
ESCHERICHIA COLI POTENTIELLEMENT PATHOGENES POUR L'HOMME : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE PORTAGE PAR LES ANIMAUX DOMESTIQUES ET LA TRANSMISSION A L'HOMME PAR LA CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT.

I. THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Estelle, Marion KERN-BENAIBOUT
Née le 3 août 1982 à NANCY (Meurthe-et-Moselle)

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Hubert BRUGERE

JURY

PRESIDENT :

Mme Nicole MARTY

ASSESEUR :

M. Hubert BRUGERE

Mme Nathalie PRIYMENKO

MEMBRE INVITE :

Melle Estelle LOUKIADIS

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Inspecteur de la santé publique vétérinaire

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M. A. MILON
Directeurs honoraires	M. G. VAN HAVERBEKE M. J. FERNEY M. P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M. L. FALIU M. C. LABIE M. C. PAVAU M. F. LESCURE M. A. RICO M. D. GRIESS M. A. CAZIEUX Mme V. BURGAT M. J. CHANTAL M. J.-F. GUELF M. M. EECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	BRAUN Jean-Pierre , <i>Physique et Chimie biologiques et médicales</i>
M.	CABANIE Paul , <i>Histologie, Anatomie pathologique</i>
M.	DARRE Roland , <i>Productions animales</i>
M.	DORCHIES Philippe , <i>Parasitologie et Maladies Parasitaires</i>
M.	EUZEBY Jean , <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	TOUTAIN Pierre-Louis , <i>Physiologie et Thérapeutique</i>

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

M.	AUTEFAGE André , <i>Pathologie chirurgicale</i>
M.	BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy , <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	DELVERDIER Maxence , <i>Anatomie pathologique</i>
M.	ENJALBERT Francis , <i>Alimentation</i>
M.	FRANC Michel , <i>Parasitologie et Maladies Parasitaires</i>
M.	HENROTEAUX Marc , <i>Médecine des carnivores</i>
M.	MARTINEAU Guy-Pierre , <i>Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour</i>
M.	PETIT Claude , <i>Pharmacie et Toxicologie</i>
M.	REGNIER Alain , <i>Physiopathologie oculaire</i>
M.	SAUTET Jean , <i>Anatomie</i>
M.	SCHELCHER François , <i>Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour</i>

PROFESSEURS 2^e CLASSE

Mme	BENARD Geneviève , <i>Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale</i>
M.	BERTHELOT Xavier , <i>Pathologie de la Reproduction</i>
M.	CONCORDET Didier , <i>Mathématiques, Statistiques, Modélisation</i>
M.	CORPET Denis , <i>Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires</i>
M.	DUCOS Alain , <i>Zootecnie</i>
M.	DUCOS de LAHITTE Jacques , <i>Parasitologie et Maladies parasitaires</i>
M.	GUERRE Philippe , <i>Pharmacie et Toxicologie</i>
Mme	KOLF-CLAUW Martine , <i>Pharmacie -Toxicologie</i>
M.	LEFEBVRE Hervé , <i>Physiologie et Thérapeutique</i>
M.	LIGNEREUX Yves , <i>Anatomie</i>
M.	PICAVET Dominique , <i>Pathologie infectieuse</i>

INGENIEUR DE RECHERCHES

M.	TAMZALI Youssef , <i>Responsable Clinique équine</i>
----	---

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme	MICHAUD Françoise , <i>Professeur d'Anglais</i>
M.	SEVERAC Benoît , <i>Professeur d'Anglais</i>

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme BRET-BENNIS Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mlle TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
M. DESMAIZIERES Louis-Marie, *Clinique équine*
Mlle LE MINOR Odile, *Epidémiologie*
M. NOUVEL Laurent-Xavier, *Pathologie de la reproduction*
M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VOLMER Romain, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A notre président de thèse,

Madame le professeur Nicole MARTY

Professeur des universités.

Praticien hospitalier.

Bactériologie, virologie, hygiène.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

Monsieur le docteur Hubert BRUGERE

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale.

Qui nous a aidé et dirigé dans notre travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Madame le docteur Nathalie PRIYMENKO,

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Alimentation.

Pour son aimable participation au jury de notre thèse, sincères remerciements.

Mademoiselle le docteur Estelle LOUKIADIS,

Inspecteur de la santé publique vétérinaire,

En formation complémentaire par la recherche, UMR 1225, Institut National de la
Recherche Agronomique, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Pour son acceptation de notre invitation, remerciements chaleureux.

A ma fille Amina, pour son sourire, sa joie de vivre, ..., pour ce qu'elle est et tout ce qu'elle représente pour moi

A mon mari, pour l'Amour que je lui porte, et pour son soutien de tout instant

A mes parents, à ma sœur Sarah et son ami Bruno, à mon frère Guillaume, pour l'Amour dont ils me témoignent chaque jour et pour m'avoir soutenu dans cette aventure estudiantine

A Papy Dédé et Mamie Paulette, pour leur Amour, leur gentillesse, leur soutien et leur compréhension

A mes amis, Noisette et Biscotte, Akila et Khaled, Sylvie et Toufik, Virginie et Habib, et à leurs enfants Avellana, Yassine, Sofiane, Imane, Sarah et Aymen, pour les moments inoubliables que nous avons partagés et que nous partagerons

A mes amis de promos et d'ailleurs, trop nombreux pour que je les cite tous, à qui je tiens énormément et qui me le rendent bien ; en espérant avoir encore l'occasion de partager de nombreux moments forts

A la DEVU, en particulier à Jean-Claude AGRAFEIL et à Michèle CANUT pour leur aide et leur soutien tout au long de ma scolarité, et pour m'avoir encouragé dans mes démarches

A tout le personnel de la bibliothèque, pour leur gentillesse, leur disponibilité et leur aide précieuse

Remerciements particuliers :

A Monsieur le Docteur Hubert BRUGERE, pour son accompagnement et ses conseils avisés

A Mademoiselle le Docteur Estelle LOUKIADIS, pour son aide dans la réalisation de ce travail, pour son accompagnement moral, pour sa disponibilité et sa bonne humeur

A Monique KEROUREDAN, pour sa patience, ses explications et sa disponibilité

A Marilyne CASTILLO, alias Noisette, pour sa précieuse relecture et tous les conseils dont elle m'a fait profité pour la finalisation de ce travail

Table des matières :

Glossaire :	19
Introduction.....	24
I. Les <i>Escherichia coli</i> pathogènes	25
A. Les différents pathovars d'<i>E. coli</i>.....	25
B. Les caractéristiques de chaque pathovar	27
1. Concernant les souches ETEC.....	27
a) Les entérotoxines	27
b) Les facteurs d'adhésion.....	28
c) Les principaux sérogroupes associés aux ETEC	28
2. Concernant les souches EPEC.....	30
a) Définition.....	30
b) Les lésions d'attachement/effacement	30
c) Le LEE	31
(1) Le système de sécrétion de type III.....	32
(2) Le couple Tir/intimine	32
(3) La régulation de l'expression des gènes du LEE	33
d) Le plasmide EAF	33
e) Les principaux sérogroupes associés aux EPEC.....	34
3. Concernant les souches EHEC	35
a) Quelques précisions : EHEC, pEHEC, VTEC, STEC, et <i>E. coli</i> O157:H7	35
b) Toxines Stx et verotoxicité.....	35
(1) Structure et mode d'action.....	35
(2) Les différentes Shiga-toxines.....	36
c) Le LEE des pEHEC	36
d) L'entérohémolysine	37
e) Les autres facteurs de virulence identifiés.....	37
f) Les principaux sérogroupes associés aux pEHEC	38
4. Concernant les souches EIEC.....	40
a) Les EIEC sont proches des Shigelles	40
b) Le pouvoir invasif.....	40
c) La production d'entérotoxines.....	41
d) Les principaux sérogroupes associés aux EIEC	41
5. Concernant les souches EAggEC	42
a) Symptômes et pathogénicité.....	42
b) Le profil d'adhésion sur cellules Hep-2 des EAggEC	42
c) Les principaux facteurs de virulence des EAggEC.....	42
d) Détection des EAggEC.....	43
e) Les principaux sérogroupes associés aux EaggEC.....	44
6. Concernant les souches ExPEC	46
a) Caractéristiques communes aux ExPEC	46
(1) Le franchissement des muqueuses par les ExPEC	46
(2) Invasion et échappement aux défenses immunitaires.....	46
(a) Séquestration du fer	46
(b) Echappement à la phagocytose.....	47
(c) Résistance à l'activité bactéricide du complément	48
b) Caractéristiques des principaux ExPEC	48
(1) Les UPEC, Urinary Pathogenic <i>E. coli</i>	48

(2)	Les ExPEC impliqués dans les méningites néonatales (NMEC).....	49
(a)	L'atteinte du secteur sanguin.....	49
(b)	Les facteurs de virulence retrouvés chez les NMEC.....	50
(3)	Les ExPEC agents de septicémie.....	50
(a)	Des adhésines.....	50
(b)	Une capsule.....	51
(c)	Le plasmide ColV.....	51
(d)	Des systèmes de sécrétion des protéines de type III.....	51
(e)	Des toxines.....	51
c)	Les principaux sérogroupes associés aux ExPEC.....	52
7.	Concernant les souches DAEC.....	53
a)	Classification et détection des DAEC.....	53
b)	Les signes cliniques associés.....	53
c)	Les facteurs de virulence des DAEC typiques.....	54
(1)	Au niveau de l'épithélium urinaire.....	54
(a)	Les facteurs d'adhésion.....	54
(b)	Les facteurs d'internalisation.....	54
(c)	Les facteurs permettant la vie intracellulaire.....	55
(2)	Sur les cellules intestinales.....	55
(a)	Les facteurs d'adhésion.....	55
(b)	Les facteurs induisant une réaction inflammatoire.....	55
(c)	Une entérotoxine.....	55
d)	Les facteurs de virulence des DAEC atypiques.....	55
C.	Conclusion : Complément de définition des principaux groupes d'<i>E. coli</i>.....	56
II.	L'acquisition de facteurs de virulence par <i>E. coli</i>.....	59
A.	Généralités sur les modalités de transfert de l'information génétique [50].....	59
1.	La transduction.....	59
a)	Quelques rappels de virologie.....	60
b)	La transduction généralisée.....	60
c)	La transduction spécialisée ou restreinte.....	60
2.	La conjugaison.....	61
B.	Les éléments mobiles de pathogénicité.....	62
1.	Les plasmides.....	62
2.	Les transposons.....	62
3.	Les phages.....	62
4.	Les îlots de pathogénicité.....	62
C.	Les supports génétiques des principaux facteurs de virulence rencontrés.....	64
1.	Comparaison entre le génome des souches pathogènes et celui des souches commensales.....	64
2.	Le pool flexible de gènes de virulence chez <i>E. coli</i>	64
a)	Les supports des adhésines.....	65
b)	Les supports des toxines.....	68
3.	Les principaux plasmides rencontrés.....	70
D.	Les différents assortiments de facteurs de virulence rencontrés.....	70

E. Pathogène ou porteur de facteur de virulence ?	70
1. Problématique	70
2. L'importance des systèmes de régulation	71
3. L'importance des différents assortiments de facteurs de virulence rencontrés.....	71
III. Portage des souches pathogènes par l'homme et les animaux.....	72
A. Le portage des ETEC.....	72
1. Les ETEC isolés chez l'homme	72
a) Pathogénicité et populations cibles	72
b) Les réservoirs d'ETEC pathogènes pour l'homme	72
c) Les effluents susceptibles de contenir des ETEC pathogènes pour l'homme	72
2. Les ETEC pathogènes pour les animaux	72
3. Les dangers pour l'homme que représentent les ETEC retrouvés chez les animaux ...	73
a) Problématique	73
b) Comparaison des entérotoxines retrouvées chez l'homme et chez l' animal.....	73
(1) Les toxines thermolabiles	73
(2) Les toxines thermostables.....	73
c) Pour conclure	74
B. Le portage des EPEC.....	75
1. Les EPEC chez l'homme.....	75
2. Les EPEC pathogènes pour les animaux.....	75
a) A-t-on retrouvé des EPEC chez les animaux ?.....	75
(1) Chez les bovins	75
(2) Chez les petits ruminants	78
(3) Chez les porcins	79
(4) Chez les oiseaux	79
(5) Chez les carnivores.....	80
b) Les EPEC retrouvés sont-ils pathogènes pour leurs hôtes ?.....	80
3. Les dangers pour l'homme que représentent les EPEC isolés chez les animaux	80
a) Comparaison des EPEC et des EPEC-like	80
b) Pour conclure	81
C. Le portage des EHEC	82
1. Méthodes de détections utilisées et seuils de détection	82
a) Importance du choix du matériel prélevé	82
(1) Pour les prélèvements effectués dans l'environnement.....	82
(a) Le risque de contamination des échantillons.....	82
(b) La répartition des pEHEC dans les fèces	83
(2) Pour les prélèvements effectués sur l'animal.....	83
(a) La quantité de fèces prélevée.....	83
(b) Les sites de prélèvement	84
b) L'acheminement du prélèvement au laboratoire	86
c) Les différentes méthodes utilisées	87
(1) Les méthodes bactériologiques : isolement de souches suspectes	87
(2) La recherche d'un effet cytotoxique sur culture de cellules Vero :	88
(3) La recherche de propriétés immunologiques	89
(4) La recherche de matériel génétique.....	90
(5) Quelques éléments de comparaison de ces techniques.....	90
2. Les biais induits par l'échantillonnage.....	91
a) Le choix de la population visée par l'enquête	91

b) La représentativité de l'échantillon.....	92
c) La taille des échantillons	92

D. Concernant les EIEC	130
1. Les EIEC chez l'homme	130
2. Retrouve-t-on des EIEC chez les animaux ?	130
E. Concernant les EAggEC	131
1. Les EAggEC chez l'homme	131
2. Les EAggEC chez les animaux	131
3. Evaluation du danger de contamination de l'homme <i>via</i> l'animal	132
F. Concernant les ExPEC	133
1. Les adhésines des ExPEC humains et animaux.....	133
a) AIDA-1.....	133
b) Les adhésines des DAEC typiques	133
c) Le complexe fimbriaire F165	134
d) Les fimbriæ F17	134
2. Les toxines des ExPEC humains et animaux	134
a) EAST1	134
b) Les toxines CNF	135
c) Les toxines CDT	135
3. Les autres facteurs associés à l'invasion des ExPEC humains et animaux.....	135
a) La résistance à la phagocytose.....	135
b) Les sidérophores	136
4. Y a-t-il un réservoir animal d'ExPEC pathogènes pour l'homme ?	136
Conclusion :	140
Références Bibliographiques :	141

Liste des Tableaux :

Tableau 1: Quelques propriétés des entérotoxines des ETEC (d'après [103]).	27
Tableau 2: Occurrence de certaines adhésines en relation avec le séro groupe O (d'après [44, 102]).	29
Tableau 3: Les sérogroupes associés aux EPEC humains et animaux (d'après [39]).	34
Tableau 4: Les principaux sérogroupes associés aux pEHEC retrouvés chez les bovins et les ovins (d'après [39]).	39
Tableau 5 : Les supports génétiques des différents sidérophores rencontrés chez les ExPEC (d'après [85]).	47
Tableau 6: Les principaux sérogroupes associés aux ExPEC isolés chez l'homme et chez les animaux (d'après [39]).	52
Tableau 7: Classification des DAEC (d'après SERVIN [140]).	53
Tableau 8 : Définitions des principaux groupes d' <i>E. coli</i> pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques (source : [85]).	57
Tableau 9 : Caractérisation des principales adhésines rencontrées chez les <i>E. coli</i> pathogènes.	66
Tableau 10 : Caractéristiques des principales toxines produites par les <i>E. coli</i> pathogènes.	68
Tableau 11 : Les principaux plasmides rencontrés dans les pathovars d' <i>E. coli</i> (d'après [32]).	70
Tableau 12 : Prévalences en EPEC-like chez les bovins.	77
Tableau 13 : Prévalences en EPEC-like trouvées chez les petits ruminants.	79
Tableau 14 : Quantités de fèces analysées dans les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC.	83
Tableau 15 : Type de prélèvements de fèces dans les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC.	85
Tableau 16 : Précautions prises pour la préservation de la viabilité des souches entre la collecte et l'analyse des prélèvements parmi les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC.	86
Tableau 17 : Utilisation du VCA parmi les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC .	88
Tableau 18 : Les milieux d'enrichissement utilisés avant de réaliser les IMS O157 et O26 dans les études citées .	89
Tableau 19 : Les différents supports utilisés pour rechercher des pEHEC par PCR parmi les études citées pour caractériser les souches pEHEC.	90
Tableau 20 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes en Europe.	97
Tableau 21 : Prévalences en <i>E. coli</i> O157 chez les bovins adultes en Amérique du Nord (d'après les synthèses de HUSSEIN <i>et al.</i>).	99
Tableau 22 : Prévalences en pEHEC dans les troupeaux de bovins adultes de race à viande en Amérique du Nord .	101
Tableau 23 : Prévalences individuelles en pEHEC chez les bovins de race à viande adultes en Amérique du Nord.	102
Tableau 24 : Prévalences en pEHEC chez les bovins laitiers adultes en Amérique du Nord.	105
Tableau 25 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes au Japon.	107
Tableau 26 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes dans quelques pays hors Europe, Amérique du Nord et Japon.	109
Tableau 27 : Prévalences en pEHEC chez les moutons en Europe.	115
Tableau 28 : Prévalences en pEHEC chez les ovins dans quelques pays hors Europe.	118

Tableau 29 : Prévalences en pEHEC chez les caprins observées en Allemagne et en Serbie.	119
Tableau 30 : Prévalences en pEHEC chez les porcins en Europe.....	120
Tableau 31 : Prévalences en pEHEC chez les porcins dans quelques pays industrialisés, hors Europe.....	122
Tableau 32 : Prévalences observées en pEHEC chez les porcins en Argentine et en Serbie.	123
Tableau 33 : Prévalences en pEHEC chez les volailles à travers le monde.	126
Tableau 34 : Recherche de STEC dans des effluents d'origine porcine et bovine (source :[157]).	127
Tableau 35: Les principaux variants des facteurs de virulence des ExPEC communs aux souches d'origine humaine et animale.	136

Liste des figures :

Figure 1: Représentation schématique de la pathogénicité des EPEC en 4 étapes (source :[21]).	31
Figure 2 : Représentation schématique du LEE des EPEC (source : [21]).	67

Liste des graphiques :

Graphique 1 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes en Europe.....	98
Graphique 2 : Synthèse des prévalences en pEHEC chez les bovins adultes de race à viande en Amérique du Nord.....	103
Graphique 3 : Synthèse des prévalences individuelles en pEHEC observées chez les vaches laitières adultes en Amérique du Nord.....	104
Graphique 4: Prévalences observées en pEHEC chez les ovins en Europe.....	108
Graphique 5: Prévalences observées en <i>E. coli</i> O157 chez les ovins en Europe (par IMS)..	108

Glossaire :

Reprend les définitions des termes suivis d'un astérisque *.

Adhésine : Pour la liste des principales adhésines colibacillaires connues, cf. tableau 9.

AEEC* (Attaching and Effacing *E. coli*) : *E. coli* induisant des lésions d'attachement/effacement. Pathovar* capable d'induire des lésions de type attachement/effacement sur culture cellulaire et/ou in vivo. Cette propriété est liée à la présence de l'îlot de pathogénicité* LEE, et notamment du gène *eae*.

