by the water-to-cattle ratio: A randomized controlled trial. *PLoS One* vol. 13, n° 2, p. e0192149. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192149>]

BEDI, J.S., DHAKA, P., VIJAY, D. (2022) Other Bacterial Zoonoses (including food-borne pathogens) of Public Health Importance. In Bedi J.S., Dhaka P., Vijay D., *Textbook of Zoonoses*. Hoboken, John Wiley & Sons, Ltd, p. 86-122. [<https://doi.org/10.1002/9781119809548.ch12>]

BELLEÇ, E. (2017) Développement d'un modèle pour comprendre et maîtriser le portage des *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) chez le bovin. Thèse de Médecine vétérinaire. Toulouse, École nationale vétérinaire de Toulouse.

BERG, J., MCALLISTER, T., BACH, S., *et al.* (2004) *Escherichia coli* O157:H7 excretion by commercial feedlot cattle fed either barley- or corn-based finishing diets. *Journal of Food Protection* vol. 67, n° 4, p. 666-671. [<https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.4.666>]

BERGER, P.I., HERMANN, S., KERNER, K., *et al.* (2023) Cross-sectional study: prevalence of oedema disease *Escherichia coli* (EDEC) in weaned piglets in Germany at pen and farm levels. *Porcine Health Management* vol. 9, n° 1, p. 49. [<https://doi.org/10.1186/s40813-023-00343-9>]

BERRY, E.D., WELLS, J.E. (2010) *Escherichia coli* O157:H7: recent advances in research on occurrence, transmission, and control in cattle and the production environment. *Advances in Food and Nutrition Research* vol. 60, p. 67-117. [[https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(10\)60004-6](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(10)60004-6)]

BERRY, E.D., WELLS, J.E., ARCHIBEQUE, S.L., *et al.* (2006) Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. II. Pathogenic and other fecal

- bacteria. *Journal of Animal Science* vol. 84, n° 9, p. 2523-2532. [<https://doi.org/10.2527/jas.2005-747>]
- BESSER, T.E., RICHARDS, B.L., RICE, D.H., *et al.* (2001) *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. *Epidemiology and Infection* vol. 127, n° 3, p. 555-560. [<https://doi.org/10.1017/s095026880100615x>]
- BIBBAL, D., LOUKIADIS, E., KÉROURÉDAN, M., *et al.* (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. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 81, n° 4, p. 1397-1405. [<https://doi.org/10.1128/AEM.03315-14>]
- BIBBAL, D., RUIZ, P., SAPOUNTZIS, P., *et al.* (2022) Persistent Circulation of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 in Cattle Farms: Characterization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Strains and Fecal Microbial Communities of Bovine Shedders and Non-shedders. *Frontiers in Veterinary Science* vol. 9, p. 852475. [<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.852475>]
- BISCOLA, F.T., ABE, C.M., GUTH, B.E.C. (2011) Determination of Adhesin Gene Sequences in, and Biofilm Formation by, O157 and Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Different Sources. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 77, n° 7, p. 2201-2208. [<https://doi.org/10.1128/AEM.01920-10>]
- BOERLIN, P., MCEWEN, S.A., BOERLIN-PETZOLD, F., *et al.* (1999) Associations between Virulence Factors of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Disease in Humans. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 37, n° 3, p. 497-503. [<https://doi.org/10.1128/JCM.37.3.497-503.1999>]
- BOSILEVAC, J.M., GASSEM, M.A., AL SHEDDY, I.A., *et al.* (2015) Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and Salmonella in camels, cattle, goats, and sheep harvested for meat in Riyadh. *Journal of Food Protection* vol. 78, n° 1, p. 89-96. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-176>]
- BOUVET, J., BAVAI, C., ROSSEL, R., *et al.* (2001) Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in pig carcasses from three French slaughterhouses. *International Journal of Food Microbiology* vol. 71, n° 2-3, p. 249-255. [[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00614-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00614-6)]
- BROWNE, A., MIDWINTER, A., WITHERS, H., *et al.* (2021) Transmission Dynamics of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in New Zealand Cattle from Farm to Slaughter. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 87, n° 11, p. e02907-20. [<https://doi.org/10.1128/AEM.02907-20>]
- BRUGÈRE, H., AUVRAY, F., MARIANI-KURKDJIAN, P., *et al.* (2012) *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC): définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC). *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* n° Hors-série, p. 20-25. [<https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE50-art6.pdf>]
- BRUYAND, M., MARIANI-KURKDJIAN, P., GOUALI, M., *et al.* (2018) Hemolytic uremic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Médecine et Maladies Infectieuses* vol. 48, n° 3. [<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.09.012>]
- BRUYAND, M., MARIANI-KURKDJIAN, P., LE HELLO, S., *et al.* (2019) Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016. *European Communicable Disease Bulletin* vol. 24, n° 8, p. 1800068. [<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.8.1800068>]
- BRYAN, A., YOUNGSTER, I., MCADAM, A.J. (2015) Shiga Toxin Producing *Escherichia coli*. *Clinics in*

Laboratory Medicine vol. 35, n° 2, p. 247-272. [<https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.004>]

CALLAWAY, T.R., CARR, M.A., EDRINGTON, T.S., *et al.* (2009) Diet, *Escherichia coli* O157:H7, and cattle: a review after 10 years. *Current Issues in Molecular Biology* vol. 11, n° 2, p. 67-79.

CARBONARI, C.C., MILIWEBSKY, E.S., ZOLEZZI, G., *et al.* (2022) The Importance of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O145:NM[H28]/H28 Infections in Argentina, 1998–2020. *Microorganisms* vol. 10, n° 3, p. 582. [<https://doi.org/10.3390/microorganisms10030582>]

CHAN, Y.S., NG, T.B. (2016) Shiga toxins: from structure and mechanism to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* vol. 100, n° 4, p. 1597-1610. [<https://doi.org/10.1007/s00253-015-7236-3>]

CHASE-TOPPING, M., GALLY, D., LOW, C., *et al.* (2008) Super-shedding and the link between human infection and livestock carriage of *Escherichia coli* O157. *Nature reviews. Microbiology* vol. 6, n° 12, p. 904-912. [<https://doi.org/10.1038/nrmicro2029>]

CHASE-TOPPING, M.E., MCKENDRICK, I.J., PEARCE, M.C., *et al.* (2007) Risk Factors for the Presence of High-Level Shedders of *Escherichia coli* O157 on Scottish Farms. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 45, n° 5, p. 1594-1603. [<https://doi.org/10.1128/JCM.01690-06>]

CHEKABAB, S.M., PAQUIN-VEILLETTE, J., DOZOIS, C.M., *et al.* (2013) The ecological habitat and transmission of *Escherichia coli* O157:H7. *FEMS Microbiology Letters* vol. 341, n° 1, p. 1-12. [<https://doi.org/10.1111/1574-6968.12078>]

CNIEL (2011) Etude de cas de contamination par des souches de STEC de fromages au lait cru, rapport non publié.

COBBAUT, K., BERKVEN, D., HOUF, K., *et al.* (2009) *Escherichia coli* O157 prevalence in different cattle farm types and identification of potential risk factors. *Journal of Food Protection* vol. 72, n° 9, p. 1848-1853. [<https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.9.1848>]

COBBAUT, K., HOUF, K., DOUIDAH, L., *et al.* (2008) Alternative sampling to establish the *Escherichia coli* O157 status on beef cattle farms. *Veterinary Microbiology* vol. 132, n° 1, p. 205-210. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.04.031>]

COBBOLD, R., DESMARCHELIER, P. (2000) A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herds. *Veterinary Microbiology* vol. 71, n° 1-2, p. 125-137. [[https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(99\)00173-x](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(99)00173-x)]

COBBOLD, R.N., HANCOCK, D.D., RICE, D.H., *et al.* (2007) Rectoanal junction colonization of feedlot cattle by *Escherichia coli* O157:H7 and its association with supershedders and excretion dynamics. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 73, n° 5, p. 1563-1568. [<https://doi.org/10.1128/AEM.01742-06>]

CODY, E.M., DIXON, B.P. (2019) Hemolytic Uremic Syndrome. *Pediatric clinics of North America* vol. 66, n° 1. [<https://doi.org/10.1016/j.pcl.2018.09.011>]

COOPER, I.R., TAYLOR, H.D., HANLON, G.W. (2007) Virulence traits associated with verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 recovered from freshwater biofilms. *Journal of Applied Microbiology* vol. 102, n° 5, p. 1293-1299. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03178.x>]

COPPO, P., VEYRADIER, A. (2005) Microangiopathies thrombotiques : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réanimation* vol. 14, n° 7, p. 594-603. [<https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2005.10.008>]

- CROXEN, M.A., LAW, R.J., SCHOLZ, R., *et al.* (2013) Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* vol. 26, n° 4, p. 822-880. [<https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13>]
- CRUMP, J.A., SULKA, A.C., LANGER, A.J., *et al.* (2002) An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections among visitors to a dairy farm. *The New England Journal of Medicine* vol. 347, n° 8, p. 555-560. [<https://doi.org/10.1056/NEJMoa020524>]
- DALLMAN, T., ASHTON, P., BYRNE, L., *et al.* (2015) Applying phylogenomics to understand the emergence of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 strains causing severe human disease in the UK. *Microbial Genomics* vol. 1, n° 3, p. e000029. [<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000029>]
- DAVIS, M.A., RICE, D.H., SHENG, H., *et al.* (2006) Comparison of Cultures from Rectoanal-Junction Mucosal Swabs and Feces for Detection of *Escherichia coli* O157 in Dairy Heifers. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 72, n° 5, p. 3766-3770. [<https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3766-3770.2006>]
- DEAN-NYSTROM, E.A., BOSWORTH, B.T., CRAY, W.C., *et al.* (1997) Pathogenicity of *Escherichia coli* O157:H7 in the intestines of neonatal calves. *Infection and Immunity* vol. 65, n° 5, p. 1842-1848. [<https://doi.org/10.1128/iai.65.5.1842-1848.1997>]
- DEBROY, C., ROBERTS, E., SCHEUCHENZUBER, W., *et al.* (2009) Comparison of genotypes of *Escherichia coli* strains carrying F18ab and F18ac fimbriae from pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* vol. 21, n° 3, p. 359-364. [<https://doi.org/10.1177/104063870902100310>]
- DECLUDT, B., BOUVET, P., MARIANI-KURKDJIAN, P., *et al.* (2000) Haemolytic uraemic syndrome and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in children in France. The Société de Néphrologie Pédiatrique. *Epidemiology and Infection* vol. 124, n° 2, p. 215-220.
- DGAL (2019) Bilan de la campagne 2018 des PSPC. In *Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire*. [<https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2019-720>] (consulté le 14/11/2023).
- DODSON, K., LEJEUNE, J. (2005) *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*, and *Salmonella* Prevalence in cull dairy cows marketed in northeastern Ohio. *Journal of Food Protection* vol. 68, n° 5, p. 927-931. [<https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.5.927>]
- ECDC (2022) STEC infection - Annual Epidemiological Report for 2021. [<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/stec-infection-annual-epidemiological-report-2021>] (consulté le 07/09/2023).
- EDRINGTON, T.S., CALLAWAY, T.R., HALLFORD, D.M., *et al.* (2008) Effects of exogenous melatonin and tryptophan on fecal shedding of *E. coli* O157:H7 in cattle. *Microbial Ecology* vol. 55, n° 3, p. 553-560. [<https://doi.org/10.1007/s00248-007-9300-8>]
- EDRINGTON, T.S., CALLAWAY, T.R., IVES, S.E., *et al.* (2006) Seasonal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants: a new hypothesis. *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 3, n° 4, p. 413-421. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2006.3.413>]
- EFSA (2011) Tracing seeds, in particular fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds, in relation to the Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 Outbreaks in Germany and France | EFSA. In *EFSA*. [<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-176>] (consulté le 24/09/2023).

