



HAL
open science

Étude de l'effet de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sur l'excrétion des *Escherichia coli* O26:H11 chez les veaux laitiers en zone AOP de fromage au lait cru

Lysiane Schalk

► **To cite this version:**

Lysiane Schalk. Étude de l'effet de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sur l'excrétion des *Escherichia coli* O26:H11 chez les veaux laitiers en zone AOP de fromage au lait cru. *Sciences du Vivant [q-bio]*. 2024. dumas-04956923

HAL Id: dumas-04956923

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04956923v1>

Submitted on 19 Feb 2025

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.

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2024 - Thèse n° 145

**ETUDE DE L'EFFET DE *LACTOBACILLUS
DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS* ET
STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS SUR
L'EXCRETION DES *ESCHERICHIA COLI* O26:H11 CHEZ
LES VEAUX LAITIERS EN ZONE AOP DE FROMAGE AU
LAIT CRU**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 18 décembre 2024
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

SCHALK Lysiane

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2024 - Thèse n° 145

**ETUDE DE L'EFFET DE *LACTOBACILLUS
DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS* ET
STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS SUR
L'EXCRETION DES *ESCHERICHIA COLI* O26:H11 CHEZ
LES VEAUX LAITIERS EN ZONE AOP DE FROMAGE AU
LAIT CRU**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 18 décembre 2024
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

SCHALK Lysiane

Liste des enseignants (29/08/2024)

Mme	ABITBOL Marie	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAL Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER Claire	Professeur
Mme	BELLUCO Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH Agnès	Maître de conférences
M.	BENOIT Etienne	Professeur
M.	BERNY Philippe	Professeur
Mme	BLONDEL Margaux	Maître de conférences
M.	BOURGOIN Gilles	Maître de conférences
Mme	BRASSARD Colline	Maître de conférences (stagiaire)
M.	BRUTO Maxime	Maître de conférences
M.	BRUYERE Pierre	Maître de conférences
M.	BUFF Samuel	Professeur
M.	BURONFOSSE Thierry	Professeur
M.	CACHON Thibaut	Maître de conférences
M.	CADORÉ Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL Marie-Pierre	Professeur
Mme	CANNON Leah	Maître de conférences (stagiaire)
M.	CHABANNE Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY Karine	Professeur
M.	CHANOIT Guillaume	Professeur
M.	CHETOT Thomas	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES Alice	Professeur
Mme	DELIGNETTE-MULLER Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELLOUADJI Zorée	Professeur
Mme	ESCRIOU Catherine	Maître de conférences
M.	FRIKHA Mohamed-Ridha	Maître de conférences
M.	GALIA Wessam	Maître de conférences
M.	GILLET Benoit	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT Emmanuelle	Professeur
M.	GONTHIER Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL Delphine	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD Marine	Maître de conférences
Mme	JEANNIN Anne	Inspecteur en santé publique vétérinaire
Mme	JOSSON-SCHRAMME Anne	Chargée d'enseignement contractuelle
M.	JUNOT Stéphane	Professeur
M.	KODJO Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI Maria-Halima	Maître de conférences
Mme	LAMBERT Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND Agnès	Professeur
Mme	LEDOUX Dorothée	Maître de conférences
M.	LEFEBVRE Sébastien	Maître de conférences
Mme	LEFRANC-POHL Anne-Cécile	Maître de conférences
M.	LEGROS Vincent	Maître de conférences
M.	LEPAGE Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER Vanessa	Professeur
M.	LURIER Thibaut	Maître de conférences
M.	MAGNIN Mathieu	Maître de conférences
M.	MARCHAL Thierry	Professeur
Mme	MOSCA Marion	Maître de conférences
M.	MOUNIER Luc	Professeur
Mme	PEROZ Carole	Maître de conférences
M.	PIN Didier	Professeur
Mme	PONCE Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET Céline	Professeur
Mme	PROUILLAC Caroline	Professeur
M.	RACHED Antoine	Maître de conférences
Mme	REMY Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET Magalie	Maître de conférences
M.	ROGER Thierry	Professeur
M.	SAWAYA Serge	Maître de conférences
M.	SCHRAMME Michael	Professeur
Mme	SERGEANT Delphine	Professeur
Mme	STORCK Fanny	Professeur
M.	TORTEREAU Antonin	Maître de conférences
Mme	VICTONI Tatiana	Maître de conférences
M.	ZENNER Lionel	Professeur

Remerciements au jury

À Madame le Professeur Maria-Halima LAABERKI,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse et pour
l'intérêt porté à mon travail,
Hommages respectueux.

À Madame le Professeur Delphine SERGENTET,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir encadré dans ce travail, pour votre bienveillance et vos conseils avisés,
Sincères remerciements.

À Monsieur le Professeur Wessam GALIA,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,
Pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse en tant que second assesseur,
Sincères remerciements.

À Madame Sabrina RAYNAUD,
Responsable de projets à l'Institut de l'Élevage (Service Qualité du lait et des produits
laitiers)
Pour m'avoir accompagnée tout au long de mon travail, pour votre disponibilité, votre
bienveillance et le temps que vous m'avez accordé,
Remerciements chaleureux.

Table des matières

Liste des annexes	11
Liste des figures	13
Liste des tableaux	15
Liste des abréviations.....	17
Introduction	21
Partie 1 : partie bibliographique.....	25
I. Présentation des STEC	25
1. Caractéristiques générales.....	25
2. Classification des <i>Escherichia coli</i> pathogènes	25
a. Classification en sérotypes.....	25
b. Classification selon l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES)	25
(1) En fonction des signes cliniques	25
(2) En fonction des facteurs de virulence	26
(3) En fonction des épidémies	27
(4) En fonction du potentiel de virulence	27
3. Pathogénie	28
a. Les facteurs d'adhésion	28
b. Les shigatoxines	29
II. Epidémiologie	30
1. Cycle épidémiologique	30
a. Les ruminants, principaux réservoirs de STEC.....	30
b. Les STEC au sein de l'élevage	31
c. La transmission à l'Homme	32
d. Schéma du cycle épidémiologique	32
2. Infections et épidémies liées aux STEC chez l'Homme en France	33
a. Généralités	33
b. Epidémies relatives à la consommation de fromage au lait cru	33
III. Surveillance et réglementation	34
1. Réglementation	34
2. Surveillance.....	35
3. Méthode de détection.....	36
IV. Mesures de maîtrise des STEC chez les bovins.....	37
1. Les pratiques d'élevage	37

a.	Pour diminuer le portage et l'excrétion des STEC	37
b.	Pour maîtriser la contamination des produits	38
2.	Les antibiotiques	39
3.	Les vaccins	39
a.	Les vaccins commercialisés.....	39
(1)	Vaccin basé sur les T3SP	39
(2)	Vaccin basé sur les protéines SRP	40
b.	Les autres vaccins	41
4.	Les probiotiques.....	43
a.	Mécanismes d'action des probiotiques contre les pathogènes	44
(1)	Exclusion compétitive	44
(2)	Production de composés antimicrobiens.....	44
(3)	Effets immunologiques.....	45
(4)	Autres mécanismes d'actions	46
b.	Facteurs de variation de l'efficacité des probiotiques	46
c.	Les bactéries lactiques.....	47
(1)	Les premières recherches	47
(2)	Les probiotiques à base de bactéries lactiques commercialisés en Amérique du Nord	48
d.	Les probiotiques autres que les bactéries lactiques	50
(1)	Les E. coli non pathogènes.....	50
(2)	Bacillus subtilis	51
(3)	Saccharomyces cerevisiae	51
5.	Les bactériophages.....	51
6.	L'alimentation	53
a.	Le régime alimentaire.....	53
b.	Les autres compléments alimentaires	53
V.	Conclusion de la partie bibliographique	54
Partie 2 : partie expérimentale.....		57
I.	Introduction et objectifs.....	57
II.	Matériel et méthodes	58
1.	Groupe d'études.....	58
a.	Choix des fermes	58
b.	Choix des veaux	59
2.	Protocole expérimental.....	59

a.	Mise en place de l'expérience	59
b.	Distribution des probiotiques	60
c.	Prélèvements des échantillons.....	60
(1)	Méthodes de prélèvement	60
(2)	Fréquence des prélèvements.....	61
d.	Méthode d'analyse	61
(1)	Analyse de première intention.....	61
(2)	Analyse de confirmation.....	63
e.	Analyse statistique	63
(1)	Choix du type de modèle	63
(2)	Sélection des données à analyser	64
(3)	Elaboration du modèle de régression logistique.....	65
(4)	Validation du modèle	66
(5)	Interprétation des éléments statistiques du modèle	67
III.	Résultats	68
1.	Résultats du modèle de régression logistique	68
2.	Effet global du yaourt sur l'excrétion d' <i>E. coli</i> O26:H11	68
a.	Statistiques descriptives sur l'ensemble des prélèvements	68
b.	Statistiques inférentielles sur P2 et P3	69
3.	Effet du moment de prélèvement au cours de l'étude.....	70
a.	Effet du moment de prélèvement sur l'excrétion globale d' <i>E. coli</i> O26:H11	70
b.	Effet du yaourt sur l'excrétion d' <i>E. coli</i> O26:H11 selon le moment de prélèvement.....	70
4.	Effet de la ferme au cours de l'étude	73
a.	Effet de la ferme sur l'excrétion globale d' <i>E. coli</i> O26:H11	73
b.	Effet du yaourt sur l'excrétion d' <i>E. coli</i> O26:H11 selon les fermes.....	74
IV.	Discussion.....	75
1.	Effet global du yaourt	75
2.	Effet du moment de prélèvement au cours de l'étude.....	77
3.	Effet de la ferme au cours de l'étude	79
	Conclusion	81
	Bibliographie	85
	Annexes	103

Liste des annexes

Annexe 1 : Pourcentage de présence d' <i>E. coli</i> O26:H11 dans les lots témoin et yaourt en fonction de la ferme et du prélèvement.....	103
--	-----

Liste des figures

Figure 1 : Classification actuelle des AEEC, STEC et EHEC d'après (ANSES 2010 ; 2023).....	26
Figure 2 : Circulation des STEC entre les animaux d'élevage et l'Homme, d'après (Brugère 2012)	32
Figure 3 : Schéma des analyses mises en œuvre lors d'une recherche de STEC dans un échantillon, d'après (DGAL-CNIEL 2022)	36
Figure 4 : Pourcentage de présence d' <i>E. coli</i> O26:H11 en fonction du lot	69
Figure 5 : Pourcentage de présence d' <i>E. coli</i> O26:H11 en fonction du prélèvement.....	70
Figure 6 : Pourcentage de présence d' <i>E. coli</i> O26:H11 dans les lots témoin et yaourt en fonction du prélèvement	71
Figure 7 : Représentation graphique de l'interaction LOT*PRELEVEMENT	72
Figure 8 : Pourcentage de présence d' <i>E. coli</i> O26:H11 en fonction de la ferme	73
Figure 9 : Pourcentage de présence d' <i>E. coli</i> O26:H11 dans les lots témoin et yaourt en fonction de la ferme	74

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des STEC en fonction de leur potentiel de virulence (ANSES 2023).....	28
Tableau II : Interprétation de l'odds ratio	67
Tableau III : Résultats du modèle de régression logistique.....	68

Liste des abréviations

AAF : *Aggregative adherence fimbriae*

AEEC : *Escherichia coli* Attachant-Effaçant ou *Attaching and Effacing Escherichia coli*

A/E : Attachement-effacement

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

AIC : Akaike Information Criterion

AMM : Autorisation de mise sur le marché

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

AOP : Appellation d'origine protégée

Carnot F2E : Carnot France Futur Elevage

CES BIORISK : Comité d'experts spécialisé sur l'évaluation des risques biologiques dans les aliments

CNIEL : Centre national interprofessionnel de l'économie laitière

CNR-ESS : Centre national de référence des *Escherichia coli*, Shigella et Salmonella

DGAL : Direction générale de l'alimentation

E. coli : *Escherichia coli*

eae : gène codant pour l'intimine

EAEC : *Escherichia coli* entéroagréatif ou *enteroaggregative Escherichia coli*

EcN : *Escherichia coli* Nissle 1917

EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragique ou *enterohemorrhagic Escherichia coli*

EPEC : *Escherichia coli* entéropathogène ou *enteropathogenic Escherichia coli*

Esp : *Escherichia coli* secreted protein

ExPEC : *Escherichia coli* pathogène extra-intestinal ou *extraintestinal pathogenic Escherichia coli*

FDR : False discovery rate

GBPH : Guide des bonnes pratiques d'hygiène

Gb3 : globotriosylcéramide 3

GMQ : Gain moyen quotidien

GVIF : Generalized variance inflation factor

HACCP : Hazard analysis critical control point

Idele : Institut de l'Élevage

IgA : immunoglobuline A

InPEC : *Escherichia coli* pathogène intestinal ou *intestinal pathogenic Escherichia coli*

INRAE : Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

L. acidophilus : *Lactobacillus acidophilus* LEE : locus d'effacement des entérocytes

MAPK : *mitogen activated protein kinases*

MAT : Microangiopathie thrombotique

NFkB : *nuclear factor kappa B*

OR : Odds ratio

P. freudenreichii : *Propionibacterium freudenreichii*

PCR : Polymerase chain reaction

PSPC : Plan de surveillance et de contrôle

S. cerevisiae : *Saccharomyces cerevisiae*

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

SRP : *siderophore receptor and porin*

STEC : *Escherichia coli* producteur de shigatoxines ou *shigatoxin-producing Escherichia coli*

ST-EAEC : souche d'*Escherichia coli* entéroagrégate ayant acquis un gène *stx*

Stx : shigatoxine

stx : gène codant pour la production d'une shigatoxine

Tir : *translocated intimin receptor*

T3SP : protéines sécrétées de type III ou *type-III secreted proteins*

T3SS : système de sécrétion de type III ou *type-III secretion system*

UFC : Unité formant colonie

VPP : Valeur prédictive positive

INTRODUCTION

Identifiés pour la première fois en 1982 (Riley *et al.* 1983), les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des bactéries pathogènes pouvant être responsables d'infections chez l'Homme. Chaque année, de nouveaux cas d'infections liées aux STEC sont recensés, pouvant aller d'une colite hémorragique à un Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) parfois mortel chez l'enfant (Bruyand *et al.* 2019). Les bovins constituent le principal réservoir de STEC, qui sont porteurs asymptomatiques et excrètent ces bactéries dans leurs matières fécales (Caprioli *et al.* 2005). La transmission à l'Homme se fait le plus souvent par ingestion de denrées alimentaires contaminées, comme la viande ou les produits au lait cru (Rangel *et al.* 2005). Durant ces deux dernières décennies, plusieurs épidémies liées à la consommation de produits contaminés ont eu lieu en France, faisant de la maîtrise des STEC un réel enjeu de santé publique (Bruyand *et al.* 2019 ; Jones *et al.* 2020). Dans les épidémies dues à la consommation de fromage au lait cru, les sérotypes de STEC O157 et O80 ont pu être retrouvés chez les malades, mais c'est le sérotype O26:H11 qui est le plus souvent impliqué (Institut de veille sanitaire 2007 ; Santé publique France 2020 ; ANSES 2023). C'est donc ce sérotype qu'il convient d'essayer de maîtriser dans les zones de production de fromages au lait cru afin de réduire les risques d'infections chez l'Homme.

Malgré les nombreuses mesures prises pour limiter la contamination des denrées alimentaires, un point clé de la maîtrise des STEC repose sur la diminution du portage et de l'excrétion des STEC chez les bovins. Pour cela, plusieurs stratégies existent, avec parmi elles les pratiques d'élevage adaptées, la vaccination, les bactériophages, le régime alimentaire, et enfin les probiotiques (Berry et Wells 2010). Employés depuis de nombreuses années en production animale pour leurs divers bénéfices, des essais ont été faits depuis le début des années 2000 sur l'utilisation des probiotiques comme moyen de lutte contre les STEC dans les élevages. Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées comme réduisant l'excrétion de certaines souches de STEC, notamment des bactéries lactiques qui sont actuellement commercialisées en Amérique du Nord. Cependant, ces probiotiques montrent une efficacité variable, puisque celle-ci dépend des conditions d'élevage, de la nature du probiotique et de la souche pathogène cible, ainsi que de l'âge des animaux (Gaggia

et al. 2010). La plupart des études au sujet des probiotiques ont été menées sur des bovins adultes, mais les veaux présentent une caractéristique intéressante : leur microbiote intestinal subit des changements importants lors des premières semaines de vie (Uyeno *et al.* 2010). Les probiotiques peuvent alors être un moyen d'orienter l'évolution de ce microbiote et de limiter la présence de pathogènes au sein de celui-ci (Fernández-Ciganda *et al.* 2022). Puisque très peu d'études ont été réalisées concernant l'utilisation de probiotiques contre le sérotype de STEC O26:H11 chez des jeunes veaux laitiers, les connaissances relatives à cette situation sont très maigres.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le projet ConEHECtion, coordonné par l'Institut de l'Élevage (Idele) en partenariat avec l'INRAE (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement), ACTALIA (centre technique d'expertise labellisé Institut Technique Agro-Industriel) et avec le soutien financier du CNIEL (Centre national interprofessionnel de l'économie laitière) et du Carnot F2E (Carnot France Futur Elevage). Une partie de ce projet a pour but de déterminer si l'utilisation de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* comme probiotiques a un effet sur l'excrétion des *E. coli* O26:H11 chez les veaux en zone AOP (appellation d'origine protégée) de fromage au lait cru. Une expérience de plusieurs mois a ainsi été menée dans différents élevages afin de répondre à cette question.

La première partie de ce manuscrit est une partie bibliographique constituée d'une présentation des STEC et de leur contexte épidémiologique, suivie d'une synthèse sur les moyens de maîtrise de l'excrétion des STEC chez les bovins. La deuxième partie est consacrée à la présentation et aux résultats de l'étude du projet ConEHECtion, au cours de laquelle *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* ont été distribués à des veaux pour tenter de réduire leur excrétion d'*E. coli* O26:H11 en modifiant les populations de leur microbiome intestinal.

PARTIE 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation des STEC

1. Caractéristiques générales

Les *Escherichia coli* (*E. coli*) sont des bactéries Gram-négatives présentes dans la flore digestive des animaux à sang chaud et de l'Homme. Ces bacilles sont aéro-anaérobies facultatifs et mesurent deux à quatre micromètres de long pour un diamètre d'environ 0,6 micromètre.

La plupart de ces *E. coli* sont commensales, mais certaines souches sont pathogènes, et peuvent notamment être responsables d'entérites, d'entérites hémorragiques ou encore de Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) chez l'Homme (ANSES 2023).

2. Classification des *Escherichia coli* pathogènes

a. Classification en sérotypes

Les souches d'*E. coli* responsables d'entérites sont classées en différents sérotypes selon leurs antigènes de surface, l'antigène de paroi lipopolysaccharidique O et l'antigène flagellaire H (Grimont 1987).

b. Classification selon l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES)

(1) En fonction des signes cliniques

La classification des *E. coli* pathogènes peut être réalisée en fonction des signes cliniques observés chez l'Homme lors d'une infection. Les souches sont alors classées en différents pathotypes, parmi lesquels on distingue deux grandes familles : les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC, *intestinal pathogenic E. coli*) et extra-intestinaux (ExPEC, *extraintestinal pathogenic E. coli*). Parmi les InPec, on compte six pathotypes majeurs, dont les *E. coli* entéroagrégatifs (EAEC, *enteroaggregative E. coli*) et les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC, *enterohaemorrhagic E. coli*). Les EHEC peuvent être responsables de diarrhées aqueuses bénignes mais aussi de

colites hémorragiques pouvant évoluer vers des SHU chez l'enfant et chez l'adulte ou des micro-angiopathies thrombotiques (MAT) chez l'adulte (ANSES 2023).

(2) En fonction des facteurs de virulence

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) fait une distinction entre les différentes souches d'*E. coli* pathogènes via leur patrimoine génétique, en particulier leurs facteurs de virulence. Les *E. coli* Attachant-Effaçant (AEEC, *Attaching and effacing E. coli*) constituent l'ensemble des souches possédant le locus d'effacement des entérocytes (LEE), un locus regroupant plusieurs gènes et notamment le gène *eae* codant pour l'intimine (McDaniel *et al.* 1995 ; ANSES 2010). Les *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC, *Shiga toxin-producing E. coli*) constituent l'ensemble des souches possédant un gène *stx* (Caprioli *et al.* 2005 ; ANSES 2023).

Les EHEC sont tous porteurs d'un gène *stx*, ils constituent un sous-groupe des STEC. Les EHEC sont des souches de STEC pour lesquelles la pathogénicité chez l'Homme a été prouvée par la manifestation de signes cliniques. Ainsi, les souches isolées chez les animaux sont appelées STEC, et les souches isolées chez les malades sont appelées EHEC (ANSES 2023).

Les différentes classifications sont recoupées dans la figure 1.

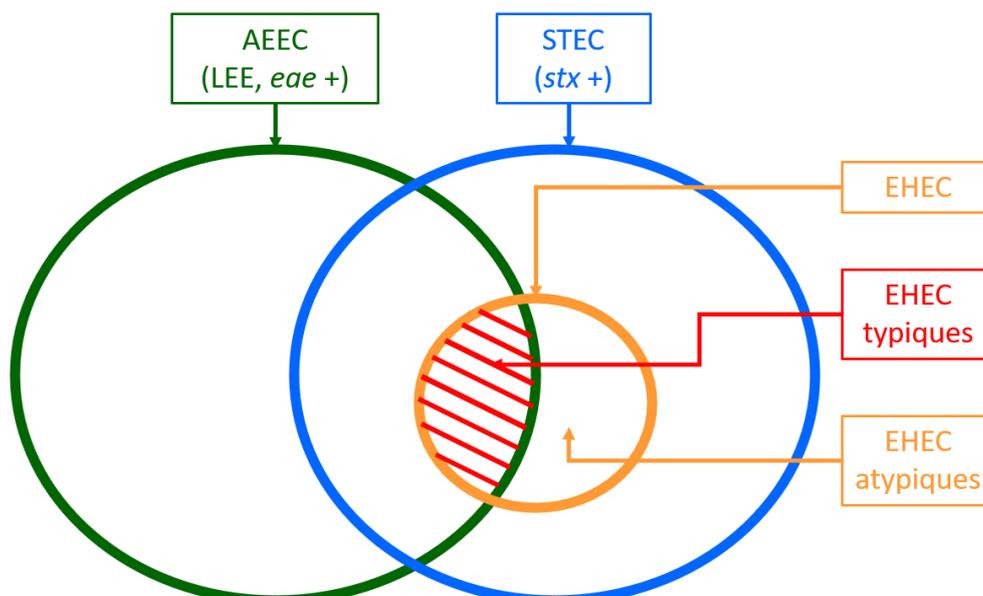


Figure 1 : Classification actuelle des AEEC, STEC et EHEC d'après (ANSES 2010 ; 2023)

Certaines souches d'EHEC sont appelées « typiques » car elles possèdent le gène *eae* porté par le LEE. A l'inverse, certaines souches d'EHEC ne possèdent pas le LEE, elles sont donc appelées EHEC « atypiques » (Nataro et Kaper 1998 ; ANSES 2023).

(3) *En fonction des épidémies*

Parmi les EHEC typiques, cinq sérotypes sont les plus souvent impliqués dans les épidémies : les sérotypes O26:H11, O157:H7, O103:H2, O111:H8 et O145:H28. Ces EHEC sont définis par l'ANSES comme EHEC majeurs ou EHEC du top cinq. Ces sérotypes (avec O80) représentent 80 % des cas de SHU en France (ANSES 2023).

Si l'on parle des souches isolées chez les animaux appartenant à ces cinq sérotypes, on parle des STEC majeurs ou STEC du top 5 (ANSES 2023).

Le sérotype le plus étudié est O157:H7, et le sérotype O26:H11 est celui faisant l'objet de cette thèse. Dans le reste de cette thèse, le terme EHEC fera référence aux EHEC majeurs, et le terme STEC aux STEC majeurs.

(4) *En fonction du potentiel de virulence*

Une nouvelle classification est proposée par le CES BIORISK (Comité d'experts spécialisé sur l'Evaluation des risques biologiques dans les aliments, appartenant à ANSES) sur la base des données épidémiologiques et microbiennes françaises (2017-2021) et internationales (FAO/WHO 2018). Cette nouvelle classification, constituée de quatre groupes, est réalisée en fonction du potentiel de virulence des souches de STEC. Ce potentiel est évalué par la probabilité que la souche provoque un SHU (c'est-à-dire la valeur prédictive positive (VPP) du SHU), puis par la probabilité que la souche provoque de la diarrhée sanglante en cas d'équivalence (ANSES 2023).

Le groupe I rassemble les souches qui possèdent les sous-types *stx2a* et/ou *stx2d* du gène *stx* ainsi que le gène *eae* ou les gènes *aggR* et *aaiC* (gènes typiquement utilisés comme marqueurs des EAEC). En effet, les données épidémiologiques ont montré une plus grande virulence des souches de STEC possédant ces gènes, avec une VPP du SHU de 69 %. Le groupe II est constitué des souches qui possèdent les gènes *stx2a* et/ou *stx2d*, mais pas les gènes *eae* ou *aggR* et *aaiC*. Ces souches présentent un fort potentiel de provoquer un SHU chez l'adulte. Cette classification est d'ailleurs la première à mettre en lumière les cas de SHU chez l'adulte. Les souches des groupes III et IV, c'est-à-dire les souches présentant d'autres sous-types du gène

stx, sont moins souvent liées à des cas de SHU ; elles sont plutôt retrouvées dans des cas de diarrhée sanglante (tableau I) (ANSES 2023).