Anthropozoonose : « Maladie transmissible, commune à l'animal et à l'homme », Dictionnaire Hachette Edition Illustrée 2007.

APEC (Avian Pathogen *E. coli*) : *E. coli* pathogènes pour les oiseaux. Pathovar* isolé chez des oiseaux présentant des septicémies.

BHIB (Brain Heart Infusion Broth) : Bouillon d'infusion de cœur et de cerveau. Milieu de culture à base de cellules de cerveau et de cœur, souvent utilisé pour cultiver des germes à croissance difficile (streptocoques, pneumocoques, méningocoques, ...).

BPW (Buffered Peptone Water) : Eau peptonnée tamponnée. Milieu d'enrichissement non spécifique. Utilisé ici pour mettre en suspension des prélèvements (fèces, compresses) ou des colonies isolées. On y ajoute souvent des antibiotiques pour le rendre sélectif.

CBI (communauté bactérienne intra-cellulaire) : Terme employé par ANDERSON *et al.* [3] pour décrire le comportement de certaines souches UPEC* dans la vessie de leur hôtes. Ces derniers ont remarqué que certaines souches UPEC ont acquis la capacité à pénétrer dans les cellules épithéliales superficielles de vessie de souris, formant ainsi des CBI, aux propriétés proches des biofilms. Ce biofilm intra-cellulaire permet aux bactéries d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte, et de former ainsi un réservoir dormant de pathogènes dans la vessie. L'émergence de bactérie à partir de ce réservoir expliquerait la récurrence des infections urinaires observée.

Cefixime : Anti-infectieux de la classe des céphalosporines de troisième génération, active contre les Gram+.

Cefsulodine : Anti-infectieux de la classe des céphalosporines de troisième génération, active contre les Gram+.

Cellules Vero : Lignée de culture de cellules vésicale VERO*, retrouvées chez le singe Vert *Cercopithecus Aethiops*. Ces cellules sont utilisées notamment pour la recherche d'effet cytotoxiques par les souches VTEC*, EHEC*, pEHEC* et STEC*.

Cellules Hep-2 : Lignée cellulaire d'origine tumorale, immortalisée en culture.

Cellules HeLa : Lignée cellulaire provenant du cancer utérin d'une patiente américaine, Henrietta Lacks – morte en 1951 – qui lui a donné son nom (à partir des deux premières lettres de ses prénom et nom).

CNF (Cytotoxic Necrotic Factor) : Toxine bactérienne produite par certaines souches d'*E. coli* (dites NecroToxinogènes, NTEC*). Ces toxines induisent l'apoptose de la cellule cible par action sur son cytosquelette.

CT-RMAC (gélose de Mac Conkey* avec rhamnose, cefixime* et tellurite) : Milieu de culture spécifique d'*E. coli*, supplémenté en rhamnose, souvent utilisé pour l'isolement des souches d'*E. coli* de sérotype O26. L'utilisation du rhamnose fait virer le rouge neutre : les bactéries le fermentant sont alors rouges. Les antibiotiques utilisés permettent d'inhiber la flore d'arrière plan.

CT-SMAC (gélose SMAC* supplémentée en cefixime* et en tellurite potassique) : Gélose SMAC* à laquelle on a ajouté deux antibactériens, la cefixime* et la tellurite. Les *E. coli* O157:H7 sont souvent résistants à ces substances, à la différence de la majorité des autres colibacilles.

Colistines : « bactériocines produites par *E. coli* ainsi que par quelques espèces et genre proches » [86]. Leur implication dans la virulence des souches invasives a longtemps été

suspectée, mais est démentie à l'heure actuelle ; leur rôle dans l'émergence dans le tube digestif des souches productrices par inhibition des *E. coli* commensales est suspecté [86].

DAEC (Diffusely Adhering *E. coli*) : *E. coli* à adhésion diffuse. Pathovar* extra-intestinal défini par sa capacité à induire des profils d'adhésion diffuse sur cellules Hep-2*.

EAEc = EAaggEC* (EnteroAggregative *E. coli*) : *E. coli* entéroaggrégatifs. Pathovar* supposé être à l'origine de diarrhée, défini par sa capacité à induire des profils d'adhésion dits « en briques empilées » sur cellules Hep-2*.

E. coli : abréviation utilisée pour *Escherichia coli*.

EHEC (EnteroHemorrhagic *E. coli*) : *E. coli* entérohémorragiques. Pathovar* intestinal, défini par sa faculté à provoquer des colites hémorragiques chez l'homme.

EIEC (EnteroInvasive *E. coli*) : *E. coli* entéroinvasifs. Pathovar* induisant une diarrhée, ayant acquis la capacité à envahir les cellules de l'épithélium intestinal.

Empreintes RAPD (random amplified polymorphic DNA) : La méthode des empreintes génétiques RAPD permet, sur la base de la génétique moléculaire, la détermination de la diversité génétique en comparant un petit nombre de séquences génomiques en provenance par exemple de deux souches bactériennes. Le degré d'homologie entre les fragments d'ADN amplifié permet de déterminer la proximité ou la distance entre les souches.

EPEC (EnteroPathogen *E. coli*) : *E. coli* entéropathogènes. Pathovar* induisant une diarrhée, défini par sa capacité à induire des adhésions localisées sur culture de cellules Hep-2* (cellules intestinales).

ETEC (EnteroToxinogenic *E. coli*) : *E. coli* entérotoxigènes. Pathovar* induisant une diarrhée, défini par sa capacité à produire une ou plusieurs entérotoxines, thermostables ou thermolabiles.

ExPEC (ExtraIntestinal Pathogenic *E. coli*) : *E. coli* extra-intestinaux. Pathovar* associé à des symptômes extra-intestinaux.

Gélose de Gassner : Milieu sélectif pour la détection d'entérobactéries pathogènes, contenant de la peptone, de l'eau bleue, du jaune métachrome, du lactose et du chlorure de sodium.

Gélose de Mac Conkey : Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles Gram-: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, bactéries coliformes. Il contient des inhibiteurs de la flore Gram +: les sels biliaires et le cristal violet. L'utilisation du lactose est révélée par le virage du rouge neutre : les colonies fermentant le lactose sont rouges et entourées d'un halo opaque rouge, alors que celles qui ne le fermentent pas sont jaunes ou incolores. Le lactose peut être remplacé par du sorbitol (gélose SMAC*) ou par du rhamnose (gélose RMAC*).

Hybridation sur empreinte de colonies (Colony Blot Hybridization) : Procédure permettant la recherche de séquences génétiques connues, par hybridation avec des amorces spécifiques de ces séquences. Les colonies testées sont mises en culture sur un milieu nutritif, puis elles sont transférées sur une membrane solide. La lyse ultérieure des cellules permet la fixation de l'ADN à la membrane. Après traitement, on met la membrane en présence de l'amorce du gène que l'on recherche. Cette amorce s'hybride alors aux colonies possédant le gène recherché. On révèle les colonies positives le plus souvent par révélation d'un marqueur associé aux amorces utilisées.

Îlot de pathogénicité : Locus regroupant de nombreux gènes impliqués dans la virulence des souches porteuses. Les îlots de pathogénicité sont absents des souches non pathogènes. Ils dérivent d'éléments mobiles du génome (transposon, phages ou plasmide).

IMS (Immuno Séparation Magnétique) : Méthode d'isolement utilisée ici pour rechercher des *E. coli* d'un sérotype particulier (O157 le plus souvent, O26, O111 parfois). Ce test est basé sur les propriétés immunologiques des souches recherchées. On prépare des billes magnétiques sur lesquelles on fixe des anticorps dirigés contre l'antigène O que l'on recherche, puis on incube le prélèvement testé dans un milieu contenant ces billes. Les souches portant le sérotype recherché se fixent sur les billes. Ensuite on utilise les propriétés magnétiques des billes pour les séparer du reste du prélèvement testé. On met alors ces billes en culture sur des milieux adaptés aux souches recherchées (des géloses CT-SMAC* pour *E.*

coli O157, des géloses CT-RMAC* pour *E. coli* O26 par exemple).

ITU (Infection du Tractus urinaire) : Terme générique qui englobe notamment les cystites, les pyélonéphrites et les glomérulonéphrites.

LAT (Latex Agglutination Test) : Test d'agglutination avec particules de latex. On fixe des anticorps spécifiques de l'antigène O recherché; la mise en présence de cultures bactériennes contenant des bactéries de sérotype recherché induit l'agglutination des billes de latex. Ce test serait plus sensible et plus spécifique que les tests d'agglutination classiques.

Lésions AE (lésions d'attachement/effacement) : Modification morphologique de l'épithélium intestinal suite à une infection par le pathovar AEEC, induite par l'adhésion de ce pathovar sur l'épithélium, et qui aboutit à l'effacement des microvillosités (cf. explications 29).

LB = Luria Bertani : cf. milieu de Luria Bertani.

mEC (milieu pour *E. coli* modifié) : Milieu de culture pour *E. coli*, avec du lactose et des sels biliaires. Il est souvent utilisé pour isoler des *E. coli* O157 à partir de prélèvements de viande.

Méthode VIDAS (Vitek Immunodiagnostic Analysis System) : Protocole permettant la détection automatisée par immunofluorescence enzymatique de sérotypes bactériens particuliers, souvent utilisé pour détecter des *E. coli* O157 [1, protocole détaillé page 112].

Milieu de Luria Bertani (LB): Milieu nutritif non spécifique à base de tryptone, d'extrait de levure, de chlorure de sodium et d'eau.

MUG (4-méthylumbelliferyl- β -D-glucuronide) : Réactif utilisé pour mettre en évidence une activité β -glucuronidase.

NMEC (Neonatal Meningitis *E. coli*) : *E. coli* induisant des méningites néonatales. Pathovar* isolé chez les nourrissons atteints de méningites.

Novobiocine* : Antibiotique dérivé de la Coumarine, qui agit par inhibition de la réplication de l'ADN.

NTEC (NecroToxinogenic *E. coli*) : *E. coli* nécrotoxigènes. Pathovar* supposé, défini par la production de nécrotoxines (cf. CNF*).

PAI (Pathogenicity Island) : cf. Îlot de pathogénicité.

Pathovar : Ensemble de souches bactériennes d'une même espèce, ayant un phénotype de virulence commun (même profil d'adhésion sur culture cellulaire, mêmes symptômes provoqués chez l'homme, ...).

PCR (Polymerase Chain Reaction) : Réaction de polymérisation en chaîne. C'est une technique d'amplification enzymatique qui permet à partir d'un fragment d'ADN, d'obtenir un grand nombre (plusieurs millions) de copies identiques de ce même fragment. Le processus met en jeu une série de cycles en trois étapes : une étape de dénaturation de la structure quaternaire de l'hélice d'ADN (séparation des doubles brins), une étape de fixation des deux amorces spécifiques du fragment à amplifier, une étape d'élongation (polymérisation d'ADN par une polymérase résistante à la chaleur (TAQ polymérase) à partir des deux amorces précédentes). La durée et la température de chaque étape sont choisies en fonction de la composition de la séquence à amplifier (taux de G, C, T et A). On répète ce cycle un certain nombre de fois (en moyenne 35), puis on révèle les fragments d'ADN amplifiés par électrophorèse : la migration se fait en fonction du poids des fragments d'ADN amplifiés. La comparaison avec le poids des séquences recherchées permet de savoir si elles sont amplifiées ou non.

pEHEC (EHEC* potentiel) : *E. coli* ayant un profil de virulence proche des EHEC* isolés chez les patients humains, mais dont la pathogénicité pour l'homme n'est pas prouvée, c'est à dire les souches isolées chez l'animal, dans les denrées d'origine animale, dans l'environnement, ..., proches des EHEC* isolés chez l'homme.

PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) : Electrophorèse en champs pulsé: Technique de séparation des molécules d'ADN de haut poids moléculaire (15 -100 kb). « Au-delà de 20 kb, la migration devient indépendante de la taille (le déplacement de ces molécules cylindriques

ayant toutes le même diamètre s'effectuant par "reptation"). L'emploi de deux champs orthogonaux utilisés en alternance fait que les molécules d'ADN, qui mettent un certain temps à s'orienter dans le sens du champ électrique, ne migrent que lorsque celle-ci est réalisée. Le temps nécessaire à l'orientation est d'autant plus grand que la molécule d'ADN est longue » [153].

Plasmide : Le tableau 11 reprend la liste des plasmides portés par des pathovars d'*E. coli*.

PTT (purpura thrombotique et thrombocytopénique) : Syndrome qui peut survenir suite à une infection intestinale à EHEC*, et qui touche principalement les adultes. D'après le bilan de l'Afssa sur les STEC [1]: « Ce syndrome se manifeste par une anémie hémolytique microangiopathique, une thrombocytopénie, une fièvre, des troubles neurologiques avec une insuffisance rénale aigüe. [...] Jusqu'à une époque récente, la maladie était presque toujours fatale ». Les traitements mis en place actuellement permettent d'obtenir une évolution favorable dans plus de la moitié des cas.

SHU (syndrome hémolytique et urémique) : Syndrome qui peut survenir suite à une colite hémorragique due à des souches EHEC*, avec une prévalence de 2 à 7% chez les patients atteints d'infection intestinale à *E. coli* O157:H7, voire 10% chez les enfants de moins de 10 ans et 10 à 20% chez les sujets âgés [1]. Les patients atteints de SHU* développent typiquement une anémie hémolytique (avec schizocytose), une thrombopénie et une insuffisance rénale aigüe. Le taux de mortalité en phase aigüe est actuellement inférieur à 5%, et 5 à 10% des enfants atteints évoluent vers une insuffisance rénale chronique, pouvant nécessiter une dialyse à vie ou une transplantation.

SMAC (sorbitol Mac Conkey agar) : Gélose de Mac Conkey* à laquelle on a rajouté du sorbitol et un indicateur coloré, le rouge neutre, pour mettre en évidence sa fermentation. Les colonies fermentant le sorbitol sont rouges, celles qui ne le fermentent pas sont jaunes ou incolores.

STEC (Shiga-Toxin producing *E. coli*) : *E. coli* producteur de Shiga Toxines (cf. Stx). Acronyme qui regroupe les souches d'*E. coli* capables de produire des Shiga Toxines, souvent détectées par la présence de gènes *stx*.

Stx (Shiga Toxine) : Toxine produite par les STEC*, les VTEC*, les EHEC* et les pEHEC*. Deux classes existent, parmi lesquelles de nombreux variants sont décrits. Ces toxines induisent la production de cytokines par les cellules intestinales, et leur apoptose par inhibition de la synthèse protéique.

Suppressive subtractive hybridization : Technique de comparaison de deux génomes bactériens proches, l'un ayant déjà été entièrement séquencé, et l'autre non. On utilise des séquences d'ADN issues de la souche séquencée. On en fait des amorces, puis on réalise l'hybridation de ces amorces sur les souches que l'on cherche à caractériser. Ensuite on supprime les séquences homologues et on observe les séquences restantes. Cette technique permet à la fois de déterminer le degré d'homologie entre les deux souches comparées, et de mettre en évidence des séquences différentes portées par les souches à caractériser. Elle présente l'avantage de permettre la comparaison de génomes non séquencés.

Test de Sereny : Test permettant de mettre en évidence le pouvoir invasif d'une souche d'*E. coli* par son instillation dans l'œil d'un cobaye : si la souche est invasive, une kérato-conjonctivite est alors visible.

Toxines : Pour la liste des toxines sécrétées par les *E. coli* pathogènes, cf. tableau 10.

TSB (Triptical Soy Broth) : Bouillon de culture à base de soja et de triptical.

UPEC (UroPathogen *E. coli*) : *E. coli* uropathogènes. Pathovars* associés à des infections du tractus urinaire (ITU*).

Vancomycine* : Antibiotique de la famille des glycopeptides, qui est actif contre les Gram+ : il inhibe la synthèse de la paroi bactérienne.

VCA (Vero Cells Assay) : Epreuve de toxicité sur cellules Vero*. Ce test vise à rechercher un effet cytotoxique sur un tapis de cellules Vero* en culture. On le réalise à partir du surnageant de culture bactérienne à tester. L'effet est observé couramment après 24h. On peut

augmenter la spécificité de ce test en lui ajoutant une étape de confirmation par inhibition de la cytotoxicité du surnageant testé par l'ajout d'anticorps anti Shiga-Toxine (anti Stx1 et anti Stx2).

Verotoxine : cf. Stx ou Shiga-toxine.

VTEC (VeroToxigenic *E. coli*) : *E. coli* verotoxinogènes. *E. coli* dont le surnageant des cultures est capable d'induire la lyse de cellules Vero* en culture (cf. VCA*).

Zoonose : « Maladie des animaux vertébrés, transmissibles à l'homme », Dictionnaire Hachette Edition Illustrée, 2007.

Introduction

La contamination de l'homme par des souches bactériennes portées par les animaux domestiques peut être à l'origine de pathologies graves chez l'homme. Cette contamination se fait *via* la consommation de denrées d'origines animales souillées. Elle peut également se faire par contact avec l'environnement, souillé par des animaux vivants (*via* les fèces, le fumier, le lisier) ou morts (*via* les effluents d'abattoirs).

Les effluents sont définis (Grand Larousse Universel 1997) comme « l'ensemble des eaux usées, eaux de ruissellement et eaux superficielles qui sont évacuées par les égouts des agglomérations » (pour les effluents urbains), ou comme « l'ensemble des rejets liquides d'une industrie ».

Nous utiliserons ici le terme d'effluent d'origine animale pour faire référence aux eaux souillées par des éléments en provenance d'animaux vivants (fèces, urines, éléments cutanés ...) et d'animaux morts (effluents d'abattoirs, contenant notamment des eaux de lavage souillées par du sang et des matières stercoraires). Ce terme englobe également les effluents d'origine humaine, et notamment les eaux souillées par des excréments. De part leur nature, ces effluents sont fortement chargés en bactéries, et notamment en *Escherichia coli* ou *E. coli* ou colibacilles, bactéries commensales du tube digestif.

Certaines de ces bactéries sont pathogènes pour l'homme ou pour l'animal, citons, entre autres, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Listeria* spp., et les colibacilles pathogènes.

Ainsi, *E. coli* est une espèce au sein de laquelle on retrouve à la fois des souches commensales, colonisant les individus sains, et des souches ayant acquis des facteurs de virulence. Ces dernières sont capables d'induire différents signes cliniques, et sont regroupées en pathovars*. Un pathovar* est défini comme un ensemble de souches ayant un phénotype de virulence commun (même profil d'adhésion sur culture cellulaire, mêmes symptômes provoqués chez l'hôte ...).

L'objectif de cette étude est de caractériser le portage par l'animal des *E. coli* pathogènes. On cherche notamment à mieux connaître les couples {animal – bactérie pathogène} en présence, afin de mettre en place des outils de surveillance sanitaire pertinents à l'abattoir et dans les ateliers de découpe. De plus, l'identification et la caractérisation des facteurs de variation de l'excrétion de ces pathovars, ainsi que les périodes les plus à risque en terme d'excrétion, permettra de mettre en place des mesures de prévention en élevage, pour réduire la contamination de l'environnement et des denrées d'origine animale.