- EFSA BIOHAZ, P., KOUTSOUMANIS, K., ALLENDE, A., *et al.* (2020) Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal* vol. 18, n° 1, p. e05967. [<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967>]
- ENGELEN, F., THIRY, D., DEVLEESSCHAUWER, B., *et al.* (2021) Pathogenic potential of *Escherichia coli* O157 and O26 isolated from young Belgian dairy calves by recto-anal mucosal swab culturing. *Journal of Applied Microbiology* vol. 131, n° 2, p. 964-972. [<https://doi.org/10.1111/jam.14909>]
- ESPIÉ, E., GRIMONT, F., VAILLANT, V., *et al.* (2006a) O148 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* outbreak: microbiological investigation as a useful complement to epidemiological investigation. *Clinical Microbiology and Infection* vol. 12, n° 10, p. 992-998. [<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01468.x>]
- ESPIÉ, E., VAILLANT, V., MARIANI-KURKDJIAN, P., *et al.* (2006b) *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. *Epidemiology and Infection* vol. 134, n° 1, p. 143-146. [<https://doi.org/10.1017/S0950268805004887>]
- FAIRBROTHER, J.M., NADEAU, É. (2019) Colibacillosis. In Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., *et al.*, *Diseases of Swine*, 11ème édition. Hoboken, John Wiley & Sons, Ltd, p. 807-834. [<https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch52>]
- FAIRBROTHER, J.M., NADEAU, E. (2006) *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)* vol. 25, n° 2, p. 555-569.
- FAO/WHO (2018) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring: Meeting Report, Microbiological Risk Assessment Series (FAO/WHO). Rome, Italy, FAO. [<https://www.fao.org/documents/card/en/c/CA0032EN>]
- FARROKH, C., JORDAN, K., AUVRAY, F., *et al.* (2013) Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology* vol. 162, n° 2, p. 190-212. [<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.008>]
- FARROKH, C., MICHEL, V., RAYNAUD, S., *et al.* (2017) STEC et STEC hautement pathogènes : définition et caractéristiques. In *Maîtrise des STEC en filière laitière - Guide interprofessionnel*, CNIEL. Paris, p. 7-10.
- FEGAN, N., HIGGS, G., DUFFY, L.L., *et al.* (2009) The effects of transport and lairage on counts of *Escherichia coli* O157 in the feces and on the hides of individual cattle. *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 6, n° 9, p. 1113-1120. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0338>]
- FITZGERALD, S., BECKETT, A., PALAREA-ALBALADEJO, J., *et al.* (2019) Shiga toxin sub-type 2a increases the efficiency of *Escherichia coli* O157 transmission between animals and restricts epithelial regeneration in bovine enteroids. *PLoS Pathogens* vol. 15, n° 10, p. e1008003. [<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008003>]
- FOULADKHAH, A., GEORNARAS, I., SOFOS, J.N. (2013) Biofilm Formation of O157 and Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Multidrug-Resistant and Susceptible *Salmonella Typhimurium* and Newport and Their Inactivation by Sanitizers. *Journal of Food Science* vol. 78, n° 6, p. M880-M886. [<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12123>]
- FRANK, C., WERBER, D., CRAMER, J.P., *et al.* (2011) Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *The New England Journal of Medicine* vol. 365, n° 19, p. 1771-1780. [<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1106483>]

- FRANZ, E., VAN HOEK, A.H.A.M., BOUW, E., *et al.* (2011) Variability of *Escherichia coli* O157 Strain Survival in Manure-Amended Soil in Relation to Strain Origin, Virulence Profile, and Carbon Nutrition Profile. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 77, n° 22, p. 8088-8096. [https://doi.org/10.1128/AEM.00745-11]
- FREMAUX, B., PRIGENT-COMBARET, C., BEUTIN, L., *et al.* (2010) Survival and spread of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in alpine pasture grasslands. *Journal of Applied Microbiology* vol. 108, n° 4, p. 1332-1343. [https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04527.x]
- FREMAUX, B., PRIGENT-COMBARET, C., VERNZOY-ROZAND, C. (2008) Long-term survival of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle effluents and environment: an updated review. *Veterinary Microbiology* vol. 132, n° 1-2, p. 1-18. [https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.05.015]
- FRÖHLICH, J., BALJER, G., MENGE, C. (2009) Maternally and Naturally Acquired Antibodies to Shiga Toxins in a Cohort of Calves Shedding Shiga-Toxigenic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 75, n° 11, p. 3695-3704. [https://doi.org/10.1128/AEM.02869-08]
- GAUTAM, R., BANI-YAGHOUB, M., NEILL, W.H., *et al.* (2011) Modeling the effect of seasonal variation in ambient temperature on the transmission dynamics of a pathogen with a free-living stage: example of *Escherichia coli* O157:H7 in a dairy herd. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 102, n° 1, p. 10-21. [https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.06.008]
- GAYTÁN, M.O., MARTÍNEZ-SANTOS, V.I., SOTO, E., *et al.* (2016) Type Three Secretion System in Attaching and Effacing Pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* vol. 6, p. 129. [https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00129]
- GIAOURIS, E., HEIR, E., HÉBRAUD, M., *et al.* (2014) Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: Causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat Science* vol. 97, n° 3, p. 298-309. [https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.023]
- GOUALI, M., WEILL, F.-X. (2013) Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. *La Presse Médicale* vol. 42, n° 1, p. 68-75. [https://doi.org/10.1016/j.lpm.2012.10.010]
- GOURMELON, M., MONTET, M.P., LOZACH, S., *et al.* (2006) First isolation of Shiga toxin 1d producing *Escherichia coli* variant strains in shellfish from coastal areas in France. *Journal of Applied Microbiology* vol. 100, n° 1, p. 85-97. [https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02753.x]
- GRAD, Y.H., LIPSITCH, M., FELDGARDEN, M., *et al.* (2012) Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104:H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 109, n° 8, p. 3065-3070. [https://doi.org/10.1073/pnas.1121491109]
- GREENQUIST, M.A., DROUILLARD, J.S., SARGEANT, J.M., *et al.* (2005) Comparison of Rectoanal Mucosal Swab Cultures and Fecal Cultures for Determining Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 71, n° 10, p. 6431-6433. [https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.6431-6433.2005]
- GRIMONT, P.A.D. (1987) Taxonomie des *Escherichia*. *Médecine et Maladies Infectieuses* vol. 17, p. 6-10. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X(87)80308-6]
- GÜLHAN, B., ÖZALTIN, F. (2021) Hemolytic Uremic Syndrome in Children. *Turkish Archives of Pediatrics* vol. 56, n° 5, p. 415-422. [https://doi.org/10.5152/TurkArchPediatri.2021.21128]

- GUNN, G.J., MCKENDRICK, I.J., TERNENT, H.E., *et al.* (2007) An investigation of factors associated with the prevalence of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 shedding in Scottish beef cattle. *The Veterinary Journal* vol. 174, n° 3, p. 554-564. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.08.024>]
- GYLES, C.L. (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* : An overview. *Journal of Animal Science* vol. 85, n° suppl_13, p. E45-E62. [<https://doi.org/10.2527/jas.2006-508>]
- HABETS, A., CROMBÉ, F., NAKAMURA, K., *et al.* (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* vol. 130, n° 1, p. 258-264. [<https://doi.org/10.1111/jam.14759>]
- HANCOCK, D., BESSER, T., LEJEUNE, J., *et al.* (2001) The control of VTEC in the animal reservoir. *International Journal of Food Microbiology* vol. 66, n° 1-2, p. 71-78. [[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00487-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00487-6)]
- HENRY, M.K., MCCANN, C.M., HUMPHRY, R.W., *et al.* (2019) The British *E. coli* O157 in cattle study (BECS): factors associated with the occurrence of *E. coli* O157 from contemporaneous cross-sectional surveys. *BMC Veterinary Research* vol. 15, n° 1, p. 444. [<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2188-y>]
- HERBERT, L.J., VALI, L., HOYLE, D.V., *et al.* (2014) *E. coli* O157 on Scottish cattle farms: Evidence of local spread and persistence using repeat cross-sectional data. *BMC Veterinary Research* vol. 10, n° 1, p. 95. [<https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-95>]
- HU, B., YANG, X., LIU, Q., *et al.* (2022) High prevalence and pathogenic potential of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in raw mutton and beef in Shandong, China. *Current Research in Food Science* vol. 5, p. 1596-1602. [<https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.08.021>]
- HUNT, J.M. (2010) Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC). *Clinics in Laboratory Medicine* vol. 30, n° 1, p. 21-45. [<https://doi.org/10.1016/j.cll.2009.11.001>]
- ICMSF (1996) Intestinally pathogenic *Escherichia coli*, Ch. 7. In *Micro-Organisms in Foods. 5, Microbial Specifications of Food Pathogens*. London, Blackie Academic & Professional, p. 126-140.
- INAO, CNAOL (2023) Découvrez les chiffres-clés des produits laitiers sous AOP et IGP en 2022. In *Institut National de l'Origine et de la Qualité*. [<https://www.inao.gouv.fr/lettres-odg/octobre-2023/chiffres-cles-produits-laitiers-2022>] (consulté le 14/11/2023).
- INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE (2007) Épidémie d'infections à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines non O157 liée à la consommation de camembert au lait cru, Nord-Ouest de la France, Octobre-Décembre 2005. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/recherche/#search=%C3%A9pid%C3%A9mie%20camembert%202005>] (consulté le 26/09/2023).
- INSTITUT PASTEUR (2013) Rapport d'activité annuel 2013. In *Institut Pasteur*. [<https://www.pasteur.fr/fr/file/3204/download?token=mfCv15kZ>] (consulté le 24/08/2023).
- IRSHAD, H., COOKSON, A.L., PRATTLE, D.J., *et al.* (2017) Epidemiology of *Escherichia coli* serogroups O26, O103, O111 and O145 in very young ('bobby') calves in the North Island, New Zealand. *Epidemiology and Infection* vol. 145, n° 8, p. 1606-1616. [<https://doi.org/10.1017/S0950268817000401>]
- ISLAM, M.Z., MUSEKIWA, A., ISLAM, K., *et al.* (2014) Regional variation in the prevalence of *E. coli*

- O157 in cattle: a meta-analysis and meta-regression. *PloS One* vol. 9, n° 4, p. e93299. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093299>]
- JACOB, M.E., RENTER, D.G., NAGARAJA, T.G. (2010) Animal- and truckload-level associations between *Escherichia coli* O157:H7 in feces and on hides at harvest and contamination of previsceration beef carcasses. *Journal of Food Protection* vol. 73, n° 6, p. 1030-1037. [<https://doi.org/10.4315/0362-028x-73.6.1030>]
- JAROS, P., COOKSON, A.L., REYNOLDS, A., *et al.* (2016) Nationwide prevalence and risk factors for faecal carriage of *Escherichia coli* O157 and O26 in very young calves and adult cattle at slaughter in New Zealand. *Epidemiology and Infection* vol. 144, n° 8, p. 1736-1747. [<https://doi.org/10.1017/S0950268815003209>]
- JONES, G., DE VALK, H. (2020) Épidémie d'infections à *Escherichia coli* O26 producteur de Shiga-toxines liées à la consommation de reblochon au lait cru. France, mars-mai 2018. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/syndrome-hemolytique-et-uremique-pediatrique/documents/rapport-synthese/epidemie-d-infections-a-escherichia-coli-o26-producteur-de-shiga-toxines-liees-a-la-consommation-de-reblochon-au-lait-cru.-france-mars-mai-2018>] (consulté le 17/03/2023).
- JORIS, M., VERSTRAETE, K., DE REU, K., *et al.* (2013) Longitudinal Follow-Up of the Persistence and Dissemination of EHEC on Cattle Farms in Belgium. *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 10, n° 4, p. 295-301. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1277>]
- KANG, S.J., RYU, S.J., CHAE, J.S., *et al.* (2004) Occurrence and characteristics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in calves associated with diarrhoea. *Veterinary Microbiology* vol. 98, n° 3-4, p. 323-328. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.11.004>]
- KAPER, J.B., NATARO, J.P., MOBLEY, H.L.T. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* vol. 2, n° 2, p. 123-140. [<https://doi.org/10.1038/nrmicro818>]
- KARCH, H. (2001) The role of virulence factors in enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)-associated hemolytic-uremic syndrome. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* vol. 27, n° 3, p. 207-213. [<https://doi.org/10.1055/s-2001-15250>]
- KEEN, J.E., LAEGREID, W.W., CHITKO-MCKOWN, C.G., *et al.* (2010) Distribution of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157 in the gastrointestinal tract of naturally O157-shedding cattle at necropsy. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 76, n° 15, p. 5278-5281. [<https://doi.org/10.1128/AEM.00400-10>]
- KEIR, L.S., MARKS, S.D., KIM, J.J. (2012) Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies. *Drug Design, Development and Therapy* vol. 6, p. 195-208. [<https://doi.org/10.2147/DDDT.S25757>]
- KEMPF, F., LA RAGIONE, R., CHIRULLO, B., *et al.* (2022) Super Shedding in Enteric Pathogens: A Review. *Microorganisms* vol. 10, n° 11, p. 2101. [<https://doi.org/10.3390/microorganisms10112101>]
- KHAITSA, M.L., BAUER, M.L., GIBBS, P.S., *et al.* (2005) Comparison of Two Sampling Methods for *Escherichia coli* O157:H7 Detection in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection* vol. 68, n° 8, p. 1724-1728. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.8.1724>]
- KING, L.A., FILLIOL-TOUTAIN, I., MARIANI-KURKIDJIAN, P., *et al.* (2010) Family Outbreak of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* O123:H-, France, 2009. *Emerging Infectious Diseases* vol. 16, n° 9, p. 1491-1493. [<https://doi.org/10.3201/eid1609.100472>]