Tableau I : Classification des 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</i> / <i>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)

Cette classification, par l'analyse des données épidémiologiques et microbiologiques, rend compte de l'importance relative des facteurs de virulence (ANSES 2023).

3. Pathogénie

Comme mentionné dans la partie précédente, les STEC ont deux facteurs de virulences principaux : les facteurs d'adhésion aux entérocytes, pouvant être codés par les gènes du LEE, et les shigatoxines, codées par les gènes *stx*. D'autres facteurs de virulence existent, mais ils ne seront pas développés dans cette thèse.

a. Les facteurs d'adhésion

Les facteurs d'adhésion permettent aux STEC d'adhérer aux entérocytes. Les gènes requis pour créer cette adhésion sont regroupés au sein d'un îlot de pathogénicité, le LEE (McDaniel *et al.* 1995). Le LEE contient environ 41 gènes, regroupés en plusieurs opérons. Parmi eux se trouvent notamment les gènes codant pour le système de sécrétion de Type III (T3SS), un système permettant la translocation de protéines bactériennes dans la cellule hôte, et le gène *eae* codant pour l'intimine, une protéine d'adhésion membranaire (Elliott *et al.* 1998 ; Croxen et Finlay 2010).

Plus de soixante protéines peuvent être injectées par le T3SS dans la cellule hôte lorsque celle-ci est infectée par des STEC (Tobe *et al.* 2006). Le récepteur

bactérien de l'intimine Tir (*Translocated intimin receptor*) est l'une d'entre elles et permet l'attachement intime de la bactérie à la cellule hôte (Schmidt 2010). On retrouve également les protéines Esp (*E. coli secreted proteins*), comme EspA ou EspB, ou encore les protéines Nle, comme NleA ou NleC (Tobe *et al.* 2006). Chacune des protéines effectrices joue un rôle dans l'infection de la cellule hôte.

L'adhésion des bactéries aux entérocytes de l'iléon distal et du côlon grâce à l'ensemble des facteurs entraîne des modifications du cytosquelette des entérocytes, et ainsi un effacement des microvillosités. Ces lésions sont appelées lésions « d'attachement-effacement » (A/E) (Nataro et Kaper 1998). Ces lésions provoquent des diarrhées.

Certaines souches de STEC, qui n'appartiennent pas aux STEC du top cinq, ne possèdent pas le LEE. Elles présentent dans ce cas d'autres facteurs de colonisation impliqués dans l'adhésion à la muqueuse intestinale (ANSES 2023). Les souches ST-EAEC, qui correspondent à des souches de EAEC ayant acquis un gène *stx*, ont pour facteurs d'adhésion des pili AAF (*aggregative adherence fimbriae*), dont l'expression est régulée par le gène *aggR* (Nataro *et al.* 1994). Le gène *aaiC* code pour une protéine sécrétée par les EAEC, et bien que sa présence soit liée à une virulence accrue de la souche, son rôle n'est pas encore bien connu (ANSES 2023).

b. Les shigatoxines

Les STEC produisent des cytotoxines appelées shigatoxines (Stx). Ces shigatoxines sont classées en deux grands groupes, Stx1 et Stx2, respectivement codés par les gènes *stx1* et *stx2*. Une souche de STEC peut produire une de ces deux shigatoxines ou bien les deux. Il existe de nombreux sous-types de Stx1 et Stx2, décrits en fonction de la toxicité, de la séquence en acides aminés, ou encore de la séquence nucléotidique des gènes (ANSES 2023). Stx2 est plus souvent associée à une maladie grave chez l'Homme que Stx1 (Boerlin *et al.* 1999). Les sous-types Stx2a et Stx2d sont plus toxiques que d'autres sous-types comme Stx2b (Fuller *et al.* 2011), et la présence du gène *stx2a* est corrélée avec le SHU (ANSES 2023).

Une fois les STEC liés à la muqueuse intestinale, ceux-ci libèrent les shigatoxines, qui traversent la paroi intestinale jusqu'à arriver aux cellules endothéliales des capillaires sanguins intestinaux. Une fois à l'intérieur de ces cellules, les toxines inhibent la synthèse protéique, provoquant ainsi la mort cellulaire et par

conséquent des lésions vasculaires. Ces lésions sont à l'origine du caractère hémorragique des diarrhées (ANSES 2023).

Les toxines sont ensuite libérées dans la circulation sanguine et peuvent être transportées jusqu'à d'autres organes dont l'endothélium vasculaire présente des récepteurs Gb3 (globotriosylcéramide 3). Une fois la shigatoxine liée à ce récepteur, celle-ci est internalisée par endocytose et engendre la mort cellulaire (Keir *et al.* 2012). Parmi ces organes se trouvent les reins et le système nerveux central. Chez l'Homme, la dissémination des shigatoxines dans l'organisme peut se caractériser par un SHU ou par une micro-angiopathie thrombotique (MAT) (O'Loughlin et Robins-Browne 2001 ; ANSES 2023).

Les bovins sont quant à eux porteurs asymptomatiques. L'endothélium des vaisseaux sanguins de leur tractus digestif, de leurs reins ou de leur système nerveux ne présente pas de récepteurs Gb3. Les shigatoxines ne peuvent ainsi pas exercer leur pouvoir pathogène (Pruimboom-Brees *et al.* 2000).

II. Epidémiologie

1. Cycle épidémiologique

a. Les ruminants, principaux réservoirs de STEC

Les ruminants constituent la principale source d'infections humaines par les STEC. Parmi eux, les bovins, porteurs asymptomatiques, sont le plus gros réservoir de STEC (Caprioli *et al.* 2005).

Dans le monde, la prévalence d'*E. coli* O157 chez les bovins est de 5,68 % (Islam *et al.* 2014). Cependant, il existe une grande disparité à la fois entre les différents pays et au sein même des pays (Islam *et al.* 2014). En France, l'étude de Bibbal *et al.* réalisée en 2015 sur des échantillons de selles de 1318 bovins abattus révèle une prévalence des STEC majeurs de 1,8 %. Une différence est notée entre les jeunes animaux et les adultes, avec notamment chez les jeunes bovins laitiers une prévalence de 4,5 % face à une prévalence de 1,8 % chez les bovins laitiers adultes (Bibbal *et al.* 2015).

Les jeunes bovins étant une population plus fortement excrétrice de STEC, l'étude de Auvray *et al.* s'est concentrée sur les veaux en analysant les fèces de 500

veaux abattus en France. La prévalence de STEC au sein de cet échantillon est de 5,6 %, ce qui confirme l'impact de l'âge des bovins dans leur portage de ces bactéries. Les deux sérotypes les plus détectés sont O103:H2 et O26:H11, qui représentent à eux deux 73 % des STEC trouvés (Auvray *et al.* 2023). Chez les jeunes bovins, on remarque aussi que le sevrage est une période associée à une augmentation de l'excrétion des STEC, sûrement due au stress provoqué cet évènement (Zhao *et al.* 1995 ; Cobbold et Desmarchelier 2000 ; Rugbjerg *et al.* 2003 ; Paiba *et al.* 2003).

Le type de bovins a également une influence sur l'excrétion des STEC (Bibbal *et al.* 2015). En Belgique, une étude menée auprès de 180 fermes montre que la prévalence d'*E. coli* O157:H7 (souches isolées à partir d'échantillons environnementaux obtenus par utilisation de sur-chaussures au sein des étables) est supérieure dans les élevages laitiers (61,2 %, soit 30 fermes sur 49) par rapport aux élevages allaitants (22,7 %, soit 17 fermes sur 75) (Cobbaut *et al.* 2009).

Outre les bovins, d'autres animaux sont considérés comme des réservoirs de STEC. Il y a notamment les petits ruminants, eux aussi porteurs asymptomatiques et excréteurs (La Ragione *et al.* 2009), ou encore les monogastriques dans une moindre mesure (Kim *et al.* 2020). La faune sauvage est également considérée aujourd'hui comme un réservoir de STEC (Espinosa *et al.* 2018), pouvant être à l'origine de contaminations d'aliments comme les fruits et les légumes.

Dans tous les cas, les STEC sont excrétés par les animaux dans les fèces.

b. Les STEC au sein de l'élevage

La contamination est oro-fécale. Les bovins peuvent donc se contaminer entre eux par contact direct, mais aussi de manière indirecte. En effet, une fois excrétés dans les matières fécales, les STEC se retrouvent dans l'environnement de l'élevage, notamment dans la litière, le sol, l'eau des abreuvoirs ou les effluents (fumiers, lisiers...). Par conséquent, les bovins peuvent par exemple se contaminer en pâturant sur les parcelles souillées ou en buvant de l'eau contaminée (Fairbrother, Nadeau 2006).

La persistance des STEC dans l'environnement dépend de plusieurs facteurs, dont la concentration bactérienne, la température, le pH et les autres bactéries présentes, mais elle peut aller jusqu'à plusieurs mois (Fremaux *et al.* 2008).

c. La transmission à l'Homme

Les STEC peuvent se retrouver dans le lait ou dans la viande en cas de manque d'hygiène lors de la traite ou à l'abattoir. La source la plus importante de contamination du lait par les STEC est fécale (Hussein et Sakuma 2005). La transmission à l'Homme s'effectue alors par consommation de produits animaux contaminés (viande ou produits laitiers). L'Homme peut également développer une infection à STEC par ingestion d'eau ou de végétaux contaminés. Il existe aussi une transmission par contact direct entre individus ou par contact direct entre un individu et un animal excréteur (Naylor *et al.* 2005a).

La consommation de produits animaux contaminés reste la voie de contamination la plus fréquente. Aux Etats-Unis, entre 1982 et 2022 aux Etats-Unis, 52 % des épidémies liées aux STEC étaient dues à des denrées alimentaires contaminées, et parmi celles-ci, 41 % étaient dues à la viande de bœuf et 4 % aux produits laitiers (Rangel *et al.* 2005).

d. Schéma du cycle épidémiologique

Ce schéma illustre les paragraphes précédents et représente les principales voies de transmission des STEC entre les animaux d'élevage et l'Homme (figure 2).

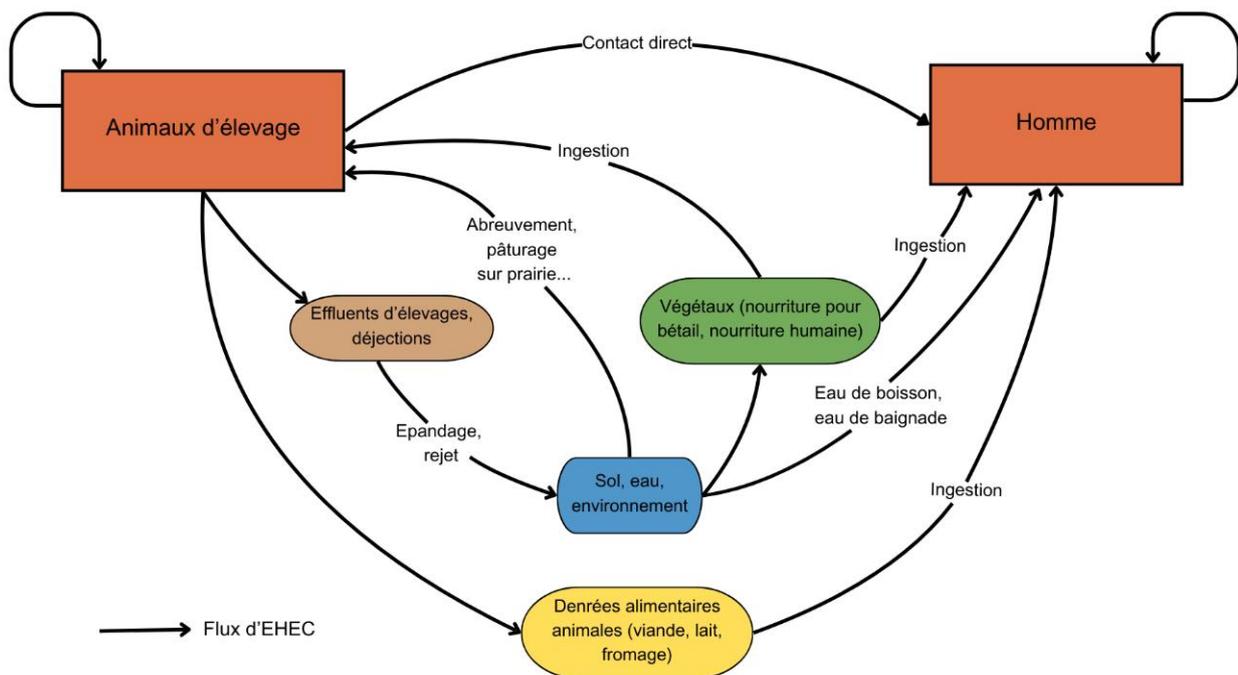


Figure 2 : Circulation des STEC entre les animaux d'élevage et l'Homme, d'après (Brugère 2012)

2. Infections et épidémies liées aux STEC chez l'Homme en France

a. Généralités

Depuis 1996, une surveillance du SHU pédiatrique en France est effectuée par un réseau d'hôpitaux qui signalent les cas de SHU pris en charge dans leurs établissements. La détection de STEC chez les malades est alors faite par PCR (polymerase chain reaction) des gènes *stx* dans les selles, suivie d'un éventuel isolement des souches sur géloses.

Entre 2007 et 2016, le nombre médian de cas de SHU était de 116 par année. Sur les cas ayant pu être testés, 77 % d'entre eux étaient positifs aux STEC. Il a été noté une forte saisonnalité dans l'incidence des SHU, avec une augmentation importante des cas en été. Une hétérogénéité spatiale a également été remarquée, avec un plus grand nombre de cas en Franche-Comté et en Basse-Normandie (> deux cas pour 100 000 personnes années) que dans les autres régions (< deux cas pour 100 000 personnes années). Au cours des années, il y a eu un changement dans la prévalence des sérotypes de STEC impliqués dans les cas de SHU, avec une diminution du sérotype O157 depuis 2011 et une augmentation du sérotype O26 depuis 2010 (Bruyand *et al.* 2019).

Plus récemment, dans le rapport de surveillance du SHU post-diarrhéique chez l'enfant de moins de 15 ans publié par Santé publique France pour l'année 2020, 167 cas de SHU pédiatriques ont été recensés. Chez 142 de ces cas, une recherche de STEC a été réalisée dans les selles des malades, et une infection par les STEC a alors été confirmée dans 125 cas, soit 88 % des cas (Jones *et al.* 2020). En 2022, l'incidence des SHU pédiatriques a été la plus haute recensée depuis 1996. Le sérotype O26 a été le sérotype majoritaire, à l'origine de deux épidémies : une liée à la consommation de pizzas surgelées (associée également à O103:H2), qui a regroupé 50 cas de SHU dont deux sont décédés, et une liée à la consommation de produits laitiers, qui a compté 13 cas de SHU (Jones *et al.* 2023).

b. Epidémies relatives à la consommation de fromage au lait cru

Au total, entre 2000 et 2021, sept épidémies d'infections à STEC relatives à la consommation de lait cru ont été documentées en France. Parmi elles, deux épidémies ont été dues à *E. coli* O157 (en 2004 avec du fromage au lait de chèvre et en 2013 avec du fromage au lait de vache) (ANSES 2023). En 2005, une épidémie dans le

Nord-Ouest de la France a été liée à *E. coli* O26:H11 et *E. coli* O80:H2, suite à la consommation de camembert au lait cru. Un total de 16 cas de SHU a été recensé, tous survenus entre octobre et décembre chez des enfants âgés de huit mois à six ans (Institut de veille sanitaire 2007).

Les quatre autres épidémies relatives à la consommation de fromage au lait cru ont eu lieu entre 2018 et 2020 et ont pour origine *E. coli* O26:H11. Deux d'entre elles ont compté plus de 10 cas de SHU (ANSES 2023). En 2018, l'épidémie liée à la consommation de reblochon (fromage au lait cru), a concerné 14 enfants âgés de un à cinq ans, dont 13 ont présenté un SHU et l'un d'entre eux est décédé (Santé publique France 2020). Entre mars et mai 2019, une autre épidémie de SHU due à *E. coli* O26 a été détectée, cette fois-ci suspectée d'être liée à la consommation de Saint-Marcellins et de Saint-Féliciens (fromages au lait cru). Dix-neuf cas d'infection ont été identifiés, dont 17 SHU chez des enfants (Jones *et al.* 2020). Ces épidémies soulignent l'importance de trouver un moyen de réduire les risques d'infection liées aux STEC dans la filière lait cru, et notamment du sérotype O26.

III. Surveillance et réglementation

1. Réglementation

La réglementation concernant les STEC repose sur le Paquet hygiène, un ensemble de textes réglementaires mis en place par l'Union Européenne. Le Paquet hygiène établit les exigences sanitaires envers toute la filière agroalimentaire, depuis la production primaire jusqu'au consommateur.

Ces textes réglementaires rendent les exploitants de la filière agroalimentaire responsables de la sécurité alimentaire des produits mis sur le marché. Chaque professionnel doit mettre en place des mesures préventives adaptées ainsi que des autocontrôles garantissant une bonne maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments. Pour cela, le Paquet hygiène encourage l'utilisation des guides des bonnes pratiques d'hygiène (GBPH) et d'application des principes HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), guides notamment validés par l'ANSES au niveau national. En résumé, il est de la responsabilité des éleveurs de garantir l'absence de STEC dans le lait, et également de la responsabilité des acteurs de la chaîne de production (transformation,

transport, distribution) d'assurer la non-contamination des produits (Ministère de l'Agriculture, de la Souveraineté alimentaire et de la Forêt 2024a). Le Paquet hygiène fixe également des critères microbiologiques avec le règlement d'application CE n° 2073/2005. Dans celui-ci, seules les graines germées font l'objet d'un critère relatif aux STEC, il n'existe pas de critère microbiologique pour le fromage au lait cru. Cette absence est expliquée par la dose infectante très basse que présentent les STEC ; appliquer un seuil ne permettrait pas de réduire significativement le risque pour les consommateurs, selon le comité d'experts ayant travaillé sur le sujet (Commission Européenne 2005).

2. Surveillance

Comme mentionné dans la partie II.1.a., la surveillance des infections causées par les STEC est basée depuis 1996 sur la surveillance des SHU chez l'enfant de moins de 15 ans au sein d'un réseau de 32 centres hospitaliers en France. La recherche microbiologique est assurée par le Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) à l'Institut Pasteur à Paris et son laboratoire associé, le LA-RD (laboratoire de microbiologie, CHU Robert-Debré, Paris). Lors d'un signalement de plusieurs cas groupés de SHU, une investigation est mise en œuvre par Santé publique France pour tenter de déterminer la source de contamination (Santé publique France 2020).

Il existe aussi les plans de surveillance et de contrôle (PSPC), mis en place par la Direction générale de l'alimentation (DGAL). Ils ont pour but la surveillance de la contamination des productions primaires animales et végétales et des denrées alimentaires d'origine animale. Certaines années, un PSPC est ciblé sur la contamination des fromages au lait cru par les STEC. C'était le cas en 2018. La recherche des STEC du top cinq et O80 a été effectuée sur 490 échantillons de fromage, et a révélé un taux de contamination des fromages de 0,8 % (Mazuy-Cruchaudet *et al.* 2021). Les PSPC permettent de suivre l'évolution de la présence des STEC dans la filière fromage au lait cru et de mettre en place des mesures de maîtrise sanitaire si nécessaire (Ministère de l'Agriculture, de la Souveraineté alimentaire et de la Forêt 2024b).

Une surveillance peut également être effectuée à chaque niveau de la filière agroalimentaire, selon la volonté des différents acteurs de mettre en place des

mesures de surveillance. Au sein des élevages, une recherche de STEC peut être faite sur le lait, ou pour des investigations en cas de contamination du lait ou des produits, sur les filtres à lait de la machine à traire. Au cours de la transformation du lait en fromage, des analyses pour détecter les STEC peuvent être réalisées à plusieurs stades de la fabrication, permettant ainsi d'éviter la mise sur le marché de produits contaminés (DGAL-CNIEL 2022).

3. Méthode de détection

Pour détecter la présence de STEC et déterminer les sérogroupes O157, O111, O26, O103 et O145 dans un échantillon (matière fécale ou écouvillon de la jonction recto-anale décrits précédemment, mais aussi aliment ou prélèvement environnemental), l'instruction technique XP CEN ISO/TS 13 136 est utilisée. La figure 3 présente le déroulé des analyses lors d'une recherche de STEC.

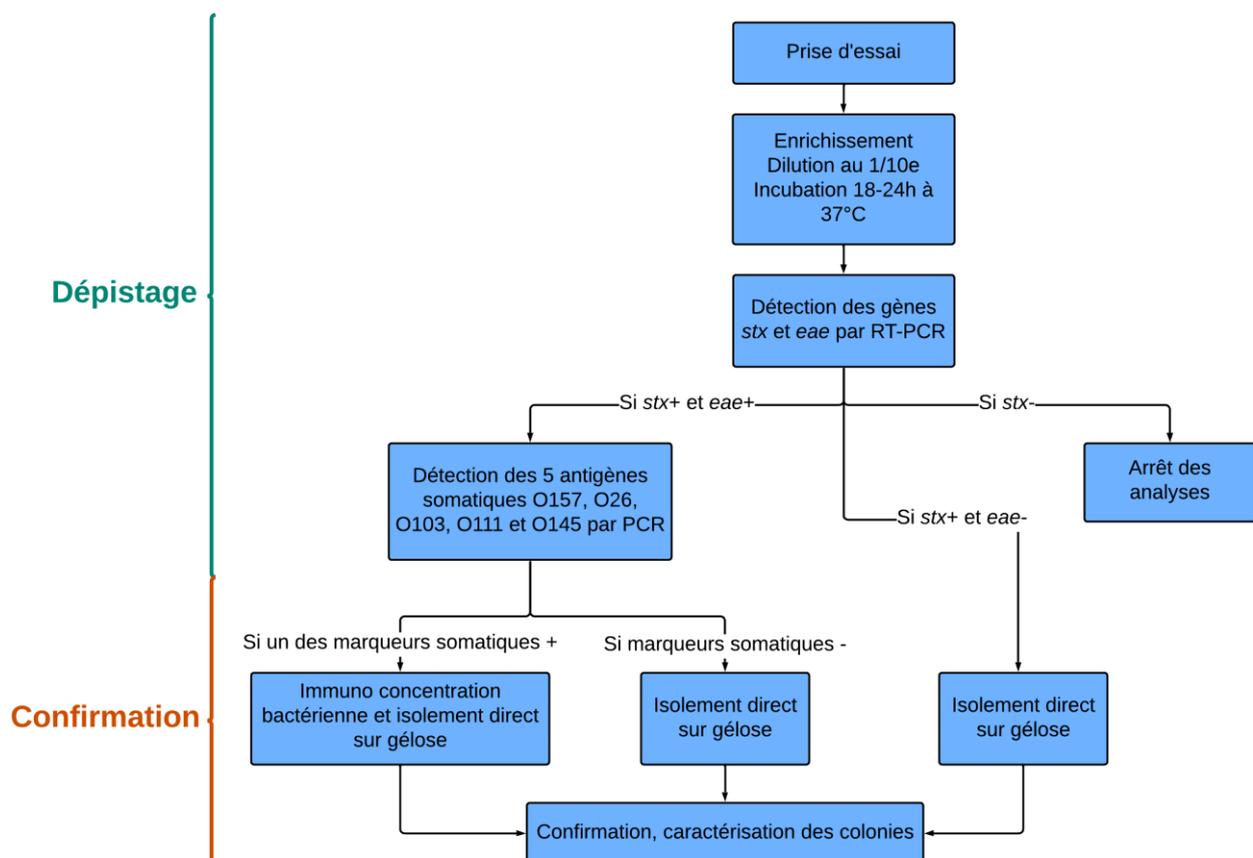


Figure 3 : Schéma des analyses mises en œuvre lors d'une recherche de STEC dans un échantillon, d'après (DGAL-CNIEL 2022)

Au cours d'une première étape de dépistage, les gènes *stx* et *eae* ainsi que les antigènes somatiques sont recherchés. S'ils sont détectés, une deuxième étape est effectuée, celle de la confirmation. Les bactéries sont isolées sur gélose et caractérisées (DGAL-CNIEL 2022).

IV. Mesures de maîtrise des STEC chez les bovins

1. Les pratiques d'élevage

Comme expliqué dans la partie II.1., les bovins sont le principal réservoir des STEC, qu'ils excrètent dans leurs matières fécales. Au sein de l'élevage, ces bactéries se retrouvent dans la litière, le sol, l'eau des abreuvoirs, les zones de pâturage, etc. Cette circulation des STEC peut engendrer la contamination d'autres bovins (contamination oro-fécale), mais également la contamination du lait. C'est pourquoi les pratiques d'élevages visant la réduction des contaminations fécales sont particulièrement importantes dans la maîtrise des STEC.

a. Pour diminuer le portage et l'excrétion des STEC

Garder une litière et une zone de couchage sèches, ainsi que conserver les animaux au sein des mêmes groupes et ne pas les mélanger avec d'autres, sont des pratiques réduisant significativement la prévalence d'*E. coli* O157:H7. Il semble également que l'absence de contact avec des animaux provenant d'exploitations différentes permette, en évitant la transmission horizontale, de diminuer les *E. coli* O157:H7 (Ellis-Iversen *et al.* 2008). Cette transmission horizontale peut aussi être évitée en conservant une séparation physique entre les animaux d'âges différents, en particulier en séparant les plus jeunes (veaux) (Raynaud *et al.* 2018 ; 2021).