Nous définirons tout d'abord les différents pathovars* d'*E. coli* connus à ce jour (ETEC*, EPEC*, EHEC*, EAaggEC*, EIEC* ; ExPEC* dont UPEC*, NMEC* et DAEC*). Ensuite nous présenterons les facteurs de virulence associés à ces pathovars*, en mettant l'accent sur leurs différents supports génétiques. Enfin, nous détaillerons la répartition de ces pathovars* chez les animaux domestiques et chez l'homme, en précisant pour chacun s'il est transmissible à l'homme, si il y a un réservoir animal, et quels sont les risques de contamination de l'homme par une source environnementale, souillée par des effluents d'origine animale.

(* Les termes suivis d'un astérisque * sont définis dans le glossaire.

II. Les *Escherichia coli* pathogènes

A. Les différents pathovars d'*E. coli*

Le centre national de référence (CNR) des *E. coli* et des *Shigella* définit deux catégories de pathovars* pour *E. coli* [61], en se basant sur leur pathogénicité :

- les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales ;
- les *E. coli* à l'origine de **pathologies** extra intestinales.

Parmi les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales, principalement de diarrhées, le CNR propose la classification suivante :

- les *E. coli* enterotoxinogènes, **ETEC***, dont la pathogénicité est liée à la sécrétion de deux types de toxine, une toxine thermostable ST et une thermolabile LT.
- les *E. coli* entéropathogènes, **EPEC***, dont la pathogénicité est liée aux lésions d'attachement/effacement (AE*), définies par un attachement de ces bactéries sur les cellules intestinales, et par un effacement des microvillosités, consécutif à une altération du cytosquelette.
- les *E. coli* entérohémorragiques, **EHEC***, qui induisent des colites hémorragiques chez l'homme, et qui, particulièrement chez les enfants, peuvent se compliquer en syndrome hémolytique et urémique SHU* (insuffisance rénale sévère pouvant nécessiter une dialyse ou une transplantation rénale) et en purpura thrombotique et thrombocytopénique PTT* (troubles nerveux associés). Ces affections peuvent être mortelles.

Dans un rapport sur les *E. coli* qui provoquent des diarrhées [97], l'Organisation Mondiale de la Santé ajoute une septième classe : les *E. coli* attachant et effaçant, **AEEC***, définis comme des *E. coli* qui s'attachent aux entérocytes et effacent les microvillosités, et qui ne produisent pas toujours de verocytotoxine. Les EPEC* ne sont qu'un sous-type des AEEC*.

- les *E. coli* entéroinvasifs, **EIEC***, à l'origine de syndromes dysentériques, et dont la pathogénicité est proche des *Shigella*. Ces *E. coli* ont acquis la capacité à envahir les cellules épithéliales ce qui provoque des ulcérations de la muqueuse du gros intestin.
- les *E. coli* entéroaggrégatifs, **EAggEC*** (on retrouve parfois le sigle EAEC dans la bibliographie) , caractérisés par un type d'adhésion aggrégative en « brique empilées », à l'origine de nécroses du pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous muqueuse.
- les *E. coli* à adhérence diffuse, **DAEC***, qui ont acquis la capacité d'adhérer aux cellules Hep-2* et qui paraissent uniformément dispersés sur toute la surface des cellules épithéliales.

Les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales ont en commun de se multiplier dans l'intestin de leurs hôtes. Ils se retrouveront donc dans les fèces et par la suite dans les effluents qui drainent ces fèces, à savoir :

- en élevage :
 - * les litières, les fumiers et les lisiers ;
 - * les eaux de ruissellement des locaux d'élevage, les eaux de ruissellement des pâtures ;
 - * les eaux de lavage.

- à l'abattoir :
 - * les litières, fumiers et lisiers des parcs de stockage des locaux antemortem ;
 - * les matières stercoraires, définies comme le contenu du tube digestif des animaux abattus et toutes les eaux de lavage des viscères digestifs ;
 - * les eaux de lavage.
- pour les effluents d'origine humaine :
 - * les eaux usées rejetées au tout-à-l'égout en vue d'être traitées en station d'épuration ;
 - * les eaux des fosses septiques initialement étanches ;
 - * les eaux souillées qui s'écoulent librement (rare dans les pays développés, mais monnaie courante dans les pays en voie de développement).

Les *E. coli* à l'origine de pathologies Extra Intestinales (**ExPEC***) ont acquis la capacité à dépasser les défenses immunitaires de leur hôte, et à se propager dans l'organisme [64]. Ils peuvent induire chez leurs hôtes des infections du tractus urinaire (ITU) : on parle souvent d'**UPEC***, Urinary Pathogenic *E. coli* ; des méningites néonatales : on parle de **NMEC***, Neonatal Meningitis *E. coli* ; ou des septicémies [95]. Ils posent problème autant en médecine humaine, (notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides), qu'en médecine animale du fait des fortes pertes économiques induites, notamment en filière avicole.

Les facteurs de virulence des souches ExPEC* sont encore mal connus, ce qui s'explique en partie par leur grande hétérogénéité. MAINIL dans sa synthèse sur les *E. coli* invasifs [86] rappelle que la colonisation de l'hôte se fait en 3 étapes :

- franchissement d'une muqueuse, digestive ou respiratoire ;
- dissémination dans l'organisme par voie sanguine, ce qui implique la survie de la bactérie dans le sang ;
- colonisation d'un organe cible avec adhésion, internalisation et multiplication intracellulaire.

Dans leur synthèse sur l'épidémiologie moléculaire des ExPEC*, JOHNSON *et al.* [64] rappellent que les principaux facteurs de virulence comprennent des adhésines et invasines; des molécules qui permettent de persister chez l'hôte (des sidérophores pour la captation du fer, des antigènes O, polysaccharides de surface pour contourner les défenses immunitaires) ; des toxines (les CNF*1 notamment, facteurs cytotoxiques de nécrose, dont le rôle reste à préciser...).

On retrouve des ExPEC* chez l'homme et chez l'animal. Les facteurs de virulence sont-ils les mêmes ? L'animal est-il un réservoir pour l'homme ?

L'objectif de cette partie est de préciser les espèces susceptibles de contaminer des effluents par des *E. coli* pathogènes, afin de caractériser le danger et le risque pour l'homme, liés à leur présence dans ces effluents.

B. Les caractéristiques de chaque pathovar

1. Concernant les souches ETEC

a) Les entérotoxines

Ces *E. coli* sont capables de produire des entérotoxines [61]. Dans leur synthèse sur les facteurs de virulence des souches d'*E. coli* gastro-intestinales, DEBROY ET MADDIX [28] précisent que les entérotoxines sont classées en deux groupes : les entérotoxines stables à la chaleur (heat-stable toxins, ou ST), et les entérotoxines sensibles à la chaleur (heat-labile toxins, LT).

Les ST sont subdivisées à leur tour en STa, avec les variants STaH (isolés chez l'homme) et STaP (isolés chez le porc) et en STb (isolés chez les porcs et les bovins).

Les LT sont subdivisées en LTH-1 (isolées chez l'homme), LTP1, isolées chez le porc, et LT-IIa puis LT-IIb. Cette classification repose sur des propriétés structurales et fonctionnelles.

Les gènes codant pour les entérotoxines sont le plus souvent codés sur des plasmides transmissibles [126]. Ils peuvent également être codés par des transposons [103].

Tableau 1: Quelques propriétés des entérotoxines des ETEC (d'après [103]).

Entérotoxine	Variante	Action	Récepteur	Particularités
LT-I	LTh-1, LTP-1	Hypersécrétion, malabsorption par stimulation du système adénylate cyclase	GM1	Isolée chez l'homme (LTh) et le porc (LTP)
LT-II	LTII-a et LTII-b	Hypersécrétion, malabsorption par stimulation du système adénylate cyclase	GD1b	LTII-b : récepteur absent chez l'homme
Sta	STa-H et Sta-P ; les 2 variants sont retrouvées chez les ETEC* de l'homme ; seul STa-P est retrouvée chez les ETEC* d'origine porcine et bovine	Male connue	pGCc	Isolées chez des porcelets et des veaux.
STb	Aucun	Sécrétion, malabsorption par ouverture de la protéine G couplée au canal calcique de la membrane plasmatique	Inconnu	
EAST1 <i>Seule n'induit pas de diarrhée ; augmente la pathogénicité de LT</i>	Aucun	Hypersécrétion, malabsorption par stimulation du système guanylate-cyclase	pGCc supposé	Isolées chez des souches EAggEC*, ETEC*, EPEC* et chez quelques souches EHEC*

Les toxines LT [126] sont proches de la toxine cholérique, tant dans leur structure, leur antigénicité et leur mode d'action. Une fois sécrétées, elles induisent une accumulation d'AMPc dans les cellules par activation de l'adénylate cyclase et la fixation irréversible au ganglioside GM1 ; il en résulte l'excrétion de chlorure par les cellules épithéliales, et l'inhibition de la réabsorption de NaCl, induisant une diarrhée par appel d'eau dans la lumière intestinale.

Les toxines ST [126] se fixent irréversiblement aux guanylates cyclases, entraînant une augmentation des GMPc. Il en résulte également une augmentation de l'excrétion des chlorures, et une diminution de la réabsorption des NaCl. Les ST sont également impliquées dans le contrôle de la prolifération cellulaire via l'augmentation des concentrations intracellulaires de calcium.

b) Les facteurs d'adhésion

Par ailleurs, les études menées sur la caractérisation génétique des souches ETEC* [101] ont permis de faire le lien entre la synthèse de toxines et la présence d'antigènes de capsules particuliers, par exemple F5 (=K99) sur des souches isolées chez des veaux diarrhéiques.

Dans sa synthèse sur les caractéristiques des ETEC*, GAASTRA [44] met en avant d'une part qu'il existe une corrélation positive entre la production de toxines ST et la présence d'antigènes F5 (=K99) sur des souches isolées chez des porcelets et des bovins, et, d'autre part, que ces antigènes de capsule ont des propriétés d'adhésion. En fait, il apparaît que ce sont des molécules apparentées aux fimbriæ, qui permettent l'adhésion des ETEC* sur des récepteurs épithéliaux spécifiques d'espèces : il parle alors de « Colonization Factor Antigens », ou CFA. Contrairement aux fimbriæ de type 1, les CFA sont propres aux ETEC*, et leurs propriétés adhésives ne sont pas inhibées par le D-mannitol. QADRI *et al.* [126] précisent que certains CFA n'ont pas la structure des fimbriæ.

Les ETEC* adhèrent donc aux cellules intestinales via les CFA, qui se fixent sur des glycoprotéines membranaires. Ensuite, elles libèrent des toxines ST et/ou LT à proximité de la muqueuse, entraînant une diarrhée. Des études conduites chez l'homme et chez l'animal [126] indiquent que des souches ETEC* CFA+ induisent une diarrhée, contrairement à leurs mutants iso géniques CFA-.

Parmi les ETEC* retrouvées chez l'homme [126], 22 CFA ont été découverts à ce jour. Pour 30 à 50% des souches ETEC* humaines prélevées de par le monde, aucun CFA n'a pu être identifié, ce qui laisse supposer que d'autres variants existent.

Pour ce qui est des ETEC* retrouvées chez les animaux [126], les CFA retrouvés sont distincts de ceux des souches isolées chez l'homme. A ce jour, une petite dizaine de variants ont été identifiés. Les récepteurs des CFA des souches ETEC* ne sont présents que chez un nombre limité d'espèces animales, ce qui explique leur grande spécificité d'espèces.

c) Les principaux sérogroupes associés aux ETEC

Si une étude au Bangladesh indique que les ETEC* appartiennent à un nombre restreint de sérogroupes [126], la majorité des autres enquêtes épidémiologiques, conduites à ce jour, tendent à montrer une grande hétérogénéité des sérotypes retrouvés, avec une variation des profils au cours du temps. Les 35 principaux sérogroupes associés aux ETEC humains sont, d'après le laboratoire de référence d'*E. coli* de la faculté vétérinaire de Lugo [39] : O4, O6, O7, O8, O9, O15, O17, O18, O20, O21, O25, O27, O29, O48, O63, O75, O77, O78, O80, O85, O88, O109, O110, O114, O115, O126, O128, O136, O139, O148, O149, O153, O159, O167 et O169.

Compte tenu de l'hétérogénéité et des variations des sérogroupes rencontrés, le sérotypage n'est pas préconisé pour détecter des ETEC*, ni comme support à un vaccin. Cependant, il semble y avoir des combinaisons préférentielles entre certains sérotypes, facteurs d'adhésion et entérotoxines. A titre d'exemple, la présence de CFA est associée avec

un nombre relativement petit de sérogroupes O, comme l'illustre le tableau 2:

Tableau 2: Occurrence de certaines adhésines en relation avec le séro groupe O (d'après [44, 102]).

Adhésine (ancien nom)	Origine Récepteur	Sérogroupe O (les sérogroupes O pour lesquels on n'a retrouvé qu' occasionnellement des adhésines n'ont pas été inclus)
F4ab/ac/ad (K88)	Porcelet Glycoprotéine	O8, O45, O138, O141, O147, O149, O157
F6 (987P)	Porcelet Glycoprotéine, lipide (sulphatide)	O9, O20, O141
F17 (Fy)	Porcelet Glycoprotéine	O101
F18ab/ac	Porcelet Glycoprotéine	O139, O141, O147, O157
F5 (K99)	Veaux, agneaux Glycolipide (NeuGc-GM3)	O8, O9, O20, O101
F41	Veaux	O9, O101
CFA/I	Humain	O15, O25, O63, O78
CFA/II	Humain	O6, O8

En bref :

Les ETEC* adhèrent aux cellules *via* des facteurs d'adhésions CFA, qui sont spécifiques d'espèces ; ils produisent des entérotoxines thermolabiles LT et/ou thermostable ST; il n'y a pas de corrélation stricte entre sérotype et pathotype pour les ETEC*.

2.

3. Concernant les souches EPEC

a) Définition

Nous avons précisé en préambule que les *E. coli* entéropathogènes, EPEC*, sont définis par leur capacité à induire des lésions d'attachement/effacement sur les microvillosités de la bordure en brosse des entérocytes [61]. Cependant, il convient de préciser un peu les choses :

- dans leur synthèse sur les bactéries capables d'induire des lésions d'attachement et d'effacement, WALES *et al.* [161] rappellent qu'on définit les AEEC* comme étant les *E. coli* capables d'induire des lésions d'attachement et d'effacement (AE) *in vivo* ou *in vitro*. Parmi les AEEC*, certaines souches produisent des Shiga-toxines et sont classées comme étant des STEC* ; d'autres n'en produisent pas, et sont classées parmi les EPEC*.

- TRABULSI *et al.* [150], dans leur article sur les EPEC* typiques et atypiques, citent la définition donnée en 1995 au cours du deuxième symposium sur les EPEC* de Sao Polo, qui peut être traduite comme il suit : « Les EPEC* sont des *E. coli*, induisant des diarrhées, qui produisent une lésion histopathologique caractéristique connue sous le nom de lésion d'attachement et d'effacement (AE) sur les cellules intestinales et qui ne produisent pas de Verotoxine* (ou Shiga-toxine ou Shiga-like toxine). ». Au sein des EPEC*, deux sous classes sont distinguées, les EPEC* classiques ou typiques, et les EPEC* non classiques ou atypiques : « les EPEC* typiques d'origine humaine possèdent un plasmide de virulence - le plasmide EAF (EPEC* adherence factor) - qui code pour le profil d'adhérence appelé « adhérence localisée » (LA) sur culture de cellules épithéliales, via des protéines BFP (Bundle-forming pilus), alors que les EPEC* atypiques ne possèdent pas ce plasmide ».

Ainsi, nous parlerons :

- d'AEEC* pour désigner des *E. coli* qui induisent des lésions d'AE* sur les cellules épithéliales en culture ;
- d'EPEC* pour parler d'AEEC* qui ne produisent pas de Verotoxines* et qui portent le plasmide EAF ;
- d'EPEC* atypiques pour parler d'AEEC* qui ne produisent pas de Verotoxine* et qui n'ont pas le plasmide EAF.

b) Les lésions d'attachement/effacement

Elles aboutissent à l'adhésion intime des AEEC* sur l'épithélium de l'hôte, avec formation d'un piédestal caractéristique. Elles sont schématisées par un modèle simplifié en 4 étapes, comme décrit par exemple par CLARKE *et al.* [21] dans leur synthèse sur les facteurs de virulence des EPEC* :

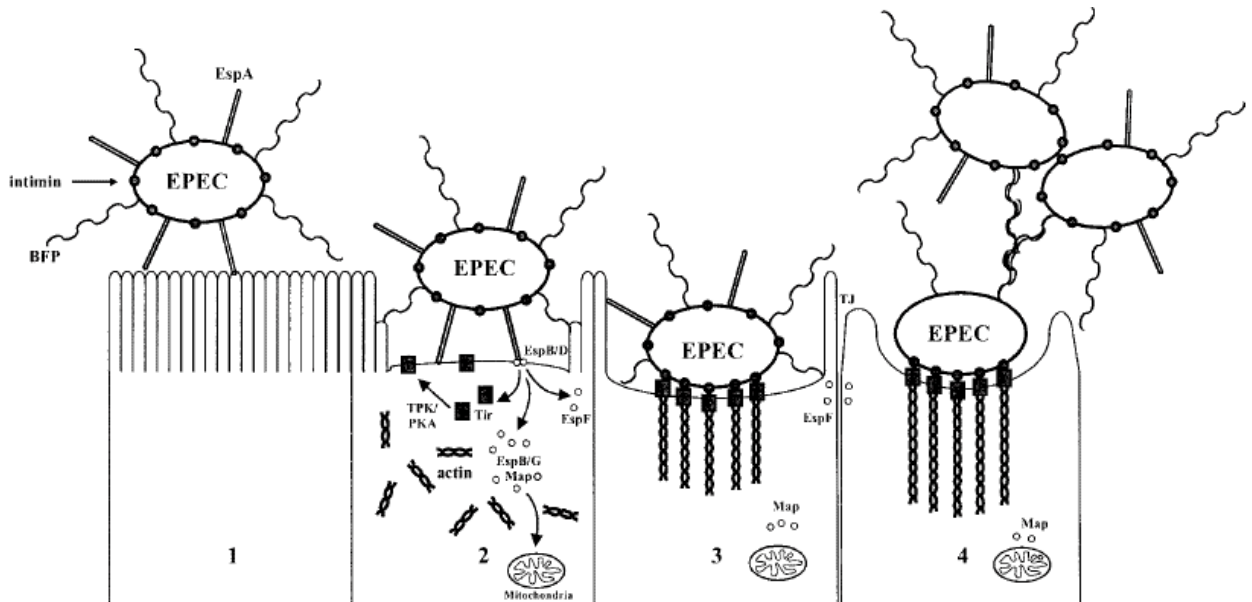


Figure 1: Représentation schématique de la pathogénicité des EPEC en 4 étapes (source :[21]).

ETAPE 1 : Dans des conditions environnementales propices, les AEEC* expriment l'équipement nécessaire à l'adhésion : les Bundle-Forming Pili, la protéine d'adhésion intime Intimine, des filaments courts, associés à la surface EspA.

ETAPE 2 : L'adhésion à l'épithélium se fait *via* les BFP et les EspA ; puis un système de sécrétion de type III injecte le récepteur membranaire Tir et d'autres effecteurs dans le cytoplasme de la cellule hôte. Il en résulte l'activation de signaux cellulaires qui entraînent l'altération du cytosquelette, avec dépolymérisation de l'actine et perte des microvillosités. La protéine Tir est modifiée par des protéines kinases (protéine kinase A et tyrosin protein kinase) : elle s'insère dans la membrane.