- KING, L.A., MAILLES, A., MARIANI-KURKDJIAN, P., *et al.* (2009) Community-wide outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with consumption of frozen beef burgers. *Epidemiology and Infection* vol. 137, n° 6, p. 889-896. [<https://doi.org/10.1017/S0950268808001490>]
- KOLENDA, R., BURDUKIEWICZ, M., SCHIERACK, P. (2015) A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* vol. 5, p. 23. [<https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00023>]
- KRÜGER, A., LUCCHESI, P.M.A. (2015) Shiga toxins and stx phages: highly diverse entities. *Microbiology* vol. 161, n° 3, p. 451-462. [<https://doi.org/10.1099/mic.0.000003>]
- KUDVA, I.T., DEAN-NYSTROM, E.A. (2011) Bovine recto-anal junction squamous epithelial (RSE) cell adhesion assay for studying *Escherichia coli* O157 adherence. *Journal of Applied Microbiology* vol. 111, n° 5, p. 1283-1294. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05139.x>]
- LAMMERS, G.A.C., MCCONNELL, C.S., JORDAN, D., *et al.* (2015) Synchronization of *E. coli* O157 shedding in a grass-fed beef herd: a longitudinal study. *Epidemiology and Infection* vol. 143, n° 15, p. 3244-3255. [<https://doi.org/10.1017/S0950268815000588>]
- LANDIS, J.R., KOCH, G.G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* vol. 33, n° 1, p. 159-174.
- LECLERC, H., MOSSEL, D.A.A., EDBERG, S.C., *et al.* (2001) Advances in the Bacteriology of the Coliform Group: Their Suitability as Markers of Microbial Water Safety. *Annual Review of Microbiology* vol. 55, n° 1, p. 201-234. [<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.201>]
- LEJEUNE, J.T., BESSER, T.E., HANCOCK, D.D. (2001) Cattle Water Troughs as Reservoirs of *Escherichia coli* O157. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 67, n° 7, p. 3053-3057. [<https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3053-3057.2001>]
- LIEBANA, E., SMITH, R.P., BATCHELOR, M., *et al.* (2005) Persistence of *Escherichia coli* O157 Isolates on Bovine Farms in England and Wales. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 43, n° 2, p. 898. [<https://doi.org/10.1128/JCM.43.2.898-902.2005>]
- LIM, J.Y., LI, J., SHENG, H., *et al.* (2007) *Escherichia coli* O157:H7 Colonization at the Rectoanal Junction of Long-Duration Culture-Positive Cattle. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 73, n° 4, p. 1380. [<https://doi.org/10.1128/AEM.02242-06>]
- LOUKIADIS, E., CALLON, H., MAZUY-CRUCHAUDET, C., *et al.* (2012) Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les denrées alimentaires en France (2005-2011). In *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*. [<https://be.anses.fr/fr/issue/55%20Bulletin%20%C3%A9pid%C3%A9miologique>] (consulté le 14/11/2023).
- LUNA-GIERKE, R.E., GRIFFIN, P.M., GOULD, L.H., *et al.* (2014) Outbreaks of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection: USA. *Epidemiology and Infection* vol. 142, n° 11, p. 2270-2280. [<https://doi.org/10.1017/S0950268813003233>]
- MADER, T.L., DAVIS, M.S., BROWN-BRANDL, T. (2006) Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *Journal of Animal Science* vol. 84, n° 3, p. 712-719. [<https://doi.org/10.2527/2006.843712x>]
- MASSOT, M., PICARD, B., DENAMUR, E. (2016) Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs

- variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. *Revue Francophone des Laboratoires, Escherichia coli* vol. 2016, n° 486, p. 35-43. [[https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30326-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30326-4)]
- MATTHEWS, L., LOW, J.C., GALLY, D.L., *et al.* (2006) Heterogeneous shedding of *Escherichia coli* O157 in cattle and its implications for control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 103, n° 3, p. 547-552. [<https://doi.org/10.1073/pnas.0503776103>]
- MATTHEWS, L., REEVE, R., GALLY, D., *et al.* (2013) Predicting the public health benefit of vaccinating cattle against *Escherichia coli* O157. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 110, n° 40, p. 16265-16270. [<https://doi.org/10.1073/pnas.1304978110>]
- MCCABE, E., BURGESS, C.M., LAWAL, D., *et al.* (2019) An investigation of shedding and super-shedding of Shiga toxigenic *Escherichia coli* O157 and *E. coli* O26 in cattle presented for slaughter in the Republic of Ireland. *Zoonoses and Public Health* vol. 66, n° 1, p. 83-91. [<https://doi.org/10.1111/zph.12531>]
- MCDANIEL, T.K., JARVIS, K.G., DONNENBERG, M.S., *et al.* (1995) A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 92, n° 5, p. 1664-1668.
- MCWILLIAMS, B.D., TORRES, A.G. (2014) Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Adhesins. *Microbiology Spectrum* vol. 2, n° 3. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EHEC-0003-2013>]
- MELTON-CELSA, A., MOHAWK, K., TEEL, L., *et al.* (2012) Pathogenesis of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Current Topics in Microbiology and Immunology* vol. 357. [https://doi.org/10.1007/82_2011_176]
- MELTON-CELSA, A.R. (2014) Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiology Spectrum* vol. 2, n° 2, p. 10.1128/microbiolspec.EHEC-0024-2013. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EHEC-0024-2013>]
- MICHINO, H., ARAKI, K., MINAMI, S., *et al.* (1999) Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *American Journal of Epidemiology* vol. 150, n° 8, p. 787-796. [<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a010082>]
- MILNES, A.S., STEWART, I., CLIFTON-HADLEY, F.A., *et al.* (2008) Intestinal carriage of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica*, in cattle, sheep and pigs at slaughter in Great Britain during 2003. *Epidemiology & Infection* vol. 136, n° 6, p. 739-751. [<https://doi.org/10.1017/S0950268807009223>]
- MIR, R., WEPPELMANN, T., ELZO, M., *et al.* (2016) Colonization of Beef Cattle by Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* during the First Year of Life: A Cohort Study. *PloS One* vol. 11, n° 2, p. e0148518. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148518>]
- MIR, R.A., WEPPELMANN, T.A., KANG, M., *et al.* (2015) Association between animal age and the prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a cohort of beef cattle. *Veterinary Microbiology* vol. 175, n° 2-4, p. 325-331. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.12.016>]
- MOHAMMADI, P., ABIRI, R., REZAEI, M., *et al.* (2013) Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from raw milk in Kermanshah, Iran. *Iranian Journal of Microbiology* vol. 5, n° 3, p. 233-238.
- MOHAMMED, H.O., MCDONOUGH, P.L., CHANG, Y. (2023) The potential risk associated with foodborne

- pathogens in a watershed: *Escherichia coli* O157:H7 in dairy cattle. *Journal of Environmental Quality* vol. 52, n° 4, p. 829-836. [<https://doi.org/10.1002/jeq2.20494>]
- MOLINA, P.M., PARMA, A.E., SANZ, M.E. (2003) Survival in acidic and alcoholic medium of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157:H7 isolated in Argentina. *BMC Microbiology* vol. 3, p. 17. [<https://doi.org/10.1186/1471-2180-3-17>]
- MOXLEY, R.A. (2022) *Enterobacteriaceae: Escherichia*. In McVey S.D., Kennedy M., Chengappa M.M., et al., *Veterinary Microbiology*, 4th edition. Hoboken, John Wiley & Sons, Ltd, p. 56-75. [<https://doi.org/10.1002/9781119650836>]
- MUNNS, K., SELINGER, L., STANFORD, K., et al. (2014) Are super-shedder feedlot cattle really super? *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 11, n° 4, p. 329-331. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1621>]
- MURPHY, B.P., MCCABE, E., MURPHY, M., et al. (2016) Longitudinal Study of Two Irish Dairy Herds: Low Numbers of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 and O26 Super-Shedders Identified. *Frontiers in Microbiology* vol. 7, p. 1850. [<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01850>]
- NAUTA, M.J., DUFRENNE, J.B. (1999) Variability in Growth Characteristics of Different *E. coli* O157:H7 Isolates, and its Implications for Predictive Microbiology. *Quantitative Microbiology* vol. 1, n° 2, p. 137-155. [<https://doi.org/10.1023/A:1010087808314>]
- NAYLOR, S.W., LOW, J.C., BESSER, T.E., et al. (2003) Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. *Infection and Immunity* vol. 71, n° 3, p. 1505-1512. [<https://doi.org/10.1128/IAI.71.3.1505-1512.2003>]
- NESSE, L.L., SEKSE, C., BERG, K., et al. (2014) Potentially Pathogenic *Escherichia coli* Can Form a Biofilm under Conditions Relevant to the Food Production Chain. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 80, n° 7, p. 2042-2049. [<https://doi.org/10.1128/AEM.03331-13>]
- NGUYEN, Y., SPERANDIO, V. (2012) Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) pathogenesis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* vol. 2, p. 90. [<https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00090>]
- NIELSEN, E.M., TEGTMEIER, C., ANDERSEN, H.J., et al. (2002) Influence of age, sex and herd characteristics on the occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in Danish dairy farms. *Veterinary Microbiology* vol. 88, n° 3, p. 245-257. [[https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00108-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00108-6)]
- OMISAKIN, F., MACRAE, M., OGDEN, I.D., et al. (2003) Concentration and Prevalence of *Escherichia coli* O157 in Cattle Feces at Slaughter. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 69, n° 5, p. 2444-2447. [<https://doi.org/10.1128/AEM.69.5.2444-2447.2003>]
- OPORTO, B., ESTEBAN, J.I., ADURIZ, G., et al. (2008) *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* in healthy cattle, sheep and swine herds in Northern Spain. *Zoonoses and Public Health* vol. 55, n° 2, p. 73-81. [<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01080.x>]
- PAIBA, G.A., WILESMITH, J.W., EVANS, S.J., et al. (2003) Prevalence of faecal excretion of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in cattle in England and Wales. *The Veterinary Record* vol. 153, n° 12, p. 347-353. [<https://doi.org/10.1136/vr.153.12.347>]
- PEARCE, M.C., JENKINS, C., VALI, L., et al. (2004) Temporal shedding patterns and virulence factors of *Escherichia coli* serogroups O26, O103, O111, O145, and O157 in a cohort of beef calves and their dams. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 70, n° 3, p. 1708-1716.

[<https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1708-1716.2004>]

PERSAD, A.K., LEJEUNE, J.T. (2014) Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum* vol. 2, n° 4, p. EHEC-0027-2014. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EHEC-0027-2014>]

PERSAD, A.K., RAJASHEKARA, G., LEJEUNE, J.T. (2022) Shiga toxin (stx) encoding genes in sheep and goats reared in Trinidad and Tobago. *PLoS One* vol. 17, n° 11, p. e0277564. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277564>]

PICOZZI, C., ANTONIANI, D., VIGENTINI, I., *et al.* (2017) Genotypic characterization and biofilm formation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters* vol. 364, n° 2. [<https://doi.org/10.1093/femsle/fnw291>]

PLATEFORME DE SURVEILLANCE DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE (2022) Surveiller STEC HP en filière de fabrication de fromages au lait cru. In *Plateforme SCA*. [<http://www.plateforme-sca.fr/le-dam-stec>] (consulté le 19/10/2023).

PLAUCHE, S. (2006) Detection and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle water troughs and the effects of cetylpyridinium chloride against *Escherichia coli* O157:H7 biofilms on the surface of stainless steel. Thèse de doctorat en Philosophie. Louisiana State University and Agriculture and Mechanical College.

PROBERT, W.S., MILLER, G.M., LEDIN, K.E. (2017) Contaminated Stream Water as Source for *Escherichia coli* O157 Illness in Children. *Emerging Infectious Diseases* vol. 23, n° 7, p. 1216-1218. [<https://doi.org/10.3201/eid2307.170226>]

PRUIMBOOM-BREES, I.M., MORGAN, T.W., ACKERMANN, M.R., *et al.* (2000) Cattle lack vascular receptors for *Escherichia coli* O157:H7 Shiga toxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 97, n° 19, p. 10325-10329. [<https://doi.org/10.1073/pnas.190329997>]

PUENTE, J.L., FINLAY, B.B. (2001) Chapter 9 - Pathogenic *Escherichia coli*. In Groisman, E.A. (Éd.), *Principles of Bacterial Pathogenesis*. San Diego, Academic Press, p. 387-456. [<https://doi.org/10.1016/B978-012304220-0/50010-8>]

RAJI, M.A., MINGA, U., MACHANGU, R. (2006) Current epidemiological status of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in Africa. *Chinese Medical Journal* vol. 119, n° 3, p. 217-222.

RANGEL, J.M., SPARLING, P.H., CROWE, C., *et al.* (2005) Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerging Infectious Diseases* vol. 11, n° 4, p. 603-609. [<https://doi.org/10.3201/eid1104.040739>]

RAYNAUD, S., GANET, S., MICHEL, V., *et al.* (2018) Connaissance des *Escherichia coli* productrices de Shiga-toxines en élevage de ruminants laitiers. Présenté à 24ème édition des Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants - 3R, Paris, 5 et 6 décembre 2018, p. 408-411.

RICE, D.H., SHENG, H.Q., WYNIA, S.A., *et al.* (2003) Rectoanal mucosal swab culture is more sensitive than fecal culture and distinguishes *Escherichia coli* O157:H7-colonized cattle and those transiently shedding the same organism. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 41, n° 11, p. 4924-4929. [<https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.4924-4929.2003>]

RILEY, L.W., REMIS, R.S., HELGERSON, S.D., *et al.* (1983) Hemorrhagic Colitis Associated with a Rare *Escherichia coli* Serotype. *New England Journal of Medicine* vol. 308, n° 12, p. 681-685.

[<https://doi.org/10.1056/NEJM198303243081203>]

ROBINSON, S.E., WRIGHT, E.J., HART, C.A., *et al.* (2004) Intermittent and persistent shedding of *Escherichia coli* O157 in cohorts of naturally infected calves. *Journal of Applied Microbiology* vol. 97, n° 5, p. 1045-1053. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02390.x>]

ROHDE, H., QIN, J., CUI, Y., *et al.* (2011) Open-source genomic analysis of Shiga-toxin-producing *E. coli* O104:H4. *The New England Journal of Medicine* vol. 365, n° 8, p. 718-724. [<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1107643>]

ROSALES, A., HOFER, J., ZIMMERHACKL, L.-B., *et al.* (2012) Need for long-term follow-up in enterohemorrhagic *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome due to late-emerging sequelae. *Clinical Infectious Diseases* vol. 54, n° 10, p. 1413-1421. [<https://doi.org/10.1093/cid/cis196>]

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (2023) Données de surveillance du syndrome hémolytique et urémique en 2022. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/syndrome-hemolytique-et-uremique-pediatrique/documents/bulletin-national/donnees-de-surveillance-du-syndrome-hemolytique-et-uremique-en-2022>] (consulté le 13/11/2023).