Il convient aussi d'éviter ou minimiser les situations stressantes, comme les mauvaises manipulations ou les stress alimentaires (privation de nourriture, changement brutal d'alimentation), qui augmentent l'excrétion des bactéries (Venegas-Vargas *et al.* 2016). La consommation d'aliments et d'eau contaminés doit être évitée, par exemple en ayant des systèmes d'abreuvement adaptés (dans lesquels les animaux ne peuvent ni rentrer ni déféquer) et en s'assurant de la qualité microbiologique de l'eau distribuée (Commission du Codex Alimentarius 2021).

Parvenir à effectuer un nettoyage des logements dans le but de réduire la présence de STEC est un réel défi. Un nettoyage et une désinfection régulière ne sont pas efficaces sur les *E. coli* O157:H7, probablement à cause de l'émission permanente de fèces par les animaux sur le sol des enclos (Folmer *et al.* 2003). D'autres solutions sont donc recherchées. La solarisation des sols des enclos permet de réduire voire éliminer les *E. coli* dans ces sols (Wu *et al.* 2009), dont particulièrement les *E. coli* O157:H7 (Berry et Wells 2012). Aussi, des essais de traitement du fumier par des produits à base de carbonates ou d'ammoniac ont permis l'inactivation d'*E. coli* (Berry et Wells 2010).

b. Pour maîtriser la contamination des produits

Les STEC peuvent contaminer le lait lors de la traite. L'étude STECAMONT conduite entre 2015 et 2018 par l'Idelè a permis de confirmer l'origine fécale de la contamination en STEC du lait dans les fermes étudiées. Les souches analysées dans le lait étaient retrouvées dans les fèces, dans les litières et sur la peau des mamelles (Raynaud *et al.* 2018). A la lumière des résultats, l'étude a souligné les points sur lesquels il est nécessaire d'être vigilant afin de réduire les risques de contamination du lait lors de la traite :

- La propreté des vaches et des trayons, ainsi que l'hygiène de traite.
- Les réglages optimums de la machine à traire ainsi que le calme des animaux pendant la traite afin d'éviter des chutes de griffes, qui pourraient mener à l'aspiration accidentelle de matière fécale.
- L'entretien et le nettoyage de la machine à traire et de la salle de traite. Il faut veiller à réaliser ce nettoyage avec une eau non contaminée.
- L'isolement des jeunes animaux, qui ne doivent pas être manipulés lors de la traite.

Afin d'assurer une contamination minimale lors de la traite, une bonne hygiène au sein de l'entièreté de l'élevage est nécessaire. Cette bonne hygiène passe notamment par le curage régulier des aires de couchage, l'installation d'un paillage suffisant pour éviter une salissure trop importante des vaches, et le respect des surfaces de vie suffisantes des animaux (Raynaud *et al.* 2018 ; 2021).

2. Les antibiotiques

Quelques recherches ont été menées sur l'utilisation d'antibiotiques dans le but de réduire le portage et l'excrétion des STEC par les bovins. La néomycine, un antibiotique aminoside, est utilisée pour traiter les infections intestinales chez les bovins. Il a été démontré que cet antibiotique, administré à dose thérapeutique, permet de réduire la présence d'*E. coli* O157:H7 chez les bovins (Callaway *et al.* 2009 ; Berry et Wells 2010). En revanche, la monensine et la tylosine distribuées dans la ration alimentaire ne semblent pas affecter l'excrétion fécale d'*E. coli* O157:H7 chez les bovins (McAllister *et al.* 2006).

De nombreuses résistances aux antibiotiques sont retrouvées chez les STEC, et notamment chez le sérotype O26, avec des résistances à la dihydrostreptomycine, à l'oxytétracycline et à l'ampicilline (Sasaki *et al.* 2012). Le traitement à base d'antibiotiques n'est donc pas recommandé ; il est important de trouver des alternatives à l'usage d'antibiotiques comme mesure de maîtrise des STEC.

3. Les vaccins

a. Les vaccins commercialisés

A ce jour, seulement deux vaccins ayant pour but de lutter contre les STEC ont été commercialisés : un vaccin basé sur les protéines sécrétées de type III (*Type-III secreted proteins* = T3SP) et un vaccin basé sur le récepteur sidérophore et la porine (*siderophore receptor and porin*= SRP).

(1) Vaccin basé sur les T3SP

Les protéines sécrétées de type III (T3SP) sont indispensables aux *E. coli* O157:H7 pour coloniser le rectum des bovins (Naylor *et al.* 2005b). De plus, lors d'une infection à *E. coli* O157:H7, la réponse sérologique des bovins est notamment dirigée vers les T3SP (Bretschneider *et al.* 2007). Ces critères font de ces protéines une cible idéale pour un vaccin.

En 2008, un vaccin basé sur les T3SP obtient une licence pour être commercialisé au Canada et provisoirement utilisé aux Etats-Unis (Ochieng' et Hobbs 2016). Il s'agit du vaccin injectable par voie sous-cutanée Econiche®, développé et commercialisé par Bioniche Life Science Inc., une compagnie pharmaceutique canadienne. Il contient des protéines Esps ainsi que la protéine Tir (Potter *et al.* 2004).

Ce vaccin est le premier vaccin destiné à réduire l'excrétion des *E. coli* O157:H7 chez les bovins à voir le jour sur le marché (Schnirring 2008).

Plusieurs études se sont penchées sur l'efficacité de ce vaccin à base de T3SP. La vaccination permet une diminution significative du portage intestinal des bactéries, allant de 92 % (Smith *et al.* 2009a) à 98,3 % (Peterson *et al.* 2007a). Elle permet également une forte baisse de l'excrétion des *E. coli* O157:H7 par les bovins ; l'étude de Peterson *et al.* révèle que les bovins des lots vaccinés ont 59 % moins de chances d'excréter des *E. coli* O157:H7 que les bovins des lots non vaccinés (Peterson *et al.* 2007b). L'étude de Smith *et al.* montre des résultats similaires, c'est-à-dire une efficacité du vaccin sur les *E. coli* O157:H7 chez les bovins vaccinés de 63 % par rapport aux bovins non vaccinés (Smith *et al.* 2009b). Dans l'étude de Allen *et al.*, chez des veaux infectés expérimentalement par *E. coli* O157:H7, le nombre d'animaux excréteurs est significativement plus bas parmi les veaux vaccinés en amont que chez les veaux non vaccinés (Allen *et al.* 2011).

Tous ces résultats confirment que ce vaccin représente un réel intérêt comme stratégie de contrôle des STEC au sein des élevages. Cependant, l'absence de réactivité croisée entre les différents sérotypes de STEC suggère qu'un vaccin efficace sur un sérotype particulier, ici O157:H7, ne créera pas d'immunité contre d'autres sérotypes (Asper *et al.* 2007).

Le vaccin Econiche® n'a été que très peu utilisé au sein des élevages. Ce faible taux d'utilisation s'explique notamment par un sentiment de perte financière des éleveurs, qui voient le vaccin comme un investissement dont les bénéfices profitent davantage aux transformateurs de produits qu'à eux (Ochieng' et Hobbs 2016).

Le vaccin Econiche® n'est aujourd'hui plus commercialisé car la société Bioniche a cédé sa division de santé animale « Bioniche Animant Health » à Vetoquinol, une compagnie française qui a cessé la production de ce vaccin (Liu *et al.* 2022).

(2) Vaccin basé sur les protéines SRP

Le second vaccin commercialisé ayant pour but de réduire le portage des *E. coli* O157:H7 est Epitopix®, développé et vendu par Zoetis. Ce vaccin, injectable par voie sous-cutanée, consiste en deux protéines, le récepteur sidérophore et la porine (SRP),

qui permettent à la bactérie d'acquérir du fer, nutriment essentiel, et de le transporter en son sein (Thornton *et al.* 2009).

Dans l'étude de Thornton *et al.* menée sur des veaux expérimentalement infectés par *E. coli* O157:H7, il est montré que le vaccin tend à réduire la prévalence et la concentration fécale en *E. coli* O157:H7 (Thornton *et al.* 2009). Une autre étude révèle également que la prévalence fécale en *E. coli* O157:H7 est plus faible chez les veaux vaccinés que chez les veaux non vaccinés (Thomson *et al.* 2009).

Le nombre de doses de vaccin administrées a un impact sur l'efficacité du vaccin ; l'excrétion et la concentration fécale en *E. coli* O157:H7 sont plus basses avec un protocole de trois injections vaccinales par rapport à deux injections (Thomson *et al.* 2009). Le travail de Fox *et al.* montre que la dose de vaccin en elle-même influence l'effet du vaccin. Avec des injections de trois millilitres au lieu de deux (dans un protocole de deux injections vaccinales), la prévalence d'*E. coli* O157:H7 est réduite chez les veaux vaccinés par rapport aux veaux ayant reçu le placebo. Le nombre de jours au cours desquels les veaux sont testés positifs et le nombre de jours au cours desquels ils étaient considérés comme super-excréteurs sont également diminués (Fox *et al.* 2009).

Le vaccin, toujours commercialisé par Zoetis et disponible aux Etats-Unis, possède donc une réelle efficacité contre le portage et l'excrétion d'*E. coli* O157:H7. Toutefois, cette efficacité semble uniquement s'appliquer au sérotype O157:H7. L'étude de Paddock *et al.* a montré que le vaccin n'a pas d'effet sur l'excrétion des *E. coli* O26 (Paddock *et al.* 2014), et Cernicchiaro *et al.* n'ont pas observé d'efficacité du vaccin sur les sérotypes O26, O45, O103, O111, O121, et O145 (Cernicchiaro *et al.* 2014).

b. Les autres vaccins

De nombreuses études ont mis en lumière le potentiel d'autres vaccins à réduire le portage et l'excrétion des STEC chez les bovins.

La vaccination est tout d'abord possible en utilisant uniquement des antigènes connus pour être des facteurs de virulence des STEC. Un vaccin, constitué d'une combinaison de la protéine EspA, de l'intimine et du récepteur Tir, injecté en intramusculaire en trois doses, permet de significativement réduire l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 chez des veaux infectés expérimentalement (McNeilly *et al.* 2010). D'autres

combinaisons d'antigènes sont possibles ; un vaccin intramusculaire basé sur un assemblage de la protéine EspB et un fragment de l'intimine, γ -intimine C280, engendre également une diminution de l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 chez des veaux infectés expérimentalement (Vilte *et al.* 2011). Une étude complémentaire menée quelques années plus tard teste l'ajout de la shigatoxine Stx2 au vaccin contenant déjà la protéine EspB et la γ -intimine C280. Ce nouveau vaccin intramusculaire réduit bien l'excrétion fécale par rapport au groupe contrôle, mais son efficacité n'est pas supérieure au vaccin sans Stx2 (Martorelli *et al.* 2018).

La vaccination est également testée avec un vaccin inactivé à base d'une souche d'*E. coli* O157:H7 à laquelle les gènes *stx2* et *hha* ont été retirés. Sans le gène *hha*, qui permet l'expression des protéines codées par le LEE, la bactérie perd sa capacité à coloniser le tube digestif des bovins. La souche inactivée est couplée à un adjuvant et injectée en intramusculaire chez des veaux ensuite infectés expérimentalement. Les animaux vaccinés excrètent moins d'*E. coli* O157:H7 et durant une période plus courte que les animaux non vaccinés, montrant l'efficacité de ce vaccin inactivé (Sharma *et al.* 2018).

La vaccination par voie orale est une méthode faisant l'objet de plus en plus de recherches. Des jeunes bovins ont reçu dans leur nourriture des souches d'*E. coli* O157:H7 *stx*-négatives deux fois par semaine pendant six semaines, puis ont été infectés oralement trois semaines plus tard par des souches d'*E. coli* O157:H7 *stx*-positives (sauvages). Par rapport au groupe n'ayant pas été vacciné oralement, les bovins vaccinés sont moins porteurs d'*E. coli* O157:H7 sauvages et excrètent moins longtemps (Shringi *et al.* 2021).

D'autres vaccins oraux sont en voie de développement, testés sur d'autres animaux. Chez des souris, une souche atténuée de Salmonelle porteuse d'un antigène chimérique, contenant la protéine EspA, l'intimine, le récepteur Tir et le flagelle H7, a été utilisée pour les vacciner oralement. Ce vaccin a provoqué une réponse immunitaire à la fois cellulaire (de la muqueuse intestinale) et humorale, protégeant les souris contre une infection expérimentale en *E. coli* O157:H7 (Iannino *et al.* 2022). Un autre projet a pour but de développer des antigènes produits par des plantes afin de vacciner par voie orale les ruminants contre les STEC. Les plantes *Nicotiana benthamiana* et *Nicotiana tabacum*, génétiquement modifiées par l'ajout des gènes *EspA*, *EspD*, *Tir*, *NleA* et *stx2b* appartenant aux STEC, ont été étudiées comme moyen

de vaccination des ovins contre les *E. coli* O157:H7. C'est surtout la protéine EspA qui s'est accumulée dans les feuilles. Lorsque ces feuilles lyophilisées ont été données à un groupe d'ovins infectés expérimentalement, ceux-ci excrétaient moins d'*E. coli* O157:H7 que le groupe de contrôle (Miletic *et al.* 2017). Plus récemment, un essai sur des souris a été mené en leur administrant par voie orale de la laitue génétiquement modifiée par l'ajout des gènes codant pour les antigènes EspB et γ -intimine C280. Les jeunes feuilles de laitue accumulant une forte concentration en antigènes, elles ont été réduites en poudre et données à des souris. Celles-ci ont développé une réponse immunitaire cellulaire associée à une baisse de portage des *E. coli* O157:H7, exposant le potentiel de la laitue génétiquement modifiée comme méthode de vaccination pour les bovins (Su *et al.* 2023).

Les vaccins par voie orale constituent une méthode prometteuse car ils permettent une distribution directement dans la nourriture, à l'inverse des vaccins injectables qui obligent une manipulation de chaque animal à plusieurs reprises. Le prix serait également plus faible, ce qui permettrait une utilisation du vaccin plus répandue (Topp *et al.* 2016).

Les recherches sur les vaccins présentées ici ne sont qu'un échantillon des recherches existantes sur le sujet. Une revue systématique regroupant toutes les avancées sur les vaccins expérimentaux contre *E. coli* O157:H7 a été réalisée en 2017 par Saeedi *et al.* (Saeedi *et al.* 2017).

4. Les probiotiques

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants donnés par voie orale à un individu dans le but d'obtenir un effet bénéfique. Cet effet bénéfique peut consister en une amélioration de la santé ou encore une meilleure croissance de l'individu. Ici, l'effet recherché est la réduction voire l'élimination des STEC chez les bovins. Parmi les probiotiques se trouvent en majorité des bactéries lactiques, mais aussi des levures ou encore d'autres souches bactériennes (Berry et Wells 2010 ; Commission du Codex Alimentarius 2021)

a. Mécanismes d'action des probiotiques contre les pathogènes

(1) Exclusion compétitive

Tout d'abord, les probiotiques peuvent entrer en compétition avec les pathogènes pour les sites d'adhésion sur la muqueuse intestinale. L'infection de l'hôte par des pathogènes intestinaux passant en premier lieu par l'adhésion de ceux-ci aux cellules de la muqueuse intestinale, une compétition au niveau des sites d'adhésion empêche les bactéries pathogènes de pénétrer la barrière intestinale. C'est un mécanisme d'exclusion compétitive. Un autre type d'exclusion compétitive est la compétition entre les probiotiques et les pathogènes pour les mêmes nutriments. (Monteagudo-Mera *et al.* 2019 ; van Zyl *et al.* 2020 ; Malbos 2021).

(2) Production de composés antimicrobiens

L'efficacité des probiotiques est également due à leur production de composés antimicrobiens. Parmi ces composés se trouvent en premier lieu les acides organiques, et notamment les acides lactiques produits par les bactéries lactiques. D'une part, les acides lactiques provoquent une baisse de pH du microbiome intestinal, ce qui inhibe la croissance des bactéries pathogènes (Vandenbergh 1993 ; Dicks et Botes 2009). D'autre part, les acides lactiques engendrent une perméabilisation de la membrane des bactéries Gram-négatives (comme les *E. coli*), ce qui conduit à une accumulation d'acides lactiques et autres composés antimicrobiens dans le cytoplasme de ces bactéries, induisant la mort cellulaire (Alakomi *et al.* 2000). L'inhibition de *E. coli* O157:H7 par certaines souches de *Lactobacillus* est justement due à cette baisse de pH environnementale et à l'action cellulaire des acides lactiques (Brashears *et al.* 1998 ; Ogawa *et al.* 2001).

Outre les acides organiques, les bactériocines, qui sont des peptides ribosomiaux antimicrobiens, peuvent être produits par les probiotiques, et notamment par les bactéries lactiques. Selon leur nature, les bactériocines ont différentes cibles et différents mécanismes d'action (van Zyl *et al.* 2020). Elles pénètrent dans le cytoplasme des pathogènes grâce à leur petite taille et, généralement, induisent une augmentation de la perméabilité membranaire, causant des fuites membranaires et une inhibition de la synthèse d'ADN. Ces changements mènent *in fine* à la mort cellulaire (Izadpanah et Gallo 2005).

Le peroxyde d'hydrogène peut également être l'un des composés antimicrobiens clé produit par les probiotiques. Il diffuse à travers la membrane des bactéries pathogènes puis altère la transcription des gènes, provoquant la mort de ces pathogènes (Knaus *et al.* 2017). Plusieurs espèces bactériennes probiotiques, toutes des bactéries lactiques, ont été identifiées comme produisant du peroxyde d'hydrogène, avec notamment parmi elles *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (van Zyl *et al.* 2020).

La production de biosurfactants fait partie des mécanismes d'action de certaines bactéries lactiques qui réduisent la croissance des pathogènes. Un biosurfactant est un ensemble de composés qui réduit la tension de surface, causant la perméabilisation de la membrane (Servin 2004 ; van Zyl *et al.* 2020).

(3) Effets immunologiques

Les probiotiques sont capables de provoquer des modulations dans les réponses immunitaires innées et acquises de l'hôte en sécrétant des protéines immunomodulatrices, des lipides ou encore des métabolites. Ceux-ci agissent en tant qu'activateurs ou immunosuppresseurs, affectant par exemple l'homéostasie ou l'inflammation (Yousefi *et al.* 2019).

L'inflammation intestinale est délétère à l'hôte, puisqu'elle permet aux pathogènes de se multiplier davantage. Les probiotiques répriment l'inflammation, notamment en interférant avec les voies de signalisation des *mitogen activated protein kinases* (MAPK) et du *nuclear factor kappa B* (NFkB), réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires (Llewellyn et Foey 2017). Les probiotiques provoquent également l'augmentation de l'activité de phagocytose des macrophages et la diminution de la prolifération des lymphocytes T (Yousefi *et al.* 2019).

Les probiotiques peuvent stimuler la production d'anticorps par les cellules épithéliales de l'intestin, et particulièrement d'immunoglobuline A (IgA). Ces anticorps permettent d'une part de réduire l'adhésion des pathogènes à la paroi intestinale, et d'autre part de réduire les symptômes de la maladie chez l'hôte (Yan, Polk 2011; van Zyl, Deane, Dicks 2020).

(4) Autres mécanismes d'actions

D'autres mécanismes d'action des probiotiques existent : l'amélioration de la fonction de la barrière intestinale, la co-agrégation des probiotiques avec les pathogènes et l'inhibition de la mobilité flagellaire (van Zyl *et al.* 2020).

b. Facteurs de variation de l'efficacité des probiotiques

Comme chaque probiotique présente des mécanismes d'action qui lui sont propres, l'efficacité des probiotiques dépend du genre, de l'espèce et de la souche de la bactérie utilisée, ainsi que de la nature du pathogène ciblé (Gaggia *et al.* 2010). Par exemple, les différentes souches de *Streptococcus thermophilus* présentent une efficacité très variable en fonction de leur tolérance à l'acidité et de leur capacité d'adhésion aux cellules intestinales (Junjua *et al.* 2016).

La dose de probiotiques distribuée, ainsi que le moment et la durée de distribution peuvent également être des facteurs de variation de l'efficacité (Gaggia *et al.* 2010).

L'âge des animaux sur lesquels les probiotiques sont utilisés peut aussi être un paramètre de l'efficacité des probiotiques. Chez les ruminants, et notamment les bovins, la colonisation du tube digestif par les bactéries se fait dès les premières heures de vie. Des différences de microbiotes semblent d'ailleurs exister entre les veaux nés par voie basse et les veaux nés par césarienne (Yeoman *et al.* 2018 ; Husso *et al.* 2021). Bien que la durée de stabilisation du microbiote fasse encore l'objet de débats entre scientifiques, il semble que le microbiote intestinal des veaux subisse les changements les plus importants au cours des 12 premières semaines de vie (Uyeno *et al.* 2010). Cette caractéristique fait des veaux des candidats idéaux pour l'usage des probiotiques dans le but d'orienter la colonisation bactérienne de leurs intestins (Fernández-Ciganda *et al.* 2022), et éventuellement de réduire la présence des STEC, surtout en agissant dans les premières semaines après la naissance (Malmuthuge et Guan 2017). Cependant, il n'existe pas beaucoup de données concernant l'usage des probiotiques chez les veaux pré-sevrage pour réduire les STEC. Les données publiées portent plutôt sur l'effet des probiotiques sur le Gain Moyen Quotidien (GMQ) ou sur les pathogènes responsables de diarrhées (Alawneh *et al.* 2020 ; Cangiano *et al.* 2020 ; Wang *et al.* 2023). Il est donc important de consacrer des recherches sur l'usage des probiotiques chez les veaux afin de profiter de leurs caractéristiques.

c. Les bactéries lactiques

Parmi les probiotiques les plus largement utilisés se trouvent les bactéries lactiques. Ces bactéries, commensales de l'intestin des humains et des animaux, sont considérées par le plus grand nombre comme un bon moyen de maintenir une flore intestinale équilibrée et de réduire les infections par des pathogènes (Gaggia *et al.* 2010). Elles constituent des probiotiques prisés chez les veaux pour leurs effets bénéfiques en termes de santé et de nutrition animale (Uyeno *et al.* 2015).

(1) Les premières recherches

Les essais pour tenter de réduire le portage et l'excrétion des STEC chez les bovins en leur administrant des probiotiques ont commencé au début des années 2000. En 2003, Brashears *et al.* décident de tester l'efficacité de *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) sur l'excrétion fécale d'*E. coli* O157:H7 chez les bovins (Brashears *et al.* 2003a). Le choix de cette bactérie est fait grâce à une précédente étude de Brashears *et al.*, qui montre que *L. acidophilus*, isolé de matière fécale bovine, réduit la présence d'*E. coli* O157:H7 à la fois dans le liquide ruminal et dans le fumier *in vitro*, ce qui en fait un candidat idéal pour un test *in vivo* (Brashears *et al.* 2003b). Lors de ce test *in vivo*, certains jeunes bovins ont reçu 10^9 UFC par jour de *L. acidophilus* NP51 (appelé auparavant NPC 747), d'autres 10^9 UFC par jour de *Lactobacillus cristatus* NPC 750 et d'autres un placebo. Les analyses ont montré qu'il y avait approximativement deux fois moins de chances de retrouver des *E. coli* O157:H7 dans les fèces des bovins recevant *L. acidophilus* NPC 747 que dans ceux recevant le placebo. *Lactobacillus cristatus* n'a en revanche eu aucun effet sur l'excrétion des STEC. L'ajout de probiotiques à la ration alimentaire n'a eu aucun impact sur le Gain Moyen Quotidien (GMQ) des bovins. *L. acidophilus* permet donc de réduire mais n'élimine pas l'excrétion des *E. coli* O157:H7 chez les bovins (Brashears *et al.* 2003a). Une autre étude corrobore les résultats précédents, en montrant que l'administration par voie orale de *L. acidophilus* à la dose de 10^9 UFC par bovin par jour permet de réduire leur excrétion fécale en *E. coli* O157:H7 de 35 %, sans affecter leur performance (Peterson *et al.* 2005).

L'effet de *L. acidophilus* sur *E. coli* O157:H7 semble être dose-dépendant. En comparant les doses de 10^9 , 10^8 et 10^7 UFC par bovin par jour, la plus grande diminution de la prévalence d'*E. coli* O157:H7 chez les bovins étudiés était atteinte avec la dose de 10^9 UFC par bovin par jour. La prévalence était alors de 8,2 %, par

rapport à des prévalences de 17,4 % et 12,5 % pour les doses respectives de 10^8 et 10^7 UFC par bovin par jour. La dose de 10^9 UFC par bovin par jour paraît donc être une dose idéale de probiotiques pour diminuer l'excrétion des *E. coli* O157:H7 (Younts-Dahl *et al.* 2005).

La revue systématique de Sargeant *et al.* publiée en 2007 reprend entre autres les études citées ci-dessus, et suggère qu'il existe bien une efficacité de certaines souches bactériennes dans la réduction des *E. coli* O157:H7 chez les bovins sevrés. Une efficacité est notamment remarquée concernant *L. acidophilus* NP51 et la combinaison de *L. acidophilus* NP51 and *Propionibacterium freudenreichii* (*P. freudenreichii*) (Sargeant *et al.* 2007). La revue systématique de Wisener *et al.* de 2015 (Wisener *et al.* 2015) répertorie de nouvelles études qui parviennent aux mêmes conclusions concernant de *L. acidophilus* and *P. freudenreichii* (Stephens *et al.* 2007a ; 2007b ; Tabe *et al.* 2008).

(2) Les probiotiques à base de bactéries lactiques commercialisés en Amérique du Nord

En Europe, *L. acidophilus* (NP51) et *P. freudenreichii* (NP24) ne sont pas autorisés en temps qu'additifs alimentaires pour les ruminants, mais ils le sont en Amérique du Nord.