ETAPE 3 : Les EspA se détachent . L'intimine se fixe sur le récepteur Tir, entraînant le rapprochement de la bactérie AEEC* vers la membrane cellulaire. De l'actine s'accumule en dessous du site d'adhérence des bactéries.

ETAPE 4 : Il y a accumulation massive d'éléments du cytosquelette, formant un piédestal caractéristique. Les effecteurs injectés par le système de translocation perturbent les processus cellulaires, aboutissant à la perte de l'intégrité des jonctions serrées, et des fonctions mitochondriales ; il en résulte des pertes électrolytiques, parfois suivies de la mort de la cellule.

La formation de ces lésions d'attachement/effacement est sous l'influence de gènes chromosomiques au sein du LEE (locus of enterocyte effacement), et plasmidiques sur le plasmide EAF (EPEC* adherence factor).

c) Le LEE

Le LEE est un îlot de pathogénicité* (pathogenicity island PAI), défini comme un locus regroupant de nombreux gènes impliqués dans la virulence des souches porteuses [1].

L'implication du LEE dans la capacité des AEEC* à former des lésions AE* est soutenue d'une part par le fait que l'on retrouve ce LEE chez tous les EPEC*, d'autre part parce que l'insertion de ce PAI chez des *E. coli* K12 les rend capables de créer des lésions AE* à leur tour [21]. De plus, d'autres bactéries capables de former des AE sont également porteuses du gène LEE, qu'il s'agisse d'EPEC*, de STEC* ou de *Citrobacter freundii*.

L'insertion du LEE se fait à des endroits différents du génome chez les EPEC* et les EHEC*, reflétant leur trajet évolutif divergent. Le LEE code pour un système de sécrétion de

type III, et pour trois types de protéines injectées dans la cellule hôte par ce système [1] :

(1) Le système de sécrétion de type III

Certaines protéines codées par les gènes du LEE ne comportent pas de séquence signal [21]. On attribue alors leur sécrétion à un système de sécrétion de type III dont les gènes sont portés par LEE. Ce système est codé par les gènes *esc* (*E. coli* secretion, anciennement *sep*) et *esp* (EPEC*-secreted protein). Ces derniers codent pour une seringue moléculaire (EspA, EspB, EspD) impliquée dans la translocation des effecteurs dans la cellule hôte (Tir, map, espF, espG, espH,...).

Le mécanisme de sécrétion de type III dont il est question ici se rapproche de ceux développés chez les *Shigella* ou les *Yersinia*. Clarke *et al.* [21] le décrivent de la façon suivante : il y a formation d'une « seringue » qui va injecter des protéines dans le cytoplasme de la cellule hôte. La « seringue » est composée de protéines EscF (des mutants sans gènes *escF* sont incapables de former ce complexe), et l'injection nécessite des protéines EspA. Ce complexe protéique permet la translocation de protéines dans le cytoplasme de la cellule hôte, en particulier les protéines EspB et EspD. Une fois injectées, ces protéines forment un pore dans la cellule hôte, permettant ainsi la translocation d'autres molécules, comme le récepteur Tir. EspB semble impliquée également dans la formation des filaments d'EspA, qui se forment à la surface de la membrane, et occupent l'espace entre la bactérie et la membrane de la cellule hôte. EspB joue également un rôle dans la formation du piédestal, avec une action toxique sur le cytosquelette, qui conduit à une redistribution d'actine. Cette action nécessite le recrutement d' α -caténine cellulaire chez les EHEC*. Chez les EPEC*, l' α -caténine est nécessaire à la formation du piédestal, mais le lien avec EspB n'a pas été établi. La translocation des protéines EspB et EspD fait également intervenir une protéine chaperonne : CesD (chaperone for *E. coli* secreted protein).

La protéine Map (mitochondrion associated protein) n'est pas associée à la formation du piédestal [21], mais est souvent retrouvée à proximité des mitochondries. Son rôle est mal déterminé : une fois clivée, elle peut modifier la perméabilité de la membrane mitochondriale, ce qui aboutit à terme à l'apoptose de la cellule. Elle joue également un rôle dans le réarrangement du cytosquelette en induisant la formation de « filopodes ». Ce rôle est inhibé par le complexe Tir/intimine. Le rôle des filopodes dans la formation du piédestal est mal connu ; cette étape semble tout de même nécessaire, tout comme la régulation par le complexe Tir/intimine.

La protéine EspF joue un rôle dans la perte de perméabilité des jonctions serrées, et donc dans la mort cellulaire.

Le rôle joué par EspG dans la virulence des EPEC* est mal connu [21]; des mutants EspG négatifs sont capables d'induire des lésions AE* identiques aux parents EspG+. Cependant, parmi les EPEC* isolés chez les lapins, les mutants EspG- colonisent moins la muqueuse intestinale *in vitro* que les souches sauvages, ce qui laisse penser que les EspG jouent tout de même un rôle dans la virulence des EPEC*.

(2) Le couple Tir/intimine

Parmi les protéines excrétées par le système décrit précédemment, les intimines Eae et leur récepteur Tir sont deux groupes de protéines piliers des lésions d'AE* [21].

Le gène *tir* code le co-récepteur spécifique de l'intimine, Tir (Translocated Intimin Receptor), une protéine de 78 kDa, injectée dans le cytoplasme de la cellule hôte par le système de sécrétion de type III. Tir s'insère ensuite dans la membrane cytoplasmique de l'entérocyte hôte.

Le gène *eae* (*E. coli* attaching and effacing, anciennement *eaeA*) code pour l'intimine, protéine de membrane externe de 94 kDa. Cette protéine porte en région C terminale 280 acides aminés qui assurent sa fonction d'adhésion, avec notamment deux domaines Ig-like, assurant la reconnaissance du récepteur Tir, lequel est présent à la surface des cellules cibles,

et d'un autre récepteur eucaryote encore mal connu.

L'intimine est essentielle pour induire le signal d'activation de la polymérisation d'actine qui conduit à la formation du piédestal (un mutant déficient pour le gène *eae* en est effectivement incapable, [21]). A ce jour, au moins 17 types d'intimine ont été identifiés [9].

Le type d'intimine présent influe sur le site préférentiel de fixation des bactéries : ainsi, on a remarqué que certains EPEC* porteurs de *eae α* s'attachent à la muqueuse du petit intestin, alors que certains EHEC* porteurs de *eae γ* se fixent préférentiellement au niveau des plaques de Peyer. Selon que l'on insère le gène *eae α* issue d'EPEC* ou le gène *eae γ* issue d'EHEC* à une souche EPEC* ayant subi une délétion de son gène *eae*, les premières souches s'attacheront à la muqueuse du petit intestin, alors que les deuxièmes s'attacheront plutôt aux plaques de Peyer [21].

Il semblerait que le type d'intimine présent influe également sur l'hôte des AEEC* : ainsi, le type *eae β* est souvent associé à des AEEC* isolés chez des bovins [119, 9].

(3) La régulation de l'expression des gènes du LEE

La régulation de la transcription des gènes de LEE fait intervenir le locus *per* situé sur le plasmide EAF [21]. Ce locus porte entre autres les gènes *perA* (ou *bfpT*) *perB* (ou *bfpV*) et *perC* (ou *bfpW*). BfpT régule la transcription de l'opéron *bfp*, et certains gènes de LEE. BfpV et BfpW augmentent l'activité de BfpT.

Le locus *per* est auto activé par BfpT et inhibé par GadX. Cette protéine est également l'activateur de la transcription du gène *gadA*, qui code pour une protéine responsable de l'acido-résistance de *E. coli*, permettant leur survie dans l'estomac, alors que la colonisation qui nécessite la formation des lésions AE se fait en milieu plus alcalin [21].

La régulation de LEE via BfpT passe par l'activation de la région LEE1, et notamment du gène *ler* (locus of enterocyte effacement regulator, avant *orf1*) qui code pour un homologue des protéines histone-like, souvent impliquées dans la réponse des bactéries aux stress environnementaux. La protéine Ler agit sur LEE2, LEE3, LEE4 et LEE5, en particulier sur les gènes *espF*, *espG* et *map*.

Les EPEC* sont également capables de réagir à la densité en bactéries de leur environnement *via* le mécanisme de « quorum sensing » [21]. Lorsqu'elles prolifèrent, les bactéries produisent des molécules appelées « auto inducteurs » qui se concentrent dans le milieu, se fixent à des récepteurs membranaires, et peuvent ainsi réguler l'expression de gènes de virulence. Chez les EPEC*, on a mis en évidence la production d'auto inducteurs de type 2 (AI2) : ils pourraient réguler l'expression des gènes portés par LEE, par l'intermédiaire de Ler.

d) Le plasmide EAF

Bien que la présence du plasmide EAF ne soit pas indispensable à la formation des lésions d'AE* [150, 11], il augmente leur efficacité sous l'influence d'un groupe de gènes de régulation portés par ce plasmide : les gènes *per* (*perA*, *perB* et *perC*). Ces gènes, comme vu précédemment, activent l'expression de gènes du LEE.

Ce plasmide porte, entre autres, le groupe de gènes *bfp* [21] qui comprend au moins 14 gènes codant pour les « bundle-forming pili », des pili de type IV qui permettent l'interconnexion des bactéries en micro-colonies, favorisant ainsi leur stabilisation [150]. Les Bfp jouent également un rôle dans l'adhésion des cellules ce qui augmente l'efficacité de la formation des lésions d'AE. La formation des Bfp met en jeu différentes protéines, agencées en une structure complexe. D'après CLARKE *et al.* [21], les protéines BfpA forment la sous unité structurale principale des Bfp, appelée « bundlin », les protéines BfpG et B viennent ensuite former une membrane externe, alors que les protéines BfpC, I, J, K et L forment une membrane interne avec la protéine BfpA (bundlin). La protéine BfpU est un composé périplasmique qui reste entre ces deux membranes. La protéine BfpE fait partie de la

membrane interne, où elle joue le rôle d'« échafaudage », stabilisant la structure et transportant les autres protéines dans la membrane.

L'expression des gènes *bfp* codant pour les protéines précitées est sous la régulation des gènes *per*, et de gènes chromosomiques : *dsbA* et *lspA*.

e) Les principaux sérogroupes associés aux EPEC

Le laboratoire de référence d'E. coli de la faculté de Lugo (Espagne) [39] dresse une liste des principaux sérogroupes associés aux EPEC*, qui sont regroupés dans le tableau 3:

Tableau 3: Les sérogroupes associés aux EPEC humains et animaux (d'après [39]). Les sérogroupes en gras sont ceux que l'on retrouve à la fois chez les souches humaines et chez les souches animales.

Origine des souches	Nombre de sérogroupes	Sérogroupes associés
Patients humains	15	O18, O20 , O26 , O44, O55, O86, O111, O114, O119 , O125, O126, O127, O128 , O142 et O158.
Bovins	4	O8, O9, O20 et O101.
Porcins	15	O8, O9, O20 , O21, O45, O64, O101, O115, O138, O139, O141, O147, O149, O153 et O157.
Lapins	15	O15, O20 , O26 , O49, O92, O103, O109, O110, O119 , O126, O128 , O132, O145, O153 et O165.

Ainsi, les sérogroupes majoritairement associés aux EPEC* sont relativement nombreux (41 sur les 174 sérogroupes connus à ce jour, d'après [39]). Certains sérogroupes sont isolés à la fois chez des patients humains et chez des animaux.

En bref :

Les EPEC* ont la capacité de former des lésions d'attachement/effacement mises en évidence *in vitro* par un profil d'adhésion large sur cellules Hep-2*. Leur pathogénicité est liée au locus de gènes LEE, porté également par certaines souches STEC*. A la différence de ces dernières, les EPEC* ne produisent pas de Shiga-toxine. Les EPEC* typiques portent le plasmide EAF, qui leur permet de synthétiser des pili de type IV appelés « bundle-forming pili » favorisant l'adhésion des bactéries aux cellules hôtes.

4. Concernant les souches EHEC

a) Quelques précisions : EHEC, pEHEC, VTEC, STEC, et *E. coli* O157:H7

Les souches d'*E. coli* isolées chez des patients atteints de colites hémorragiques sont appelées EHEC*. Ces colites peuvent se compliquer de syndrome hémolytique et urémique (SHU*) et de purpura thrombotique et thrombocytopénique (PTT*), parfois mortels.

Leur étude a permis de montrer qu'elles ont acquis la capacité à produire des toxines cytotoxiques pour les cellules Vero, nommées Verotoxine ou Shiga-like toxine (Stx*), car la première toxine identifiée, Stx1, était proche de la toxine produite par *Shigella dysenteriae*. Pour isoler les EHEC*, de nombreuses équipes ont testé la toxicité des souches d'*E. coli* suspectes sur cellules Vero (le test histologique utilisé est couramment appelé Vero Cells Assay ou VCA*) : on parle d' *E. coli* Verotoxigéniques, ou VTEC*.

Ensuite on a séquencé la partie du génome codant pour ces toxines, et on a recherché la présence d'*E. coli* portant ces séquences : on parle de Shiga-toxine *E. coli*, STEC*. Des STEC* ont été isolés, et le test sur la culture de cellules Vero* n'a pas permis de mettre en évidence la production de Stx par ces souches.

Une fois que l'on a identifié une souche VTEC* ou STEC* chez un sujet sain (animal ou humain), on sait qu'elle possède un gène de virulence, mais encore faut-il savoir si elle peut l'exprimer, et devenir ainsi réellement pathogène.

Une grande proportion des EHEC* isolés chez des patients atteints de colites hémorragiques à caractère épidémique appartiennent au sérotype O157:H7.

Ainsi, nous parlerons d'*E. coli*

translocation impliquant un récepteur cellulaire autre que Gb3, sans endommager la cellule intestinale ; soit par passage transcellulaire, véhiculées par des neutrophiles en transmigration.

Les sous unités B sont également capables d'induire la libération de cytokines par les cellules intestinales. Des études décrivent une synergie entre les Shiga-toxines et les cytokines induites ([1] d'après TATEWAKI 2000). Ainsi, les toxines Stx induiraient la production de cytokines par les macrophages et les monocytes (TNF- α , IL-1 β , IL-12, ...). Les cytokines induiraient alors la production de Gb3 à la surface des cellules, les rendant plus sensibles à l'action des Stx. L'induction d'IL-8 au niveau des cellules épithéliales en contact avec les STEC* permettrait le développement de lésions au niveau de la barrière intestinale et le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles. Cet afflux favoriserait la dissémination des Stx2 dans tout l'organisme ainsi que l'évolution vers un SHU*.

(2) Les différentes Shiga-toxines

Il existe différents variants de Shiga-toxines, séparés en deux grandes classes : Stx1 et Stx2, différenciées par leurs propriétés immunologiques : les Stx1 sont neutralisées par les anticorps anti Shiga-toxine de *Shigella dysenteriae*, alors que les Stx2 ne le sont pas. Leurs propriétés biochimiques et leur mécanisme d'action sont cependant similaires.

Les toxines Stx1 et Stx2 ne semblent pas traverser la barrière intestinale de la même façon : les Stx1 utiliseraient un mécanisme de translocation impliquant un récepteur cellulaire différent du Gb3, sans endommager les cellules. Les Stx2 traverseraient plutôt dans les neutrophiles, par voie para cellulaire lors de leur transmigration.

Quant à leur pouvoir pathogène, des études conduites *in vivo* sur des modèles animaux, et *in vitro* sur des cellules endothéliales rénales indiquent que Stx2 est une toxine plus puissante que Stx1, ce qui est corroboré par les données épidémiologiques : les souches responsables des cas les plus sévères chez l'homme, comme les souches de sérotype O157:H7, produisent des Stx2. Cependant, de nombreux STEC* non-O157:H7, classiquement impliquées dans les syndromes hémolytiques et urémiques portent le gène *stx1* uniquement (notamment les souches appartenant aux sérotypes O26:H11, O103:H2 et O111:H-).

Au sein de chaque classe, des variants ont pu être identifiés, qui diffèrent par leur séquence de nucléotides, ou par leur activité biologique, leur réactivité sérologique ou leur spécificité de liaison au récepteur. Ainsi, on distingue entre autres les variants Stx2, Stx2c, Stx2d, Stx2e et Stx2f [1]. Certains variants semblent associés à des hôtes spécifiques : le variant Stx2e n'est retrouvé pratiquement que sur les souches porcines, et est responsable de la « maladie de l'œdème », affectant les porcelets ; de même, le variant Stx2d semble associé aux souches ovines.

La classe Stx1 quant à elle est plus homogène. Au cours de ces dernières années cependant, des variants ont également été mis en évidence. PATON *et al.* [122] ont mis en évidence 4 variants Stx1 à partir de souches d'*E. coli* appartenant aux sérotypes O48:H21, O111:H- et OX3:H8, dont la séquence en acides aminés diffère de celle de la toxine Stx1 de référence : la toxine Stx1 codée par le phage 933J. ZHANG *et al.* [169] ont mis en évidence un variant Stx1c isolé à partir de souches STEC* en provenance d'hommes et de moutons, BÜRK *et al.* [13] ont décelé un variant Stx1d sur des souches STEC* ONT:H19 isolées chez des bovins. OHMURA-HOSHIMO *et al.* [116] ont isolés deux variants Stx1v51 et Stx1v52 à partir de STEC* isolés chez les bovins. Pour finir, SUSUKI *et al.* [147], en 2004, ont décelé un variant qu'ils ont appelé IS1293v, produit par une souche O157:H7 isolée chez un patient humain, et qui diffère des Stx1 classiques par la perte de deux acides aminés en région C-Terminale.

c) Le LEE des pEHEC

Parmi les souches EHEC* isolées chez des patients humains, la grande majorité porte le

LEE [67]. Dans leur synthèse sur la prévalence des STEC* chez les bovins à viande, HUSSEIN *et al.* [57] précisent que globalement 98% des STEC* O157:H7 isolés dans les études qu'ils ont synthétisées sont porteurs du gène *eae*. Pour les STEC* non O157, ils précisent que la recherche du gène *eae* est moins systématique (sur 116 études synthétisées, 23 n'ont pas recherché le gène *eae*). De plus, il est moins souvent retrouvé que parmi les STEC* O157 (parmi les 93 études où le gène a été recherché, il a été trouvé dans 37 publications).

Cependant, des cas de SHU* ont été rapportés, où les souches isolées n'étaient pas porteuses de ce locus, ce qui indique qu'il n'est pas indispensable à la pathogénicité de ces souches. Ainsi CLARKE *et al.* [110] précisent notamment que des souches de sérotypes O91:H21, O113:H21 et O121:H19, bien que *eae* négatives, ont été à l'origine d'épidémies de SHU* et de diarrhées chez l'homme.

Des agents non codés par LEE pourraient être impliqués dans l'adhésion des souches STEC* *eae* négatives, parmi lesquelles l'adhésine Iha (Iron homologue adhesin), le fimbriæ Sfp, l'opéron *lpf*, apparenté aux « long polar fimbriæ » de *Salmonella enteritica* serovar Typhimurium [1, 110]... Les mécanismes d'adhésion développés par ces souches sont encore méconnus.