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (2022a) Données de surveillance du syndrome hémolytique et urémique en 2021. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/syndrome-hemolytique-et-uremique-pediatrique/documents/bulletin-national/donnees-de-surveillance-du-syndrome-hemolytique-et-uremique-en-2021>] (consulté le 20/09/2023).

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (2022b) Toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *E. coli* O157 producteur de Shiga-toxines, associée à la consommation de concombres crus. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/import/toxi-infection-alimentaire-collective-tiac-a-e.-coli-o157-producteur-de-shiga-toxines-associee-a-la-consommation-de-concombres-crus>] (consulté le 08/12/2023).

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (2021) Données de surveillance du syndrome hémolytique et urémique en 2020. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/syndrome-hemolytique-et-uremique-pediatrique/documents/bulletin-national/donnees-de-surveillance-du-syndrome-hemolytique-et-uremique-en-2020>] (consulté le 19/09/2023).

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (2020) Épidémie d'infections à *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxines O26:H11 liée à la consommation de fromages au lait cru. France, mars-mai 2019. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/import/epidemie-d-infections-a-escherichia-coli-producteur-de-shiga-toxines-o26-h11-liee-a-la-consommation-de-fromages-au-lait-cru.-france-mars-mai-2019>] (consulté le 24/08/2023).

SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (2012) Épidémie d'infection à *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxine O157:H7 fermentant le sorbitol liée à la consommation de viande hachée de boeuf. France, juin-juillet 2011. In *Santé Publique France*. [<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/syndrome-hemolytique-et-uremique/epidemie-d-infection-a-escherichia-coli-producteurs-de-shiga-toxine-o157-h7-fermentant-le-sorbitol-liee-a-la-consommation-de-viande-hachee-de-boeuf>] (consulté le 14/11/2023).

SARGEANT, J.M., SANDERSON, M.W., SMITH, R.A., *et al.* (2003) *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle feces and water in four major feeder-cattle states in the USA. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 61, n° 2, p. 127-135. [[https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(03\)00166-1](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(03)00166-1)]

- SCHEUTZ, F., TEEL, L.D., BEUTIN, L., *et al.* (2012) Multicenter Evaluation of a Sequence-Based Protocol for Subtyping Shiga Toxins and Standardizing Stx Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 50, n° 9, p. 2951-2963. [<https://doi.org/10.1128/JCM.00860-12>]
- SCHNEIDER, L.G., LEWIS, G.L., MOXLEY, R.A., *et al.* (2018) A four-season longitudinal study of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in beef cow–calf herds in Mississippi and Nebraska. *Zoonoses and Public Health* vol. 65, n° 5, p. 552-559. [<https://doi.org/10.1111/zph.12465>]
- SCHOUTEN, J.M., VAN DE GIESSEN, A.W., FRANKENA, K., *et al.* (2005) *Escherichia coli* O157 prevalence in Dutch poultry, pig finishing and veal herds and risk factors in Dutch veal herds. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 70, n° 1, p. 1-15. [<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.12.010>]
- SCHULTZ, C.L., EDRINGTON, T.S., CALLAWAY, T.R., *et al.* (2006) The influence of melatonin on growth of *E. coli* O157:H7 in pure culture and exogenous melatonin on faecal shedding of *E. coli* O157:H7 in experimentally infected wethers. *Letters in Applied Microbiology* vol. 43, n° 1, p. 105-110. [<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01909.x>]
- SHAKERIAN, A., RAHIMI, E., EMAD, P. (2016) Vegetables and Restaurant Salads as a Reservoir for Shiga Toxigenic *Escherichia coli*: Distribution of Virulence Factors, O-Serogroups, and Antibiotic Resistance Properties. *Journal of Food Protection* vol. 79, n° 7, p. 1154-1160. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-517>]
- SHAW, D.J., JENKINS, C., PEARCE, M.C., *et al.* (2004) Shedding patterns of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* strains in a cohort of calves and their dams on a Scottish beef farm. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 70, n° 12, p. 7456-7465. [<https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7456-7465.2004>]
- SMITH, D.R. (2014) Cattle Production Systems: Ecology of Existing and Emerging *Escherichia coli* Types Related to Foodborne Illness. *Annual Review of Animal Biosciences* vol. 2, n° 1, p. 445-468. [<https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114122>]
- SMITH, R.P., PAIBA, G.A., ELLIS-IVERSEN, J. (2010) Longitudinal study to investigate VTEC O157 shedding patterns in young cattle. *Research in Veterinary Science* vol. 88, n° 3, p. 411-414. [<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.12.010>]
- STENKAMP-STRAHM, C., LOMBARD, J.E., MAGNUSON, R.J., *et al.* (2018) Preweaned heifer management on US dairy operations: Part IV. Factors associated with the presence of *Escherichia coli* O157 in preweaned dairy heifers. *Journal of Dairy Science* vol. 101, n° 10, p. 9214-9228. [<https://doi.org/10.3168/jds.2018-14659>]
- STENKAMP-STRAHM, C., MCCONNELL, C., RAO, S., *et al.* (2017) Climate, lactation, and treatment factors influence faecal shedding of *Escherichia coli* O157 pathotypes in dairy cows. *Epidemiology and Infection* vol. 145, n° 1, p. 115-125. [<https://doi.org/10.1017/S0950268816001928>]
- STEPHENS, T.P., LONERAGAN, G.H., THOMPSON, T.W., *et al.* (2007) Distribution of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* on hide surfaces, the oral cavity, and in feces of feedlot cattle. *Journal of Food Protection* vol. 70, n° 6, p. 1346-1349. [<https://doi.org/10.4315/0362-028x-70.6.1346>]
- STEPHENS, T.P., MCALLISTER, T.A., STANFORD, K. (2009) Perineal swabs reveal effect of super shedders on the transmission of *Escherichia coli* O157:H7 in commercial feedlots. *Journal of Animal Science* vol. 87, n° 12, p. 4151-4160. [<https://doi.org/10.2527/jas.2009-1967>]

- STEVENS, M., VAN DIEMEN, P., DZIVA, F., *et al.* (2002) Options for the control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in ruminants. *Microbiology* vol. 148, n° Pt 12, p. 3767-3778. [<https://doi.org/10.1099/00221287-148-12-3767>]
- STEVENS, M.P., FRANKEL, G.M. (2014) The Locus of Enterocyte Effacement and Associated Virulence Factors of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum* vol. 2, n° 4, p. 10.1128/microbiolspec.ehec-0007-2013. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ehec-0007-2013>]
- STROCKBINE, N.A., JACKSON, M.P., SUNG, L.M., *et al.* (1988) Cloning and sequencing of the genes for Shiga toxin from *Shigella dysenteriae* type 1. *Journal of Bacteriology* vol. 170, n° 3, p. 1116-1122.
- TERAJIMA, J., IYODA, S., OHNISHI, M., *et al.* (2014) Shiga Toxin (Verotoxin)-Producing *Escherichia coli* in Japan. *Microbiology Spectrum* vol. 2, n° 5, p. 10.1128/microbiolspec.ehec-0011-2013. [<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ehec-0011-2013>]
- THOMPSON, G.L., KAVANAGH, D. (2022) Diagnosis and treatment of thrombotic microangiopathy. *International Journal of Laboratory Hematology* vol. 44, n° S1, p. 101-113. [<https://doi.org/10.1111/ijlh.13954>]
- TKALCIC, S., BROWN, C.A., HARMON, B.G., *et al.* (2000) Effects of Diet on Rumen Proliferation and Fecal Shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in Calves. *Journal of Food Protection* vol. 63, n° 12, p. 1630-1636. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.12.1630>]
- TORRES, A.G. (2017) *Escherichia coli* diseases in Latin America—a ‘One Health’ multidisciplinary approach. *Pathogens and Disease* vol. 75, n° 2, p. ftx012. [<https://doi.org/10.1093/femspd/ftx012>]
- TORRES, A.G., AMARAL, M.M., BENTANCOR, L., *et al.* (2018) Recent Advances in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Research in Latin America. *Microorganisms* vol. 6, n° 4, p. 100. [<https://doi.org/10.3390/microorganisms6040100>]
- TORSO, L., VOORHEES, R., FOREST, S., *et al.* (2015) *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Associated with Restaurant Beef Grinding. *Journal of Food Protection* vol. 78, p. 1272-1279. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-545>]
- TRACHTMAN, H. (2013) HUS and TTP. *Pediatric Clinics of North America* vol. 60, n° 6, p. 1513-1526. [<https://doi.org/10.1016/j.pcl.2013.08.007>]
- VALLY, H., HALL, G., DYDA, A., *et al.* (2012) Epidemiology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in Australia, 2000-2010. *BMC Public Health* vol. 12, n° 1, p. 63. [<https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-63>]
- VAN BAALE, M.J., SARGEANT, J.M., GNAD, D.P., *et al.* (2004) Effect of Forage or Grain Diets with or without Monensin on Ruminal Persistence and Fecal *Escherichia coli* O157:H7 in Cattle. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 70, n° 9, p. 5336-5342. [<https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5336-5342.2004>]
- VAN DIEMEN, P.M., DZIVA, F., STEVENS, M.P., *et al.* (2005) Identification of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H– Genes Required for Intestinal Colonization in Calves. *Infection and Immunity* vol. 73, n° 3, p. 1735. [<https://doi.org/10.1128/IAI.73.3.1735-1743.2005>]
- VENEGAS-VARGAS, C., HENDERSON, S., KHARE, A., *et al.* (2016) Factors Associated with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Shedding by Dairy and Beef Cattle. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 82, n° 16, p. 5049-5056. [<https://doi.org/10.1128/AEM.00829-16>]

- VERNOZY-ROZAND, C. (2005) *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). In Federighi, M. (Éd.), *Bactériologie alimentaire : compendium d'hygiène des aliments*, 2e édition. Paris, Economica, p. 53-76.
- VERNOZY-ROZAND, C., MONTET, M.-P. (2001) Étude clinique et pathogénie. In *Escherichia coli O157:H7*. Paris, Tec & Doc, p. 21-36.
- VIDOVIC, S., KORBER, D.R. (2006) Prevalence of *Escherichia coli* O157 in Saskatchewan Cattle: Characterization of Isolates by Using Random Amplified Polymorphic DNA PCR, Antibiotic Resistance Profiles, and Pathogenicity Determinants. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 72, n° 6, p. 4347-4355. [<https://doi.org/10.1128/AEM.02791-05>]
- VOGELEER, P., TREMBLAY, Y.D.N., JUBELIN, G., *et al.* (2016) Biofilm-Forming Abilities of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates Associated with Human Infections. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 82, n° 5, p. 1448-1458. [<https://doi.org/10.1128/AEM.02983-15>]
- VOGELEER, P., TREMBLAY, Y.D.N., MAFU, A.A., *et al.* (2014) Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology* vol. 5, p. 317. [<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00317>]
- VU-KHAC, H., CORNICK, N.A. (2008) Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. *Veterinary Microbiology* vol. 126, n° 4, p. 356-363. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.07.023>]
- WANG, G., ZHAO, T., DOYLE, M.P. (1996) Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 62, n° 7, p. 2567-2570.
- WANG, J., STANFORD, K., MCALLISTER, T.A., *et al.* (2016) Biofilm Formation, Virulence Gene Profiles, and Antimicrobial Resistance of Nine Serogroups of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 13, n° 6, p. 316-324. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2099>]
- WANG, O., MCALLISTER, T., PLASTOW, G., *et al.* (2018) Interactions of the Hindgut Mucosa-Associated Microbiome with Its Host Regulate Shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by Cattle. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 84, n° 1, p. e01738-17. [<https://doi.org/10.1128/AEM.01738-17>]
- WANG, R., BONO, J.L., KALCHAYANAND, N., *et al.* (2012) Biofilm formation by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and Non-O157 strains and their tolerance to sanitizers commonly used in the food processing environment. *Journal of Food Protection* vol. 75, n° 8, p. 1418-1428. [<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-427>]
- WIDGREN, S., ERIKSSON, E., ASPAN, A., *et al.* (2013) Environmental sampling for evaluating verotoxigenic *Escherichia coli* O157: H7 status in dairy cattle herds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* vol. 25, n° 2, p. 189-198. [<https://doi.org/10.1177/1040638712474814>]
- WIDGREN, S., SÖDERLUND, R., ERIKSSON, E., *et al.* (2015) Longitudinal observational study over 38 months of verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 status in 126 cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 121, n° 3, p. 343-352. [<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.08.010>]
- WIDIASIH, D.A., IDO, N., OMOE, K., *et al.* (2004) Duration and magnitude of faecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from naturally infected cattle. *Epidemiology and Infection* vol. 132, n° 1, p. 67-75. [<https://doi.org/10.1017/s0950268803001468>]
- WILLIAMS, A.P., AVERY, L.M., KILLHAM, K., *et al.* (2005) Persistence of *Escherichia coli* O157 on farm