L'une des principales compagnies sur le marché des probiotiques à destination des bovins laitiers est Chr. Hansen, qui commercialise Bovamine® et ses produits analogues comme Bovamine Defend® et Bovamine Dairy®. Bovamine® contient les souches *Lactobacillus animalis* (LA51) (précédemment connue sous le nom de *L. acidophilus* NP51) and *P. freudenreichii* (PF24), à la dose de 2×10^{10} UFC par gramme (Chr Hansen 2016a). Bovamine Defend® présente la même composition bactérienne que Bovamine®, mais avec une concentration de bactéries deux fois plus élevée (4×10^{10} UFC par gramme) (Chr Hansen 2016b).

Les probiotiques à la dose faible, c'est-à-dire Bovamine®, présentent des résultats variables en terme d'efficacité sur l'excrétion d'*E. coli* O157:H7. Certaines études mettent en lumière une baisse de l'excrétion de ces bactéries par les bovins recevant Bovamine® (Younts-Dahl *et al.* 2005 ; Stephens *et al.* 2007b), tandis que d'autres révèlent que Bovamine® ne permet pas de réduire l'excrétion des *E. coli* O157:H7 (Cull *et al.* 2012 ; Cernicchiaro *et al.* 2014). D'après Cernicchiaro *et al.*, ces

probiotiques ne sont pas efficaces sur les autres sérotypes de STEC (O26, O45, O103, O111, O121, et O145) (Cernicchiaro *et al.* 2014). Paddock *et al.* confirme cette inefficacité sur les *E. coli* O26 (Paddock *et al.* 2014). Toutefois, les probiotiques à plus haute dose, c'est-à-dire Bovamine Defend®, montrent de bons résultats de réduction d'excrétion des *E. coli* O157:H7 (Flach *et al.* 2022 ; 2023), notamment pendant les mois de forte excrétion (Edache *et al.* 2024).

Il reste difficile de savoir si les différences entre les résultats observés pour Bovamine® et Bovamine Defend® sont dues à la concentration bactérienne de chacun des produits, puisque l'étude de Luedtke *et al.* ne rapporte aucune différence significative d'excrétion des *E. coli* O157:H7 entre les bovins recevant Bovamine® et ceux recevant Bovamine Defend® (Luedtke *et al.* 2016).

Un nouveau probiotique, appelé Probicon®, est commercialisé par NexGen Innovation. Il est composé de *Lactobacillus salivarius* (L28), qui a montré une intéressante capacité d'inhibition de la croissance d'agents pathogènes d'origine alimentaire, et notamment *E. coli* O157:H7 (Ayala *et al.* 2019). L'étude de Flach *et al.* de 2022 met en évidence une diminution significative de l'excrétion des *E. coli* O157:H7 chez les bovins recevant Probicon® (Flach *et al.* 2022), tandis que l'étude de 2023 rapporte une absence d'effet significatif de Probicon® (Flach *et al.* 2023). D'autres recherches doivent être conduites sur ce probiotique afin de déterminer avec plus de certitude son efficacité sur la maîtrise des STEC.

(3) *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus et *Streptococcus thermophilus* sont deux bactéries lactiques connues pour être les bactéries principalement utilisées dans la production de yaourt. Des études ont néanmoins montré qu'elles ont une efficacité dans la prévention et le traitement des diarrhées infectieuses chez les veaux (Signorini *et al.* 2012 ; Uriot *et al.* 2017).

Le lait fermenté préparé dans les fermes à partir de bactéries lactiques est toléré et fréquemment utilisé pour la prévention des troubles intestinaux chez les veaux (Heyman et Ménard 2002). En administrant aux veaux davantage de bactéries lactiques, le changement de ratio entre ces bactéries et les *E. coli* est supposé protéger les veaux des diarrhées (Signorini *et al.* 2012).

L'effet de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* n'a pas encore été testé sur les STEC, mais les caractéristiques ainsi que l'accessibilité de ces bactéries en font de bons candidats.

d. Les probiotiques autres que les bactéries lactiques

(1) Les *E. coli* non pathogènes

Les probiotiques composés d'*E. coli* non pathogènes sont une piste de recherche pour diminuer l'excrétion de STEC. Des *E. coli* producteurs de colicine E7 ont montré une efficacité sur la réduction de l'excrétion des *E. coli* O157:H7 (Schamberger *et al.* 2004). Dans une autre étude, un mélange de trois souches probiotiques d'*E. coli* a permis une réduction de l'excrétion des *E. coli* O157:H7 et *E. coli* O111, mais pas des *E. coli* O26:H11 chez des veaux sevrés (Tkalcic *et al.* 2003). Ce même mélange a été testé sur des veaux non sevrés (âgés de moins d'une semaine), et a permis de réduire l'excrétion des *E. coli* O26:H11 et des *E. coli* O111 sept jours après l'infection expérimentale des veaux par les STEC. En revanche, aucun effet du probiotique n'a été noté pour les *E. coli* O157:H7 (Zhao *et al.* 2003).

La souche *E. coli* Nissle 1917 (EcN) est utilisée en tant que probiotique (Mutaflor®) en médecine humaine pour le traitement de maladies et désordres digestifs (Sonnenborn et Schulze 2009). EcN a été testée *in vitro* et a montré un effet antagoniste très efficace contre les *E. coli* O157:H7 et O104:H4 concernant leur adhérence aux cellules épithéliales intestinales humaines, la croissance bactérienne et la production de Stx2 (Rund *et al.* 2013). *In vivo*, sur des souris, EcN associée à la souche d'*E. coli* HS (une souche commensale de la flore intestinale chez l'Homme) a permis de prévenir la colonisation intestinale par une souche d'*E. coli* O157:H7 (Maltby *et al.* 2013).

Des recherches sur l'utilisation des *E. coli* non pathogènes en tant que probiotiques continuent d'être menées (Mazurek-Popczyk *et al.* 2020 ; Hrala *et al.* 2021).

(2) *Bacillus subtilis*

Les bactéries du genre *Bacillus* sont généralement présentes dans le sol, l'eau et l'air, et peuvent se retrouver dans le tractus digestif par ingestion involontaire de nourriture contaminée. Toutefois, certaines souches de *Bacillus* sont pathogènes et responsables d'intoxications alimentaires ; il est donc important de s'assurer de la non-toxicité des souches utilisées en tant que probiotiques (Gaggia *et al.* 2010). *Bacillus subtilis* a été testé comme probiotique ayant pour but de réduire les STEC excrétés chez des bovins, mais aucune efficacité n'a pour l'instant été montrée (Arthur *et al.* 2010 ; DeHaan *et al.* 2024).

(3) *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae (*S. cerevisiae*) est une espèce de levures utilisée en tant que probiotique chez les ruminants notamment pour ses effets sur la croissance, l'équilibre de la flore intestinale et le système immunitaire (Pang *et al.* 2022). Les recherches concernant l'action de ces levures sur les STEC rapportent un effet inhibiteur de celles-ci sur l'adhésion des STEC aux cellules intestinales chez des souris et sur la croissance et la virulence des STEC *in vitro* (Chaucheyras-Durand *et al.* 2016). Néanmoins, un essai de distribution de probiotiques contenant *S. cerevisiae* en association avec *L. acidophilus* chez des bovins n'a montré aucun effet sur l'excrétion des *E. coli* O157:H7 (Stephens *et al.* 2010), et une autre étude corrobore ces résultats (DeHaan *et al.* 2024).

Une autre étude a montré qu'un produit composé de levures vivantes, de fractions spécifiques de levures et d'argile a permis de limiter la contamination du lait de chèvre pendant la durée de l'administration (Raynaud *et al.* 2018). Ces travaux, réalisés sur un petit nombre d'élevages, méritent d'être étendus à d'autres élevages et d'autres filières.

5. Les bactériophages

Les bactériophages sont des virus ayant pour cible des bactéries. Ils sont souvent spécifiques de la bactérie hôte, à laquelle ils se lient pour l'infecter et provoquer la mort cellulaire (Mozaffari *et al.* 2022). Les avantages des bactériophages, tels que leur action spécifique contre une espèce bactérienne, leur inoffensivité envers les cellules humaines ou animales, leur capacité de réplication rapide ou encore leur

rapidité d'action, font d'eux des composés intéressants pour tenter de maîtriser les bactéries pathogènes d'origine alimentaire (Greer 2005 ; Spricigo *et al.* 2013).

Au cours des années, des bactériophages dirigés contre *E. coli* O157:H7 ont pu être isolés et caractérisés, par exemple provenant de l'environnement d'élevages, comme les matières fécales ou les eaux usées (Niu *et al.* 2009). Ainsi, plusieurs études ont testé l'action des phages sur *E. coli* O157:H7, et un contrôle de la bactérie a été possible entre autres dans la viande de bœuf (O'Flynn *et al.* 2004 ; Witte *et al.* 2022), dans des végétaux (Sharma *et al.* 2009 ; Witte *et al.* 2022), et sur des surfaces dures (Viazis *et al.* 2011). Les recherches sur l'utilisation des bactériophages sur les denrées alimentaires sont nombreuses, mais celles sur l'utilisation des bactériophages directement au sein des élevages pour réduire le risque d'excrétion de STEC à la source de la chaîne de production alimentaire sont moins fréquentes (Wang *et al.* 2017).

Chez les bovins, les bactériophages peuvent être administrés par voie orale ou par application rectale. Une application rectale de bactériophages chez des jeunes bovins infectés expérimentalement par *E. coli* O157:H7 a permis de réduire le portage de ces bactéries par ceux-ci (Sheng *et al.* 2006). De plus, pour un mélange de bactériophages donné, l'administration par voie orale a engendrée une baisse plus importante des *E. coli* O157:H7 que l'application par voie rectale, sans toutefois que cette baisse soit significative par rapport au groupe témoin (Rozema *et al.* 2009).

Par voie orale, Niu *et al.* ont réussi à diminuer significativement l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 en distribuant un mélange de quatre bactériophages à des bovins âgés d'environ un an (Niu *et al.* 2008). Cependant, dans une autre étude, ce même mélange n'a pas permis de réduire l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 (Stanford *et al.* 2010). Ces résultats indiquent que les recherches doivent continuer afin de parvenir à utiliser les bactériophages comme moyen de maîtrise des STEC au sein des troupeaux de bovins (Wang *et al.* 2017). Des phages dirigés contre les STEC continuent d'être isolés et caractérisés (Mozaffari *et al.* 2022 ; Inbaraj *et al.* 2023), ils doivent ensuite être testés *in vivo* chez des bovins afin de déterminer leur efficacité.

Néanmoins, l'utilisation des bactériophages n'est pas autorisée en Europe, ni en médecine humaine ni en médecine vétérinaire. Aucun bactériophage n'a reçu d'AMM (Autorisation de mise sur le marché). Cependant, des essais cliniques continuent d'évaluer leur usage chez l'Homme, car les phages pourraient devenir une

solution lors d'infections pour lesquelles le traitement antibiotique a échoué (Benech *et al.* 2022). Des questions éthiques et réglementaires se posent donc inévitablement sur l'utilisation des phages chez les animaux

6. L'alimentation

a. Le régime alimentaire

Le régime alimentaire des bovins a un impact sur le portage et l'excrétion des *E. coli* O157:H7 par ceux-ci. Les effets sont cependant variables (Callaway *et al.* 2009). Une première étude de Tkalcic *et al.* révèle que des veaux nourris avec une alimentation principalement composée de concentrés (céréales) excrètent des *E. coli* O157:H7 en plus grande quantité que des veaux nourris avec principalement des fourrages (Tkalcic *et al.* 2000). Néanmoins, une étude de Van Baale *et al.* décrit un effet contradictoire, c'est-à-dire que la période d'excrétion d'*E. coli* O157:H7 est plus longue chez les jeunes bovins nourris avec des fourrages que chez ceux nourris avec des concentrés (Van Baale *et al.* 2004).

D'un point de vue général, il semble qu'une alimentation à base de fourrages est favorable à un taux de portage et d'excrétion d'*E. coli* plus faible (Callaway *et al.* 2003). Cependant, aucun régime alimentaire n'a été identifié comme réduisant efficacement et de manière certaine les *E. coli* O157:H7 (ni les STEC en général) chez les bovins (Commission du Codex Alimentarius 2021).

b. Les autres compléments alimentaires

Dans les milieux anaérobies (comme les intestins), les entérobactéries telles que les *E. coli* utilisent la nitrate réductase pour convertir le nitrate en nitrite. Lorsque du chlorate de sodium est présent dans l'environnement à ce moment-là, il est transformé par la même enzyme en chlorite, un ion cytotoxique. L'avantage de cet ion est qu'il est toxique pour les bactéries possédant la nitrate réductase, donc les *E. coli* mais aussi par exemple les Salmonelles. Il n'affecte cependant pas la plupart des bactéries commensales des intestins (Anderson *et al.* 2000 ; 2002 ; Berry et Wells 2010). La majorité des expériences conduites *in vivo* chez des bovins au cours desquelles le chlorate de sodium était distribué dans l'eau de boisson ou dans l'alimentation a montré une diminution de la prévalence ou de l'excrétion fécale des *E. coli* O157:H7 en lien avec l'ingestion du chlorate de sodium (Sargeant *et al.* 2007).

L'algue brune *Ascophyllum nodosum* a montré une efficacité contre *E. coli* O157:H7 lorsque les bovins sont nourris avec cette algue séchée (à la quantité de 2 % du total de matière sèche de la ration) (Braden *et al.* 2004 ; Bach *et al.* 2008). *Ascophyllum nodosum* est commercialisée sous le nom de Tasco-14® comme complément alimentaire à destination des bovins (Commission du Codex Alimentarius 2021).

V. Conclusion de la partie bibliographique

Les STEC sont des bactéries présentes dans le tractus digestif des bovins, qui sont porteurs asymptomatiques. Excrétées dans les fèces, et particulièrement par les jeunes bovins, ces bactéries circulent au sein des élevages contaminés et peuvent se retrouver dans les produits d'origine animale comme le lait. Si elles sont ingérées par l'Homme, elles peuvent être à l'origine d'affections graves, parfois mortelles.

Il paraît donc essentiel de chercher des moyens pour réduire le risque de contamination des produits par les STEC. Cela passe bien entendu par le respect des bonnes pratiques d'hygiène, mais cela ne suffit pas toujours. Maîtriser le portage et l'excrétion des STEC chez les bovins permettrait de réduire encore davantage le risque de contamination.

Plusieurs pistes sont explorées par les chercheurs : la vaccination des bovins, les probiotiques, les bactériophages ou encore le régime alimentaire. Aucune de ces méthodes n'est autorisée en Europe. Les produits autorisés et commercialisés en Amérique du Nord montrent pour certains des résultats probants, notamment les probiotiques à base de bactéries lactiques, mais aucun n'a été largement adopté par les éleveurs.

Les recherches sur les probiotiques sont pour beaucoup menées sur des bovins adultes. Or, le fait que les veaux soient de forts excréteurs de STEC associé au fait que leur microbiote est évolutif lors des premières semaines de vie fait d'eux des candidats idéaux pour essayer l'utilisation des probiotiques. Les probiotiques pourraient orienter ce microbiote et ainsi réduire le portage et l'excrétion des STEC. Traditionnellement, dans les fermes, du lait fermenté fabriqué sur place est déjà distribué aux veaux en tant que probiotiques pour prévenir les troubles digestifs. Il serait donc intéressant d'étudier l'effet du yaourt, lait fermenté avec les bactéries

classiquement utilisées *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sur l'excrétion des STEC par les veaux.

De plus, les études publiées sont surtout ciblées sur *E. coli* O157:H7, et peu sur d'autres sérotypes. *E. coli* O26:H11 est responsable de plus en plus d'épidémies, notamment liées à la consommation de produits au lait cru. Il est donc essentiel d'élargir les recherches sur les moyens de maîtrise des STEC à ce sérotype.

C'est pourquoi il a été choisi d'étudier l'effet de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sur l'excrétion des *E. coli* O26:H11 par les veaux, dans une zone AOP de fromage au lait cru.

PARTIE 2

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Introduction et objectifs

Comme nous l'avons vu dans la première partie de cette thèse, les STEC, dont notamment les *E. coli* O26:H11, peuvent être responsables de maladies et d'épidémies chez l'Homme. De nombreuses recherches sont réalisées afin d'essayer de maîtriser le portage et l'excrétion de ces bactéries chez les bovins, mais aucune méthode n'a pour le moment été adoptée largement dans les élevages.

Les jeunes bovins constituent un point clé dans la maîtrise des STEC, à la fois à cause de leur rôle de réservoirs et d'excréteurs, mais également grâce au caractère évolutif de leur microbiome intestinal lors de leurs premières semaines de vie. Réussir à agir sur les populations de ce microbiome à l'aide de lait fermenté, comme décrit par Signorini *et al.* (Signorini *et al.* 2012), pourrait permettre une diminution du portage et de l'excrétion des STEC tout au long de la vie des animaux.

Les bactéries lactiques ont fait l'objet de nombreuses recherches et ont montré leur efficacité dans la maîtrise des *E. coli* O157:H7 chez les bovins (Wisener *et al.* 2015). *Lactobacillus acidophilus* (NP51) and *Propionibacterium freudenreichii* (NP24) sont les probiotiques les plus utilisés dans ce but, mais ils ne sont pas autorisés en Europe en tant qu'additifs alimentaires chez les ruminants.

Cependant, la distribution aux veaux de lait fermenté (comme le yaourt) préparé à la ferme avec des bactéries lactiques est une pratique tolérée et couramment utilisée dans les fermes ayant pour objectif de prévenir les troubles digestifs. L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) n'a pas classé *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* comme auxiliaires technologiques, mais plutôt comme additifs zootechniques ou technologiques, rendant son utilisation possible chez les veaux (AFSSA 2008).

L'Institut de l'Elevage (Idele) a donc lancé un projet de recherche appelé ConEHEction dont la première partie a pour but de déterminer si la distribution de lait fermenté avec *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus*

thermophilus, les deux bactéries du yaourt, permet de réduire l'excrétion des *E. coli* O26:H11 des jeunes bovins, en changeant les populations du microbiome intestinal de ceux-ci.

D'autres objectifs s'inscrivent dans le projet ConEHEction. Une première thèse vétérinaire a été publiée en 2023 dans le cadre de ce projet, ayant notamment pour objet la caractérisation de l'excrétion des *E. coli* O26:H11, les facteurs de variations de celle-ci, ainsi que la comparaison des méthodes de prélèvements utilisées (Ramette 2023). Un autre objectif du projet, qui donnera lieu à de futures publications, est l'identification de nouveaux biomarqueurs microbiens de portage et d'excrétion des STEC chez les veaux, ainsi que d'éventuelles communautés microbiennes ayant un effet inhibiteur sur la colonisation du tube digestif par les STEC.

Cette thèse se concentre sur l'étude de l'effet du lait fermenté avec *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sur l'excrétion des *E. coli* O26:H11 chez les veaux de la naissance au sevrage.

II. Matériel et méthodes

1. Groupe d'études

a. Choix des fermes

Les fermes dans lesquelles l'étude a été menée ont été sélectionnées selon plusieurs critères. Les critères d'inclusion étaient :

- Une détection avec isolement de souche d'*E. coli* O26:H11 dans le lait ou le filtre à lait de ces fermes au cours de l'année 2022, et si possible aussi les années précédentes.
- L'appartenance à la filière AOP lait cru qui concerne la zone géographique de l'étude.
- Un nombre important de vêlages au cours de la période de l'étude (soit entre avril et octobre) afin que tous les veaux grandissent approximativement à la même saison et éviter un l'effet saisonnier de l'excrétion des STEC.
- La possibilité pour l'élevage de séparer les veaux en deux lots n'ayant aucun contact l'un avec l'autre.

- Une alimentation similaire des veaux (colostrum les premiers jours de vie, puis pendant quelques jours lait en poudre et/ou lait de la mère et/ou lait de mélange des mères, puis lait en poudre).

Quatre fermes volontaires pour participer à l'étude ont alors été sélectionnées selon ces critères, nommées ferme 3, ferme 4, ferme 6 et ferme 7.

b. Choix des veaux

Au sein de chaque ferme, 14 veaux ont été sélectionnés. Les critères d'inclusion étaient :

- Le veau est une femelle, car ce sont des femelles qui sont conservées dans les élevages laitiers dans le but de devenir des vaches laitières.
- Il n'est pas né par césarienne, afin d'éviter des éventuelles différences de microbiotes dues à la voie d'accouchement.
- Les veaux présentent une homogénéité de race.

Parmi les 14 veaux de chaque ferme, sept faisaient partie du lot témoin (ne recevant pas de yaourt) et sept faisaient partie du lot expérimental (recevant du yaourt). Afin de constituer ces deux lots aléatoirement, avant leur naissance, les veaux étaient répartis en « binômes » selon leur ordre de naissance ; le premier né était en binôme avec le second, le troisième avec le quatrième, etc. Au sein de chaque binôme, de manière aléatoire (par tirage au sort), le premier veau était attribué soit au lot témoin, soit au lot expérimental. Le deuxième veau du binôme était automatiquement assigné à l'autre lot.

2. Protocole expérimental

a. Mise en place de l'expérience

A la naissance, les veaux étaient placés dans des cases individuelles, sans possibilité de contact avec d'autres veaux. Cette absence de contact était assurée soit par un éloignement des cases entre elles, soit par la présence d'une barrière physique (en bois ou en plastique), sans trou entre les cases.

Puis, à l'âge de l'allotement, les veaux étaient regroupés en fonction de leur appartenance au lot témoin ou au lot expérimental. Parfois, des veaux du lot témoin étaient allotés avec des veaux ne faisant pas partie de l'étude pour des raisons de

place et de praticité pour l'éleveur. Cependant, aucun contact n'était possible entre des veaux recevant du yaourt et des veaux n'en recevant pas.

Pour des raisons de praticité pour les éleveurs, leurs pratiques d'élevage respectives ont été conservées, même concernant les veaux de l'étude. Ainsi, entre les différentes fermes et même entre les différents veaux d'une même ferme, l'âge de l'allotement pouvait varier.

b. Distribution des probiotiques

Les probiotiques se trouvaient sous la forme de lait fermenté avec *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ce yaourt était conditionné dans des pots de yaourt de 150 grammes, contenant chacun plus de 10^9 UFC de chaque bactérie. Ces yaourts étaient distribués aux éleveurs chaque semaine et conservés au réfrigérateur au sein de chaque ferme.

Au sein de chaque ferme, les veaux recevaient le plan d'alimentation habituel de la ferme : colostrum les premiers jours de vie, puis pendant quelques jours lait en poudre et/ou lait de la mère et/ou lait de mélange des mères, puis lait en poudre.

En plus de cette alimentation, dans le lot expérimental, chaque veau recevait un yaourt par jour depuis le jour de sa naissance jusqu'au sevrage, mélangé au lait donné le matin.

Le matériel de distribution du lait était différent pour les veaux du lot témoin et les veaux du lot expérimental. Aucun partage du matériel entre les deux lots n'était effectué. Le matériel de distribution de l'alimentation était nettoyé à l'eau chaude après chaque repas, soit matin et soir, et avec du produit nettoyant régulièrement (mais pas systématiquement).

c. Prélèvements des échantillons

(1) Méthodes de prélèvement

Lors d'un prélèvement, deux échantillons étaient prélevés sur chaque veau : un échantillon de fèces et un écouvillon de la jonction recto-anale.

La personne prélevant les échantillons était vêtue d'une combinaison jetable et de sur-chaussures en plastique jetables. Cet équipement était changé au sein d'une même ferme entre les manipulations faites sur le lot témoin et les manipulations faites sur le lot expérimental. Cet équipement était également changé entre chaque ferme.

Des gants jetables en nitrile étaient utilisés pour réaliser chaque prélèvement et changés entre chaque veau.

Les prélèvements étaient toujours réalisés en premier chez le lot témoin, puis chez le lot expérimental, afin de s'assurer de ne pas contaminer le lot témoin avec des probiotiques.

Les échantillons de fèces étaient obtenus par stimulation rectale à l'aide d'un écouvillon stérile. La matière fécale était récupérée dans un pot en plastique propre (en quantité minimale de 10 grammes). Un écouvillon de la jonction recto-anale était ensuite effectué. L'écouvillon était inséré dans l'anus du veau sur deux à cinq centimètres, et deux allers-retours étaient réalisés dans chaque cadran sur la paroi du rectum. Tous les échantillons (matières fécales et écouvillons) étaient ensuite gardés sous couvert de froid dans une glacière le temps du transport jusqu'au laboratoire.

Pour des raisons budgétaires, il a été décidé au cours de l'expérimentation de ne pas réaliser les écouvillons sur certains veaux (désignés par tirage au sort).

(2) Fréquence des prélèvements

Chaque veau était prélevé quatre fois :

- Prélèvement 0 (P0) : dans les sept jours suivants sa naissance.
- Prélèvement 1 (P1) : entre ses 21 et 30 jours.
- Prélèvement 2 (P2) : à ses huit semaines.
- Prélèvement 3 (P3) : entre sept et 14 jours après le sevrage.

P0, P1 et P2 étaient des prélèvements à âge fixe. En revanche, l'âge auquel était réalisé P3 différait entre les veaux car l'âge du sevrage dépendait des pratiques d'élevage de chaque ferme.

d. Méthode d'analyse

La méthode utilisée était basée sur la spécification technique européenne ISO 13 136. Elle reposait sur deux étapes : l'analyse de première intention et l'analyse de confirmation.