Pour les souches porteuses du LEE, des différences ont pu être remarquées entre les LEE des EHEC* et ceux des EPEC*. Les EHEC* en effet ne sont pas porteuses du plasmide EAF ; la régulation de LEE ne passe donc pas par le groupe de gènes *per*. De plus, l'activation du transporteur Tir des EPEC* passe par une étape de phosphorylation par deux protéines kinases ; il semble que cette étape n'ait pas lieu pour le transporteur Tir des EHEC*.

d) L'entérohémolysine

La présence d'entérohémolysine chez les STEC* a été mise en évidence dès 1988 [1]. L'hémolysine identifiée est appelée E-HlyA . Elle est codée par le gène *ehxA* sur l'opéron plasmidique *ehxCABD*. *EhxA* code pour le précurseur de la protéine E-HlyA ; il présente 61% d'homologie avec le gène *hlyA* codant l' α -hémolysine d'*E. coli*. E-hlyC assure l'acétylation post traductionnelle de E-hlyA. E-hlyB et E-hlyD assurent le transport et la sécrétion de E-hlyA.

E-hlyA appartient aux groupes des toxines RTX (Repeats in Toxin) ; son mécanisme d'action, proche de celui de Hly, consiste à s'insérer dans la membrane plasmique, formant un pore, ce qui aboutit à la lyse osmotique de la cellule cible. E-hlyA est moins puissante que Hly : elle provoque une lyse lente sur gélose au sang, alors que Hly a une action plus précoce. En provoquant la lyse des hématies, les hémolysines provoquent la libération de fer dans le milieu ce qui est propice au développement des bactéries.

De même que pour le gène *eae*, le gène *ehxA* n'est pas systématiquement associé aux souches EHEC* isolées chez l'homme [1, 57] et son rôle dans la pathogénicité est encore discuté.

e) Les autres facteurs de virulence identifiés

D'autres facteurs plasmidiques semblent impliqués dans la pathogénicité des EHEC* [1] :

- la sérine protéase EspP, capable de cliver le facteur V de coagulation humain et la pepsine A. Le clivage du facteur de coagulation contribuerait au développement des colites hémorragiques ;
- la catalase peroxydase périplasmique katP, protéine de 82 kDa ;
- des toxines de type *Clostridium difficile*-like ;
- un système de sécrétion de type II .

De plus, les faibles doses infectieuses mises en évidence dans le cadre des infections à EHEC* ont incité certains chercheurs à penser que ces bactéries avaient développé un système particulier de résistance en milieu acide, pour assurer la survie des EHEC* après passage dans l'estomac afin de pouvoir gagner leur site d'adhésion privilégié : le côlon.

Cependant, les systèmes de résistance en milieu acide mis en évidence sont semblables à ceux retrouvés chez les coliformes classiques [1].

Certaines souches O157:H7 isolées chez des patients humains présentent deux loci portant les gènes codant pour des uréases. Cependant, aucune des souches isolées n'a montré d'activité uréase à ce jour. Le rôle de l'uréase dans la pathogénicité des EHEC* reste donc à démontrer.

Dans leur synthèse sur les STEC* importantes en médecine humaine, CLARKE *et al.* [110] répertorient d'autres facteurs de virulence potentiels :

- la protéine StcE, qui se lie à l'inhibiteur de l'estérase C1 ;
- une « subtilase cytotoxine » ;
- la toxine CDT pour Cytolethal distending toxin. CDT serait active pendant la phase de repos G2/M de la cellule cible. Elle induirait sa mort à terme [108]. Les toxines CDT ont été retrouvées dans les fèces d'enfants diarrhéiques, sur des souches portant toujours d'autres facteurs de virulence. Leur implication dans la survenue de diarrhées est encore incertaine.

f) Les principaux sérogroupes associés aux pEHEC

Lorsque l'on parle d'EHEC*, on pense premièrement aux *E. coli* O157:H7, qui représentent aux Etats-Unis le premier sérotype d'EHEC* responsable de SHU* (50% des cas de SHU* environ sont attribués au seul sérotype O157:H7, [1]). D'après le bilan Afssa 2003 sur les STEC* [1], en France de 1995 à 2003, la moitié des cas de SHU*, pour lesquels une sérologie a été réalisée, est associée à une sérologie positive à STEC*, dont 86% des cas positifs pour le sérotype O157. En Europe également, O157:H7 est en tête : il représentait 42% des agents STEC* de SHU* en Italie entre 1988 et 2000 ; 56% au Danemark entre 1997 et 2000 ; 57% en Allemagne et en Autriche de 1997 à 2000.

Il faut cependant garder à l'esprit que d'autres sérotypes sont impliqués, et à des proportions non négligeables. Les plus fréquents sont **O26:H11**, **O145:H25/H28** et **O157/NM** (non mobile), avec des disparités régionales [67]. Ainsi en Italie, entre 1996 et 2000, les EHEC* O26:H11 ont causé plus de SHU* que leurs homologues O157:H7. En Allemagne, un septième des SHU* à EHEC*, entre 1996 et 2003, étaient dus à des STEC* O26:H11.

Le troisième sérotype le plus important est O145 (avec deux sérotypes en cause : O145:H25 et O145:H28). Il représente 9% des SHU* à EHEC* en Allemagne au cours des 8 dernières années. Couplé avec les infections à O157:H7/NM, cela représente 88% des EHEC* responsables de SHU*. D'autres revues mettent en avant la place importante des sérogroupes **O111** et **O103** en Europe [1]. En Australie, le sérotype O157:H7 est rare, le dominant étant O111:H-, à l'origine d'infections sévères et d'épidémies. On peut également noter l'importance des sérogroupes O121 et O153, souvent cités comme étant impliqués dans des infections à STEC*.

La faculté vétérinaire de Lugo [39] propose une liste des 11 sérogroupes les plus souvent isolés chez l'homme : O26, O48, O91, O103, O111, O113, O118, O128, O145, O146 et O157. Un listing de tous les sérotypes VTEC* isolés chez des patients humains jusqu'en 2003, avec les références bibliographiques associées, est disponible sur : http://www.microbionet.com.au/VTEC*1u.htm (page visitée en mai 2006) [94].

L'importance des sérogroupes autres que O157:H7 est difficile à déterminer, car ils ne sont pas toujours recherchés. De plus, des infections mixtes ont été décrites, qui impliquent des EHEC* O157:H7 et non O157.

Beaucoup d'études se focalisent sur la recherche du sérotype O157:H7. Ce dernier présente des propriétés biochimiques particulières, qui permettent de le différencier rapidement des autres *E. coli* présentes dans les prélèvements analysés en routine. Ainsi, la majeure partie des souches *E. coli* O157:H7 ne fermentent pas le sorbitol, ne produisent pas de β -glucuronidase, ce qui permet l'utilisation de milieux spécifiques comme le SMAC* (sorbitol Mac Conkey*). De plus, la plupart des souches O157:H7 possèdent le locus chromosomique

TAI (tellurite resistance and adherence-conferring island) qui, comme son nom l'indique, confère à la souche une résistance à la tellurite, ce qui est mis à profit par l'ajout de tellurite dans le milieu d'isolement.

CLARKE *et al.* [110] font remarquer qu'à côté de ce sérotype O157:H7 typique, on a isolé une autre souche chez des patients atteints de SHU*, portant aussi l'antigène O157 mais sans flagelle. Cette souche, appelée SF O157:NM est globalement proche de la précédente, à quelques exceptions près, notamment :

- elle possède le cluster de gène complet qui code pour le flagelle, mais une délétion de 12 pb sur le gène de l'activateur de transcription *flhC* inhibe son expression ;
- elle fermente rapidement le sorbitol, et produit de la β -glucuronidase. Elle ne possède pas le locus TAI, et ne résiste donc pas à la tellurite ;
- elle ne possède ni *katP*, ni *espP*, mais à leur place classique elle possède l'opéron *sfp* qui code pour un nouveau pili et une hémagglutinine. Cet opéron semble spécifique des SF O157:NM. A ce jour il n'a pas été retrouvé sur les autres EHEC*, ni sur d'autres pathovars* d'*E. coli*, ni sur d'autres entérobactéries.

Ainsi, les méthodes classiques de détection d'*E. coli* O157:H7 ne permettent donc pas de les mettre en évidence, ce qui peut sous-estimer l'implication de cette souche en cas de SHU* chez l'homme. La problématique est la même pour les EHEC* non O157, car elles ne présentent pas de propriétés biochimiques communes qui permettraient de les identifier.

Chez les animaux, et chez les ruminants notamment, le nombre de sérogroupes associés est également important. La majorité des sérogroupes des souches isolées chez les animaux a également été retrouvée chez les souches isolées chez des patients humains. A titre d'exemple, la faculté vétérinaire de Lugo [39] dresse la liste des principaux sérogroupes isolés chez les bovins et chez les ovins ; on y retrouve les sérogroupes les plus fréquemment isolés chez l'homme :

Tableau 4: Les principaux sérogroupes associés aux pEHEC retrouvés chez les bovins et les ovins (d'après [39]). Les sérogroupes en gras correspondent aux principaux sérogroupes des souches isolées chez des patients humains d'après [39].

Origine des souches	Nombre de sérogroupes	Sérogroupes associés
Bovine	38	O2, O4, O5, O6, O8, O16, O20, O22, O26 , O39, O41, O45, O46, O64, O74, O77, O82, O91 , O103 , O105, O109, O113 , O116, O126, O128 , O136, O141, O145 , O146 , O153, O157 , O162, O163, O168, O171, O172 et O174=OX3, O177.
Ovine	17	O5, O6, O77, O91 , O104, O110, O112, O117, O119, O123, O128 , O136, O146 , O157 , O166, O174=OX3, et O176

En bref :

Les EHEC* sont caractérisées par leur capacité à produire des Shiga-toxines, codées par des bactériophages porteurs de l'opéron *stx* ; leur virulence peut être complétée par la présence de facteurs de virulence supplémentaires : l'intimine (commune aux EPEC*) et une entérohémolysine. Les EHEC* ne possèdent pas de caractéristiques biochimiques communes, si bien que leur détection ne peut s'appuyer que sur la recherche des toxines Stx ou des gènes *stx*.

Le principal sérotype associé est O157:H7, responsable de la moitié des cas humains environ. Cependant beaucoup d'EHEC* non O157 ont été isolées chez des patients humains, appartenant notamment aux sérogroupes O26, O145, O103 et O111.

5. Concernant les souches EIEC

a) Les EIEC sont proches des Shigelles

Rappelons que les EIEC* - les *E. coli* entéroinvasives - sont à l'origine de syndromes dysentériques. Leur pathogénicité est proche de celle des Shigelles. Ces *E. coli* ont acquis un plasmide, nommé pINV, leur conférant la capacité à envahir les cellules épithéliales, ce qui provoque des ulcérations de la muqueuse du gros intestin chez les personnes atteintes. Selon NATARO ET KAPER [108], le pouvoir invasif est porté en partie par le plasmide pINV et en partie sur le chromosome bactérien. Ce caractère invasif est utilisé dans le test de Sereny*, qui vise à déposer les bactéries suspectes sur des cornées de cobayes. La présence de EIEC* est confirmée si ce dépôt induit une kératoconjonctivite purulente [61].

Les EIEC* et les Shigelles se ressemblent dans leur capacité à envahir les cellules, mais également par des profils biochimiques proches : toutes deux ne dégradent pas le lactose, ne possèdent pas de lysine-décarboxylase... Afin d'aller plus loin dans la recherche de ressemblances entre ces deux souches, LAN *et al.* [76] ont recherché des analogies entre 32 souches EIEC* et des souches de *Shigella* spp., par séquençage de 4 gènes « housekeeping » et de deux gènes portés par le plasmide pINV. A la lumière de leurs résultats, ils déduisent que les Shigelles et les EIEC* ne forment qu'un seul et même pathovar* d'*E. coli*. La première étape conduisant à l'acquisition du caractère invasif serait l'acquisition du plasmide pINV, puis, la perte de certaines capacités cataboliques, comme la capacité à dégrader du mucate ou de l'acétate (90% des souches d'*E. coli* non EIEC* dégradent les deux ; les EIEC* en dégradent au moins un ; les Shigelles n'en dégradent aucun des deux). De même, les souches invasives auraient perdu leur motilité (la plupart des souches EIEC* sont non mobiles, les Shigelles également). La plus grande homogénéité au sein des EIEC* par rapport aux Shigelles, ainsi que leur plus grande ressemblance avec les *E. coli* non invasives s'expliquerait par le fait que les Shigelles sont apparues plus récemment que les EIEC*. Les auteurs supposent même que les EIEC* constitueraient une étape avant le passage au stade Shigelle. Ce passage s'effectuerait par la perte de certaines propriétés cataboliques au grès de la pression de sélection subie par les souches considérées. Cette phylogénie est cependant controversée.

b) Le pouvoir invasif

D'après NATARO ET KAPER [108], la pathogénicité des EIEC* repose à la fois sur leur pouvoir invasif et sur la production de toxines. Sa compréhension est en grande partie inspirée de ce qui se passe chez les *Shigella* spp., transposables chez les EIEC* (la plupart des facteurs de virulence sont communs aux deux groupes bactériens). Le site d'action des EIEC* est la muqueuse colique. Le modèle courant de pathogénicité des EIEC* est le suivant :

- 1) pénétration dans une cellule épithéliale ;
- 2) lyse de la vacuole d'endocytose ;
- 3) multiplication intracellulaire ;
- 4) mouvements directionnels à travers le cytoplasme ;
- 5) extension dans les cellules adjacentes [108].

Si l'infection est sévère, cette séquence d'événements induit une réaction inflammatoire qui se manifeste par des ulcérations.

Les gènes impliqués dans l'invasion des EIEC* sont portés par le plasmide pINV. Parmi ces gènes, *mxi* et *spa* codent pour un appareil de sécrétion de type III, permettant la sécrétion de protéines indispensables à la pathogénicité des souches EIEC*. Les protéines en question sont entre autres IpaA à D, parmi lesquels IpaB, IpaC et IpaD sont des effecteurs du phénotype invasif. Il a été montré que IpaC permet l'entrée de *Shigella* spp. dans les cellules eucaryotes. IpaB serait plutôt impliquée dans la lyse de la vacuole phagocytaire et dans l'induction de l'apoptose des macrophages.

Les mouvements des Shigelles à travers le cytoplasme sont possibles grâce à l'extension d'une queue d'actine fixée à un pôle de la bactérie, et qui s'allonge grâce à l'addition d'actine, propulsant ainsi la bactérie à travers le cytoplasme, le plus souvent dans des directions latérales. La protéine de surface VirG (codée par *IcsA*) est essentielle à la nucléation des filaments d'actine et aux mouvements dans le cytoplasme et vers les cellules adjacentes. La régulation des gènes de virulence des Shigelles est complexe. *VirR* agit conjointement avec *VirF*, un activateur transcriptionnel codé par le plasmide pINV. *VirR* code pour une protéine « histone-like », la protéine *drdX*. *VirF* a de nombreux effets, dont certains sont exercés par l'intermédiaire de l'activateur transcriptionnel VirB.

c) La production d'entérotoxines

Dans la plupart des infections à EIEC* ou *Shigella* spp., seule une diarrhée aqueuse survient. NATARO *et al.* ont cloné et séquencé un gène plasmidique, le gène *sen*, qui code pour une protéine de 63kDa. Une mutation sur ce gène induit une diminution significative de l'activité entérotoxique par rapport aux souches parents. Le rôle de Sen en tant qu'entérotoxine n'est pas prouvé, mais sa présence pourrait expliquer les caractéristiques de diarrhées aqueuses attribuées aux EIEC* [107].

d) Les principaux sérogroupes associés aux EIEC

Le laboratoire de référence d'*E. coli* de la faculté vétérinaire de Lugo (Espagne) dresse une liste des 11 principaux sérogroupes associés aux EIEC [39]: **O28, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167 et O171.**

Parmi ces sérogroupes, certains sont également fréquemment associés à des souches VTEC, isolées chez les bovins (sérogroupes O136 et O171 notamment), et chez les ovins (sérogroupes O112 et O136); on retrouve de même les sérogroupes O29, O136 et O171 parmi les 35 sérogroupes principalement associés aux ETEC isolés chez des patients humains [39].

En bref :

Proches des *Shigella* spp., les EIEC* ont la capacité de franchir la membrane cytoplasmique, et évoluent ensuite à l'intérieur des cellules de leurs hôtes, échappant ainsi au système immunitaire. Le pouvoir invasif de ces souches s'explique en grande partie par des facteurs de virulence codés au niveau du plasmide pINV. La production d'une entérotoxine, appelée Sen, est également suspectée.

6. Concernant les souches EAggEC

a) Symptômes et pathogénicité

D'après NATARO *et al.* [108], les signes cliniques observés sont de la diarrhée, généralement mucoïde, parfois hémorragique ; la présence de leucocytes dans les selles est parfois suspectée (marqueur utilisé : lactoferrine). Les patients n'ont pas de fièvre, ou très peu. CERNA *et al.* [16] précisent également que les EAggEC* sont responsables d'un retard de croissance chez les enfants atteints.

CERNA *et al.* [16] rappellent que la pathogénicité des EAggEC* est couramment décrite par l'adhésion des bactéries grâce à des fimbriæ, suivie de l'exfoliation des cellules épithéliales, entraînant la diarrhée. Une cytokine et plusieurs entérotoxines semblent contribuer à la diarrhée sécrétoire. La flagelline serait impliquée dans le relargage d'interleukine 8 (IL8), responsable d'une inflammation du tube digestif. Quels sont les supports de cette pathogénicité ?

b) Le profil d'adhésion sur cellules Hep-2 des EAggEC

Rappelons que les EAggEC* sont des *E. coli* caractérisés par un type d'adhésion aggrégative en « briques empilées » [61], mis en évidence par culture sur cellules Hep-2*. Elles sont à l'origine chez l'homme d'une nécrose du pôle apical des villosités intestinales, avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous-muqueuse.

Dans leur synthèse sur les EAggEC*, LAW ET CHART [77] font le point sur les méthodes utilisées en 1998 pour mettre en évidence les profils d'adhésion des bactéries. La méthode décrite en 1979 par CRAVIOTA *et al.* permet de mettre en évidence trois profils d'adhésion, « Local Adhesion » LA, « Diffuse Adhésion » DA et « Aggregative adhesion » AA, alors que son adaptation en 1984 par SCALETSKI ne permet de distinguer que les profil LA du profil DA. Les souches AA sont alors classées sous les profils DA ou LA. De plus, le classement des souches dans l'un ou l'autre des profils est laissé à l'appréciation de l'histologiste... ce qui réduit la sensibilité du test. Actuellement, la détermination du profil d'adhésion en briques empilées reste la méthode de référence pour mettre en évidence des EAggEC*.