- surfaces under different environmental conditions. *Journal of Applied Microbiology* vol. 98, n° 5, p. 1075-1083. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02530.x>]
- WILLIAMS, K.J., WARD, M.P., DHUNGYEL, O.P. (2015a) Daily variations in *Escherichia coli* O157 shedding patterns in a cohort of dairy heifers at pasture. *Epidemiology & Infection* vol. 143, n° 7, p. 1388-1397. [<https://doi.org/10.1017/S0950268814002374>]
- WILLIAMS, K.J., WARD, M.P., DHUNGYEL, O.P., *et al.* (2015b) Risk factors for *Escherichia coli* O157 shedding and super-shedding by dairy heifers at pasture. *Epidemiology and Infection* vol. 143, n° 5, p. 1004-1015. [<https://doi.org/10.1017/S0950268814001630>]
- WILLIAMS, K.J., WARD, M.P., DHUNGYEL, O.P., *et al.* (2014) A longitudinal study of the prevalence and super-shedding of *Escherichia coli* O157 in dairy heifers. *Veterinary Microbiology* vol. 173, n° 1, p. 101-109. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.07.001>]
- WILLIAMS, M.L., PEARL, D.L., BISHOP, K.E., *et al.* (2013) Use of multiple-locus variable-number tandem repeat analysis to evaluate *Escherichia coli* O157 subtype distribution and transmission dynamics following natural exposure on a closed beef feedlot facility. *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 10, n° 10, p. 827-834. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1484>]
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2018) *E. coli*. In *World Health Organization*. [<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>] (consulté le 05/12/2023).
- XU, Y., DUGAT-BONY, E., ZAHEER, R., *et al.* (2014) *Escherichia coli* O157:H7 Super-Shedder and Non-Shedder Feedlot Steers Harbour Distinct Fecal Bacterial Communities. *PLoS One* vol. 9, n° 5, p. e98115. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098115>]
- ZAHEER, R., DUGAT-BONY, E., HOLMAN, D., *et al.* (2017) Changes in bacterial community composition of *Escherichia coli* O157:H7 super-shedder cattle occur in the lower intestine. *PloS One* vol. 12, n° 1, p. e0170050. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170050>]
- ZHANG, H., YAMAMOTO, E., MURPHY, J., *et al.* (2021) Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) and STEC-Associated Virulence Genes in Raw Ground Pork in Canada. *Journal of Food Protection* vol. 84, n° 11, p. 1956-1964. [<https://doi.org/10.4315/JFP-21-147>]
- ZHAO, L., TYLER, P.J., STARNES, J., *et al.* (2014) Evaluation of the effects of weaning diets on *Escherichia coli* O157 shedding, body weight, and fecal bacterial communities in beef calves. *Foodborne Pathogens and Disease* vol. 11, n° 1, p. 55-60. [<https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1587>]
- ZHAO, L., TYLER, P.J., STARNES, J., *et al.* (2013) Correlation analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* shedding and faecal bacterial composition in beef cattle. *Journal of Applied Microbiology* vol. 115, n° 2, p. 591-603. [<https://doi.org/10.1111/jam.12250>]

Annexe 1 : Protocole distribué aux éleveurs (exemple ferme 7)

PROTOCOLE

De façon générale

4 fermes dont la vôtre sont incluses dans l'expérimentation.

2 lots de 7 veaux sont suivis de la naissance au sevrage → l'un des lots reçoit un yaourt par jour de la naissance au sevrage et l'autre non. Des prélèvements seront réalisés, sur les veaux et une fois sur les mères, à intervalles réguliers (P0 à P3 – après la naissance (veau et mère) ; à 21-30 jours ; à 2 mois et une semaine environ après le sevrage) par la stagiaire Institut de l'Élevage.

Les documents utiles pour le protocole sont regroupés dans un classeur qui vous a été remis à la première visite.

En amont

S'assurer de la disponibilité de tout le matériel nécessaire à l'étude (en partie fourni) :

- ❖ Niches individuelles dans lesquelles les veaux ont l'impossibilité de toucher les voisins
- ❖ Seaux tétines en nombre suffisant, identifiés pour le lot yaourt et qui ne doivent JAMAIS être utilisés pour les veaux de l'autre lot.
- ❖ Milk bars en nombre suffisant, identifiés pour le lot yaourt et qui ne doivent JAMAIS être utilisés pour les veaux de l'autre lot.
- ❖ Box ou niches collectives séparés pour chacun des lots
- ❖ Impossibilité pour les veaux d'un lot d'entrer en contact avec ceux de l'autre lot en box ou niche collective : mise en place de panneaux en bois si ce n'est pas le cas (fournis par l'étude)
- ❖ Présence d'un frigo
- ❖ Matériel de marquage

Les yaourts nécessaires pour le lot « yaourt » vous seront livrés chaque mardi ou mercredi. Ils sont à conserver au frigo et à utiliser avant la DLC inscrite sur le pot (10j après fabrication). Cette visite pourra être l'occasion de faire le point sur le déroulement de l'expérimentation.

A partir des informations que vous avez fourni avant le début de l'étude et en discutant avec vous, la stagiaire remplira un **questionnaire** sur vos pratiques autour de l'élevage des veaux.

AU MOINDRE DOUTE OU A LA MOINDRE QUESTION, NE PAS HESITER A NOUS CONTACTER

Voici **un planning prévisionnel indicatif** général de l'étude :

| Ferme 7 - planning version 1 du 2 juin | | Mai | | Juin | | | | Juillet | | | | Août | | | | Septembre | | | | Octobre | | | | Novembre | | | | Décembre | | | | | |
|--|-------------|-----|-----|------|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|-----|-----|
| ID | TRAITEMENT | S21 | S22 | S23 | S24 | S25 | S26 | S27 | S28 | S29 | S30 | S31 | S32 | S33 | S34 | S35 | S36 | S37 | S38 | S39 | S40 | S41 | S42 | S43 | S44 | S45 | S46 | S47 | S48 | S49 | S50 | S51 | S52 |
| F7V1 | Sans yaourt | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | | | |
| F7V2 | Yaourt | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | | |
| F7V3 | Yaourt | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | | |
| F7V4 | Sans yaourt | | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | |
| F7V5 | Sans yaourt | | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | |
| F7V6 | Yaourt | | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | |
| F7V7 | Yaourt | | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | |
| F7V8 | Sans yaourt | | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | |
| F7V9 | Yaourt | | | NPO | | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | | |
| F7V10 | Sans yaourt | | | | | N | PO | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | |
| F7V11 | Yaourt | | | | | | N | PO | | A | P1 | | E | | P2 | | | | | | | S | P3 | | | | | | | | | | |
| F7V12 | Sans yaourt | | | | | | | | | | | N | PO | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | | S | P3 | | | | |
| F7V13 | Sans yaourt | | | | | | | | | | | | N | PO | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | | S | P3 | | | | |
| F7V14 | Yaourt | | | | | | | | | | | | | NPO | | A | P1 | | E | | | | P2 | | | | | | S | P3 | | | |
| F7V15 | Yaourt | | | | | | | | | | | | | | N | PO | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | S | P3 | | | |
| F7V16 | Sans yaourt | | | | | | | | | | | | | | N | PO | | A | P1 | | E | | | P2 | | | | | S | P3 | | | |

N : naissance

PO-P1-P2-P3 : prélèvements

A : allotement

E : ébourgeonnage

S : sevrage

A la naissance d'un veau femelle qui n'est pas né par césarienne et qui est en bon état de santé :

Prévenir le préleveur (appel ou sms) pour effectuer le prélèvement n°1. Le préleveur effectuera un prélèvement de fèces sur la vache et le veau au plus rapidement après la naissance.

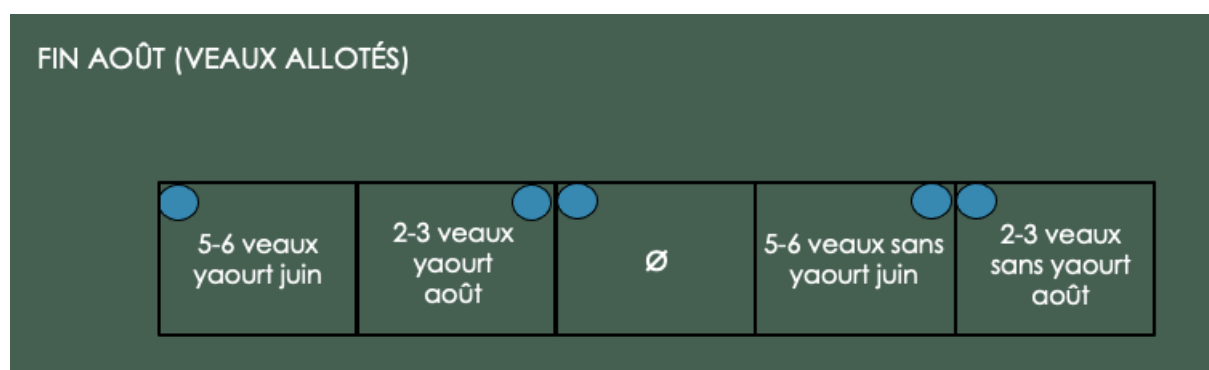
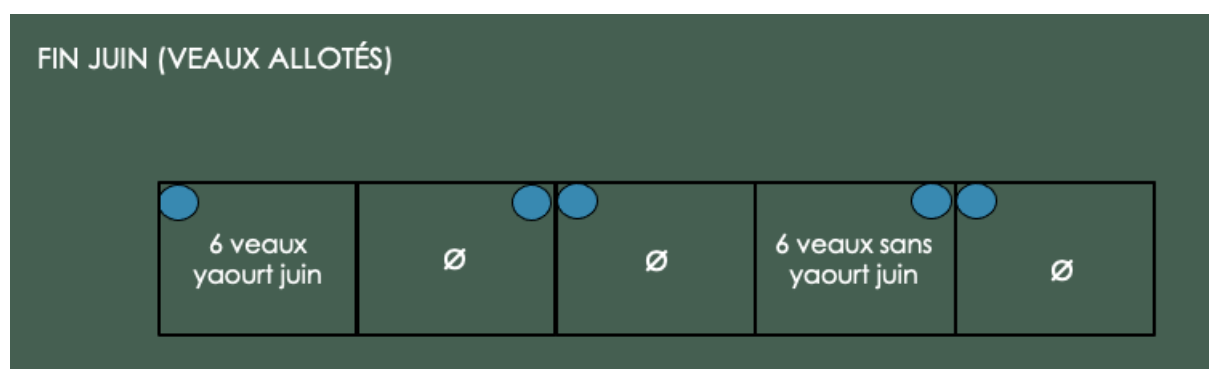
Vérifier dans le **plan d'inclusion** à quel lot doit être affecté le veau.

Identifier le veau au marqueur à bovin si appartenance au lot avec yaourt. Marquer le numéro du veau sur la niche (**panneau plastifié** et marqueur).

Distribuer le colostrum comme vous le faites habituellement et dès le 1^{er} jour de vie, administrer un yaourt par jour pour les veaux du lot yaourt (voir **protocole de distribution du yaourt**).

Logement des veaux

Le dispositif suivant est proposé, à rediscuter si nécessaire :



Tout au long de l'étude

A chaque événement marquant (maladie, traitement, ébourgeonnage, sevrage, allotement, etc.) dans la vie du veau, noter rigoureusement sur la **fiche de suivi** et ce jusqu'au dernier prélèvement.

Prévenir la stagiaire Institut de l'Elevage lorsque le sevrage d'un veau de l'étude est planifié.

Nourrir les veaux avec leur alimentation habituelle (lait entier puis poudre de lait) et pour les veaux du lot yaourt, délayer un yaourt/veau/j jusqu'au sevrage, toujours au même moment (matin ou soir). **Voir protocole de distribution du yaourt.**

Tous les animaux se trouvant dans un box avec au moins un veau appartenant au lot yaourt doivent également recevoir un yaourt par jour jusqu'au dernier prélèvement de ce veau.

A chaque livraison de yaourt, les stocker directement au frigo.

Un prélèvement de fèces et un écouvillon rectal sera réalisé sur chaque veau à 21-30j, à 2 mois puis au sevrage.

Fin de l'étude

Après le sevrage de chaque veau, le conduire selon votre pratique habituelle, un prélèvement sera réalisé environ une semaine après le sevrage.

L'étude se termine lorsque le dernier veau inclut dans l'étude (veau 14) est sevré.

MERCI ENCORE !!

Annexe 2 : Protocole de distribution des yaourts donné aux éleveurs

ConEHECtion

Protocole de distribution du yaourt

SE LAVER SOIGNEUSEMENT LES MAINS AVANT ET APRES AVOIR MANIPULE LES YAOURTS

Dans la ferme le yaourt est distribué le matin ou le soir (rayer la mention inutile).

Vérification du matériel :

- Pour tous : récipient de mélange du lait en poudre si nécessaire, chauffe-lait...
- Pour le repas des veaux recevant le yaourt : fouet marqué, cuillère, seau-tétine ou milk bar marqué
- Préparer le nombre de yaourts nécessaires : un par veau du lot « yaourt » + un par veau logé avec ceux du lot « yaourt » - vérifier la date de péremption – sortir du frigo au dernier moment

❖ Préparation du lait

- Préparer et chauffer si nécessaire le lait comme d'habitude
- Verser dans les seaux tétine ou le milk bar, pour les veaux avec et sans yaourt

❖ Nourrir les veaux qui ne reçoivent pas de yaourt

❖ Ajout du yaourt **APRES AVOIR RETIRE LE CHAUFFE LAIT**, uniquement pour les veaux du lot « yaourt », une fois par jour, le matin ou le soir :

- Vider un pot de yaourt par veau dans le lait chaud (mais inférieur à 50°C) à l'aide de la cuillère ou d'un autre ustensile utilisé uniquement pour cet usage.
- Mélanger vigoureusement avec le fouet identifié

❖ Distribuer en s'assurant que le veau boive bien avec la tête relevée (fermeture de la gouttière oesophagienne)

❖ **Nettoyage et rangement du matériel**

Rapidement après le repas, nettoyer et ranger le matériel, en séparant le matériel du lot « yaourt » du reste du matériel. Si nécessaire utiliser la brosse identifiée pour le matériel du lot « yaourt ». Mettre à sécher la tête en bas jusqu'à l'utilisation suivante.