(1) Analyse de première intention

Lors de l'analyse de première intention, les gènes *stx* et *eae*, ainsi que les gènes spécifiques des sept sérogroupes O157, O26, O45, O121, O145, O103 et O111 étaient recherchés par PCR dans les échantillons

Plus précisément, pour les matières fécales, lors de l'arrivée des échantillons au laboratoire, une prise d'essai de 10 grammes était effectuée après mélange dans le pot. Ces 10 grammes étaient ensuite dilués dans 90mL de tryptone soja modifié additionné de novobiocine à 16 mg/L. Pour les écouvillons, la tige était coupée à l'aide de ciseaux stériles afin de ne conserver que la partie ouatée de l'écouvillon. Cette partie ouatée était à son tour diluée dans 100mL du même mélange. Le milieu d'enrichissement était ensuite incubé pendant 16 heures à 37°C. Cette méthode d'enrichissement est celle utilisée pour les échantillons de fèces par Bibbal *et al.* dans leur étude de 2015 (Bibbal *et al.* 2015).

Ensuite, un millilitre du bouillon d'enrichissement était prélevé puis centrifugé une première fois pendant cinq minutes à 500g dans le but d'éliminer les débris accumulés dans le culot. Le surnageant était alors à nouveau centrifugé pendant cinq minutes à 10 000g. Le surnageant obtenu était jeté et le culot, dans lequel se trouvent les bactéries, était lavé avec un millilitre de solution saline tamponnée au phosphate. Ces étapes de centrifugation et de lavage étaient répétées une nouvelle fois.

L'extraction de l'ADN bactérien était ensuite réalisée à l'aide du kit « Food Extraction Pack 01 » (commercialisé par Pall Corporation), un kit visant initialement à extraire l'ADN de matrices alimentaires. Pour cela, 500µL de la solution préalablement obtenue étaient transférés dans un tube de lyse. Le liquide était alors centrifugé pendant cinq minutes à 10 000g et le surnageant était éliminé, puis 200µL de solution tampon de dilution étaient ajoutés. Le mélange était brièvement remué au vortex et laissé à incuber pendant 10 minutes à 100°C pour lyser les bactéries. A l'issue de ces 10 minutes, une dernière centrifugation de cinq minutes à 10 000g était réalisée et le surnageant contenant l'ADN bactérien était prélevé. L'ADN ainsi obtenu était analysé par PCR avec deux disques : un premier disque pour (« GeneDisc® Technologies » de Pall Corporation) pour les gènes *stx1*, *stx2* et *eae*, et un second pour le gène spécifique du sérotype O26.

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

(2) Analyse de confirmation

L'analyse de confirmation avait lieu à partir de bouillons d'enrichissements positifs (gènes *eae*, *stx* et au moins un marqueur sérogroupal) lors de l'analyse de première intention. Ce bouillon d'enrichissement était tout d'abord centrifugé pendant cinq minutes à 500g afin d'éliminer les particules les plus lourdes. Ensuite, une immuno-séparation magnétique était réalisée à l'aide de billes magnétiques recouvertes d'anticorps anti-O26. Les colonies étaient par la suite isolées sur deux milieux de confirmation distincts : la gélose Tryptone-Bile-Glucuronate et le milieu de Bjorn Possé. Dix colonies distinctes étaient isolées dans ces deux milieux, et chacune d'entre elles était remise en suspension dans une solution aqueuse stérile, portée ensuite à ébullition pendant cinq minutes pour 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 *stx1*, *stx2*, *eae*, ainsi que ceux codant pour les antigènes somatiques O26 et flagellaires H11 étaient recherchés, également par PCR, sur chacun de ces extraits d'ADN.

Un échantillon était considéré positif à la confirmation STEC O26:H11 dès lors qu'une souche de *E. coli* était isolée, et que celle-ci possédait les gènes codant pour les marqueurs O26 et H11, ainsi que les gènes *eae* et l'un ou les deux gènes *stx*.

Un échantillon était considéré positif à la confirmation AEEC O26:H11 lorsqu'une souche de *E. coli* était isolée, et que celle-ci possédait les gènes codant pour les marqueurs O26 et H11, ainsi que les gènes *eae*, mais aucun des deux gènes *stx*.

e. Analyse statistique

L'élaboration du modèle et les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel R (v. 4.3.3 ; R. Core Team 2021) par Alisson Baron, du service DATA'STAT de l'Idede.

(1) Choix du type de modèle

Le but de cette étude est d'observer l'effet de l'ingestion de yaourt sur l'excrétion des *E. coli* O26:H11 chez des veaux. La variable d'intérêt est donc la présence d'*E. coli* O26:H11, appelée « O26 ». Cette variable est binaire, représentée par OUI lorsque *E. coli* O26:H11 (STEC O26:H11 ou AEEC O26:H11) était isolée dans un prélèvement, et par NON sinon. La modalité de référence est NON.

Il a été choisi de prendre en compte à la fois les STEC O26:H11 et les AEEC O26:H11 afin d'avoir un plus grand nombre de données et de pouvoir inclure la ferme 4 dans l'analyse des résultats, celle-ci n'ayant présenté que des AEEC O26:H11 dans ses prélèvements. Il est supposé que le comportement des AEEC face aux probiotiques est le même que celui des STEC.

D'autre part, quatre variables qualitatives pouvant avoir un effet sur la variable d'intérêt sont retenues :

- LOT : témoin ou yaourt
- FERME : ferme 3, ferme 4, ferme 6 ou ferme 7
- PRELEVEMENT : P0, P1, P2 ou P3
- SAISON : printemps, été ou automne

Etant donné la binarité de la variable d'intérêt et la présence de plusieurs autres variables susceptibles d'influencer cette variable d'intérêt, le modèle statistique choisi est le modèle de régression logistique. De plus, puisque les prélèvements étaient répétés plusieurs fois sur les mêmes veaux, les données ne sont pas indépendantes. Le modèle appliqué est donc un modèle de régression logistique à mesures répétées.

(2) Sélection des données à analyser

Au total, 56 veaux répartis dans quatre fermes (soit 14 veaux par ferme) étaient étudiés. Un veau est mort à l'âge de 11 semaines (faisant partie du lot yaourt de la ferme 6), le P3 n'a donc pas pu être réalisé sur lui.

Un prélèvement était constitué soit uniquement d'un prélèvement de fèces, soit d'un prélèvement de fèces associé à un écouvillon de la jonction recto-anale. Un prélèvement était considéré positif si une souche de STEC O26:H11 ou d'AEEC O26:H11 était isolée et confirmée sur la matière fécale et/ou sur l'écouvillon. Si aucune souche de STEC O26:H11 ou d'AEEC O26:H11 n'était isolée sur les fèces ou sur l'écouvillon, le prélèvement était considéré négatif.

Afin de réaliser une analyse statistique correcte, il est nécessaire que l'unité expérimentale soit la même pour l'ensemble des données collectées (c'est-à-dire pour l'ensemble des prélèvements).

- Lors du prélèvement P0, les veaux se trouvaient tous en niches individuelles. L'unité expérimentale est donc l'individu.

- Lors des prélèvements P2 et P3, tous les veaux étaient logés en cases collectives. Puisque la contamination par *E. coli* O26:H11 est oro-fécale et que les veaux partageaient les tétines, les abreuvoirs et plus généralement leur environnement, les animaux ne peuvent alors plus être considérés comme indépendants les uns des autres. Autrement dit, la probabilité pour un veau d'être porteur d'*E. coli* O26:H11 n'est pas la même s'il est dans une case où des congénères sont déjà porteurs, ou s'il est dans une case où aucun n'est porteur. L'unité expérimentale ne peut donc plus être l'animal, elle doit être la case.
- Lors du prélèvement P1, certains veaux étaient en niches individuelles alors que d'autres se trouvaient déjà en cases collectives. Avoir une unité expérimentale unique à ce moment-là est donc impossible.

Ainsi, pour assurer une unité expérimentale unique, seules les données de P2 et P3 sont incluses dans le modèle de régression logistique. Les données de P0 et P1 sont incluses dans l'analyse statistique descriptive et peuvent éventuellement montrer une tendance, mais elles ne peuvent pas être interprétées rigoureusement.

(3) Elaboration du modèle de régression logistique

Pour rappel, la variable d'intérêt est la présence d'*E. coli* O26:H11, et les quatre autres variables retenues dans le modèle sont le lot, la ferme, le prélèvement et la saison.

Les experts métiers consultés au cours de l'étude ConEHEction ont émis l'hypothèse que la saison n'aurait pas d'impact significatif sur les résultats. Une sélection de modèles avec le critère d'Akaike (Akaike Information Criterion = AIC), un critère mesurant la qualité des modèles, a permis de confirmer cette hypothèse en montrant que la variable SAISON n'a pas d'influence significative sur la variable d'intérêt. Cette variable n'est donc pas conservée dans le modèle.

Les variables conservées sont alors celles inhérentes au protocole, comme le veut la pratique de l'expérimentation : LOT, FERME et PRELEVEMENT.

Comme expliqué dans la partie précédente, seules les données récoltées à P2 et P3 sont analysées dans le modèle, avec comme unité expérimentale la case.

Le modèle obtenu est « O26 ~ 1 + LOT + FERME + PRELEVEMENT + LOT:FERME + FERME:PRELEVEMENT + LOT:PRELEVEMENT + (1 | CASE/ID_VEAU) ». Avec ce modèle, les résultats rapportent des interactions non significatives pour LOT:FERME et FERME:PRELEVEMENT, avec respectivement p-value = 0,89 et p-value = 0,72. En revanche, l'interaction LOT:PRELEVEMENT a une p-value de 0,064, donc proche du seuil de 0,05. En retirant du modèle les deux interactions clairement non significatives, la p-value de LOT:PRELEVEMENT passe à 0,056.

De plus, les deux modèles (celui avec les interactions LOT:FERME et FERME:PRELEVEMENT et celui sans) ont été comparés avec le test de rapport de vraisemblance. Ce test compare la qualité de l'ajustement entre les deux modèles en évaluant si les interactions supplémentaires du modèle le plus complexe améliorent significativement l'ajustement du modèle aux données observées. Ici, le modèle avec les interactions n'est pas significativement meilleur que le modèle sans (p-value = 0,24), et l'AIC est plus élevé pour le modèle avec les interactions.

Les interactions LOT :FERME et FERME :PRELEVEMENT ne sont donc pas conservés dans le modèle final, afin de gagner en puissance et de ne pas consommer de degré de liberté inutilement.

Le modèle final est donc : « O26 ~ 1 + LOT + FERME + PRELEVEMENT + LOT:PRELEVEMENT + (1 | CASE/ID_VEAU) ».

Pour les trois variables de ce modèle, les modalités possibles sont les suivantes :

- Pour LOT : témoin (TEM) ou yaourt (YAOURT)
- Pour FERME : ferme 3, ferme 4, ferme 6 ou ferme 7
- Pour PRELEVEMENT : P2 ou P3

Pour chaque variable, une modalité de référence est choisie, à partir de laquelle les coefficients du modèle sont calculés. Pour LOT, la modalité de référence est le lot témoin. Pour FERME, la modalité de référence est la ferme 6. Pour PRELEVEMENT, la modalité de référence est P2.

(4) Validation du modèle

Tout d'abord, il est nécessaire dans une régression de s'assurer de l'absence de multicolinéarité. La multicolinéarité survient lorsque plusieurs variables du modèle mesurent le même phénomène. Les coefficients individuels associés à chaque variable ne peuvent alors pas être interprétés de façon fiable. La vérification de l'absence de colinéarité passe par le calcul des facteurs d'inflation de variance (VIF). Ici, ils sont tous inférieurs à cinq, donc le modèle ne présente pas de problème de multicolinéarité.

Trois tests statistiques sont ensuite réalisés dans le but de valider le modèle. Le test de Kolmogorov-Smirnov, qui vérifie si la distribution des données de l'étude suit la distribution théorique, a un résultat non significatif ($p = 0,60$). Le test de dispersion, qui vérifie s'il y a sous-dispersion ou sur-dispersion des données de l'étude, a lui aussi un résultat non significatif ($p = 0,88$). Enfin, le test des valeurs extrêmes, qui vérifie s'il y a des excès de valeurs extrêmes par rapport à ce qui est attendu, a également un résultat non significatif ($p = 1$). Aucune anomalie n'est donc à signaler dans le modèle.

(5) Interprétation des éléments statistiques du modèle

Les éléments statistiques d'intérêt dans un modèle de régression logistique sont l'Odds Ratio (OR) et la p-value (aussi appelée p-valeur).

L'OR évalue l'association entre deux variables. L'interprétation de sa valeur est réalisée comme indiqué dans le tableau II.

Tableau II : Interprétation de l'odds ratio

Valeur de l'Odds Ratio	Interprétation
OR = 1	L'évènement (ici la présence de O26) est aussi fréquent dans les deux groupes.
OR > 1	L'évènement (ici la présence de O26) est plus fréquent dans le groupe étudié que dans le groupe de référence.
OR < 1	L'évènement (ici la présence de O26) est moins fréquent dans le groupe étudié que dans le groupe de référence.

La p-value évalue la significativité d'une différence observée entre deux groupes. Lorsqu'elle est inférieure à 0,05, la différence est considérée comme significative au seuil de 5%. La q-value (ou q-valeur) correspond à la p-value corrigée

avec une correction de type False Discovery Rate (FDR). La correction FDR permet de diminuer la proportion de faux positifs, c'est-à-dire, la proportion d'associations notées positives avec p-value < 0,05 alors qu'elles ne le sont pas. En augmentant la valeur de la q-value en fonction du nombre total de p-value et du taux de p-values non significatives, la correction de type FDR permet d'inclure un grand nombre de caractère potentiellement intéressants tout en évitant les faux positifs.

III. Résultats

1. Résultats du modèle de régression logistique

Le tableau III présente les résultats du modèle statistique. Les colonnes GVIF et Adjusted GVIF de la figure 4 permettent seulement de montrer qu'il n'y a pas de multicolinéarité car toutes les valeurs sont inférieures à cinq.

Tableau III : Résultats du modèle de régression logistique

Caractéristique	OR ¹	p-valeur	GVIF ¹	Adjusted GVIF ^{2,1}	q-valeur ³
(Intercept)	2,74	0,081			0,14
LOT		0,6	1,7	1,3	0,6
TEM	—				
YAOURT	0,70	0,6			0,6
FERME		0,011	1,1	1,0	0,042
6	—				
7	3,00	0,092			0,14
3	0,53	0,3			0,4
4	0,36	0,11			0,15
PRELEVEMENT		<0,001	2,7	1,6	<0,001
2	—				
3	0,06	<0,001			<0,001
LOT * PRELEVEMENT		0,056	3,4	1,9	0,12
YAOURT * 3	5,95	0,056			0,12

¹ OR = rapport de cotes, GVIF = Generalized Variance Inflation Factor
² $GVIF^{1/(2*df)}$
³ Correction du risque global d'erreur pour tests multiples

2. Effet global du yaourt sur l'excrétion d'*E. coli* O26:H11

a. Statistiques descriptives sur l'ensemble des prélèvements

Il y a, en rassemblant les P0, P1, P2 et P3 sur l'ensemble des fermes, 112 prélèvements pour le lot témoin (noté TEM) et 111 prélèvements pour le lot expérimental, aussi appelé lot yaourt (noté YAOURT). Sur les 112 prélèvements du lot témoin, 80 prélèvements étaient négatifs pour *E. coli* O26:H11 et 32 étaient positifs. Sur les 111 prélèvements du lot yaourt, 72 prélèvements étaient négatifs pour *E. coli* O26:H11 et 39 étaient positifs. Cela correspond à 29 % de prélèvements positifs dans le lot témoin et 35 % dans le lot yaourt. Ces résultats sont représentés dans la figure 4.



Figure 4 : Pourcentage de présence d'*E. coli* O26:H11 en fonction du lot

b. Statistiques inférentielles sur P2 et P3

Pour la variable LOT, qui représente la distribution ou non de yaourt, l'OR est de 0,70, ce qui suggère que la prise de yaourt diminue l'excrétion d'*E. coli* O26:H11 par rapport à la non prise de yaourt dans les conditions de référence (à savoir pour le prélèvement 2 dans la ferme 6). Toutefois, la q-value de 0,6 indique que cet effet n'est pas significatif (tableau III).

Le P2 de la ferme 6 est la seule situation dans laquelle la proportion d'animaux positifs à *E. coli* O26:H11 est inférieure dans le lot yaourt par rapport au lot témoin. Pour toutes les autres situations, la proportion d'*E. coli* O26:H11 est proche entre le lot yaourt et dans le lot témoin (annexe 1). Cela illustre l'importance du choix des modalités de référence dans la conception du modèle statistique, puisque ce choix a

un impact direct sur les résultats et donc les interprétations. Néanmoins, les résultats restent cohérents avec les statistiques descriptives.

3. Effet du moment de prélèvement au cours de l'étude

a. Effet du moment de prélèvement sur l'excrétion globale d'*E. coli* O26:H11

Le taux de présence d'*E. coli* O26:H11 n'est pas le même selon la période de prélèvement. A P0, seulement 4 % des animaux étaient testés positifs à *E. coli* O26:H11. A P1, le taux d'animaux positifs s'élève à 36 %. Le maximum d'animaux testés positifs est atteint à P2 avec un taux de positifs à 64 %. A P3, ce taux diminue à nouveau et atteint 25 % (figure 5).

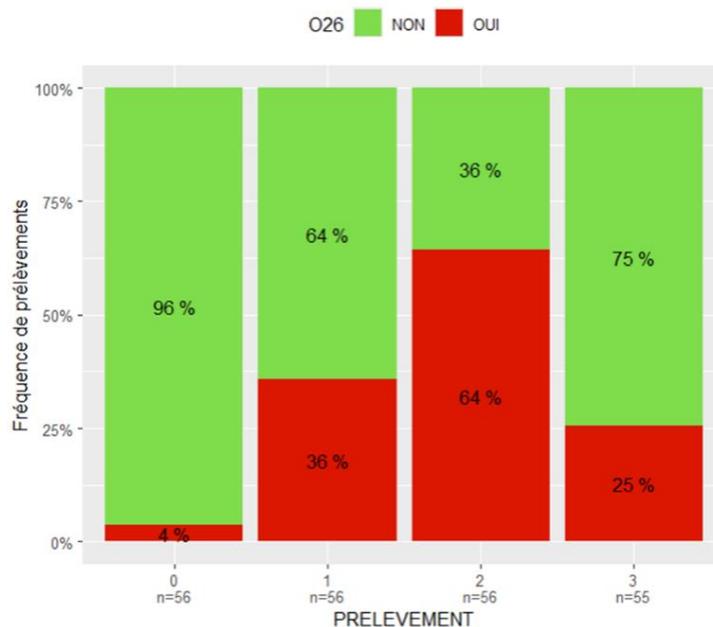


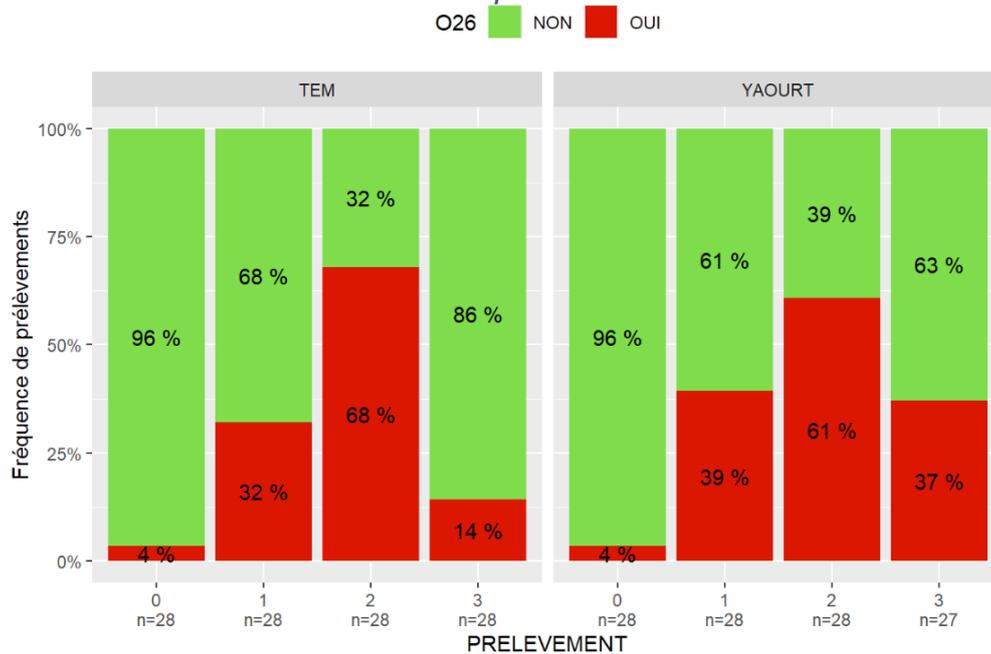
Figure 5 : Pourcentage de présence d'*E. coli* O26:H11 en fonction du prélèvement

Dans le modèle statistique, qui inclut uniquement les données de P2 et P3, la q-value est inférieure à 0,001 pour la variable PRELEVEMENT. Cela indique que la période de prélèvement a un effet significatif sur la présence d'*E. coli* O26:H11. L'OR égal à 0,06 indique que le fait d'être en P3 diminue la probabilité de retrouver des *E. coli* O26:H11 par rapport au fait d'être en P2 (tableau III).

b. Effet du yaourt sur l'excrétion d'*E. coli* O26:H11 selon le moment de prélèvement

Entre les lots témoin et yaourt, il n'y a aucune différence à P0 : les deux lots ont un taux de veaux positifs de 4 %. Toutefois, pour P1, il y a une augmentation de la présence d'*E. coli* O26:H11 de 7 % chez le lot yaourt par rapport au lot témoin. Pour P2, il s'agit d'une diminution de 7 %. La différence la plus importante est pour P3, avec une augmentation de 23 % du lot yaourt par rapport au lot témoin (figure 6).

Figure 6 : Pourcentage de présence d'*E. coli* O26:H11 dans les lots témoin et yaourt en fonction du prélèvement



L'interaction LOT*PRELEVEMENT explorée dans le modèle permet de comparer l'effet du yaourt à P2 avec l'effet du yaourt à P3. Elle est représentée dans la figure 7.

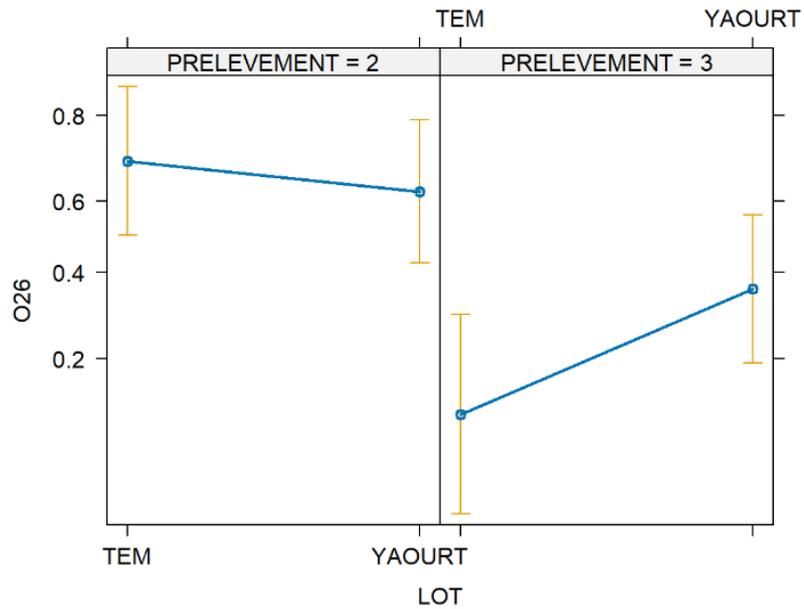


Figure 7 : Représentation graphique de l'interaction LOT*PRELEVEMENT

La figure 7 permet de constater que la probabilité de présenter des *E. coli* O26:H11 a tendance à légèrement diminuer pour le lot yaourt en P2 alors qu'elle a tendance à augmenter pour le lot yaourt en P3. Toutefois, aucune différence observée n'est significative au seuil de 5 % (q-value = 0,12).

4. Effet de la ferme au cours de l'étude

a. Effet de la ferme sur l'excrétion globale d'*E. coli* O26:H11

Chaque ferme a un taux de présence d'*E. coli* O26:H11 différents. La figure 8 montre que le taux le plus élevé d'*E. coli* O26:H11 est retrouvé dans la ferme 6, avec un taux de présence de 44 %. A l'inverse, la ferme 4 est celle avec le taux de présence le plus faible, soit 16 %.

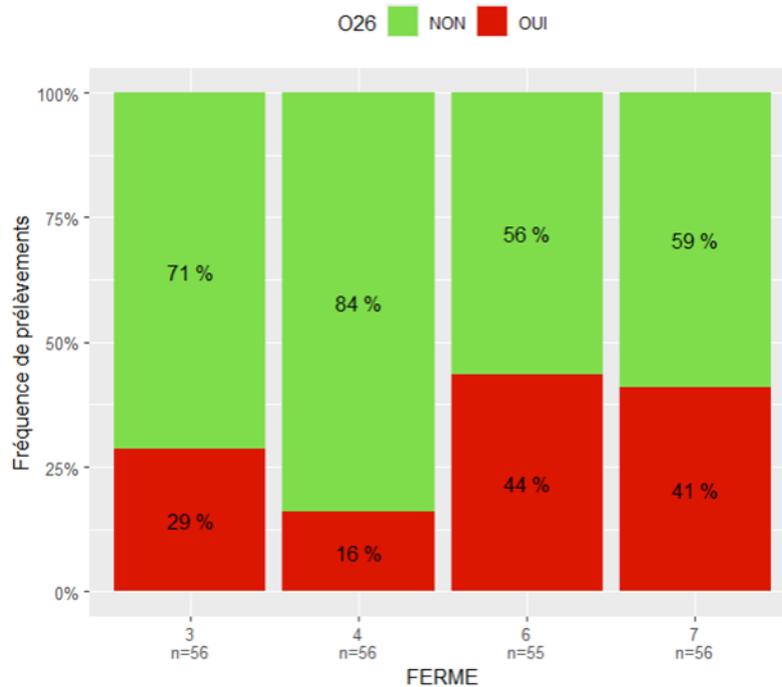


Figure 8 : Pourcentage de présence d'*E. coli* O26:H11 en fonction de la ferme

Le modèle statistique indique que la variable FERME a un effet significatif sur la présence d'*E. coli* O26:H11, même si cet effet est faible (q-value = 0,042). Cependant, les différentes q-values propres à chaque ferme, déterminées par rapport à la ferme 6, sont toutes supérieures à 0,05 (tableau III). Ainsi, selon le modèle, aucune ferme en particulier n'a d'effet par rapport à la ferme 6.

b. Effet du yaourt sur l'excrétion d'E. coli O26:H11 selon les fermes

Les fermes ont toutes des taux de présence d'E. coli O26:H11 différents. Cependant, il existe une tendance commune : les quatre fermes présentent un taux plus important de veaux positifs dans le lot yaourt que dans le lot témoin. Les différences sont de 7, 4, 1 et 10 % respectivement pour les fermes 3, 4, 6 et 7 (figure 9).