Cependant, le groupe des EAggEC* est très hétérogène [97, 108]. Le seul fait de découvrir une souche capable de causer des adhésions aggrégatives n'est pas suffisant pour dire que cette souche sera pathogène pour l'homme. La détection de facteurs de virulence spécifiques est nécessaire.

c) Les principaux facteurs de virulence des EAggEC

CERNA *et al.* [16] rappellent que les principaux facteurs de virulence des EAggEC* sont portés par un plasmide de 65MDa, le plasmide AA. Parmi ces facteurs de virulence, on peut citer :

- des fimbriæ d'adhésion aggrégative, AAF/I, AAF/II et AAF/III [98], responsables de l'adhésion en murs de briques des EAggEC*, et de l'hémagglutination des érythrocytes humains, ainsi que de l'auto-agglutination des EAggEC* (NATARO *et al.* [104]). Le gène codant pour AAF/I est divisé en deux régions sur le plasmide AA [105] et code pour la synthèse de 4 protéines aggrégatives, constitutives de AAF/I. Ce dernier est codé par *aggA*, *aggB*, *aggC* et *aggD* [98] ; AAF/II est codée par le gène *aafA* ;
- une protéine anti-agrégative (ou dispersine) Aap (anciennement AspU), mise en évidence en 2002 par SHEIKH *et al.* [141], est excrétée dans le milieu extracellulaire, et est liée de façon non covalente à la surface des bactéries, formant une couche qui disperse les bactéries. Elle contrecarre donc les fimbriæ d'adhésion AAF plutôt favorables à leur rapprochement ;
- un activateur de transcription AggR, qui en milieu acide active la transcription des sous unités de piline AggA [106], constituant le fimbriæ AAF/I. La dispersine Aap est également

sous contrôle de l'activateur AggR [141], de même qu'un large cluster de gènes codé par le chromosome ;

- une entérotoxine : Plasmide Encoding Toxine PET, isolée, caractérisée et séquencée par l'équipe de ESLAVA *et al.* [36], est de la classe des protéines auto-transportées, caractérisée par une région C-terminale très conservée, organisée en feuillets *beta*, formant un pore par lequel est transportée la protéine mature. Des modèles expérimentaux sur jéjunum et iléon de rat tendent à prouver qu'elle peut induire des perturbations de la perméabilité membranaire, pouvant conduire à de la diarrhée (accumulations de fluide *in vitro*, lésions de la muqueuse iléale de rat, diminution de la résistance électrique des tissus de jéjunum de rat *in vitro*).

De plus, d'autres facteurs de virulence, chromosomiques ou plasmidiques, ont été isolés :

- EAST, une toxine de faible poids moléculaire, initialement isolée après un épisode de diarrhée à EAggEC* sur des enfants au Chili. Cette toxine a été retrouvée également chez des EHEC*, des ETEC*, des DAEC*, des EPEC* et des salmonelles [156]. Elle est codée par le gène *aspA*, que l'on retrouve sur le plasmide AA ou sur le chromosome, en une ou plusieurs copies. Différentes variantes de cette toxine ont été trouvées [91], dont l'une est associée à des diarrhées plus sévères chez l'homme : EAST1 isolée sur la souche O-42. A ce jour il n'a pas été montré que EAST1 puisse à elle seule provoquer de la diarrhée [156]. On pense cependant, à la lumière des études épidémiologiques conduites chez l'homme et chez l'animal (le porc principalement), qu'il y aurait une synergie entre EAST1 et d'autres facteurs de virulence portés par les souches pathogènes, comme F4 chez le porc. Il faut noter également qu'au cours d'une épidémie chez l'homme au Japon, le seul facteur de virulence isolé sur les souches d'*E. coli* suspectées d'être à l'origine de cette épidémie est EAST1... L'administration de la toxine purifiée à l'animal permettrait de savoir s'il en résulte une diarrhée ou non...

- une mucinase sécrétée de 116kDa, nommée Pic, codée sur le chromosome, a également été isolée.

d) Détection des EAggEC

Les EAggEC* sont un groupe hétérogène, avec des souches pathogènes pour l'homme et d'autres non. Les mécanismes de virulence ne sont pas bien établis à l'heure actuelle. Si la détermination du profil d'adhésion reste la méthode de référence, elle n'en reste pas moins une méthode longue et coûteuse, nécessitant du personnel qualifié pour reconnaître les modifications histologiques.

La reconnaissance de facteurs de virulence associés reste une solution d'avenir, l'enjeu étant de trouver des marqueurs à la fois spécifiques et fortement présents au sein des EAggEC*.

Classiquement, l'amorce CVD432 est utilisée pour détecter le plasmide AA. Elle s'hybride avec 89% des souches EAggEC* confirmées par adhésion sur cellules Hep-2*, mais sa sensibilité varie beaucoup selon les études. Le gène *astA* a également été proposé, mais s'avère être peu spécifique du fait qu'on retrouve des toxines EAST1 dans des souches non EAggEC* [156].

Afin d'améliorer la détection des EAggEC*, CERNA *et al.* [16] ont évalué une méthode de détection par PCR* multiplex, avec amplification de trois séquences portées par le plasmide AA. Ils proposent ainsi d'utiliser trois amorces *aggR*, *aap* et une amorce AA autre que CVD432 pour détecter ce plasmide par PCR* et par hybridation sur empreinte de colonies*. La PCR* permet de mettre en évidence 24 des 28 souches reconnues EAggEC* par essai sur cellules Hep-2*, avec pour 23 d'entre elles l'amplification des trois amorces. L'hybridation sur empreinte de colonies* permet de détecter 23 souches, avec, pour 20 d'entre elles, hybridation avec les 3 amorces.

MOON *et al.* [98] ont recherché par PCR* les gènes *aggA*, *aggR*, *aafA*, *astA*, *pet* et *pic*

dans neuf souches isolées dans les fèces de 53 enfants diarrhéiques en 2003. Toutes les souches ont présenté un profil agrégatif sur cellules Hep-2*, et étaient positives pour *aggR* et *astA*. 8/9 se sont révélées positives pour *Pic* et 3 pour *aafA* et *Pet*. Les auteurs concluent de cette étude que *aggR* est un bon marqueur pour la recherche des EAggEC*.

e) Les principaux sérogroupes associés aux EaggEC

Le laboratoire de référence d'*E. coli* de la faculté vétérinaire de Lugo (Espagne) dresse une liste des 38 principaux sérogroupes associés aux EIEC [39]: **O3, O4, O5, O6, O7, O9, O11, O15, O17, O21, O25, O44, O51, O55, O59, O69, O73, O77, O78, O85, O86, O91, O92, O99, O104, O106, O111, O113, O114, O125, O126, O130, O131, O134, O141, O153, O162 et O168.**

Parmi ces sérogroupes, 3 sont également associés aux EHEC* (O91, O111 et O113), 14 sont également associés aux ETEC* isolés chez l'homme (O4, O6, O7, O9, O15, O17, O21, O25, O77, O78, O85, O114, O126 et O153), et 13 sont également associés aux ExPEC* uropathogènes et septicémiques (O4, O6, O7, O9, O11, O15, O17, O21, O25, O77, O78, O85 et O86).

En bref :

Le groupe des EAggEC* est très hétérogène, regroupant des souches pathogènes pour l'homme et d'autres non ; leur principale caractéristique est la formation de lésions agrégatives en briques empilées, observées *in vitro* sur cellules Hep-2*. Les gènes codant pour ce profil d'adhésion sont portés par un plasmide AA, dont la mise en évidence peut passer par la recherche PCR* d'un gène de régulation. Certaines souches produisent également une toxine : EAST1, également produite par d'autres pathovars* d'*E. coli*.

7. Concernant les souches ExPEC

a) Caractéristiques communes aux ExPEC

Rappelons que les infections à ExPEC*, communes aux hommes et aux animaux, peuvent entraîner une infection au niveau de tout organe ou site anatomique. Le plus souvent, ces infections incluent des infections du tractus urinaire (ITU), des méningites néonatales, mais elles peuvent également comprendre diverses infections intra-abdominales, des pneumonies, des infections des tissus mous, des coagulations intra-vasculaires disséminées (CIVD), des ostéomyélites [89].

Les ExPEC* portent des facteurs de virulence comme des adhésines, des fimbriæ, des hémolysines et des aërobactines qui participent à la pathogénicité de ces bactéries.

Rappelons que la pathogénicité des ExPEC* repose sur [86] :

- le franchissement d'une muqueuse, digestive ou respiratoire ;
- la dissémination dans l'organisme par voie sanguine, ce qui implique la survie de la bactérie dans le sang ;
- la colonisation d'un organe cible avec adhésion, internalisation et multiplications intracellulaires.

(1) *Le franchissement des muqueuses par les ExPEC*

Cette étape est encore peu connue. Globalement, trois mécanismes sont décrits dans le monde bactérien, qui permettent le franchissement de la barrière intestinale [86] :

- pénétration *via* les cellules M des plaques de Peyer suivie de pénétration dans les entérocytes par la base et extension collatérale (décrit chez *Shigella* et les EIEC*) ;
- pénétration *via* les cellules M des plaques de Peyer suivie d'invasion de la sous-muqueuse et de dissémination plus ou moins lointaine selon les espèces (décrit chez *Yersinia*) ;
- pénétration *via* les entérocytes après réorganisation des microvillosités et du cytosquelette suivie de transcytose et de dissémination (décrit chez *Salmonella*).

Aucun de ces modèles ne permet de retracer la façon dont les ExPEC* franchissent la barrière intestinale. L'implication des toxines CDT* et CNF* est suspectée [86], mais leur absence dans certaines souches ExPEC* isolées chez des patients humains relance le débat.

Pour ce qui est du franchissement de l'épithélium urinaire, un modèle est présenté pour les DAEC* : après fixation des adhésines à des récepteurs cellulaires spécifiques, il y a recrutement de ces récepteurs au niveau du site de fixation, ce qui permet à la bactérie d'être véritablement entourée par la membrane cellulaire avant d'être internalisée.

(2) *Invasion et échappement aux défenses immunitaires*

Pour survivre dans l'organisme, les bactéries invasives doivent échapper aux défenses internes constitutives et acquises de l'hôte. En ce qui concerne le contournement des défenses constitutives, trois stratégies sont globalement décrites [86] :

- séquestration du fer ;
- échappement à la phagocytose ;
- résistance à l'activité bactéricide du complément.

(a) Séquestration du fer

Les bactéries ont besoin de fer pour se développer. Cependant, chez les être vivants, le fer libre est rare (concentrations plasmatiques de l'ordre de 10^{-8}). Les pools de fer se situent dans les cellules (associés aux hèmes de l'hémoglobine notamment) ou dans les fluides biologiques, associés à des globulines (transferrine dans le sang, lactoglobuline dans le lait). Différents mécanismes sont mis en place au sein du monde bactérien pour avoir accès à ce fer : lyse cellulaire et dégradation de l'hémoglobine ; récepteurs à la transferrine ou à la lactoglobuline ; synthèse de sidérophores, molécules qui ont une forte affinité pour le fer et

peuvent ainsi capter le fer porté par les globulines de l'hôte.

Les ExPEC* séquestrent le fer de leur hôte *via* la synthèse de sidérophores. Plusieurs systèmes sont impliqués :

- le système entérobactine : cette protéine fixe des ions ferriques Fe^{+++} , puis va se fixer sur un récepteur membranaire bactérien. Le complexe est pris en charge par un transporteur périplasmique puis gagne le cytoplasme bactérien où une estérase permet la libération de Fe^{++} ;
- le système aéro bactéine : l'aéro bactéine fixe des ions Fe^{+++} qu'elle libère après fixation sur un récepteur de la membrane externe. Elle est ensuite recyclée et le fer gagne la membrane cytoplasmique par un système de transport actif encore mal connu ;
- le système yersiniabactine, encore mal connu ;
- le système de sidérophores IroN et IreA, d'identification récente. IroN code pour un récepteur (Salmocheline) qui se lie à l'entérobactine avec beaucoup d'affinité [96].

Les supports génétiques de ces systèmes sont souvent des éléments mobiles du génome, traduisant leur capacité à se répandre au sein d'une population bactérienne :

Tableau 5 : Les supports génétiques des différents sidérophores rencontrés chez les ExPEC (d'après [85]).

Nom	Support génétique
Aéro bactéine	Plasmide ou chromosome : codé par 5 gènes <i>iuc</i> (Iron Uptake Chelate) et un gène <i>iut</i> (Iron Uptake Transport), souvent situé sur le plasmide ColV, mais également sur le chromosome bactérien pour les souches EIEC*.
Entérobactine	Chromosome : codé par un groupe de gènes chromosomiques, entre autres <i>entA-F</i> qui codent pour l'entérobactine, <i>fepA-G</i> qui codent pour le récepteur membranaire FepA et pour le transporteur périplasmique FepB...
Yersiniabactine	Chromosome : îlot de pathogénicité HPI de <i>Yersinia</i> spp.
Système IreA et IroN	Chromosome.

La présence concomitante de plusieurs systèmes de captation du fer sur une même souche est intrigante. DEZFULIAN *et al.* [30] émettent l'hypothèse que le « choix » du sidérophore exprimé se ferait en fonction de l'environnement dans lequel elles évoluent, ou du stade de l'infection. Par ailleurs, ces auteurs rappellent que les sidérophores peuvent également affecter le système immunitaire, et notamment réduire la prolifération des lymphocytes T. Cette propriété peut également contribuer à l'avantage sélectif des souches ayant trois systèmes de sidérophores.

(b) Echappement à la phagocytose

L'intrusion d'un élément étranger dans l'organisme déclenche la mise en place d'une réaction immunitaire non spécifique visant à le détruire. La phagocytose, ou digestion d'un élément reconnu comme du non-soi par des phagocytes, est au cœur de ce système de défense. Elle est souvent schématisée en 4 étapes [86]:

- I) migration dirigée de phagocytes neutrophiles et macrophages d'origine locale et sanguine vers le site d'infection;
- II) liaison avec les bactéries, après opsonisation éventuelle, et phagocytose ;
- III) stimulation du métabolisme oxydatif ;
- IV) fusion phagosome/lysosome et mise en action des mécanismes tueurs des lysosomes ;
- V) élimination des débris et déclenchement de la réponse immunitaire par présentation d'épitopes à la surface en combinaison avec les complexes majeurs d'histocompatibilité.

Les bactéries envahissantes peuvent se défendre contre la phagocytose en prévenant l'afflux de cellules phagocytaires, en évitant la phagocytose elle-même ou en échappant à la destruction après phagocytose : soit par lyse du phagosome, soit par inhibition de la fusion avec les lysosomes, soit par résistance aux mécanismes de destruction des lysosomes [86].

Comme les ExPEC* ne sont pas des bactéries intracellulaires facultatives, elles ne pourraient survivre après ingestion par les cellules phagocytaires. Il leur faut donc prévenir l'afflux de phagocytes ou la phagocytose. Le mécanisme le plus fréquent est la prévention de la phagocytose elle-même [86].

Les facteurs de virulence associés à l'échappement de la phagocytose sont principalement les antigènes de surface K, avec en chef de file l'antigène K1, porté par les souches responsables de méningites néonatales chez l'homme [86]. Le rôle des antigènes O dans l'échappement de la phagocytose est suspecté mais non prouvé.

(c) Résistance à l'activité bactéricide du complément

Le système du complément est également un pilier central de la réaction immunitaire. Le contourner permet donc aux bactéries qui en sont capables de se répandre dans l'organisme de l'hôte.

L'antigène K1, contenant de l'acide N-acétyl-neurominique, est capable de bloquer la voie alternative du complément. De plus, il est peu immunogène, stimulant faiblement la voie classique.

L'antigène O est également capable de bloquer la voie alternative, surtout quand il est très ramifié, car il induit un encombrement stérique qui gêne la fixation des molécules du complément impliquées dans la lyse bactérienne.

L'insertion de protéines comme Iss, TraP ou OmpA dans la membrane bloque aussi la lyse bactérienne par la voie alternative du complément.

b) Caractéristiques des principaux ExPEC

(1) *Les UPEC, Urinary Pathogenic E. coli*

Ce pathovar* est capable de coloniser les voies urinaires, et d'atteindre le rein par voie ascendante. Le plus souvent, les bactéries responsables d'infections urinaires gagnent l'appareil urinaire par voie rétrograde, causant des cystites, des pyélonéphrites ou des atteintes glomérulaires. La colonisation de ce milieu met en jeu :

- un système d'adhésion à l'épithélium urinaire ;
- un système de captation du fer ;
- des toxines et protéases ;
- d'autres facteurs de virulence : une capsule et les LPS qui protègent la bactérie de la phagocytose et empêchent l'activation du complément.

Différents systèmes d'adhésion sont rencontrés au sein des UPEC* [3], parmi lesquels :

- les pili de type 1, porteurs d'une adhésine FimH, qui permettent l'adhésion aux cellules épithéliales de la vessie ;
- les pili P et leur adhésine PapG, sont souvent associés aux souches responsables de pyélonéphrites ;
- les adhésines Afa/Dr des souches DAEC* ;
- des pili S.

Les systèmes de captation du fer rencontrés sont le plus souvent l'aérobactine, les sidérophores IroN et IreA.

Trois toxines ont été identifiées sur les souches UPEC* [3] : une hémolysine, HlyA, une toxine CNF*-1 et une sérine Sat.

- HlyA provoque la formation de pores dans la membrane cellulaire, d'où des pertes de calcium, pouvant conduire à la mort des cellules tubulaires et rénales sur des modèles *in vitro* ;
- la sérine Sat, secreted autotransported, a des effets cytotoxiques sur les cellules du tractus urinaire *in vitro* ;
- Le CNF*-1 (cytonecrosis factor 1) influe sur le cytosquelette cellulaire et peut conduire *in vitro* à la mort de cellules vésicales et à l'inhibition de la phagocytose par les granulocytes polynucléaires neutrophiles.

Certains chercheurs ont proposé de créer un nouveau groupe d'*E. coli*, les NTEC* pour Necrotoxicogenic *E. coli*, regroupés par leur capacité à synthétiser un facteur de nécrose cytotoxique CNF*. Au moins deux types de CNF* ont été mis en évidence : CNF*-1 et CNF*-2. Ces deux toxines induisent un élargissement et une multinucléation des cellules Vero* et HeLa*, provoquent des nécroses sur de la peau de lapins et sont mortelles pour les souris. Le rôle de ces toxines dans la pathogenèse des souches est incertain. CNF*-1 est plutôt associé à des souches UPEC*, alors que CNF*-2 est plutôt associé à des souches diarrhéogènes.

Deux protéases ont également été identifiées [3] : Pic et TSH, qui sont souvent associées aux souches impliquées dans les pyélonéphrites.

ANDERSON *et al.* [3] décrivent la formation par les UPEC* de « communautés bactériennes intracellulaires » (CBI*), formées par internalisation d'UPEC* dans les cellules superficielles de la vessie. Ces bactéries intracellulaires se multiplient ensuite, formant une sorte de biofilm dans la couche superficielle de cellules épithéliales vésicales. Parfois, des bactéries sont libérées dans la lumière vésicale, et vont « coloniser » d'autres cellules, donnant naissance à une autre communauté. La formation de ces CBI* permet aux UPEC* d'échapper à la réaction immunitaire de leurs hôtes, et aux antibiotiques extracellulaires. Les CBI* expliquent les rechutes fréquentes lors d'infection du tractus urinaire malgré un traitement antibiotique adéquat.

(2) Les ExPEC impliqués dans les méningites néonatales (NMEC)

Le groupe des ExPEC* responsable de méningites néonatales est restreint [10]. 80% des souches impliquées dans des méningites néonatales humaines sont de sérotype capsulaire K1, associé au sérotype O18 et O19 dans 50% des cas. Les souches les plus souvent isolées sont historiquement O18:K1:H7 et O7:K1, réparties mondialement, et plus récemment O83:K1 aux Pays Bas notamment et O45:K1:H7 en France et en Hongrie, avec des prévalences proches de celle du sérotype O18:K1:H7. L'analyse génomique par ribotypage confirme le fait que peu de clones sont capables d'induire des méningites.

Pour induire des méningites, les NMEC* doivent [10] :

- 1) gagner le secteur sanguin ;
- 2) survivre et se multiplier dans le secteur vasculaire ;
- 3) passer la barrière hémato-méningée.