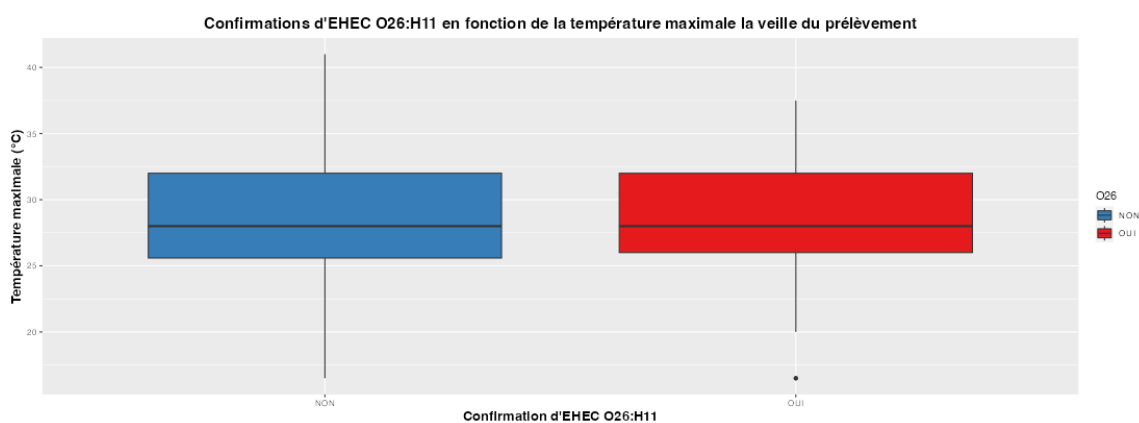
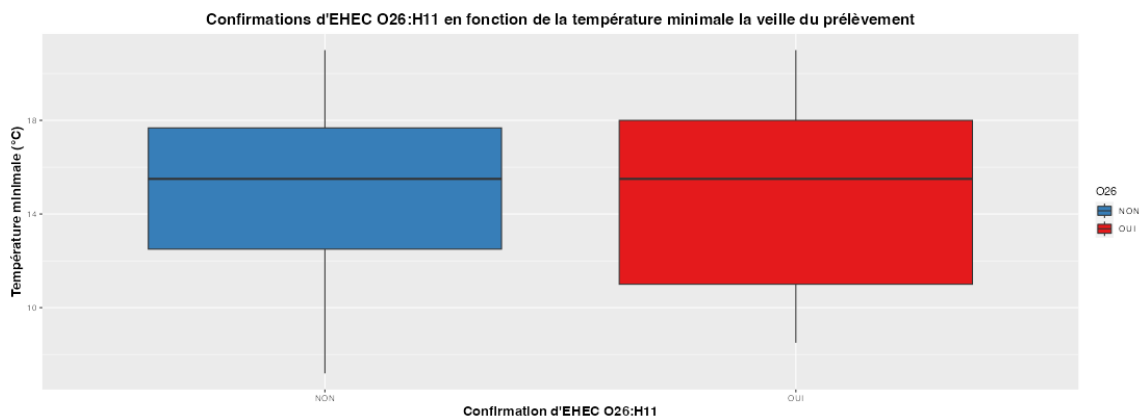
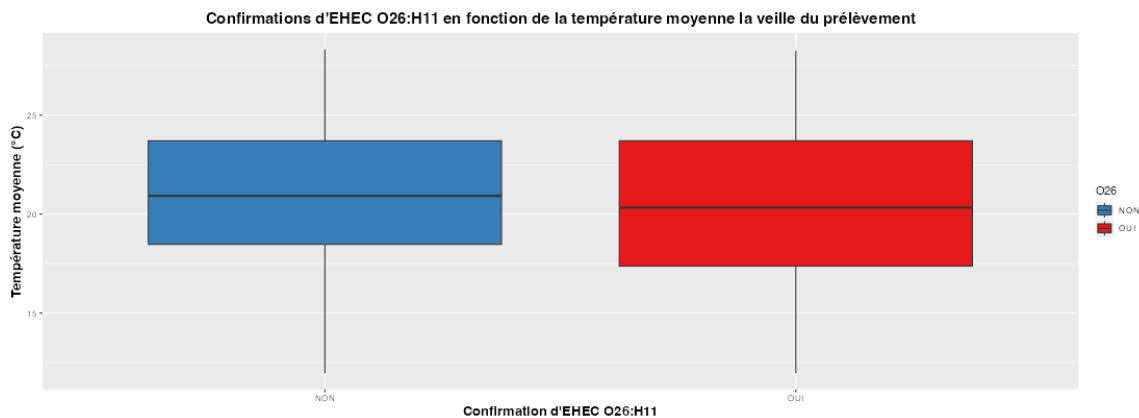
NE PAS UTILISER LE MATERIEL « YAOURT » POUR D'AUTRES VEAUX

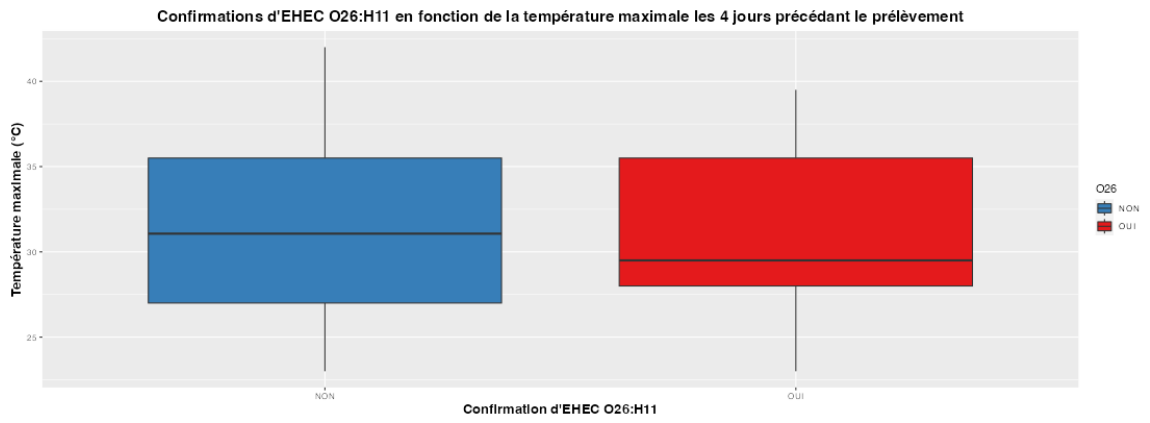
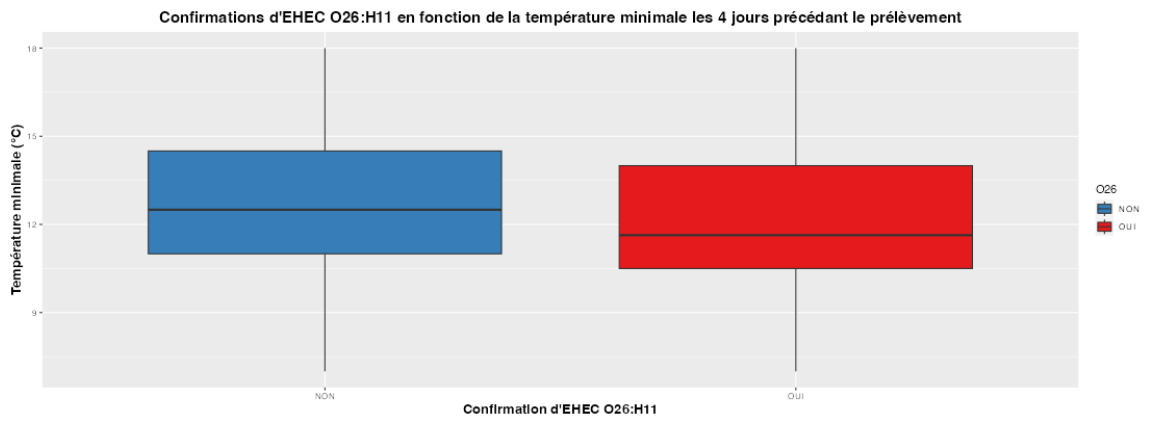
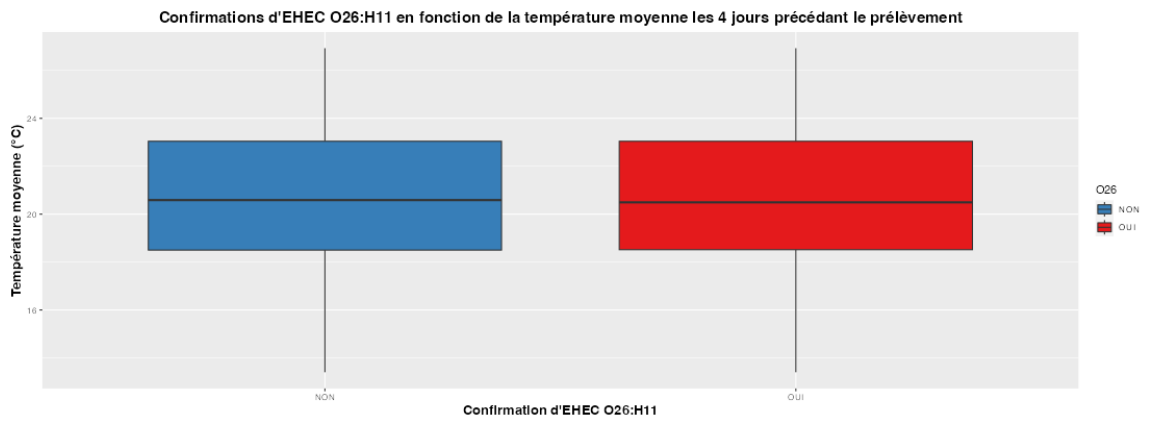
**S'ASSURER QUE TOUTES LES PERSONNES QUI S'OCCUPENT DES VEAUX ONT
EU CONNAISSANCE DE CE PROTOCOLE**

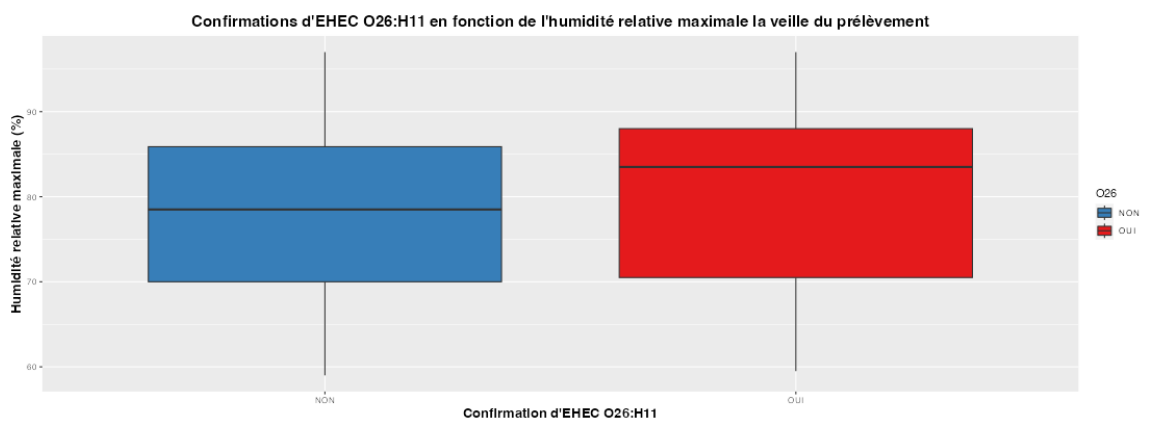
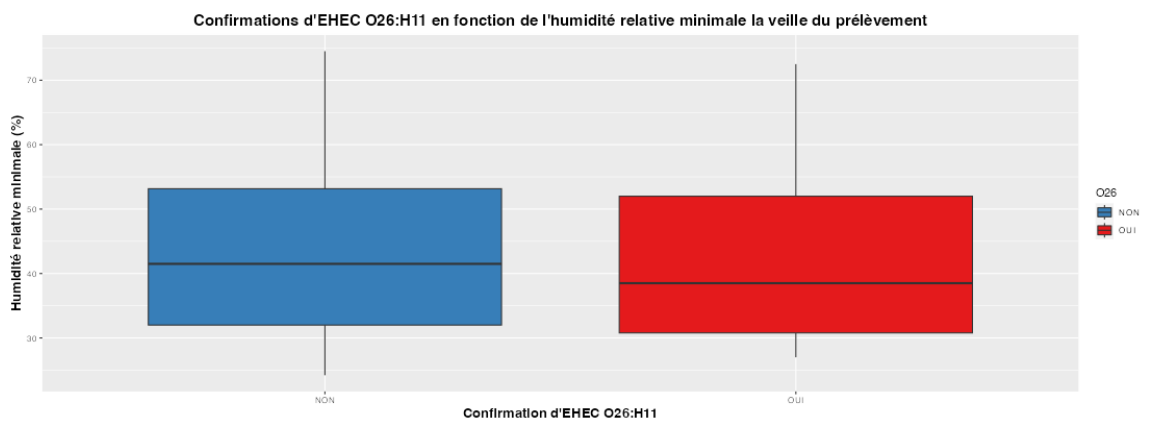
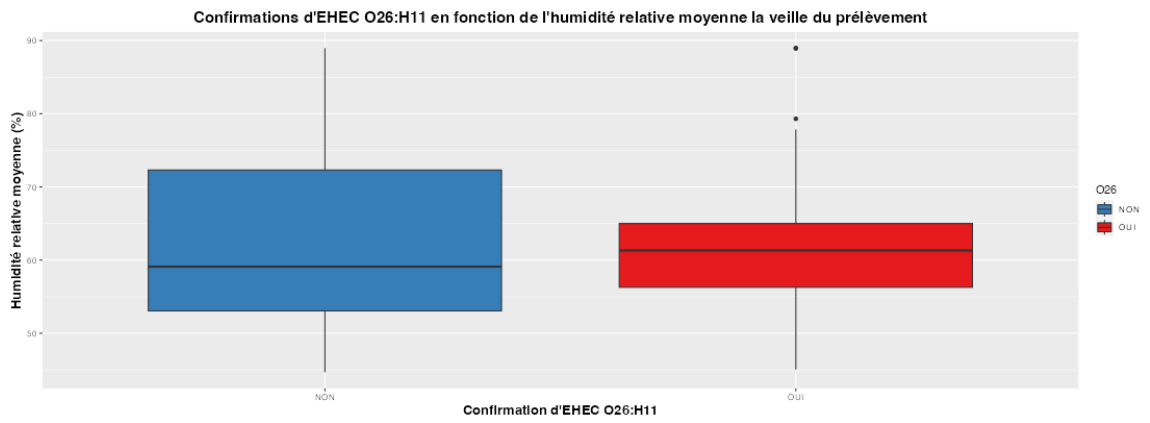
Annexe 3 : Aperçu des résultats d'excrétion d'O26:H11 le 20/11/2023