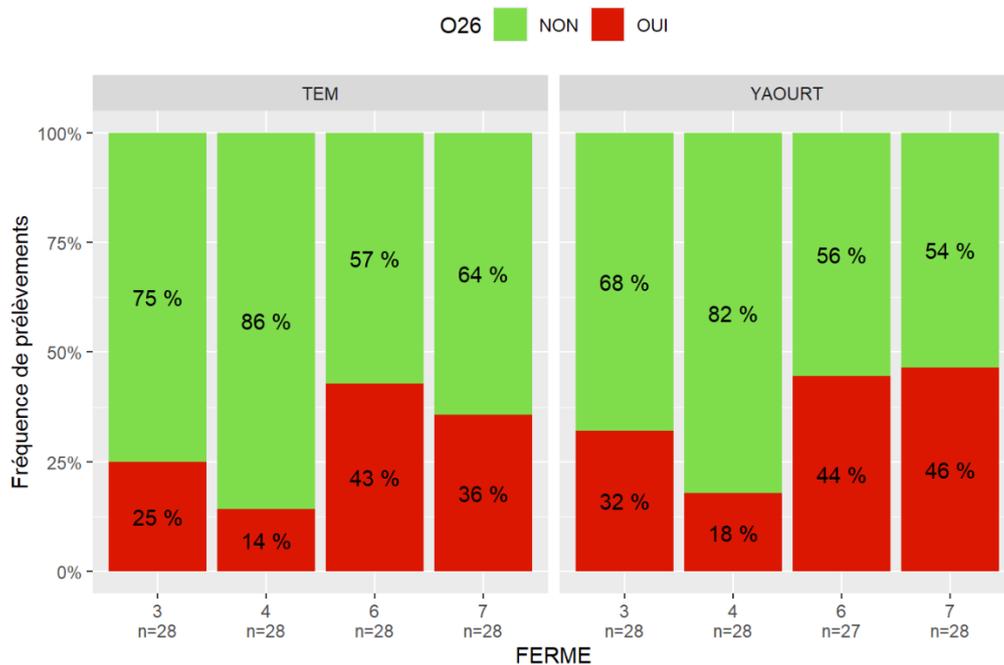


Figure 9 : Pourcentage de présence d'E. coli O26:H11 dans les lots témoin et yaourt en fonction de la ferme

L'interaction LOT:FERME n'ayant pas été conservée dans le modèle, seules les statistiques descriptives sont étudiées.

IV. Discussion

Le travail effectué avait pour but d'étudier l'effet de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, distribués quotidiennement en tant que probiotiques sous la forme de yaourts, sur l'excrétion d'*E. coli* O26:H11 chez des jeunes veaux. L'expérience a été menée sur 56 veaux appartenant à quatre fermes, et chaque veau a été prélevé quatre fois entre sa naissance et son sevrage.

1. Effet global du yaourt

Les données obtenues montrent que lorsque tous les prélèvements (de P0 à P3) sont pris en compte, le lot yaourt présente 6 % de prélèvements positifs de plus par rapport au lot témoin. Selon ce résultat, le yaourt aurait tendance à induire une légère augmentation de l'excrétion d'*E. coli* O26:H11. Dans tous les cas, le yaourt ne provoque pas de réduction de celle-ci. Le modèle statistique, qui prend en compte uniquement P2 et P3, confirme que le yaourt ne permet pas de diminuer l'excrétion des *E. coli* O26:H11 (q-value = 0,6).

Il existe des études portant sur l'effet des probiotiques sur l'excrétion des STEC qui ont montré une absence d'efficacité significative de ces probiotiques (Arthur *et al.* 2010 ; Stephens *et al.* 2010). Cependant, ces études ont tout de même révélé une tendance de diminution des STEC avec les probiotiques ; aucune étude n'a mentionné de tendance d'augmentation de l'excrétion des STEC lors de la distribution de probiotiques.

La nature des bactéries utilisées comme probiotiques ainsi que la nature de la souche d'*E. coli* cible jouent bien entendu un rôle dans l'efficacité des probiotiques, mais il est difficile de savoir quels autres facteurs entrent en jeu. Parfois, plusieurs expériences portant sur les mêmes probiotiques ont des résultats différents sur les mêmes souches cibles (Folmer *et al.* 2003 ; Peterson *et al.* 2005). D'autres travaux ont montré qu'un même probiotique peut également avoir une efficacité variable selon la souche cible (Tkalcic *et al.* 2003). Dans le cas des STEC, le sérotype peut être à l'origine des différences d'efficacité, avec notamment des différences observées entre *E. coli* O157:H7 et *E. coli* O26:H11 (Zhao *et al.* 2003). Ainsi, dans notre étude, des résultats différents auraient peut-être été obtenus si d'autres bactéries avaient été utilisés contre *E. coli* O26:H11, ou encore si la souche cible avait été *E. coli* O157:H7 par exemple. La revue bibliographique de Wisener *et al.*, qui regroupe des études

ayant montré une efficacité des probiotiques et d'autres non, évoque la présence de « super-excréteurs » ou encore le régime alimentaire comme pistes à explorer pour obtenir d'éventuelles réponses (Wisener *et al.* 2015). En effet, les animaux « super-excréteurs », dont la présence a déjà été rapportée dans des élevages où *E. coli* O26:H11 circulait (McCabe *et al.* 2019), excrètent une grande quantité de bactéries dans l'environnement. La pression de contamination augmente pour les autres animaux partageant leur logement, résultant en une hausse du taux d'animaux positifs (Matthews *et al.* 2006 ; Kempf *et al.* 2022). L'origine et les facteurs déterminants des « super-excréteurs » sont encore méconnus ; il est ainsi possible que le lot yaourt ait comporté des animaux « super-excréteurs » et le lot témoin non, expliquant la différence observée entre les deux lots.

Il est aussi important de se rappeler que les études déjà existantes au sujet de l'utilisation des probiotiques pour réduire les STEC concernent pour la grande majorité les bovins adultes, ou du moins sevrés. Le microbiote d'un bovin adulte est très différent de celui d'un veau, qui est en cours de développement lors de ses premières semaines de vie (Uyeno *et al.* 2010). Cette différence pourrait être une piste à explorer pour obtenir une explication à la tendance d'augmentation des *E. coli* O26:H11 avec l'administration de yaourt observée dans notre étude. L'un des objectifs du projet ConEHEction était justement d'étudier les éventuels changements du microbiote provoqués par l'administration de yaourt en étudiant les populations présentes dans les matières fécales récoltées. L'hypothèse était qu'en distribuant des bactéries lactiques, celles-ci entraîneraient un changement du microbiote, comme cela avait déjà été décrit pour d'autres probiotiques sur d'autres pathogènes (Signorini *et al.* 2012). L'analyse des microbiotes permettra éventuellement de découvrir des différences entre les microbiotes des veaux ayant reçu du yaourt et ceux des veaux témoins, et de déterminer si les bactéries choisies dans notre étude persistaient ou non dans les intestins des veaux.

Un autre point à souligner est que les analyses ne permettaient pas de connaître la quantité d'*E. coli* O26:H11 dans les prélèvements. Elles permettaient seulement de savoir si les veaux excrétaient ou non des *E. coli* O26 :H11, que la quantité excrétée soit faible ou importante. Il aurait été intéressant de réaliser des dénombrements sur les prélèvements de fèces et les écouvillons, car peut-être que même si les veaux

recevant du yaourt étaient positifs, ils excrétaient une moins grande quantité d'*E. coli* O26:H11 que les veaux témoins.

2. Effet du moment de prélèvement au cours de l'étude

Le modèle statistique nous permet de constater que les veaux excrètent significativement moins après le sevrage qu'à l'âge de deux mois (q-value < 0,001). La plupart des études déjà menées sur l'excrétion des STEC chez les veaux rapportent une augmentation de l'excrétion des STEC au moment du sevrage (Zhao *et al.* 1995 ; Cobbold et Desmarchelier 2000 ; Rugbjerg *et al.* 2003 ; Paiba *et al.* 2003). C'est pourquoi un résultat similaire à ces études était attendu ici. Il existe cependant certaines études qui n'ont rapporté aucune modification d'excrétion suite au sevrage (Conedera *et al.* 2001 ; Edrington *et al.* 2011). Ces résultats variables d'une expérimentation à une autre peuvent s'expliquer par les différentes pratiques de sevrage, notamment la gestion de la transition alimentaire, le nouveau régime alimentaire et le moment de passage en logement collectif (Garber *et al.* 1995).

Il est important de souligner que pour des raisons budgétaires, il a été décidé au cours de l'expérimentation de ne pas réaliser les écouvillons sur certains veaux (désignés par tirage au sort). Ce sont en majorité des écouvillons au moment de P3 qui n'ont pas été effectués. Il n'existe pas de consensus scientifique sur quelle méthode de prélèvement est la plus fiable entre la collecte de fèces et l'écouvillon de la jonction recto-anale pour l'évaluation de l'excrétion des STEC. Dans certaines études, il est décrit que la détection de STEC est plus efficace sur les échantillons de matière fécale que sur les écouvillons de la jonction recto-anale, puisque la prévalence d'animaux positifs au sein d'un même groupe d'étude est significativement supérieure avec des prélèvements de matière fécale qu'avec des écouvillons (Reinstein *et al.* 2007 ; Niu *et al.* 2008). Dans d'autres travaux, les écouvillons représentent la méthode de prélèvement la plus sensible, la détection de STEC étant plus fréquente à l'aide des écouvillons qu'à l'aide de fèces (Rice *et al.* 2003 ; Greenquist *et al.* 2005 ; Agga *et al.* 2017). Il est donc difficile de savoir si la poursuite des écouvillons sur tous les veaux à P3 aurait donné un résultat différent, à savoir un taux d'*E. coli* O26:H11 supérieur à celui observé ici. Il est possible que quelques veaux positifs n'aient pas été détectés, mais il reste peu probable que cela explique la baisse significative du taux d'*E. coli* O26:H11 au moment de P3 par rapport à P2.

Une augmentation de l'excrétion d'*E. coli* O26:H11 au sevrage aurait pu être intéressante dans cette étude afin d'éventuellement observer un effet plus marqué du yaourt sur la maîtrise des *E. coli* O26:H11 à la période du sevrage.

Un autre résultat étonnant de cette étude est la différence d'excrétion entre les lots témoin et yaourt après le sevrage (soit en P3). Les lots témoin et yaourt ont présenté des différences de taux d'*E. coli* O26:H11 de moins de 10 % lors des périodes de prélèvements P0, P1 et P2. Cependant, à P3, la différence entre les deux lots est bien plus élevée : le taux d'*E. coli* O26:H11 dans le lot yaourt est supérieur de 23 % par rapport au lot témoin. Cette différence n'est toutefois pas statistiquement significative par rapport à la différence entre les deux lots observée à P2 (q-value = 0,12), on ne parle donc que de tendance. Il est peu probable que cette tendance soit liée directement à la distribution de yaourt, car aucun travail portant sur l'utilisation de probiotiques chez les bovins n'a rapporté d'augmentation (significative ou non) de l'excrétion des STEC au sevrage à cause des probiotiques. Il est également peu probable que cette différence soit liée à un stress (alimentaire ou non) subi par les veaux des lots yaourts, car les conditions d'élevage et les pratiques de sevrage étaient les mêmes pour les lots yaourts et témoins. Les animaux des lots yaourts n'ont pas non plus été mélangés avec d'autres animaux avant le dernier prélèvement (P3). Une hypothèse pouvant expliquer cette tendance d'augmentation des *E. coli* O26:H11 dans le lot yaourt au sevrage serait un apport extérieur de bactéries, par exemple par les éleveurs après avoir manipulé d'autres animaux porteurs. Il est aussi possible que les logements des veaux du lot yaourt étaient davantage souillés et humides (Ellis-Iversen *et al.* 2008). Enfin, on ne peut pas exclure l'hypothèse de la présence de « super-excréteurs » dans le lot yaourt. Des études ont rapporté que l'excrétion de STEC en grande quantité par les « super-excréteurs » est de courte durée (Munns *et al.* 2014 ; Williams *et al.* 2014). Il est donc possible qu'une courte période de forte excrétion ait eu lieu aux alentours du sevrage dans le lot yaourt, contaminant plusieurs veaux et expliquant le fort taux d'animaux excréteurs à ce moment-là. Plusieurs des situations proposées ci-dessus peuvent également avoir eu lieu conjointement, dans la même ferme ou dans des fermes différentes.

3. Effet de la ferme au cours de l'étude

Les résultats mettent en lumière un effet de la ferme sur l'excrétion d'*E. coli* O26:H11, bien que celui-ci soit faible. Les différences de taux de présence d'*E. coli* O26:H11 observées entre les fermes peuvent s'expliquer par de nombreux facteurs. Au sein d'une ferme, plusieurs éléments peuvent déterminer la présence, la contamination et l'excrétion de STEC. Parmi eux se trouvent la taille total du cheptel, le nombre de jeunes animaux ou encore l'achat de bétail provenant d'autres élevages (Henry *et al.* 2019). Les pratiques d'élevage différentes des quatre fermes de cette étude peuvent justifier ces différences. L'éventuelle présence de veaux « super-excréteurs » dans certaines fermes peut aussi être à l'origine des différences observées (Kempf *et al.* 2022). Une étude rapporte également une variation significative de l'excrétion des STEC selon les fermes. Elle évoque notamment le fait que de la monensine et des antihelminthiques aient été utilisés dans deux troupeaux, et que les animaux de ces troupeaux étaient ensuite 0,2 fois moins susceptibles d'excréter des STEC que les autres (Venegas-Vargas *et al.* 2016). Des investigations géographiques sont nécessaires afin d'identifier de potentiels des facteurs écologiques ou paysagers qui pourraient impacter la prévalence des STEC d'une ferme à l'autre (Venegas-Vargas *et al.* 2016).

Néanmoins, en ce qui concerne l'effet du yaourt dans les différents élevages, il existe une tendance commune parmi les quatre fermes : l'excrétion d'*E. coli* O26:H11 est légèrement plus élevée chez les veaux recevant du yaourt, bien que cette différence ne soit pas significative. Cette tendance indique que même si les fermes avaient chacune un taux de contamination en *E. coli* O26:H11 différent, la distribution de yaourt a eu le même effet dans chaque ferme. Aucune ferme n'a présenté de résultats paradoxaux par rapport à une autre.

Il faut aussi noter que les fermes ont été choisies selon certains critères, dont celui d'avoir un troupeau assez grand pour avoir assez de vêlages en une période assez limitée. Il n'est pas possible de savoir quels résultats auraient été obtenus dans des fermes plus grandes ou plus petites. Ne connaissant pas tous les mécanismes et facteurs de maîtrise des STEC par les probiotiques, il est possible que le yaourt aurait eu un effet au sein d'autres fermes.

CONCLUSION

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des bactéries présentes dans le tube digestif des bovins qui sont des porteurs asymptomatiques. Lorsque ces bactéries contaminent accidentellement des denrées alimentaires d'origine animale, comme la viande ou le lait, elles peuvent être à l'origine d'infections chez l'Homme, qui peuvent se compliquer chez l'enfant en Syndrome Hémolytique et Urémique, une maladie grave et parfois mortelle. Plusieurs cas et épidémies liés à la consommation de fromage au lait cru en France ont été recensés au cours de ces deux dernières décennies. La maîtrise du risque que représentent les STEC est donc un enjeu sanitaire auquel la filière du lait cru doit faire face.

Plusieurs moyens de maîtrise existent déjà, mais ils ne suffisent pas toujours face à ce phénomène multifactoriel. Parmi eux se trouvent les probiotiques, déjà utilisés dans les domaines de la nutrition et de la santé animale pour leurs divers bénéfices. Les recherches menées sur l'efficacité des probiotiques sur l'excrétion des STEC par les bovins ont montré un effet de certains d'entre eux pour diminuer l'excrétion fécale des STEC. Cependant, il est important de souligner que les recherches continuent afin de comprendre quels probiotiques ont une efficacité, sur quelles souches de STEC en particulier, et quelles sont les conditions dans lesquelles cette efficacité peut être observée.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'étude ConEHECtion menée par l'Idel, qui a notamment pour but d'étudier l'effet de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sur l'excrétion des *E. coli* O26:H11 chez les veaux laitiers en zone AOP de fromage au lait cru. L'étude a porté sur 56 veaux dans quatre fermes, séparés en deux lots. Les veaux du premier lot recevaient, sous forme de yaourts mélangés au lait, au moins 10^9 UFC de chacune des deux bactéries par veau et par jour, de la naissance jusqu'au sevrage. Les veaux du deuxième lot ne recevaient pas de yaourt. Chaque veau était prélevé (prélèvement de matière fécale et écouvillon de la jonction recto-anale) quatre fois au cours de l'étude : à sa naissance, à ses un mois, à ses deux mois et au sevrage. Une recherche de *E. coli* O26:H11 par PCR était ensuite réalisée sur les prélèvements ainsi qu'une analyse de confirmation. Aucune différence significative de l'excrétion de *E. coli* O26:H11 n'a été mise en évidence entre les deux lots (p -value = 0,6). Une baisse significative de l'excrétion des *E. coli*

O26:H11 est observée entre les deux mois et le sevrage (p value < 0,001), mais la distribution de yaourt n'a pas d'effet significativement différent entre les deux périodes (p value = 0,12).

L'association de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* ne permet donc pas de réduire l'excrétion des *E. coli* O26:H11 chez les veaux dans les conditions de cette étude. D'autres types de probiotiques pourront être testés dans le futur afin de déterminer quelles espèces bactériennes sont efficaces chez les veaux pour réduire l'excrétion de *E. coli* O26:H11, l'efficacité dépendant de la nature du probiotique et de la souche cible.

Par ailleurs, l'analyse du microbiote des veaux étudiés est prévue dans la suite du projet ConEHECtion. Cette analyse permettra éventuellement de caractériser des microbiotes associés à l'absence de portage de STEC, microbiotes ayant donc un potentiel effet inhibiteur. Cette caractérisation aboutira peut-être à l'identification de souches ou de communautés microbiennes futures candidates pour le développement de probiotiques.

BIBLIOGRAPHIE

AFSSA, 2008. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la possibilité d'utilisation en alimentation animale de produits fermentés (par des bactéries lactiques, des ferments kéfir...), positionnement réglementaire de ces produits et propriétés de leurs métabolites (additifs, médicaments) [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/en/system/files/ALAN2008sa0144.pdf>

AGGA, G. E., ARTHUR, T. M., HINKLEY, S. et BOSILEVAC, J. M., 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, pp. 661-667.

ALAKOMI, H. L., SKYTTÄ, E., SAARELA, M., MATTILA-SANDHOLM, T., LATVA-KALA, K. et HELANDER, I. M., 2000. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 66, n° 5, pp. 2001-2005.

ALAWNEH, J. I., BARRETO, M. O., MOORE, R. J., SOUST, M., AL-HARBI, H., JAMES, A. S., KRISHNAN, D. et OLCHOWY, T. W.J., 2020. Systematic review of an intervention: the use of probiotics to improve health and productivity of calves. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 183, pp. 105-147.

ALLEN, K. J., ROGAN, D., FINLAY, B., POTTER, A. et ASPER, D. J., 2011. Vaccination with type III secreted proteins leads to decreased shedding in calves after experimental infection with *Escherichia coli* O157. *Canadian Journal of Veterinary Research*. Vol. 75, n° 2, pp. 98-105.

ANDERSON, R. C., BUCKLEY, S. A., KUBENA, L. F., STANKER, L. H., HARVEY, R. B. et NISBET, D. J., 2000. Bactericidal Effect of Sodium Chlorate on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium DT104 in Rumen Contents In Vitro. *Journal of Food Protection*. Vol. 63, n° 8, pp. 1038-1042.

ANDERSON, R., POOLE, T., ANDERSON, T., BYRD II, J., KUBENA, L. et NISBET, D., 2002. Sodium chlorate supplementation reduces *E. coli* O157:H7 populations in cattle. *Journal of animal science*. Vol. 80, pp. 1683-9.

ANSES, 2010. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008. [en ligne]. ANSES. [Consulté le 4 octobre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0031.pdf>

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 [en ligne]. ANSES. [Consulté le 12 novembre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2020SA0095.pdf>

ARTHUR, T. M., BOSILEVAC, J. M., KALCHAYANAND, N., WELLS, J. E., SHACKELFORD, S. D., WHEELER, T. L. et KOOHMARAIE, M., 2010. Evaluation of

a Direct-Fed Microbial Product Effect on the Prevalence and Load of Escherichia coli O157:H7 in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 73, n° 2, pp. 366-371.

ASPER, D. J., SEKIROV, I., FINLAY, B., ROGAN, D. et POTTER, A., 2007. Cross reactivity of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7-specific sera with non-O157 serotypes. *Vaccine*. Vol. 25, n° 49, pp. 8262-8269.

AUVRAY, F., BIÈCHE-TERRIER, C., UM, M. M., DUPOUY, V., NZUZI, N., DAVID, L., ALLAIS, L., DROUET, M., OSWALD, E., BIBBAL, D. et BRUGÈRE, H., 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, pp. 109754.

AYALA, D. I., COOK, P. W., FRANCO, J. G., BUGAREL, M., KOTTAPALLI, Kameswara R., LONERAGAN, G. H., BRASHEARS, M. M. et NIGHTINGALE, K., 2019. A Systematic Approach to Identify and Characterize the Effectiveness and Safety of Novel Probiotic Strains to Control Foodborne Pathogens. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 10, pp. 1108.

BACH, S.J., WANG, Y. et MCALLISTER, T.A., 2008. Effect of feeding sun-dried seaweed (*Ascophyllum nodosum*) on fecal shedding of Escherichia coli O157:H7 by feedlot cattle and on growth performance of lambs. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 142, n° 1-2, pp. 17-32.

BENECH, N., CHAFFRINGEON, L., BRIOT, T., KOLENDA, C., PIROT, F., LAURENT, F. et FERRY, T., 2022. Les virus au service de la santé : les bactériophages. *médecine/sciences*. Vol. 38, n° 12, pp. 1043-1051.

BERRY, E. D. et WELLS, J. E., 2010. Escherichia coli O157:H7. In : *Advances in Food and Nutrition Research* [en ligne]. Elsevier. pp. 67-117. [Consulté le 7 octobre 2024]. ISBN 978-0-12-380944-5. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043452610600046>

BERRY, E. D. et WELLS, J. E., 2012. Soil solarization reduces Escherichia coli O157:H7 and total Escherichia coli on cattle feedlot pen surfaces. *Journal of Food Protection*. Vol. 75, n° 1, pp. 7-13.

BIBBAL, D., LOUKIADIS, E., KÉROURÉDAN, M., FERRÉ, F., DILASSER, F., PEYTAVIN DE GARAM, C., CARTIER, P., OSWALD, E., GAY, E., AUVRAY, F. et BRUGÈRE, H., 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, pp. 1397-1405.

BOERLIN, P., MCEWEN, S. A., BOERLIN-PETZOLD, F., WILSON, J. B., JOHNSON, R. P. et GYLES, C. L., 1999. Associations between Virulence Factors of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli and Disease in Humans. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 37, n° 3, pp. 497-503.

BRADEN, K.W., BLANTON, J.R., ALLEN, V.G., POND, K.R. et MILLER, M.F., 2004. *Ascophyllum nodosum* Supplementation: A Preharvest Intervention for Reducing

Escherichia coli O157:H7 and Salmonella spp. in Feedlot Steers. *Journal of Food Protection*. Vol. 67, n° 9, pp. 1824-1828.

BRASHEARS, M. M., GALYEAN, M. L., LONERAGAN, G. H., MANN, J. E. et KILLINGER-MANN, K., 2003a. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 and Performance by Beef Feedlot Cattle Given Lactobacillus Direct-Fed Microbials†. *Journal of Food Protection*. Vol. 66, n° 5, pp. 748-754.

BRASHEARS, M. M., REILLY, S. S. et GILLILAND, S. E., 1998. Antagonistic action of cells of Lactobacillus lactis toward Escherichia coli O157:H7 on refrigerated raw chicken meat. *Journal of Food Protection*. Vol. 61, n° 2, pp. 166-170.

BRASHEARS, M.M., JARONI, D. et TRIMBLE, J., 2003b. Isolation, Selection, and Characterization of Lactic Acid Bacteria for a Competitive Exclusion Product To Reduce Shedding of Escherichia coli O157:H7 in Cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 66, n° 3, pp. 355-363.