(a) L'atteinte du secteur sanguin

Trois voies d'entrée sont décrites [10] :

- la translocation à travers la barrière intestinale (dans la majorité des cas), ce qui est possible dès que la concentration en NMEC* dans les fèces est proche de 10^8 . Les facteurs de virulence impliqués dans la translocation sont encore méconnus, avec un rôle suspecté de l'antigène K1 dans la colonisation intestinale [10] ;
- la traversée de l'épithélium urinaire suite à une ITU* (dans 20% des cas). Certaines souches portent des facteurs de virulence associés aux ITU* : O45:K1:H7 est responsable d'urosepsis chez l'adulte, et exprime l'allèle *pap2*, codant pour une adhésine de type PagG [10]. La présence de ce facteur de virulence explique la persistance des souches dans le

tractus urinaire. Pour ce qui est du passage de l'épithélium urinaire, rien n'est démontré à ce jour.

- le passage dans le sang fœtal *in utero*, lors de bactériémie chez la mère, souvent secondaire à une pyélonéphrite.

(b) Les facteurs de virulence retrouvés chez les NMEC

Les mécanismes qui permettent aux NMEC* de gagner l'espace sous-arachnoïdien sont encore mal connus. Des modèles expérimentaux et la meilleure connaissance des génomes de souches NMEC* donnent des éléments de réponse sur les facteurs de virulence impliqués. Ainsi, l'étude des souches O18:K1:H7 a permis de mettre en avant certains de ces facteurs. Le groupe des O18:K1:H7 est très homogène. Ces bactéries expriment des fimbriæ récemment mis en évidence [10], MatB, que l'on ne retrouve pas chez les autres *E. coli*, ainsi que des pili de type 1, des pili S, mais pas de fimbriæ P ni 1C. Ils ne produisent pas d'hémolysine. L'étude *in vitro* du passage de la barrière hémato-méningée par ces souches a permis de mettre en avant qu'il faut initialement une forte quantité de bactéries dans le sang. Cette phase impliquerait l'antigène de capsule K1 (retrouvé chez 81 à 89% des souches analysées) et la salmocheline IroN (retrouvées dans 62 à 64% des souches analysées). Ensuite, les *E. coli* se fixent aux cellules de la barrière avant de les envahir. Pour induire des méningites, il faut que les bactéries traversent la barrière en vie. Différents facteurs sont impliqués dans le phénomène d'invasion (antigène de capsule K1 ; fimbriæ S retrouvés dans 28 à 59% des souches isolées ; invasine IbeA retrouvée dans 32 à 38% des souches isolées ; CNF*-1 retrouvée dans 9 à 10% des souches isolées, ...) mais le mécanisme exact n'est pas élucidé. De plus, certaines souches sont dépourvues d'adhésines spécifiques (comme SfaS) ou d'invasine (comme IbeA) et peuvent tout de même traverser la barrière hémato-méningée.

Des sidérophores sont également retrouvés chez les NMEC* : salmocheline chez 62 à 64% des souches, Yersiniabactine chez 94 à 99% et Aéro bactéine chez 61 à 80% [10].

Aucun des facteurs de virulence précédemment cités n'est constamment associé aux souches NMEC*. Leur pathogénicité semble plutôt conférée par différentes combinaisons de déterminants génétiques dont certains restent inconnus [10]. Globalement, la survenue d'une méningite à NMEC* peut être considérée comme une conséquence d'un déséquilibre entre les défenses de l'hôte et les facteurs de virulence des *E. coli*.

(3) *Les ExPEC agents de septicémie*

MOKADY *et al.* [96] ont synthétisé les connaissances actuelles issues de la comparaison des génomes de deux souches septicémiques aviaires de sérotype O78 et O2, par comparaison de 158 gènes de *E. coli* K12, via la méthode « suppressive subtractive hybridization* ». 45 séquences spécifiques ont été trouvées parmi les 14 souches septicémiques comparées. Parmi ces séquences, quelques unes sont retrouvées dans toutes les souches septicémiques, ce qui laisse supposer qu'elles sont d'acquisition ancienne, alors que d'autres ne sont présentes que sur quelques souches, laissant penser à une acquisition plus récente. Peu de gènes de virulence communs ont été trouvés. MOKADY *et al.* [96] concluent que les souches septicémiques utilisent différents gènes pour jouer le même rôle. Chaque souche possède une combinaison unique de gènes, conduisant à un tableau clinique identique. Ainsi, un large pool de facteurs de virulence est accessible aux souches septicémiques. MOKADY *et al.* [96] classent ce pool de facteurs de virulence en 5 catégories :

(a) Des adhésines

De nombreuses adhésines sont retrouvées sur les souches ExPEC* septicémiques. Par exemple des fimbriæ P sont associés aux souches O2 ; des pili AC/I aux souches O78 (proches des pili S des souches impliquées dans les méningites néonatales humaines), associées à une adhésine présumée non fimbriaire, et un fimbriæ long polaire (lpf). Ils rapportent également que l'adhésion de souches humaines se fait souvent *via* des fimbriæ P,

alors que celle des souches bovines se fait par les facteurs de colonisation F5 (=K99).

GYLES *et al.* [51] citent à titre d'exemple le complexe fimbriaire F165 qui est produit par les souches impliquées dans la septicémie chez les porcelets, veaux et humains [51]. La souche F165 positive de *E. coli* O115, qui cause la septicémie chez le porc, exprime au moins deux fimbriae qui sont sérologiquement et génétiquement distincts F165₁ et F165₂.

Les F165₁, encodés par le groupe de gènes *foo*, sont associés au fimbriae F11, un membre de la famille des fimbriae P, et porte l'adhésine G de classe III. Les mutants F165₁ négatifs d'une souche pathogène d'*E. coli* O115 sont moins virulents chez les porcs infectés expérimentalement.

Les fimbriae F165₂, encodés par le groupe de gènes *fof*, sont étroitement reliés au fimbriae F1C qui s'attache au plasminogène et augmente la formation de plasmine par la présence d'activateur. A ce jour, l'implication de F165-2 dans la colibacillose porcine n'est pas démontrée.

(b) Une capsule

Des gènes capsulaires sont fréquemment rencontrés : K1 pour O2, capsule de type IV pour O78.

(c) Le plasmide ColV

Ce plasmide est fréquemment retrouvé chez les ExPEC*. Il code pour des colistines* V, le système de sidérophore « aérobactine », des facteurs de résistance sérumiques. D'autres systèmes de séquestration du fer, codés sur le chromosome, sont également présents.

(d) Des systèmes de sécrétion des protéines de type III

Ils sont fonctionnels et nécessaires aux souches septicémiques. Les protéines sécrétées semblent également impliquées, comme OmpA, dont le rôle pathogène est supposé, car elle est capable de fixer une élastase neutrophile, enzyme aux propriétés bactéricides.

(e) Des toxines

MOKADY *et al.* [96] précisent que des toxines ont été retrouvées, mais ne sont pas considérées comme des facteurs critiques de virulence.

c) Les principaux sérogroupes associés aux ExPEC

Le laboratoire de référence d'*E. coli* de la faculté de Lugo (Espagne) [39] dresse une liste des principaux sérogroupes associés à quelques ExPEC*. Les critères de définitions des ExPEC pris en compte ici sont cliniques (isolement des souches chez des patients) ou phénotypiques pour les souches NTEC citées.

Tableau 6: Les principaux sérogroupes associés aux ExPEC isolés chez l'homme et chez les animaux (d'après [39]).

Pathovar	Nombre de sérogroupes	Sérogroupes
<i>E. coli</i> septicémiques d'origine aviaire	26	O1, O2, O5, O6, O8, O9, O11, O12, O14, O15, O17, O18, O20, O35, O36, O45, O53, O78, O81, O83, O88, O102, O103, O115, O116 et O132.
UPEC et <i>E. coli</i> septicémique isolés chez des patients humains	25	O1, O2, O4, O6, O7, O8, O9, O11, O12, O14, O15, O16, O17, O18, O21, O22, O25, O50, O75, O77, O78, O81, O83, O85 et O86.
NTEC1 isolés chez l'homme et l'animal	24	O1, O2, O4, O5, O6, O8, O9, O12, O14, O18, O21, O22, O24, O25, O29, O54, O75, O76, O78, O83, O85, O86, O91 et O117.
NTEC2 isolées chez des bovins	18	O1, O2, O3, O8, O14, O15, O55, O75, O78, O86, O88, O115, O117, O121, O123, O147, O153 et O168.

En bref :

Les ExPEC* forment un groupe hétérogène d'*E. coli*, pouvant se disséminer partout dans l'organisme, le plus souvent impliqués lors d'infections du tractus urinaire, de méningites néonatales ou de septicémies. Une grande diversité est rencontrée au sein des souches ExPEC*, avec un pool de facteurs de virulence accessible, dont le panachage définit la pathogénicité de la souche porteuse. Parmi ces facteurs, les adhésines jouent un rôle central, permettant la colonisation de milieux extra-digestifs, l'internalisation des souches et l'échappement aux réactions immunitaires de leurs hôtes.

8. Concernant les souches DAEC

Initialement, le terme de « Diffusely adherent *E. coli* » (*E. coli* à adhésion diffuse) était utilisé pour désigner toute colonie qui adhérait aux cellules Hep-2*, sans former de micro colonies EPEC*-like. Avec la découverte des EAaggEC*, les DAEC* ont ensuite été présentées comme une classe à part, potentiellement pathogène pour l'homme, caractérisée par sa capacité à former des lésions diffuses sur cellules Hep-2* [77].

a) Classification et détection des DAEC

SERVIN [140] présente une classification des DAEC* en deux classes :

Tableau 7: Classification des DAEC (d'après SERVIN [140]).

Classes	Sous classes	Adhésines couramment associées :
DAEC* typiques : 1) organisation génomique identique 2) se lie au « decay accelerating factor » DAF ^(#) 3) favorise le regroupement de ces facteurs DAF	DAEC* capables de se fixer sur le « carcinoembryonic antigen », CAE	AfaE-III ; Dr ; F1845
	DAEC* incapables de se fixer sur le CAE	AfaE-I ; DrII ;
DAEC* atypiques : 1) organisation génomique identique 2) ne se lie pas au DAF	DAEC* atypiques qui expriment classiquement une des adhésines désignées ci-contre	AfaE-VII, AfaE-VIII, AAF-I, AAF-II, AAF-III
	DAEC* atypique qui porte un îlot de pathogénicité*	AIDA-I et LEE : on parle de DA-EPEC* ; AfaE-I + LEE : on parle de ET5 DA.

^(#) Les adhésines Afa, Dr et F1845 reconnaissent des sites distincts de la molécule appelée "decay accelerating factor" ou DAF, une glycoprotéine membranaire qui régule la cascade du complément et protège les cellules eucaryotes contre une action mal dirigée de ce dernier. Le DAF est présent sur de nombreuses cellules, mais sa densité varie en fonction du tissu, de la cellule et du groupe sanguin : les globules rouges du groupe sanguin Dr, les cellules endothéliales et les cellules épithéliales urinaires et intestinales en sont particulièrement riches. Le DAF est aussi présent sur la surface des cellules HeLa* et Hep-2* en culture, donnant par là l'image typique de l'adhésion diffuse des souches DAEC* qui produisent ces adhésines [85].

Le récepteur de l'adhésine Afa-VIII est différent du DAF, mais pourrait être proche de celui de l'adhésine M. L'adhésine M reconnaît un récepteur différent, à savoir la glycophorine AM qui fait partie du groupe sanguin M. Les adhésines Nfa reconnaissent aussi un récepteur différent, à savoir l'entité N-acétyl-D-glucosamine, comme les adhésines fimbriaires F17.

La détection des souches DAEC* repose classiquement sur la recherche de profils d'adhésion diffus sur cellules Hep-2* ou sur cellules HeLa*. De plus en plus d'équipes mettent au point des méthodes d'identification par PCR* de séquences de gènes codant pour les adhésines d'adhésion diffuse.

b) Les signes cliniques associés

Les DAEC* sont principalement capables d'induire des signes cliniques extra-intestinaux. Ainsi, SERVIN [140], dans sa revue sur les DAEC* porteurs de l'adhésine Afa/Dr,

fait état de souches DAEC* responsables d'infections urinaires : des DAEC* sont isolés dans 25 à 30% des cystites chez les enfants, et dans 30% des cas de pyélonéphrites chez les femmes enceintes.

Par contre, leur implication dans les diarrhées est controversée : ainsi, l'administration expérimentale de deux souches DAEC* à deux groupes d'adultes volontaires, aucun des 43 adultes n'a déclaré de diarrhée, malgré la positivité en DAEC* des échantillons de fèces prélevés [148]. L'isolement de souches DAEC* dans les fèces d'enfants diarrhéiques rapporté par d'autres études tend à faire penser le contraire [140, 108, 92]. Une étude rapporte le cas de patients atteints de diarrhées aqueuses, sans sang ni leucocytes fécaux [108]. Une hypothèse a été avancée pour expliquer les différences épidémiologiques observées : la fenêtre d'âge de réceptivité maximale aux DAEC* serait étroite, située entre 1 et 5 ans [92]. Les études conduites sur d'autres populations tendraient donc à sous-estimer l'importance réelle des DAEC* [108].

La présence de DAF sur les cellules endométriales a été mise en évidence, ce qui impliquerait que ces cellules soient des cibles potentielles pour les DAEC*. Des études suspectent la présence de DAEC* dans les sérosités utérines lors d'accouchements prématurés chez la femme ; des modèles murins confirment l'implication des DAEC* dans les mises bas prématurées.

c) Les facteurs de virulence des DAEC typiques

Il convient de distinguer ce qui se passe au niveau des cellules épithéliales urinaires de ce qui se passe dans l'intestin [140]:

(1) *Au niveau de l'épithélium urinaire*

Globalement, le mode d'action des DAEC* responsables d'ITU* peut être résumé en deux étapes : une étape d'adhésion aux cellules de l'épithélium urinaire, et une étape d'internalisation, permettant la survie de ces DAEC* au sein de vacuoles cytoplasmiques. Les molécules impliquées aux différentes étapes sont de mieux en mieux connues :

(a) Les facteurs d'adhésion

L'adhésion met en cause les adhésines exprimées par les Afa/Dr DAEC*, qui se lient en particulier au collagène de type IV et au DAF. La liaison au collagène de type IV est nécessaire à l'adhésion des DAEC*, mais elle n'induit pas de lésions urinaires. En revanche, l'adhésion aux DAF n'est pas nécessaire dans le modèle de colonisation urinaire murin. Cependant, les DAF des souris diffèrent légèrement des DAF de l'homme, ce qui pose des problèmes d'extrapolation.

Les capacités d'adhésions des DAEC* responsables d'ITU* expliqueraient l'implication de ces souches dans les atteintes urinaires chroniques, en permettant leur persistance au site d'infection.

(b) Les facteurs d'internalisation

L'internalisation des DAEC* responsables d'ITU* met en jeu un système dit « en fermeture éclair » (zipper-like) : la fixation de DAEC* responsables d'ITU* sur les récepteurs DAF entraîne leur recrutement sur le site d'adhésion. La bactérie va ainsi s'entourer de membranes cellulaires *via* les interactions entre ces adhésines et les récepteurs regroupés autour d'elle. Ces liaisons induisent également le déclenchement d'une cascade réactionnelle intracellulaire, aboutissant à un réarrangement structurel du cytosquelette, avec élongation de pseudopodes, permettant à terme l'internalisation de la bactérie adhérente au sein d'une vacuole. L'internalisation met en jeu des sphingolipides et des cholestérols (regroupés sous le terme de « lipids raft ») présents dans la membrane cellulaire, qui sont recrutés au niveau du site d'internalisation. Ce mécanisme d'action est proche de celui développé entre autres par *Yersinia* spp., mais il ne met pas en cause la même cascade réactionnelle.

Les facteurs de virulence impliqués dans l'internalisation ne sont pas tous connus. A ce jour, on peut citer l'adhésine DraE qui se fixe sur un récepteur DAF et recrute une intégrine (l'intégrine $\alpha_5\beta_1$) pour permettre l'internalisation. Une invasine, AfaD, a également été mise en évidence sur des souches ayant l'adhésine AfaE-III : AfaE-III permettrait l'adhésion alors que AfaD serait nécessaire à l'internalisation.

(c) Les facteurs permettant la vie intracellulaire

La survie des DAEC* responsables d'ITU* dans les cellules est encore inexpliquée. On a cependant observé qu'elles restaient dans des vacuoles cytoplasmiques.

(2) *Sur les cellules intestinales*

(a) Les facteurs d'adhésion

Les adhésines permettent là encore la fixation à certains récepteurs exprimés par les cellules épithéliales, notamment du collagène de type IV, DAF, CEACAM1, CEA ou CEACAM6.

La fixation de l'adhésine induit l'activation d'un signal de transduction intracellulaire, qui aboutit à des lésions fonctionnelles et structurelles de la bordure en brosse (effacement des microvillosités, réarrangement du cytosquelette et formation de néomicrovillosités) et des jonctions serrées (perte de l'étanchéité cellulaire).

(b) Les facteurs induisant une réaction inflammatoire

La fixation des DAEC* induit une réaction pro inflammatoire, avec libération de cytokines dont TNF- α , lequel va stimuler l'expression de récepteurs membranaires reconnus par l'adhésine (notamment DAF), et qui peut induire une inflammation chronique au niveau du site d'adhésion. 7 des 19 souches Afa/Dr répertoriées sont également capables d'induire la sécrétion d'IL-8 [92], mécanisme qui fait intervenir le flagelle.

La différence majeure avec le mécanisme d'action au niveau des cellules épithéliales urinaires réside dans le fait qu'il n'y a pas d'internalisation des DAEC* au niveau de l'intestin.

(c) Une entérotoxine

Certaines souches de DAEC* portent le gène *sat* codant pour une entérotoxine. En effet, dans une étude brésilienne, le gène *sat*, codant pour la sérine Sat (Secreted autotransported) a été mis en évidence sur des souches DAEC* [140]. Une autre étude brésilienne [3] a montré que cette sérine est capable d'induire des dommages sur des cellules intestinales de lapin en culture, ainsi que sur des cellules épithéliales. La découverte de cette toxine conforte la thèse selon laquelle les DAEC* seraient des agents de diarrhées. Cependant, le fait que ces souches disposent de facteurs de virulence pouvant induire des diarrhées ne suffit pas à faire des DAEC* des agents de diarrhées. La question de l'émergence de ce pathovar* dans la lumière intestinale, au milieu des autres coliformes, n'est pas réglée. La mise en jeu d'hormones bactériennes, impliquées dans le « quorum sensing » permettant aux bactéries de percevoir la densité cellulaire du milieu dans lequel elles évoluent, est suspectée.

d) **Les facteurs de virulence des DAEC atypiques**

Selon la classification proposée par SERVIN [140], les souches atypiques sont divisées en deux sous classes. Le mécanisme d'action des DAEC* atypiques de sous classe 1 est peu connu ; leur adhésion est effectuée par les adhésines qu'ils expriment (AfaE-VII, AfaE-VIII,

MERZAZ *et al.* [92] ont étudié les mécanismes de pathogénicité mis en œuvre par les DAEC* atypiques. Ils ont récemment mis en évidence que :

- certaines souches atypiques sont capables d'induire la sécrétion d'interleukine 8 (IL8[#]) à des teneurs identiques à celles permises par les souches Afa/Dr ayant cette propriété ;
- la sécrétion des IL-8[#] est associée à l'invasion des cellules (plus il y a de cellules intracellulaires, plus les teneurs en IL-8 sont élevées) ;
- les mécanismes d'invasion des DAEC* atypiques dépendent à la fois de réarrangements des microtubules et des microfilaments, alors que ceux des DAEC* typiques sont uniquement dépendants des microtubules ;
- contrairement aux souches Afa/Dr, la sécrétion d'IL-8[#] induite par certains DAEC* atypiques n'est pas toujours favorisée par la présence de flagellines.