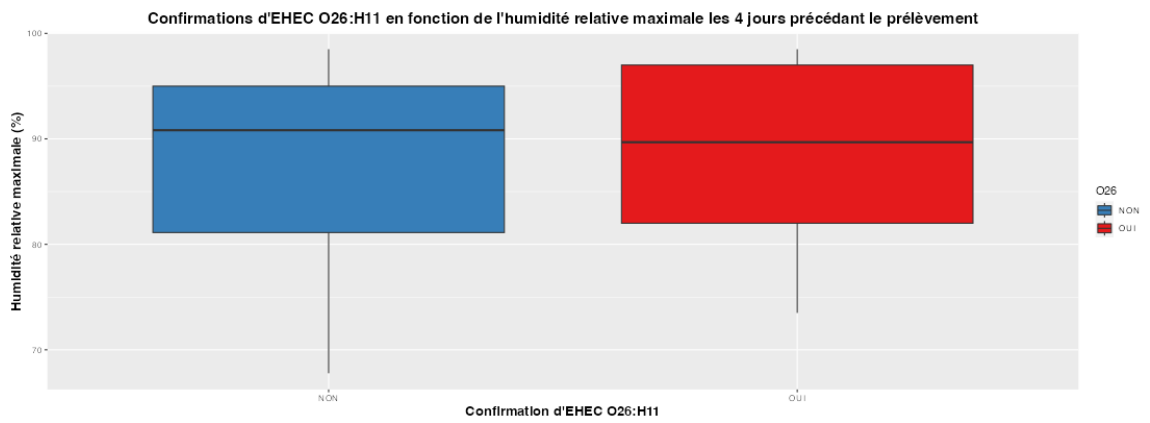
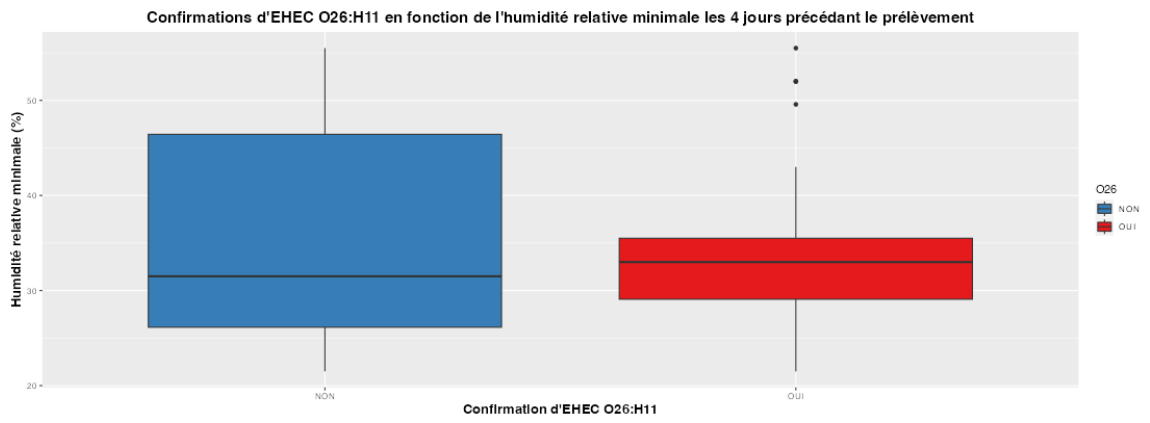
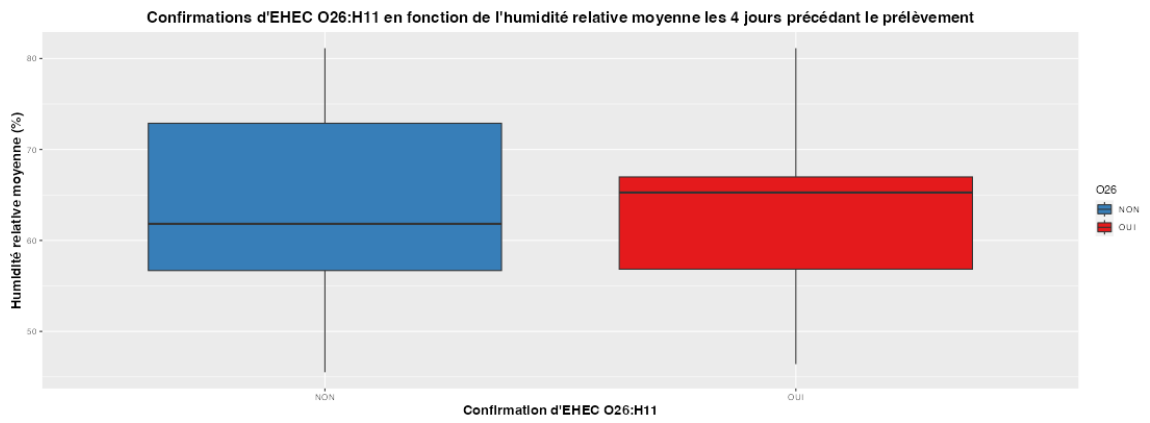
| FERME | VEAU | P0 | P1 | P2 | P3 | Interprétation |
|-------|------|----|----|------|------|-------------------------|
| 3 | 1 | - | + | + | - | Excrétion transitoire |
| 3 | 2 | - | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 3 | 3 | - | + | - | + | Excrétion intermittente |
| 3 | 4 | - | + | - | + | Excrétion intermittente |
| 3 | 5 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 3 | 6 | - | + | - | + | Excrétion intermittente |
| 3 | 7 | - | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 3 | 8 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 3 | 9 | - | - | + | - | Excrétion transitoire |
| 3 | 10 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 3 | 11 | - | - | + | - | Positif |
| 3 | 12 | - | - | + | - | Positif |
| 3 | 13 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 3 | 14 | - | - | + | - | Positif |
| 4 | 1 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 2 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 3 | - | - | Mort | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 5 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 6 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 7 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 8 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 9 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 10 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 11 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 12 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 13 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 14 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 15 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 4 | 16 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 6 | 1 | - | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 6 | 2 | - | + | + | - | Excrétion transitoire |
| 6 | 3 | - | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 6 | 4 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 6 | 5 | - | + | - | Mort | Excrétion transitoire |
| 6 | 6 | - | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 6 | 7 | - | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 6 | 8 | - | - | - | + | Positif |
| 6 | 9 | - | + | - | + | Excrétion intermittente |
| 6 | 10 | + | + | - | - | Excrétion transitoire |
| 6 | 11 | - | + | - | + | Excrétion intermittente |
| 6 | 12 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 6 | 13 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 6 | 14 | - | - | - | - | Absence d'excrétion |
| 7 | 1 | - | - | + | - | Excrétion transitoire |
| 7 | 2 | - | - | + | + | Positif |
| 7 | 3 | - | + | + | + | Positif |
| 7 | 4 | - | - | + | - | Excrétion transitoire |
| 7 | 5 | - | - | + | - | Excrétion transitoire |
| 7 | 6 | + | - | + | - | Excrétion intermittente |
| 7 | 7 | - | - | + | + | Positif |
| 7 | 8 | - | - | + | - | Excrétion transitoire |
| 7 | 9 | - | - | + | - | Excrétion transitoire |
| 7 | 10 | - | - | + | - | |
| 7 | 11 | - | + | + | - | |
| 7 | 12 | - | - | + | - | |
| 7 | 13 | - | - | + | - | |
| 7 | 14 | - | + | + | - | |

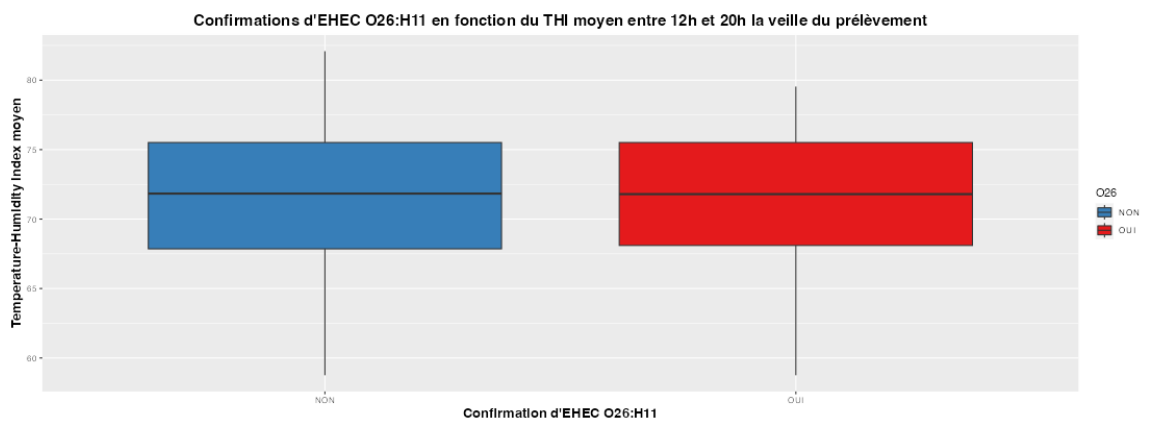
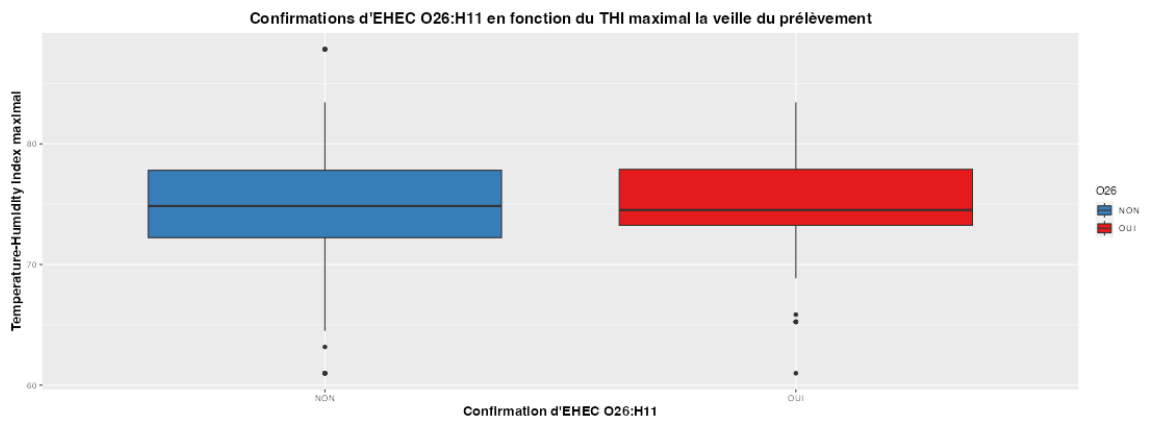
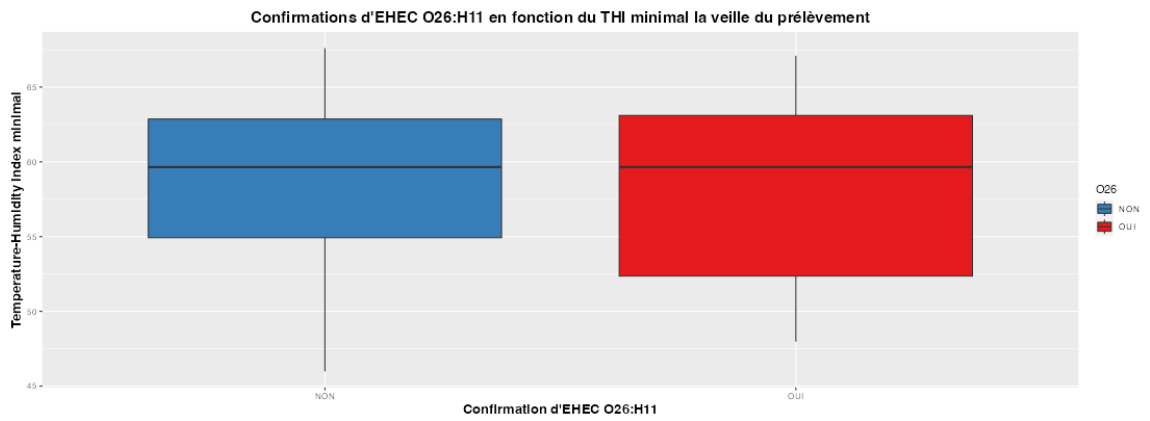
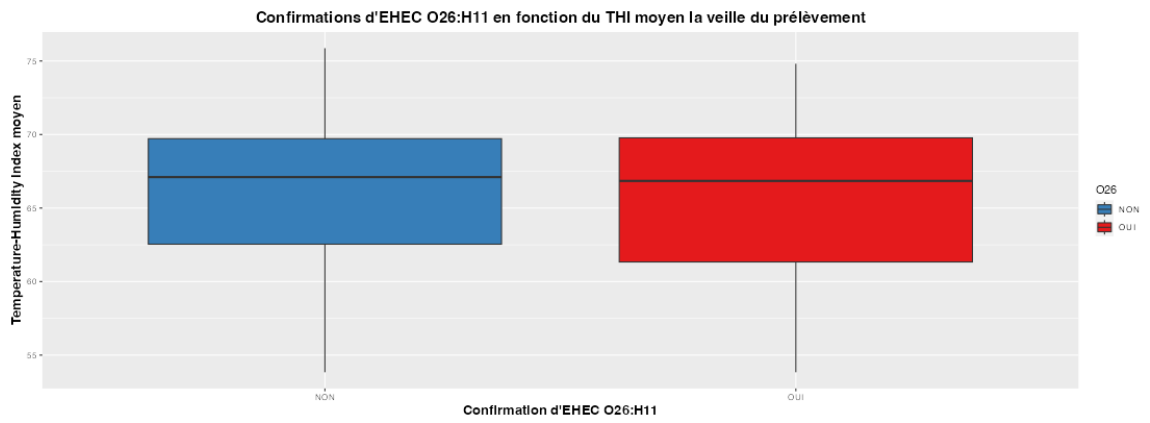
Annexe 4 : Graphiques liés aux données météorologiques