BRETSCHNEIDER, G., BERBEROV, E. M. et MOXLEY, R. A., 2007. Isotype-specific antibody responses against Escherichia coli O157:H7 locus of enterocyte effacement proteins in adult beef cattle following experimental infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 118, n° 3-4, pp. 229-238.

BRUYAND, M., MARIANI-KURKDJIAN, P., LE HELLO, S., KING, L., VAN CAUTEREN, D., LEFEVRE, S., GOUALI, M., JOURDAN-DA SILVA, N., MAILLES, A., DONGUY, M., LOUKIADIS, E., SERGENTET-THEVENOT, D., LOIRAT, C., BONACORSI, S., WEILL, F. et DE VALK, H., 2019. Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing Escherichia coli, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016. *Eurosurveillance*. Vol. 24, n° 8, pp. 1800068.

CALLAWAY, T. R., CARR, M. A., EDRINGTON, T. S., ANDERSON, R. C. et NISBET, D. J., 2009. Diet, Escherichia coli O157:H7, and Cattle: A Review After 10 Years. *Current Issues in Molecular Biology*. Vol. 11, n° 2, pp. 67-80.

CALLAWAY, T.R., ELDER, R.O., KEEN, J.E., ANDERSON, R.C. et NISBET, D.J., 2003. Forage Feeding to Reduce Preharvest Escherichia coli Populations in Cattle, a Review. *Journal of Dairy Science*. Vol. 86, n° 3, pp. 852-860.

CANGIANO, L.R., YOHE, T.T., STEELE, M.A. et RENAUD, D.L., 2020. Invited Review: Strategic use of microbial-based probiotics and prebiotics in dairy calf rearing. *Applied Animal Science*. Vol. 36, n° 5, pp. 630-651.

CAPRIOLI, A., MORABITO, S., BRUGÈRE, H. et OSWALD, E., 2005. Enterohaemorrhagic Escherichia coli : emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research*. Vol. 36, n° 3, pp. 289-311.

CERNICCHIARO, N., RENTER, D.G., CULL, C.A., PADDOCK, Z.D., SHI, X. et NAGARAJA, T.G., 2014. Fecal Shedding of Non-O157 Serogroups of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Feedlot Cattle Vaccinated with an Escherichia coli O157:H7 SRP Vaccine or Fed a Lactobacillus-Based Direct-Fed Microbial. *Journal of Food Protection*. Vol. 77, n° 5, pp. 732-737.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F., DUNIÈRE, L. et FORANO, E., 2016. Comment garantir la sécurité microbiologique de la viande bovine ? Viandes & Produits Carnés. Vol. 32, pp. 1-9.

CHR HANSEN, 2016a. Bovamine® Product Information [en ligne]. 2016. Disponible à l'adresse : https://www.chr-hansen.com/_/media/files/chrhansen/home/animal-health/pi-sheets/pi_glob_bovamine__715260_en.pdf

CHR HANSEN, 2016b. Bovamine Defend® Product Information [en ligne]. 2016. Disponible à l'adresse : https://www.chr-hansen.com/_/media/files/chrhansen/home/animal-health/pi-sheets/pi_glob_bovaminedefend__715247_en.pdf

COBBAUT, K., BERKVEN, D., HOUF, K., DE DEKEN, R. et DE ZUTTER, L., 2009. Escherichia coli O157 Prevalence in Different Cattle Farm Types and Identification of Potential Risk Factors. Journal of Food Protection. Vol. 72, n° 9, pp. 1848-1853.

COBBOLD, R. et DESMARCHELIER, P., 2000. A longitudinal study of Shiga-toxicogenic Escherichia coli (STEC) prevalence in three Australian dairy herds. Veterinary Microbiology. Vol. 71, n° 1-2, pp. 125-137.

COMMISSION DU CODEX ALIMENTARIUS, 2021. Avant-projet de directives pour la maîtrise des Escherichia coli producteurs de shiga-toxines (STEC) dans la viande de boeuf crue, les légumes-feuilles frais, le lait cru et les fromages produits à partir de lait cru et les graines germées. [en ligne] [Consulté le 9 octobre 2024] Disponible à l'adresse : https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXG%2B99-2023%252FCXG%2B_099f.pdf

COMMISSION EUROPÉENNE, 2005. Règlement (CE) n°2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires [en ligne]. [Consulté le 3 décembre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20071227:FR:PDF>

CONEDERA, G., CHAPMAN, P. A., MARANGON, S., TISATO, E., DALVIT, P. et ZUIN, A., 2001. A field survey of Escherichia coli O157 ecology on a cattle farm in Italy. International Journal of Food Microbiology. Vol. 66, n° 1, pp. 85-93.

CROXEN, M. A. et FINLAY, B. B., 2010. Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. Nature Reviews Microbiology. Vol. 8, n° 1, pp. 26-38.

CULL, C. A., PADDOCK, Z. D., NAGARAJA, T. G., BELLO, N. M., BABCOCK, A. H. et RENTER, D. G., 2012. Efficacy of a vaccine and a direct-fed microbial against fecal shedding of Escherichia coli O157:H7 in a randomized pen-level field trial of commercial feedlot cattle. Vaccine. Vol. 30, n° 43, pp. 6210-6215.

DEHAAN, E. R., THOMPSON, J. RUSCHE, W. C., DE JESUS, M., BLOCK, E., REHBERGER, T. et SMITH, Z. K., 2024. Evaluation of long-term supplementation of a Bacillus subtilis direct-fed microbial and enzymatically hydrolyzed yeast cell culture

product used alone or in combination on Clostridia, Clostridium perfringens, Escherichia coli, and Salmonella prevalence in beef steers. Journal of Animal Science. Vol. 102, pp. skae156.

DGAL-CNIEL, 2022. Surveiller STEC HP en filière de fabrication de fromages au lait cru [en ligne] [Consulté le 30 septembre 2024]. Disponible à l'adresse : https://www.plateforme-sca.fr/sites/default/files/2022-02/Guide_Stec_Vf.pdf

DICKS, L. et BOTES, M., 2009. Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and mode of action. [en ligne]. [Consulté le 9 novembre 2024]. Disponible à l'adresse : https://brill.com/view/journals/bm/1/1/article-p11_3.xml

EDACHE, D. O., BARUCH, J., KREIKEMEIER, W., NAGARAJA, T. G., RENTER, D. R., SMOLENSKY, D. et CERNICCHIARO, N., 2024. Investigation of Feedlot-level Use of a Direct-fed Microbial on Fecal Shedding of *E. coli* O157:H7. Journal of Food Protection. Vol. 87, n° 11, pp. 100370.

EDRINGTON, T. S., CARTER, B. H., FARROW, R. L., ISLAS, A., HAGEVOORT, G. R., FRIEND, T. H., CALLAWAY, T. R., ANDERSON, R. C. et NISBET, D. J., 2011. Influence of Weaning on Fecal Shedding of Pathogenic Bacteria in Dairy Calves. Foodborne Pathogens and Disease. Vol. 8, n° 3, pp. 395-401.

ELLIOTT, S. J., WAINWRIGHT, L. A., MCDANIEL, T. K., JARVIS, K. G., DENG, Y., LAI, L., MCNAMARA, B. P., DONNENBERG, M. S. et KAPER, J. B., 1998. The complete sequence of the locus of enterocyte effacement (LEE) from enteropathogenic Escherichia coli E2348/69. Molecular Microbiology. Vol. 28, n° 1, pp. 1-4.

ELLIS-IVERSEN, J., SMITH, R. P., VAN WINDEN, S., PAIBA, G. A., WATSON, E., SNOW, L. C. et COOK, A. J. C., 2008. Farm practices to control *E. coli* O157 in young cattle - A randomised controlled trial. Veterinary Research. Vol. 39, n° 1, pp. 03.

ESPINOSA, L., GRAY, A., DUFFY, G., FANNING, S. et MCMAHON, B. J., 2018. A scoping review on the prevalence of Shiga-toxigenic Escherichia coli in wild animal species. Zoonoses and Public Health. Vol. 65, n° 8, pp. 911-920.

FAIRBROTHER, J. M. et NADEAU, É., 2006. Escherichia coli: on-farm contamination of animals. Rev Sci Tech. Vol. 25 (2), pp. 555-569.

FAO/WHO, 2018. Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring [en ligne]. Rome, Italy. [Consulté le 1 décembre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/272871/9789241514279-eng.pdf?sequence=1>

FERNÁNDEZ-CIGANDA, S., FRAGA, M. et ZUNINO, P., 2022. Probiotic Lactobacilli Administration Induces Changes in the Fecal Microbiota of Prewaned Dairy Calves. Probiotics and Antimicrobial Proteins. Vol. 14, n° 5, pp. 804-815.

FLACH, M., DOĞAN, Ö., KREIKEMEIER, W., NIGHTINGALE, K. et BRASHEARS, M., 2022. Reduction of Pathogens in Feces and Lymph Nodes Collected from Beef Cattle Fed Lactobacillus salivarius (L28), Lactobacillus acidophilus (NP51) and

Propionibacterium freudenreichii (NP28), Commercially Available Direct-Fed Microbials. Foods. Vol. 11, pp. 3834.

FLACH, M. G., DOGAN, O. B., KREIKEMEIER, W. M., NIGHTINGALE, K. K. et BRASHEARS, M. M., 2023. Prevalence of Foodborne Pathogens in Pacific Northwest Beef Feedlot Cattle Fed Two Different Direct-Fed Microbials. Journal of Food Protection. Vol. 86, n° 10, pp. 100139.

FOLMER, J., MACKEN, C., ERICKSON, G., KLOPFENSTEIN, T., BRASHEARS, M., MOXLEY, R., et HINKLEY, 2003. Intervention Strategies for Reduction of *E. coli* O157:H7 in Feedlot Steers. Nebraska Beef Cattle Reports. Paper. Vol. 227.

FOX, J. T., THOMSON, D. U., DROUILLARD, J. S., THORNTON, A. B., BURKHARDT, D. T., EMERY, D. A. et NAGARAJA, T. G., 2009. Efficacy of Escherichia coli O157:H7 Siderophore Receptor/Porin Proteins–Based Vaccine in Feedlot Cattle Naturally Shedding *E. coli* O157. Foodborne Pathogens and Disease. Vol. 6, n° 7, pp. 893-899.

FREMAUX, B., PRIGENT-COMBARET, C. et VERNOSY-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, pp. 1-18.

FULLER, C. A., PELLINO, C.A., FLAGLER, M. J., STRASSER, J. E. et WEISS, A. A., 2011. Shiga toxin subtypes display dramatic differences in potency. Infection and Immunity. Vol. 79, n° 3, pp. 1329-1337.

GAGGIÀ, F., MATTARELLI, P. et BIAVATI, B., 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. International Journal of Food Microbiology. Vol. 141, pp. S15-S28.

GARBER, L. P., WELLS, S. J., HANCOCK, D. D., DOYLE, M. P., TUTTLE, J., SHERE, J. A. et ZHAO, T., 1995. Risk factors for fecal shedding of Escherichia coli O157:H7 in dairy calves. Journal of the American Veterinary Medical Association. Vol. 207, n° 1, pp. 46-49.

GREENQUIST, M. A., DROUILLARD, J. S., SARGEANT, J. M., DEPENBUSCH, B. E., SHI, X., LECHTENBERG, K. F. et NAGARAJA, T. G., 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, pp. 6431.

GREER, G. G., 2005. Bacteriophage Control of Foodborne Bacteria. Journal of Food Protection. Vol. 68, n° 5, pp. 1102-1111.

GRIMONT, P. A. D., 1987. Taxonomie des Escherichia. Médecine et Maladies Infectieuses. Vol. 17, pp. 6-10.

HENRY, M. K., MCCANN, C. M., HUMPHRY, R. W., MORGAN, M., WILLETT, A., EVANS, J., GUNN, G. J. et TONGUE, S. C., 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, pp. 444.

HEYMAN, M. et MÉNARD, S., 2002. Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS. Vol. 59, n° 7, pp. 1151-1165.

HRALA, M., BOSÁK, J., MICENKOVÁ, L., KŘENOVÁ, J., LEXA, M., PIRKOVÁ, V., TOMÁŠTIKOVÁ, Z., KOLÁČKOVÁ, I. et ŠMAJS, D., 2021. Escherichia coli Strains Producing Selected Bacteriocins Inhibit Porcine Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) under both In Vitro and In Vivo Conditions. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 87, n° 14, pp. e0312120.

HUSSEIN, H. S. et SAKUMA, T., 2005. Shiga Toxin–Producing Escherichia coli: Pre- and Postharvest Control Measures To Ensure Safety of Dairy Cattle Products. Journal of Food Protection. Vol. 68, n° 1, pp. 199-207.

HUSSO, A., LIETAER, L., PESSA-MORIKAWA, T., GRÖNTHAL, T., GOVAERE, J., VAN SOOM, A., IIVANAINEN, A., OPSOMER, G. et NIKU, M., 2021. The Composition of the Microbiota in the Full-Term Fetal Gut and Amniotic Fluid: A Bovine Cesarean Section Study. Frontiers in Microbiology. Vol. 12, pp. 626421.

IANNINO, F., URIZA, P. J., DUARTE, C. M., PEPE, M. V., ROSET, M. S. et BRIONES, G., 2022. Development of a Salmonella-based oral vaccine to control intestinal colonization of Shiga-toxin-producing Escherichia coli (STEC) in animals. Vaccine. Vol. 40, n° 8, pp. 1065-1073.

INBARAJ, S., ANGAPPAN, M., THOMAS, P., KUMAR, M., IRUNGBAM, K., VERMA, M. R., VISWAS, K. N., ABHISHEK, RAWAT, M. et CHAUDHURI, P., 2023. Isolation and characterization of bacteriophage Ib_pec2 against shigatoxigenic Escherichia coli. Journal of Basic Microbiology. Vol. 63, n° 5, pp. 472-480.

INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE, 2007. Epidémie 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. Rapport d'investigation. Santé publique France.

ISLAM, M. Z., MUSEKIWA, A., ISLAM, K., AHMED, S., CHOWDHURY, S., AHAD, A.I et BISWAS, P. K., 2014. Regional Variation in the Prevalence of *E. coli* O157 in Cattle: A Meta-Analysis and Meta-Regression. PLoS ONE. Vol. 9, n° 4, pp. e93299.

IZADPANA, A. et GALLO, R. L., 2005. Antimicrobial peptides. Journal of the American Academy of Dermatology. Vol. 52, n° 3 Pt 1, pp. 381-390; quiz 391-392.

JONES, G., MARIANI-KURKDJIAN, P., LEFEVRE, S., NISAVANH, A., WEILL, F.-X., COINTE, A., SILVA, N. J.-D., MAILLES, A., BONACORSI, S. et DE VALK, H., 2020. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez l'enfant de moins de 15 ans en France en 2020.

JONES, G., NISAVANH, A., MARIANI-KURKDJIAN, P., COINTE, A., BONACORSI, S., LEFEVRE, S., MAILLES, A. et DE VALK, H., 2023. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez l'enfant de moins de 15 ans en France en 2022. pp. 6.

- JUNJUA, M., KECHAOU, N., CHAIN, F., AWUSSI, A. A., ROUSSEL, Y., PERRIN, C., ROUX, E., LANGELLA, P., BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G., LE ROUX, Y., CHATEL, J.-M. et DARY-MOUROT, A., 2016. A large scale in vitro screening of *Streptococcus thermophilus* strains revealed strains with a high anti-inflammatory potential. *LWT*. Vol. 70, pp. 78-87.
- KEIR, L. S., MARKS, S. D. et KIM, J. J., 2012. Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies. *Drug Design, Development and Therapy*. Vol. 6, pp. 195-208.
- KEMPF, F., LA RAGIONE, R., CHIRULLO, B., SCHOULER, C. et VELGE, P., 2022. Super Shedding in Enteric Pathogens: A Review. *Microorganisms*. Vol. 10, n° 11, pp. 2101.
- KIM, J.-S., LEE, M.-S. et KIM, J. H., 2020. Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Its Potential Reservoirs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Vol. 10, pp. 273.
- KNAUS, U. G., HERTZBERGER, R., PIRCALABIORU, G. G., YOUSEFI, S. P. M. et BRANCO DOS SANTOS, F., 2017. Pathogen control at the intestinal mucosa – H₂ O₂ to the rescue. *Gut Microbes*. Vol. 8, n° 1, pp. 67-74.
- LA RAGIONE, R. M., BEST, A., WOODWARD, M. J. et WALES, A. D., 2009. *Escherichia coli* O157:H7 colonization in small domestic ruminants. *FEMS microbiology reviews*. Vol. 33, n° 2, pp. 394-410.
- LIU, Y., THAKER, H., WANG, C., XU, Z. et DONG, M., 2022. Diagnosis and Treatment for Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Associated Hemolytic Uremic Syndrome. *Toxins*. Vol. 15, n° 1, pp. 10.
- LLEWELLYN, A. et FOEY, A., 2017. Probiotic Modulation of Innate Cell Pathogen Sensing and Signaling Events. *Nutrients*. Vol. 9, n° 10, pp. 1156.
- LUEDTKE, B. E., BOSILEVAC, J. M., HARHAY, D. M. et ARTHUR, T. M., 2016. Effect of Direct-Fed Microbial Dosage on the Fecal Concentrations of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Feedlot Cattle. *Foodborne Pathogens and Disease*. Vol. 13, n° 4, pp. 190-195.
- MALBOS, D., 2021. Place des pré- et probiotiques dans la stratégie thérapeutique. *Actualités Pharmaceutiques*. Vol. 60, n° 607, pp. S12-S14.
- MALMUTHUGE, N. et GUAN, L. L., 2017. Understanding the gut microbiome of dairy calves: Opportunities to improve early-life gut health. *Journal of Dairy Science*. Vol. 100, n° 7, pp. 5996-6005.
- MALTBY, R., LEATHAM-JENSEN, M. P., GIBSON, T., COHEN, P. S. et CONWAY, T., 2013. Nutritional Basis for Colonization Resistance by Human Commensal *Escherichia coli* Strains HS and Nissle 1917 against *E. coli* O157:H7 in the Mouse Intestine. *PLoS ONE*. Vol. 8, n° 1, pp. e53957.
- MARTORELLI, L., GARIMANO, N., FIORENTINO, G. A., VILTE, D. A., GARBACCIO, S. G., BARTH, S. A., MENGE, C., IBARRA, C., PALERMO, M. S. et CATALDI, A.,

2018. Efficacy of a recombinant Intimin, EspB and Shiga toxin 2B vaccine in calves experimentally challenged with *Escherichia coli* O157:H7. *Vaccine*. Vol. 36, n° 27, pp. 3949-3959.

MATTHEWS, L., LOW, J.C., GALLY, D. L., PEARCE, M. C., MELLOR, D. J., HEESTERBEEK, J. A. P., CHASE-TOPPING, M., NAYLOR, S. W., SHAW, D. J., REID, S. W. J., GUNN, G. J. et WOOLHOUSE, M. E. J., 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, pp. 547-552.

MAZUREK-POPCZYK, J., PISARSKA, J., BOK, E. et BALDY-CHUDZIK, K., 2020. Antibacterial Activity of Bacteriocinogenic Commensal *Escherichia coli* against Zoonotic Strains Resistant and Sensitive to Antibiotics. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. Vol. 9, n° 7, pp. 411.

MAZUY-CRUCHAUDET, C, FÉLIX, S, FAURE-BONDAT, A, GANET, S, GRANJON, A, POSTIC, C, NOVI, D et THEVENOT-SERGENTET, D, 2021. Bilan des plans de surveillance des *E. coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) dans les viandes hachées et les fromages au lait cru de 2017 à 2019. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. Vol. 93, n° 9, pp. 1-6.

MCALLISTER, T. A., BACH, S. J., STANFORD, K. et CALLAWAY, T. R., 2006. Shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by Cattle Fed Diets Containing Monensin or Tylosin. *Journal of Food Protection*. Vol. 69, n° 9, pp. 2075-2083.

MCCABE, E., BURGESS, C. M., LAWAL, D., WHYTE, P. et DUFFY, G., 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, pp. 83-91.

MCDANIEL, T. K., JARVIS, K. G., DONNENBERG, M. S. et KAPER, J. B., 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, pp. 1664-1668.

MCNEILLY, T. N., MITCHELL, M. C., ROSSER, T., MCATEER, S., LOW, J. C., SMITH, D. G.E., HUNTLEY, J. F., MAHAJAN, A. et GALLY, D. L., 2010. Immunization of cattle with a combination of purified intimin-531, EspA and Tir significantly reduces shedding of *Escherichia coli* O157:H7 following oral challenge. *Vaccine*. Vol. 28, n° 5, pp. 1422-1428.

MILETIC, S., HÜNERBERG, M., KALDIS, A., MACDONALD, J., LEUTHREAU, A., MCALLISTER, T. et MENASSA, R., 2017. A Plant-Produced Candidate Subunit Vaccine Reduces Shedding of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Ruminants. *Biotechnology Journal*. Vol. 12, n° 10.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE LA SOUVERAINETÉ ALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT, 2024a. La réglementation sur l'hygiène des aliments. Ministère de l'Agriculture, de la Souveraineté alimentaire et de la Forêt [en ligne]. 2024.

[Consulté le 30 septembre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://agriculture.gouv.fr/la-reglementation-sur-lhygiene-des-aliments>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE LA SOUVERAINETÉ ALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT, 2024b. Plans de surveillance et de contrôle. Ministère de l'Agriculture, de la Souveraineté alimentaire et de la Forêt [en ligne]. 2024. [Consulté le 30 septembre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://agriculture.gouv.fr/plans-de-surveillance-et-de-contrôle>

MONTEAGUDO-MERA, A., RASTALL, R. A., GIBSON, G. R., CHARALAMPOPOULOS, D. et CHATZIFRAGKOU, A., 2019. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 103, n° 16, pp. 6463-6472.

MOZAFFARI, P., BERIZI, E., HOSSEINZADEH, S., DERAKHSHAN, Z., TAGHADOSI, V., MONTASERI, Z. et GÖTZ, F., 2022. Isolation and characterization of *E. coli* O157:H7 novel bacteriophage for controlling this food-borne pathogen. *Virus Research*. Vol. 315, pp. 198754.

MUNNS, K. D., SELINGER, L., STANFORD, K., SELINGER, L. B. et MCALLISTER, T. A., 2014. Are super-shedder feedlot cattle really super? *Foodborne Pathogens and Disease*. Vol. 11, n° 4, pp. 329-331.

NATARO, J. P., YIKANG, D., YINGKANG, D. et WALKER, K., 1994. AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 176, n° 15, pp. 4691-4699.

NATARO, J. P. et KAPER, J. B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. janvier 1998. Vol. 11, n° 1, pp. 142-201.

NAYLOR, S. W., GALLY, D. L. et CHRISTOPHER LOW, J., 2005a. Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine. *International Journal of Medical Microbiology*. Vol. 295, n° 6-7, pp. 419-441.

NAYLOR, S. W., ROE, A. J., NART, P., SPEARS, K., SMITH, D. G. E., LOW, J. C. et GALLY, D. L., 2005b. *Escherichia coli* O157:H7 forms attaching and effacing lesions at the terminal rectum of cattle and colonization requires the LEE4 operon. *Microbiology (Reading, England)*. Vol. 151, n° Pt 8, pp. 2773-2781.

NIU, Y. D., MCALLISTER, T. A., XU, Y., JOHNSON, R. P., STEPHENS, T. P. et STANFORD, K., 2009. Prevalence and Impact of Bacteriophages on the Presence of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle and Their Environment. *Applied and Environmental Microbiology*. mars 2009. Vol. 75, n° 5, pp. 1271-1278. DOI 10.1128/AEM.02100-08.

NIU, Y.D., XU, Y., MCALLISTER, T.A., ROZEMA, E.A., STEPHENS, T.P., BACH, S.J., JOHNSON, R.P. et STANFORD, K., 2008. Comparison of Fecal versus Rectoanal Mucosal Swab Sampling for Detecting *Escherichia coli* O157:H7 in Experimentally Inoculated Cattle Used in Assessing Bacteriophage as a Mitigation Strategy. *Journal of Food Protection*. Vol. 71, n° 4, pp. 691-698.