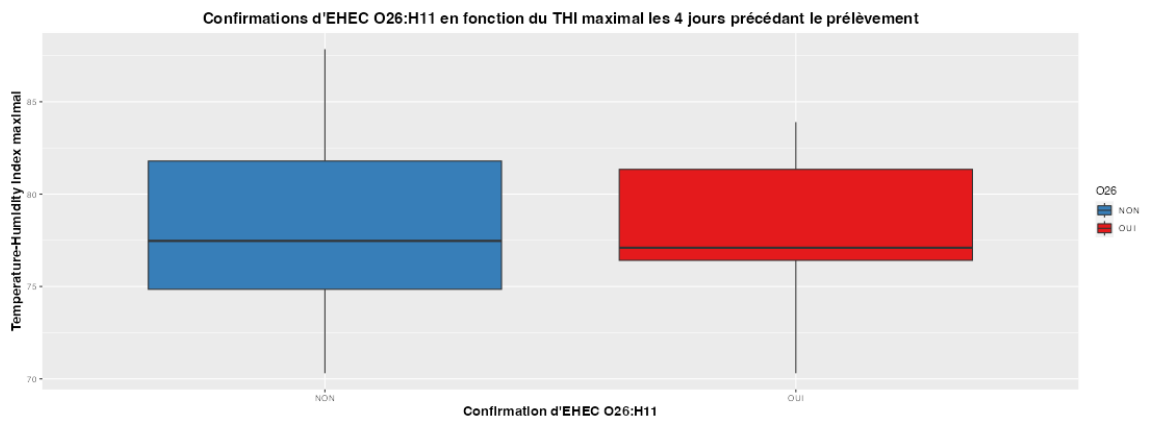
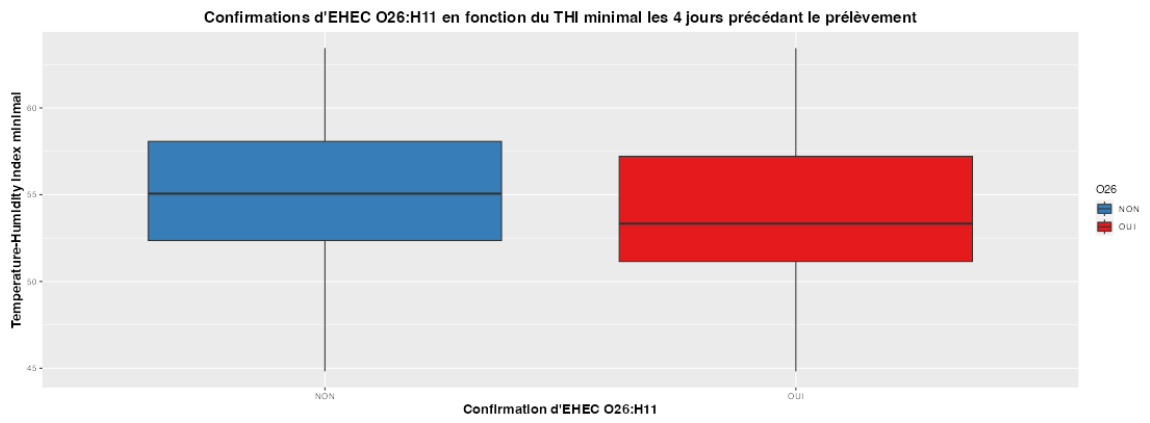
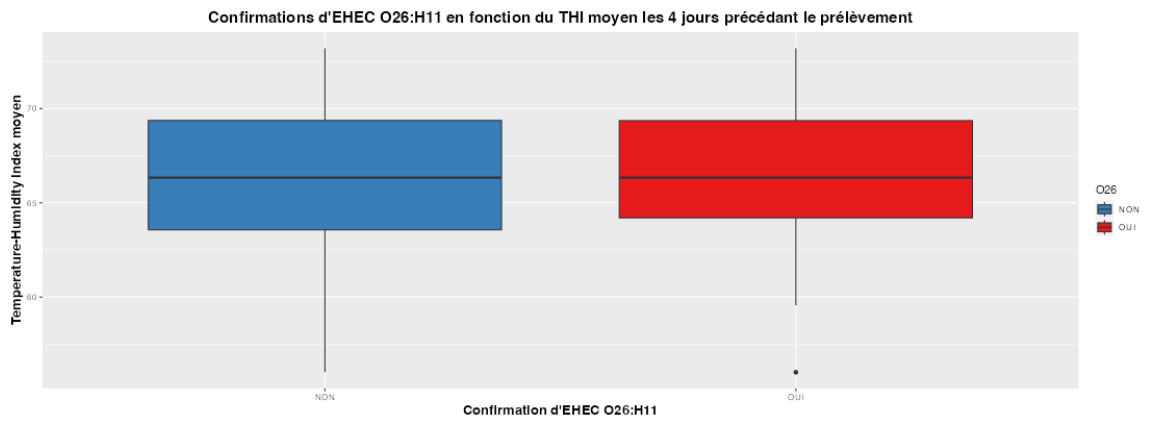












FACTEURS DE VARIATION DU PORTAGE ET DE L'EXCRÉTION DES *ESCHERICHIA COLI* ENTÉROHÉMORRAGIQUES O26:H11 : ÉTUDE CHEZ LES JEUNES VEAUX LAITIERS EN ZONE AOP LAIT CRU DE MONTAGNE

AUTEUR : Marie RAMETTE

RÉSUMÉ :

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques sont responsables d'infections chez les humains, pouvant se compliquer en un Syndrome Hémolytique et Urémique parfois mortel. La contamination se fait souvent par l'ingestion d'aliments contaminés, comme notamment la viande hachée insuffisamment cuite ou les produits contenant du lait cru. Les bovins constituent le réservoir principal des EHEC et les excrètent de façon asymptomatique, rendant difficile leur détection.

Les objectifs de cette étude étaient à la fois d'évaluer la concordance entre deux méthodes de prélèvement et de déterminer les facteurs de variation de l'excrétion des EHEC O26:H11 par les veaux laitiers. Pour cela, 57 veaux laitiers de quatre fermes ont été prélevés trois à quatre fois entre la naissance et le sevrage et les événements marquants de leur vie ont été relevés. De plus, des données météorologiques ont été recueillies via des capteurs. Cette étude réalise un premier traitement des résultats d'un projet plus large, nommé « ConEHECtion ».

Notre étude a évalué la concordance entre le prélèvement de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale comme étant modérée pour l'analyse de 1^{ère} intention ($\kappa = 0,53$ [0,38 ; 0,67]_{95%}), importante pour l'analyse de confirmation ($\kappa = 0,61$ [0,33 ; 0,89]_{95%}) et modérée pour le résultat global ($\kappa = 0,58$ [0,41 ; 0,75]_{95%}). D'autre part, un modèle logistique a été réalisé afin d'évaluer l'impact de certains paramètres sur l'excrétion d'EHEC O26:H11. Notre étude a mis en évidence qu'un allotement récent augmentait significativement l'excrétion des EHEC O26:H11 (OR = 5,25 et $p = 0,036$). De même, les veaux âgés de 21 à 30 jours et de 56 à 60 jours excrétaient plus souvent la bactérie que les veaux âgés de 0 à 7 jours (OR = 51,4, $p = 0,002$ et OR = 167, $p < 0,001$ respectivement). En revanche, une baisse de l'humidité relative minimale sur les quatre jours précédant le prélèvement augmentait la probabilité d'excrétion de la bactérie (OR = 0,69 et $p = 0,028$). Cependant, les autres paramètres testés tels que l'effet de la ferme, la température ou le THI n'étaient pas significativement associés à l'excrétion d'EHEC O26:H11.

Mieux comprendre les facteurs régissant l'excrétion de ce pathogène au sein des élevages est essentiel au vu de son impact dans le domaine de la santé publique et des contaminations encore régulières qu'il provoque. Développer des moyens de maîtrise adaptés à l'échelle de la ferme apparaît comme une nécessité et constitue l'un des objectifs de la suite du projet « ConEHECtion ».

MOTS CLÉS : *ESCHERICHIA COLI* ; ENTÉROHÉMORRAGIQUE ; EHEC ; O26:H11 ; VEAU ; LAIT CRU ; SHU ; VARIATION ; EXCRÉTION ; PORTAGE ; PRÉLÈVEMENT

JURY :

Présidente : Dr RIVIÈRE Julie

Directeur de thèse : Pr MILLEMANN Yves

Examinatrice : Dr GUÉRIN Virginie

Invitée : Mme RAYNAUD Sabrina

Invitée : Mme VANBERGUE Élise

FACTORS INFLUENCING THE CARRIAGE AND SHEDDING OF ENTEROHAEMORRAGIC *ESCHERICHIA COLI* O26:H11: YOUNG DAIRY CALVES IN PDO MOUNTAIN RAW MILK ZONE STUDY

AUTHOR: Marie RAMETTE

SUMMARY:

Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* are responsible for human infections, which can be complicated by Haemolytic Uremic Syndrome, sometimes fatal. Contaminations often occur through contaminated food consumption, such as undercooked minced meat or products containing raw milk. Cattle are the main reservoir of EHEC and shed it asymptotically, making it difficult to detect.

The aim of this study was both to evaluate the agreement between two sampling methods and to determine factors influencing EHEC O26:H11 shedding by dairy calves. To do this, 57 calves from four farms were sampled three to four times from birth to weaning and key events in their lives were recorded. In addition, meteorological data was collected via sensors. This study is an initial processing of the results of a larger project, called "ConEHECtion".

Our study assessed that agreement between faeces sampling and recto-anal junction swab was moderate for primary analysis ($\kappa = 0,53$ [0,38; 0,67]_{95%}), substantial for confirmation analysis ($\kappa = 0,61$ [0,33; 0,89]_{95%}) and moderate for the overall result ($\kappa = 0,58$ [0,41; 0,75]_{95%}). A logistic model was also used to assess the impact of some factors on EHEC O26:H11 shedding. Our study showed that recent group housing significantly increased EHEC O26:H11 shedding (OR = 5,25 et $p = 0,036$). Similarly, calves aged 21 to 30 days and 56 to 64 days shed the bacteria more often than calves aged 0 to 7 days (OR = 51,4, $p = 0,002$ and OR = 167, $p < 0,001$ respectively). On the other hand, a decrease in minimum relative humidity over the four days prior to sampling increased the probability of shedding bacteria (OR = 0,69 et $p = 0,028$). However, the other parameters tested, such as farm effect, temperature or THI, were not significantly associated with EHEC O26:H11 shedding.

A better understanding of factors determining this pathogen shedding on farms is essential given its impact on public health and contaminations it still causes on a regular basis. It is essential to develop appropriate control methods at farm level, and this is one of the goals of the "ConEHECtion" project's continuation.

KEYWORDS: *ESCHERICHIA COLI*; ENTEROHAEMORRHAGIC; EHEC; O26:H11; CALF; RAW MILK; SHU; VARIATION; SHEDDING; CARRIAGE; SAMPLING

JURY:

Chairperson: Dr RIVIÈRE Julie
Thesis Director: Pr MILLEMANN Yves
Reviewer: Dr GUÉRIN Virginie
Guest: Mme RAYNAUD Sabrina
Guest: Mme VANBERGUE Élise