- OCHIENG', B. J. et HOBBS, J. E., 2016. Incentives for cattle producers to adopt an *E. coli* vaccine: An application of best–worst scaling. *Food Policy*. Vol. 59, pp. 78-87.
- O'FLYNN, G., ROSS, R., FITZGERALD, G. et COFFEY, A., 2004. Evaluation of a Cocktail of Three Bacteriophages for Biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 70, pp. 3417-24.
- OGAWA, M., SHIMIZU, K., NOMOTO, K., TANAKA, R., HAMABATA, T., YAMASAKI, S., TAKEDA, T. et TAKEDA, Y., 2001. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 68, n° 1-2, pp. 135-140.
- O'LOUGHLIN, E. V. et ROBINS-BROWNE, R. M., 2001. Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells. *Microbes and Infection*. Vol. 3, n° 6, pp. 493-507.
- PADDOCK, Z. D., RENTER, D. G., CULL, C. A., SHI, X., BAI, J. et NAGARAJA, T. G., 2014. *Escherichia coli* O26 in feedlot cattle: Fecal prevalence, isolation, characterization, and effects of an *E. coli* O157 vaccine and a direct-fed microbial. *Foodborne Pathogens and Disease*. Vol. 1193, pp. 186-193.
- PAIBA, G. A., WILESMITH, J. W., EVANS, S. J., PASCOE, S. J. S., SMITH, R. P., KIDD, S. A., RYAN, J. B. M., MCLAREN, I. M., CHAPPELL, S. A., WILLSHAW, G. A., CHEASTY, T., FRENCH, N. P., JONES, T. W. H., BUCHANAN, H. F., CHALLONER, D. J., COLLOFF, A. D., CRANWELL, M. P., DANIEL, R. G., DAVIES, I. H., DUFF, J. P., HOGG, R. a. T., KIRBY, F. D., MILLAR, M. F., MONIES, R. J., NICHOLLS, M. J. et PAYNE, J. H., 2003. Prevalence of faecal excretion of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in cattle in England and Wales. *Veterinary Record*. Vol. 153, n° 12, pp. 347-353.
- PANG, Y., ZHANG, H., WEN, H., WAN, H., WU, H., CHEN, Y., LI, S., ZHANG, L., SUN, X., LI, B. et LIU, X., 2022. Yeast Probiotic and Yeast Products in Enhancing Livestock Feeds Utilization and Performance: An Overview. *Journal of Fungi*. .. Vol. 8, n° 11, pp. 1191.
- PETERSON, R. E., KLOPFENSTEIN, T. J., MOXLEY, R. A., ERICKSON, G. E., HINKLEY, S., BRETSCHNEIDER, G., BERBEROV, E. M., ROGAN, D. et SMITH, D. R., 2007. Effect of a Vaccine Product Containing Type III Secreted Proteins on the Probability of *Escherichia coli* O157:H7 Fecal Shedding and Mucosal Colonization in Feedlot Cattle†. *Journal of Food Protection*. Vol. 70, n° 11, pp. 2568-2577.
- PETERSON, R.E., KLOPFENSTEIN, T.J., MOXLEY, R.A., ERICKSON, G.E., HINKLEY, S., ROGAN, D. et SMITH, D.R., 2007b. Efficacy of Dose Regimen and Observation of Herd Immunity from a Vaccine against *Escherichia coli* O157:H7 for Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 70, n° 11, pp. 2561-2567.
- PETERSON, R., SMITH, D., FOLMER, J., GALEN E., HINKLEY, S. et MOXLEY, R., 2005. Direct-fed Microbial Products for *Escherichia coli* O157:H7 in Market Ready Feedlot Cattle. *Nebraska Beef Cattle Reports*. Vol. 173.

POTTER, A. A., KLASHINSKY, S., LI, Y., FREY, E., TOWNSEND, H., ROGAN, D., ERICKSON, G., HINKLEY, S., KLOPFENSTEIN, T., MOXLEY, R. A., SMITH, D. R. et FINLAY, B. B., 2004. Decreased shedding of Escherichia coli O157:H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. *Vaccine*. Vol. 22, n° 3-4, pp. 362-369.

PRUIMBOOM-BREES, I. M., MORGAN, T. W., ACKERMANN, M. R., NYSTROM, E. D., SAMUEL, J. E., CORNICK, N. A. et MOON, H. W., 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, pp. 10325-10329.

RAMETTE, M., 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 de doctorat vétérinaire. ENVA : Faculté de médecine, Créteil, 117 p.

RANGEL, J. M., SPARLING, P. H., CROWE, C., GRIFFIN, P. M. et SWERDLOW, D. L., 2005. Epidemiology of Escherichia coli O157:H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 11, n° 4, pp. 603-609.

RAYNAUD, S., DENIS, B., LAITHIER, C., ROUSSEL, P., MICHEL, V., SERGENTET, D., GANET, S., AUVRAY, F., BOULLU, E. et LE BARILLEC, K., 2021. Projet STECAMONT [en ligne]. [Consulté le 1 octobre 2024]. Disponible à l'adresse : https://idele.fr/cappradel/?eID=cmis_download&olD=workspace%3A%2F%2FSpacesStore%2Fbbd6d5d0-0f34-4ecf-84e2-038d7e5389aa&cHash=5aed8265627d729911f07fca7212d32a

RAYNAUD, S., GANET, S., MICHEL, V., BRUGÈRE, H., AUVRAY, F., BERGONIER, D., FORRAY, L., BRASSEUR, F., BOURREAU, P., ROUSSEL, P., BAILLY, C., LE BARILLEC, K., CHAUCHEYRAS-DURAND, F., PICANT, P. et SERGENTET, D., 2018. Connaissance des Escherichia coli productrices de Shiga-toxines en élevage de ruminants laitiers. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*. 24ème. Paris, pp. 408-411.

REINSTEIN, S., FOX, J.T., SHI, X., ALAM, M.J. et NAGARAJA, T.G., 2007. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in the American Bison (*Bison bison*). *Journal of Food Protection*. Vol. 70, n° 11, pp. 2555-2560.

RICE, D. H., SHENG, H. Q., WYNIA, S. A. et HOVDE, C. J., 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, pp. 4924-4929.

RILEY, L. W., REMIS, R. S., HELGERSON, S. D., MCGEE, H. B., WELLS, J. G., DAVIS, B. R., HEBERT, R. J., OLCOTT, E. S., JOHNSON, L. M., HARGRETT, N. T., BLAKE, P. A. et COHEN, M. L., 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. *The New England Journal of Medicine*. Vol. 308, n° 12, pp. 681-685.

- ROZEMA, E. A., STEPHENS, T. P., BACH, S. J., OKINE, E. K., JOHNSON, R. P., STANFORD, K. et MCALLISTER, T. A., 2009. Oral and Rectal Administration of Bacteriophages for Control of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 72, n° 2, pp. 241-250.
- RUGBJERG, H., NIELSEN, E. M. et ANDERSEN, J. S., 2003. Risk factors associated with faecal shedding of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in eight known-infected Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 58, n° 3-4, pp. 101-113.
- RUND, S. A., ROHDE, H., SONNENBORN, U. et OELSCHLAEGER, T. A., 2013. Antagonistic effects of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 on EHEC strains of serotype O104:H4 and O157:H7. *International Journal of Medical Microbiology*. Vol. 303, n° 1, pp. 1-8.
- SAEEDI, P., YAZDANPARAST, M., BEHZADI, E., SALMANIAN, A. H., MOUSAVI, S. L., NAZARIAN, S. et AMANI, J., 2017. A review on strategies for decreasing *E. coli* O157:H7 risk in animals. *Microbial Pathogenesis*. Vol. 103, pp. 186-195.
- SANTÉ PUBLIQUE FRANCE, 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. pp. 34.
- SARGEANT, J. M., AMEZCUA, M. R., RAJIC, A. et WADDELL, L., 2007. Pre-harvest Interventions to Reduce the Shedding of *E. coli* O157 in the Faeces of Weaned Domestic Ruminants: A Systematic Review. *Zoonoses and Public Health*. Vol. 54, n° 6-7, pp. 260-277.
- SASAKI, Y., USUI, M., MURAKAMI, M., HARUNA, M., KOJIMA, A., ASAI, T. et YAMADA, Y., 2012. Antimicrobial Resistance in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 and O26 Isolates from Beef Cattle. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. .. Vol. 65, n° 2, pp. 117-121.
- SCHAMBERGER, G. P., PHILLIPS, R. L., JACOBS, J. L. et DIEZ-GONZALEZ, F., 2004. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 Populations in Cattle by Addition of Colicin E7-Producing *E. coli* to Feed. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 70, n° 10, pp. 6053-6060.
- SCHMIDT, M. A., 2010. LEEways: tales of EPEC, ATEC and EHEC. *Cellular Microbiology*. Vol. 12, n° 11, pp. 1544-1552.
- SCHNIRRING, L., 2008. Canada approves E coli vaccine for cattle. CIDRAP [en ligne]. 3 novembre 2008. [Consulté le 9 octobre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.cidrap.umn.edu/foodborne-disease/canada-approves-e-coli-vaccine-cattle>
- SERVIN, A. L., 2004. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 28, n° 4, pp. 405-440.

- SHARMA, M., PATEL, J., CONWAY, W., FERGUSON, S. et SULAKVELIDZE, A., 2009. Effectiveness of Bacteriophages in Reducing *Escherichia coli* O157:H7 on Fresh-Cut Cantaloupes and Lettuce. *Journal of food protection*. Vol. 72, pp. 1481-5.
- SHARMA, V. K., SCHAUT, R. G. et LOVING, C. L., 2018. Vaccination with killed whole-cells of *Escherichia coli* O157:H7 hha mutant emulsified with an adjuvant induced vaccine strain-specific serum antibodies and reduced *E. coli* O157:H7 fecal shedding in cattle. *Veterinary Microbiology*. Vol. 219, pp. 190-199.
- SHENG, H., KNECHT, H. J., KUDVA, I. T. et HOVDE, C. J., 2006. Application of Bacteriophages To Control Intestinal *Escherichia coli* O157:H7 Levels in Ruminants. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 72, n° 8, pp. 5359-5366.
- SHRINGI, S., SHENG, H., POTTER, A. A., MINNICH, S. A., HOVDE, C. J. et BESSER, T. E., 2021. Repeated Oral Vaccination of Cattle with Shiga Toxin-Negative *Escherichia coli* O157:H7 Reduces Carriage of Wild-Type *E. coli* O157:H7 after Challenge. *Applied and environmental microbiology* [en ligne]. Vol. 87, n° 2. [Consulté le 11 octobre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33158889/>
- SIGNORINI, M.L., SOTO, L.P., ZBRUN, M.V., SEQUEIRA, G.J., ROSMINI, M.R. et FRIZZO, L.S., 2012. Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. *Research in Veterinary Science*. Vol. 93, n° 1, pp. 250-258.
- SMITH, D. R., MOXLEY, R. A., PETERSON, R. E., KLOPFENSTEIN, T. J., ERICKSON, G. E., BRETSCHEIDER, G., BERBEROV, E. M. et CLOWSER, S., 2009a. A Two-Dose Regimen of a Vaccine Against Type III Secreted Proteins Reduced *Escherichia coli* O157:H7 Colonization of the Terminal Rectum in Beef Cattle in Commercial Feedlots. *Foodborne Pathogens and Disease*. Vol. 6, n° 2, pp. 155-161.
- SMITH, D. R., MOXLEY, R. A., KLOPFENSTEIN, T. J. et ERICKSON, G. E., 2009b. A randomized longitudinal trial to test the effect of regional vaccination within a cattle feedyard on *Escherichia coli* O157:H7 rectal colonization, fecal shedding, and hide contamination. *Foodborne pathogens and disease* [en ligne]. Vol. 6, n° 7. [Consulté le 9 octobre 2024]. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19618995/>
- SONNENBORN, U. et SCHULZE, J., 2009. The non-pathogenic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 – features of a versatile probiotic. *Microbial Ecology in Health and Disease*. Vol. 21, n° 3-4, pp. 122-158.
- SPRICIGO, D. A., BARDINA, C., CORTÉS, P. et LLAGOSTERA, M., 2013. Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 165, n° 2, pp. 169-174.
- STANFORD, K., MCALLISTER, T. A., NIU, Y. D., STEPHENS, T. P., MAZZOCCO, A., WADDELL, T. E. et JOHNSON, R. P., 2010. Oral Delivery Systems for Encapsulated Bacteriophages Targeted at O157:H7 in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 73, n° 7, pp. 1304-1312.

- STEPHENS, T. P., LONERAGAN, G. H., CHICHESTER, L. M. et BRASHEARS, M. M., 2007a. Prevalence and Enumeration of *Escherichia coli* O157 in Steers Receiving Various Strains of *Lactobacillus*-Based Direct-Fed Microbials. *Journal of Food Protection*. Vol. 70, n° 5, pp. 1252-1255.
- STEPHENS, T. P., STANFORD, K., RODE, L. M., BOOKER, C. W., VOGSTAD, A. R., SCHUNICHT, O. C., JIM, G. K., WILDMAN, B. K., PERRETT, T. et MCALLISTER, T. A., 2010. Effect of a direct-fed microbial on animal performance, carcass characteristics and the shedding of *Escherichia coli* O157 by feedlot cattle. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 158, n° 1, pp. 65-72.
- STEPHENS, T. P., LONERAGAN, G. H., KARUNASENA, E. et BRASHEARS, M. M., 2007b. Reduction of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* in Feces and on Hides of Feedlot Cattle Using Various Doses of a Direct-Fed Microbial. *Journal of Food Protection*. Vol. 70, n° 10, pp. 2386-2391.
- SU, Y. L., LARZÁBAL, M., SONG, H., CHENG, T., WANG, Y., SMITH, L. Y., CATALDI, A. A. et OW, D. W., 2023. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 antigens produced in transgenic lettuce effective as an oral vaccine in mice. *Theoretical and Applied Genetics*. Vol. 136, n° 10, pp. 214.
- TABE, E. S., OLOYA, J., DOETKOTT, D. K., BAUER, M. L., GIBBS, P. S. et KHAITSA, M. L., 2008. Comparative effect of direct-fed microbials on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in naturally infected feedlot cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 71, n° 3, pp. 539-544.
- THOMSON, D. U., LONERAGAN, G. H., THORNTON, A. B., LECHTENBERG, Kelly F., EMERY, D. A., BURKHARDT, D. T. et NAGARAJA, T. G., 2009. Use of a Siderophore Receptor and Porin Proteins-Based Vaccine to Control the Burden of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle. *Foodborne Pathogens and Disease*. Vol. 6, n° 7, pp. 871-877.
- THORNTON, A. B., THOMSON, D. U., LONERAGAN, G. H., FOX, J. T., BURKHARDT, D. T., EMERY, D. A. et NAGARAJA, T. G., 2009. Effects of a Siderophore Receptor and Porin Proteins-Based Vaccination on Fecal Shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in Experimentally Inoculated Cattle. *Journal of Food Protection*. Vol. 72, n° 4, pp. 866-869.
- TKALCIC, S., BROWN, C. A., HARMON, B. G., JAIN, A. t V., MUELLER, E. P. O., PARKS, A., JACOBSEN, K. L., MARTIN, S. A., ZHAO, T. et DOYLE, M. P., 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, pp. 1630-1636. DOI 10.4315/0362-028X-63.12.1630.
- TKALCIC, Suzana, ZHAO, Tong, HARMON, Barry G., DOYLE, Michael P., BROWN, Cathy A. et ZHAO, Ping, 2003. Fecal Shedding of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Weaned Calves following Treatment with Probiotic *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*. Vol. 66, n° 7, pp. 1184-1189.
- TOBE, T., BEATSON, S. A., TANIGUCHI, H., ABE, H., BAILEY, C. M., FIVIAN, A., YOUNIS, R., MATTHEWS, S., MARCHES, O., FRANKEL, G., HAYASHI, T. et

PALLEN, M. J., 2006. An extensive repertoire of type III secretion effectors in *Escherichia coli* O157 and the role of lambdoid phages in their dissemination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 103, n° 40, pp. 14941-14946.

TOPP, E., IRWIN, R., MCALLISTER, T., LESSARD, M., JOENSUU, J. J., KOLOTILIN, I., CONRAD, U., STÖGER, E., MOR, T., WARZECHA, H., HALL, J. C., MCLEAN, M. D., COX, E., DEVRIENDT, B., POTTER, A., DEPICKER, A., VIRDI, V., HOLBROOK, L., DOSHI, K., DUSSAULT, M., FRIENDSHIP, R., YAROSH, O., YOO, H. S., MACDONALD, J. et MENASSA, R., 2016. The case for plant-made veterinary immunotherapeutics. *Biotechnology Advances*. Vol. 34, n° 5, pp. 597-604.

UYENO, Y., SEKIGUCHI, Y. et KAMAGATA, Y., 2010. rRNA-based analysis to monitor succession of faecal bacterial communities in Holstein calves. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. 51, n° 5, pp. 570-577.

VAN BAALE, M. J., SARGEANT, J. M., GNAD, D. P., DEBEY, B. M., LECHTENBERG, K. F. et NAGARAJA, T. G., 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, pp. 5336-5342.

VANDENBERGH, Peter A., 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 12, n° 1, pp. 221-237.

VAN ZYL, W. F., DEANE, S. M. et DICKS, L. M.T., 2020. Molecular insights into probiotic mechanisms of action employed against intestinal pathogenic bacteria. *Gut Microbes*. Vol. 12, n° 1, pp. 1831339.

VENEGAS-VARGAS, C., HENDERSON, S., KHARE, A., MOSCI, R. E., LEHNERT, J. D., SINGH, P., OUELLETTE, L. M., NORBY, B., FUNK, J. A., RUST, S., BARTLETT, P. C., GROOMS, D. et MANNING, S. D., 2016. Factors Associated with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Shedding by Dairy and Beef Cattle. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 82, n° 16, pp. 5049-5056.

VIAZIS, S., AKHTAR, M., FEIRTAG, J. et DIEZ-GONZALEZ, F., 2011. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on hard surfaces by treatment with a bacteriophage mixture. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 145, n° 1, pp. 37-42.

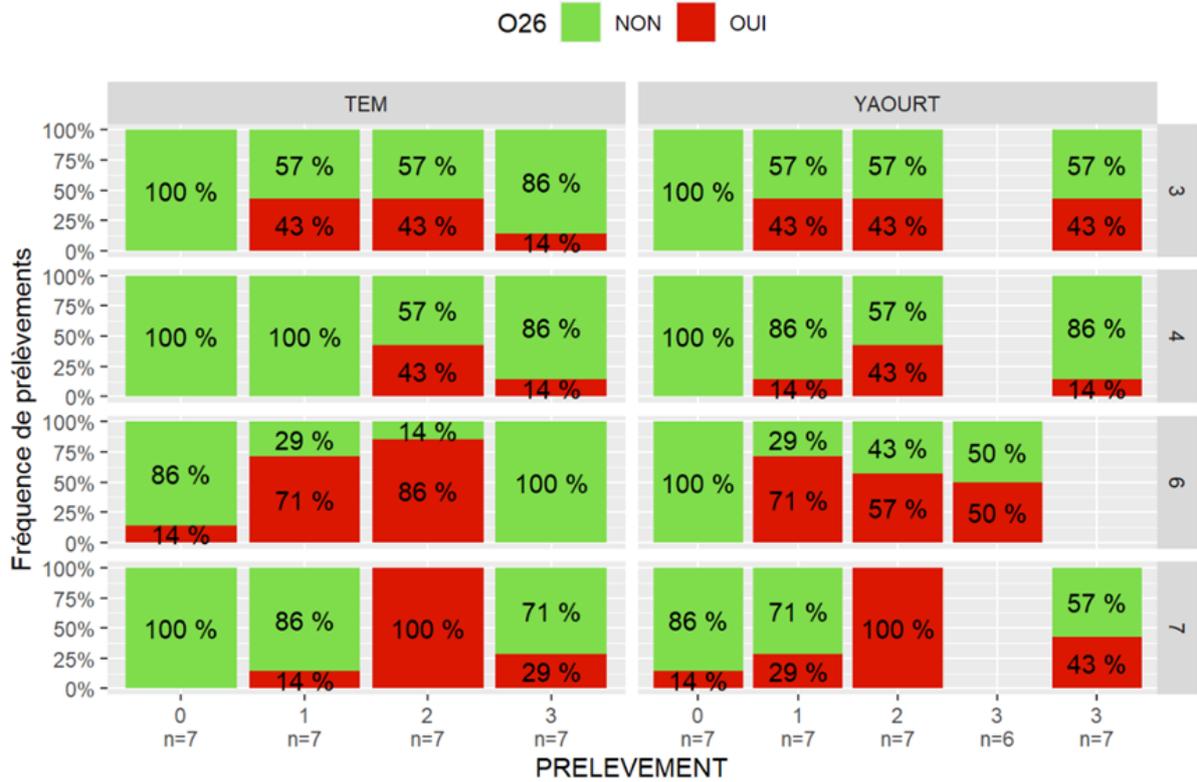
VILTE, D. A., LARZÁBAL, M., GARBACCIO, S., GAMMELLA, M., RABINOVITZ, B. C., ELIZONDO, A. M., CANTET, R. J. C., DELGADO, F., MEIKLE, V., CATALDI, A. et MERCADO, E. C., 2011. Reduced faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle following systemic vaccination with γ -intimin C280 and EspB proteins. *Vaccine*. Vol. 29, n° 23, pp. 3962-3968.

WANG, L., KUNLI, Q., LI, X., CAO, Z., WANG, X., LI, Z., SONG, Y. et XU, Y., 2017. Use of Bacteriophages to Control *Escherichia coli* O157:H7 in Domestic Ruminants, Meat Products, and Fruits and Vegetables. *Foodborne Pathogens and Disease*. Vol. 14.

- WANG, L., SUN, H., GAO, H., YAOHUI X., ZAN, L. et ZHAO, C., 2023. A meta-analysis on the effects of probiotics on the performance of pre-weaning dairy calves. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. Vol. 14, n° 1, pp. 3.
- WILLIAMS, K. J., WARD, M. P., DHUNGYEL, O. P., HALL, E. J. S. et VAN BREDA, L., 2014. A longitudinal study of the prevalence and super-shedding of *Escherichia coli* O157 in dairy heifers. *Veterinary Microbiology*. Vol. 173, n° 1-2, pp. 101-109.
- WISENER, L. V., SARGEANT, J. M., O'CONNOR, A. M., FAIRES, M. C. et GLASS-KAASTRA, S. K., 2015. The Use of Direct-Fed Microbials to Reduce Shedding of *Escherichia coli* O157 in Beef Cattle: A Systematic Review and Meta-analysis. *Zoonoses and Public Health*. Vol. 62, n° 2, pp. 75-89.
- WITTE, S., HUIJBOOM, L., KLAMERT, S., VAN DE STRAAT, L., HAGENS, S., FIESELER, L., DE VEGT, B. T. et VAN MIERLO, J. T., 2022. Application of bacteriophages EP75 and EP335 efficiently reduces viable cell counts of *Escherichia coli* O157 on beef and vegetables. *Food Microbiology*. Vol. 104, pp. 103978.
- WU, S., NISHIHARA, M., KAWASAKI, Y., YOKOYAMA, A., MATSUURA, K., KOGA, T., UENO, D., INOUE, K. et SOMEYA, T., 2009. Inactivation of *Escherichia coli* in soil by solarization. *Soil Science and Plant Nutrition*. Vol. 55, n° 2, pp. 258-263.
- YAN, F. et POLK, D. B., 2011. Probiotics and immune health: Current Opinion in Gastroenterology. Vol. 27, n° 6, pp. 496-501.
- YEOMAN, C. J., ISHAQ, S. L., BICHI, E., OLIVO, S. K., LOWE, J. et ALDRIDGE, B.M., 2018. Biogeographical Differences in the Influence of Maternal Microbial Sources on the Early Successional Development of the Bovine Neonatal Gastrointestinal tract. *Scientific Reports*. Vol. 8, n° 1, pp. 3197.
- YOUNTS-DAHL, S. M., OSBORN, G. D., GALYEAN, M. L., RIVERA, J. D., LONERAGAN, G. H. et BRASHEARS, M. M., 2005. Reduction of *Escherichia coli* O157 in Finishing Beef Cattle by Various Doses of *Lactobacillus acidophilus* in Direct-Fed Microbials. *Journal of Food Protection*. Vol. 68, n° 1, pp. 6-10.
- YOUSEFI, B., ESLAMI, M., GHASEMIAN, A., KOKHAEI, P., SALEK FARROKHI, A. et DARABI, Narges, 2019. Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *Journal of Cellular Physiology*. Vol. 234, n° 6, pp. 8008-8018.
- ZHAO, T., DOYLE, M., SHERE, J. et GARBER, L., 1995. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 61, pp. 1290-3.
- ZHAO, T., TKALCIC, S., DOYLE, M. P., HARMON, B. G., BROWN, C. A. et ZHAO, P., 2003. Pathogenicity of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Neonatal Calves and Evaluation of Fecal Shedding by Treatment with Probiotic *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*. Vol. 66, n° 6, pp. 924-930.

ANNEXES

Annexe 1 : Pourcentage de présence d'E. coli O26:H11 dans les lots témoin et yaourt en fonction de la ferme et du prélèvement



ETUDE DE L'EFFET DE *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS* ET *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* SUR L'EXCRETION DES *ESCHERICHIA COLI* O26:H11 CHEZ LES VEAUX LAITIERS EN ZONE AOP DE FROMAGE AU LAIT CRU

Auteur

SCHALK Lysiane

Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) peuvent être responsables d'infections graves chez l'Homme. La contamination se fait par ingestion de denrées alimentaires contaminées, comme les produits au lait cru. Les bovins, qui excrètent ces bactéries dans leur fèces, sont le principal réservoir des STEC. Afin de réduire le risque sanitaire que constituent les STEC, il est essentiel de développer des mesures de maîtrise permettant de réduire leur portage et leur excrétion par les bovins. Les recherches se portent sur plusieurs méthodes, dont l'utilisation de probiotiques.

L'étude présentée dans cette thèse, inscrite dans le projet ConEHECtion de l'Institut de l'Elevage, a évalué l'effet de souches de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. L'excrétion fécale d'*E. coli* O26:H11 a été comparée entre 28 veaux recevant quotidiennement plus de 10^9 UFC de ces bactéries sous la forme de lait fermenté et 28 veaux n'en recevant pas. Entre les naissances et le sevrage, aucune différence significative de l'excrétion n'a été mise en évidence entre ces deux groupes de veaux (p -value = 0,6), même si une tendance existe après le sevrage.

Le projet ConEHECtion se poursuit par l'étude des microbiotes de ces veaux. Ces analyses aboutiront peut-être à la caractérisation de microbiotes associés à l'absence de portage de STEC, et ainsi à l'identification de communautés microbiennes futures candidates pour le développement de probiotiques.

Mots-clés

Escherichia coli, STEC, excrétion, probiotiques, O26:H11, veau

Jury

Président du jury : Pr **LAABERKI Maria-Halima**

Directeur de thèse : Pr **SERGENTET Delphine**

2ème assesseur : Pr **GALIA Wessam**

Membre invité : Mme **RAYNAUD Sabrina**