[#]IL8 est une molécule impliquée dans la phase précoce de la réponse immunitaire aiguë ; elle a été isolée dans les fèces de patients atteints de diarrhées à EAggEC* [92]. L'induction de sa sécrétion par certaines souches DAEC* conforte la thèse selon laquelle ces souches seraient capables d'induire des diarrhées.

KELLER *et al.* [68] ont mis en évidence pour la première fois la présence de Afa chez des souches EPEC* typiques. Ces souches étaient capables d'exprimer les deux profils d'adhésion sur cellules Hep-2*. Ils ont émis l'hypothèse que la possession de gènes d'adhésion diffuse par des EPEC* leur conférait un avantage compétitif, en favorisant l'adhésion des souches à la muqueuse intestinale, facilitant ainsi sa colonisation. L'observation des lésions d'adhésion laisse penser que l'adhésion diffuse aurait lieu précocement dans le processus d'adhésion, suivi par la liaison de l'intimine à son récepteur Tir.

En bref :

Le groupe des DAEC* regroupe des souches porteuses de facteurs d'adhésion diffuse, adhésines Afa et Dr d'une part, adhésines non Afa/Dr d'autre part. La pathogénicité de ces souches est encore discutée : certaines souches, aux propriétés invasives, sont impliquées dans des infections du tractus urinaire, aiguës et chroniques alors que d'autres semblent impliquées dans le déclenchement de diarrhées chez les enfants âgés de 1 à 5 ans. Les facteurs de virulence de ces souches restent encore mal connus.

Les gènes d'adhésion diffuse ont également été retrouvés sur des souches LEE+.

C. Conclusion : Complément de définition des principaux groupes d'*E. coli*

Pour conclure, on peut reprendre la définition des différents groupes d'*E. coli* pathogènes proposés par MAINIL (cf. tableau 8), qui met en avant le fait que chaque pathovar, défini par les facteurs de virulence dont il est porteur, peut être impliqué dans différents tableaux cliniques chez l'homme et chez l'animal.

Tableau 8 : Définitions des principaux groupes d'*E. coli* pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques (source : [85]).

Classe	Nom	Acronyme anglophone	Définition	Espèces cibles
Diarrhéogènes : Entérites Entérocolites	Entéro-invasif	EIEC*	Envahissement des entérocytes	Hommes, primates
	Entérotoxigène	ETEC*	Production d'entérotoxines avec accumulation de fluide dans l'intestin, de fimbriæ F2 à F6, F41	Ruminants, porcs, hommes, (chiens)
	Entéropathogène	EPEC*	Production de la lésion d'attachement et d'effacement (AE)	Animaux, hommes
	Vérotoxinogène	VTEC* (STEC*)	Production de toxines actives sur cellules Vero en culture	Ruminants ? hommes ?
	Entérohémorragique	EHEC*	Responsables d'une entérocolite souvent hémorragique, production de lésions AE* et de Verotoxines	Hommes, ruminants
	Entéroadhérent	EAggEC*	Adhésion agrégative sur cellules en culture : adhésines AAF/I	Hommes
	« Diffuse adherent »	DAEC*	Adhésion diffuse sur cellules en culture : adhésines AIDA-I ou Afa	Hommes (animaux ?)
	Nécrotoxigène	NTEC*	Production de facteurs cytotoxiques nécrosants 1 (CNF*1), facteurs cytotoxiques nécrosants 2 (CNF*2), fimbriæ P, S et/ou F17, adhésines Afa, hémolysine α (entérotoxines, aérobactine, résistance au complément)	Animaux et hommes (NTEC*1), ruminants (NTEC*2)
Entérotoxémique ; Maladie de l'œdème	Vérotoxinogène	VTEC* (STEC*)	Production de toxines actives sur cellules Véro en culture	Porcelets
Uropathogène (UPEC*) Cystites Pyélonéphrites	Nécrotoxigène	NTEC*	Production de CNF*1 ou CNF*2, de toxines cytoléthales distendantes (CDT), fimbriæ P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, hémolysine α (aérobactine, résistance au complément)	Hommes, chiens, chats
	Autre	Pas d'acronyme particulier	Production de fimbriæ P et/ou S, adhésine Afa, hémolysine α (aérobactine, résistance au complément)	Hommes, animaux
Mammopathogène Mammites	Pas de nom particulier	Pas d'acronyme particulier	Pas de facteurs spécifiques de virulence : origine fécale	Animaux, surtout ruminants
Invasives : Septicémie Bactériémie Infections systémiques on parle aussi de ExPEC* pour les souches extra-intestinales	Nécrotoxigène	NTEC*	Production de CNF*1, CNF*2 et /ou CDT, aérobactine, résistance au complément, fimbriæ P, S et/ou F17, et/ou adhésines Afa, hémolysine α	Animaux, hommes
	« Neonatal Meningitis <i>E. coli</i> »	NMEC*	Production d'aérobactine, Résistance au complément	Hommes
	« Avian Pathogenic <i>E. coli</i> »	APEC*	fimbriæ P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, antigène capsulaire K1, (hémolysine α)	Oiseaux
	Autres	?	Production d'aérobactine, résistance au complément (hémolysine α)	Animaux, Hommes

III. L'acquisition de facteurs de virulence par *E. coli*

La taille du génome des souches de *E. coli* pathogènes est plus grande que celle des *E. coli* commensaux : 5500 kb pour les souches O157 contre 4600 pour les souches de laboratoire classiques *E. coli* K12 [85]. Le génome des souches pathogènes diffère de celui des souches commensales par suppression de certains gènes, et addition de régions supplémentaires (pouvant atteindre 20% du génome), qui dans certains cas correspondent à l'unité génomique fonctionnelle d'un bactériophage. Ces régions peuvent également correspondre à des îlots de pathogénicité* ou à des plasmides. Ces éléments mobiles du génome portent des facteurs de virulence et des gènes de régulation. L'acquisition de ces facteurs de virulence est en majorité due à des transferts génétiques horizontaux.

A. Généralités sur les modalités de transfert de l'information génétique [50]

La grande diversité génétique qui règne au sein des *E. coli* est le reflet du brassage génétique, qui permet aux populations bactériennes d'acquérir de nouvelles capacités de synthèse, et d'adaptation.

Pour appréhender la circulation des différents facteurs de virulence au sein d'une population bactérienne, il convient de faire quelques rappels sur les mécanismes qui entrent en jeu.

L'information génétique est portée par un chromosome bactérien, encore appelé génophore, et parfois par un ou plusieurs plasmide(s), élément(s) « mobile(s) » du génome.

L'information génétique bactérienne évolue :

- par mutations ponctuelles, imprévisibles et de faible fréquence (10^{-8} en moyenne). Les mutations font naître de l'information génétique nouvelle, qui persistera au sein du genre bactérien si la mutation confère un avantage sélectif, permettant ainsi la persistance et la multiplication des bactéries porteuses ;
- par ajout d'ADN exogène, apporté par des bactériophages ou des plasmides. Ces transferts génétiques permettent l'échange de séquences entre bactérie de même genre ou non.

Quatre grandes voies d'apport d'information génétique exogène sont décrites :

La transformation, ou absorption d'un brin d'ADN libre présent dans le milieu à travers la membrane d'une bactérie dite compétente. Le brin peut ensuite se recombiner au génome bactérien si l'homologie est suffisante. Sinon il est rejeté.

La transfection, ou absorption de matériel génétique phagique, par le même principe que pour la transformation. Elle conduit le plus souvent à la production de phages par la bactérie si elle est compétente.

La transduction, ou inoculation *via* un phage de matériel génétique d'origine bactérienne dans une autre bactérie dite sensible.

La conjugaison, ou transfert de matériel génétique d'une bactérie donneuse vers une bactérie réceptrice. La bactérie donneuse doit pour cela posséder des structures pariétales spécifiques : les pili sexuels. Ces pili sont capables, après contact, de se rétracter, permettant l'accolement des cellules et le transfert.

La transduction et la conjugaison sont les deux mécanismes les plus fréquemment rencontrés.

1. La transduction

C'est le transfert génétique par l'intermédiaire d'un bactériophage, qui est le vecteur du matériel génétique transféré. Elle aboutit réellement à l'ajout de matériel génétique, contrairement à la transfection.

a) Quelques rappels de virologie

Lors de l'infection d'une bactérie par un phage, soit il y a mise en place d'un cycle lytique, soit d'un cycle lysogénique.

Au cours d'un cycle lytique, le matériel génétique viral est introduit dans la bactérie. Puis, le virus détourne le métabolisme de la bactérie à son profit, induisant ainsi la synthèse de particules virales avant la réplication du matériel génétique viral. Les particules virales s'assemblent dans la bactérie avant que celle-ci soit lysée, permettant leur libération.

Au cours d'un cycle lysogénique, le matériel génétique du phage est incorporé au chromosome bactérien sous forme de prophage, et la bactérie le réplique au même titre que le reste de son génome. Au gré d'une induction, par un rayonnement UV par exemple, le cycle lysogénique peut basculer en cycle lytique.

La capacité d'un phage à lyser la bactérie qu'il infecte dépend de nombreux facteurs, tant environnementaux que génétiques. Dans des conditions fixées, la sensibilité d'une colonie bactérienne à un bactériophage donné permet de définir ce qu'on appelle un phagotype. Le phagotypage est un outil utilisé pour caractériser des souches bactériennes sauvages, pour apprécier par exemple leur « filiation », ou encore dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques.

b) La transduction généralisée

La transduction généralisée permet le transfert de gènes quelconques. Trois modalités sont décrites :

Premièrement, au moment de la formation des virus (qui précède la lyse de la bactérie) des fragments de génome bactérien peuvent être incorporés dans les enveloppes virales, en association avec le matériel génétique viral, ou à la place de celui-ci. Si le virus ainsi formé contient un génome viral incomplet, il ne pourra pas permettre l'intégration du matériel génétique qu'il véhicule lors d'une infection bactérienne ultérieure : la transduction sera alors abortive.

Deuxièmement, certains bactériophages, capables d'induire des cycles lysogéniques, sont capables de s'intégrer en un point quelconque du génophore, en un site non spécifique. Lors de la lyse du chromosome bactérien par une ADNase virale, le prophage libéré peut contenir certaines portions du génome bactérien situées à proximité. Lorsque le prophage se transforme en bactériophage, du matériel génétique bactérien pourra ainsi être incorporé aux virus libérés.

Troisièmement, certains phages restent à l'état extra-chromosomique après infection, se comportant comme un plasmide mono copie. C'est le cas du phage P1 d'*E. coli*.

c) La transduction spécialisée ou restreinte

Elle permet le transfert de gènes spécifiques. Elle correspond à la transduction généralisée de type II, mais elle implique des bactériophages capables de reconnaître des points précis du génome et de s'y insérer, comme c'est le cas pour les bactériophages λ qui infectent des *E. coli* et reconnaissent une séquence située près du locus *gal*.

Certains des bactériophages formés, portant une partie des gènes bactériens, peuvent avoir perdu tout ou partie de leurs gènes propres et sont dits défectifs. Lors de l'infection d'une autre bactérie, ils pourront transmettre les gènes dont ils sont porteurs : la bactérie ainsi infectée devient donc diploïde pour le(s) gène(s) transmis. Les bactériophages défectifs ne peuvent cependant pas induire de cycle lytique, puisqu'ils n'ont pas l'arsenal génétique nécessaire. Ils ne peuvent donc pas transmettre à haute fréquence les gènes bactériens qu'ils portent. Pour cela, ils ont besoin de la présence concomitante de bactériophages normaux dits de secours, qui induiront la multiplication des phages, puis la lyse bactérienne et la libération d'une grande quantité de virus porteurs des gènes bactériens ainsi répliqués. Dans de rares cas, il se peut également que le gène bactérien apporté par le bactériophage ne s'intègre pas.

2. La conjugaison

C'est le transfert de matériel génétique d'une bactérie donneuse - qui possède des pili sexuels - vers une bactérie réceptrice.

La formation de pili sexuels est liée à la présence chez la bactérie donneuse de plasmide(s) conjugatif(s) (F, R100, R6K, RPI, R91, ... chez *E. coli*). En principe, les bactéries receveuses ne doivent pas porter de plasmide conjugatif. La présence d'autres types de plasmides peuvent également empêcher la conjugaison.

Une fois les bactéries accolées, le transfert de matériel génétique peut avoir lieu : le plus souvent, il s'agit du passage de plasmide de la bactérie donneuse vers la bactérie réceptrice. Plus rarement, et parallèlement à l'échange de plasmides, le chromosome bactérien peut également être échangé (conjugaison chromosomique à basse fréquence, soit 10^{-4}).

Chez *E. coli*, certaines souches sont porteuses du facteur F, plasmide conjugatif de type épisome – ou capable de s'intégrer dans le génome bactérien. Ce plasmide porte des gènes pour une répllication autonome, pour la formation de pili sexuels, pour le transfert conjugatif, et contient des séquences d'insertion.

Il existe des mutants du facteur F pour lesquels le transfert chromosomique a lieu à haute fréquence (10^{-1}); ils sont appelés mutant Hfr. Le transfert du chromosome bactérien se fait après coupure d'un seul brin d'ADN au niveau du facteur Hfr. Le brin coupé pénètre dans la cellule réceptrice, la majeure partie du facteur Hfr restant à l'extrémité opposée. Le transfert s'opère tant que les cellules restent collées (il faut environ deux heures pour que la totalité du chromosome bactérien soit transféré). Le caractère Hfr étant situé à l'extrémité opposée du brin transféré, son transfert est rare, contrairement au transfert des plasmides à fort taux de conjugaison, comme le facteur F, également nécessaire au transfert chromosomique. Plus un gène est proche du site de rupture, plus fréquent sera son transfert.

Le caractère Hfr peut redevenir F par mutation, et, dans certaines conditions, le facteur F peut emporter le fragment de chromosome qui était adjacent au site de fixation : on parle alors de facteur F'. Comme il reste facilement transférable aux cellules ne possédant pas le facteur F, il peut en même temps transférer la portion adjacente. On parle de sexduction. Ce phénomène est utilisé en génie génétique pour transférer plus efficacement un gène chromosomique.

B. Les éléments mobiles de pathogénicité

Les éléments génétiques ainsi échangés peuvent se regrouper en 4 catégories : les plasmides, les transposons, les phages et les îlots de pathogénicité* [85].

1. Les plasmides

Les plasmides sont définis comme étant des structures d'ADN double brin, circulaire et autonome du chromosome bactérien par rapport à leur contrôle et leur réplication. Leur taille varie de quelques kilobases à quelques centaines de kilobases. Ils peuvent être transférés horizontalement par conjugaison ou mobilisation, entre bactéries de même espèce ou non. Ce sont les éléments du génome les plus mobiles.

2. Les transposons

Les transposons sont des séquences d'ADN qui peuvent être transférées avec ou sans réplifications depuis un chromosome vers un ou plusieurs plasmides. Ils ne sont pas autonomes [50].

3. Les phages

Les phages, incorporés au chromosome ou au plasmide, apportent de l'information génétique supplémentaire à leur bactérie hôte [50].

4. Les îlots de pathogénicité

Un îlot de pathogénicité* (PAI) se définit comme un bloc indissociable de gènes portés par le chromosome bactérien, ayant pour propriétés [1, 85] :

- d'être généralement absent des bactéries non pathogènes appartenant à la même espèce ;
- d'être constitué d'un groupe de gènes de virulence, dont les gènes codant pour des toxines, des adhésines, des invasines, des systèmes chélateurs du fer, et des systèmes d'export de protéines de virulence ;
- d'avoir un pourcentage de G+C différent de celui de la bactérie hôte, attestant d'une origine étrangère ;
- d'occuper généralement une région chromosomique de plus de 30kb, avec des tailles allant de 5 à 200 kb ;
- d'être souvent encadré par de courtes séquences répétées ;
- de se situer à proximité de loci codant pour des ARNt, et au niveau de séquences d'insertion ;
- de contenir également des gènes cryptiques ou exprimés, codant pour des fonctions d'intégrases ou de transposases, et des séquences d'insertion entières ou partielles ;
- d'être souvent instable et de s'exciser à des fréquences variables selon les PAI. Lorsqu'ils s'excisent, toutes les fonctions pour lesquelles ils codent sont perdues.

Plus que de véritables éléments mobiles du génome, les PAI se présentent plutôt comme le fruit de l'intégration de plasmides ou de prophages au cœur du chromosome bactérien, avec perte des gènes requis pour la transmission horizontale (réplication ou auto-transfert), au profit d'une association plus stable et d'une possibilité de transmission verticale [32]. Le fait que l'on retrouve des gènes codés dans les PAI sur des plasmides conforte cette hypothèse.

Les îlots de pathogénicité* codent pour tout le spectre des facteurs de virulence : adhésines, toxines, systèmes de séquestration du fer, systèmes de sécrétion, stratégies pour échapper aux défenses immunitaires de l'hôte [32]. Ils jouent un rôle important dans l'évolution des différents pathovars* : des fractions importantes du génome sont représentées par des PAI.

Les PAI ont été retrouvés chez d'autres entérobactéries, parfois identiques à ceux des *E.*

coli [32], comme HPI (high pathogenicity island) de *Yersinia* spp., que l'on retrouve chez des ExPEC* ; LEE retrouvé chez *Citrobacter freundii*. Cependant, ces PAI présentent des différences d'organisation structurelle et d'insertion chromosomique parmi les souches où ils ont été isolés [32]. LEE est un exemple typique de la composition de type « mosaïque » des PAI, ce qui témoigne de leur transmission horizontale et de leur évolution divergente au sein des souches receveuses.

Les divergences structurelles des PAI peuvent d'ailleurs conduire à la perte de leur potentiel pathogène, comme cela a été montré pour la souche probiotique d'*E. coli* Nissle 1917, portant des PAI proches de la souche UPEC* 06 CFT073 [32], par insertion de séquences IS1 et IS10 au milieu du cluster de gène *pap*, aboutissant à l'inactivation de l'opéron Fimbriæ-P.

C. Les supports génétiques des principaux facteurs de virulence rencontrés

1. Comparaison entre le génome des souches pathogènes et celui des souches commensales

La comparaison du génome de souches commensales (dont le chef de file est la souche *E. coli* K12) et de souches pathogènes met en évidence des différences de taille et d'organisation. Ainsi, l'évolution des différents pathovars* s'est faite au gré de l'acquisition de séquences nouvelles, insérées sur le chromosome ou sur des plasmides. Ces séquences se retrouvent en majeure partie sur des PAI, conférant la virulence des pathovars* en question. Cependant, l'insertion de groupes de gènes plus petits a également été démontrée. Ces clusters de gènes confèrent des avantages aux bactéries pathogènes, et permet leur survie [32].

Ainsi, à la modélisation conventionnelle du génome bactérien divisé en une colonne vertébrale de gènes nécessaires à la vie des bactéries et en un pool flexible de gènes de virulence, DOBRINDT [32] propose d'ajouter le modelage de l'information génétique, avec des additions et des délétions, ayant des répercussions dans l'adaptabilité des souches pathogènes.

2. Le pool flexible de gènes de virulence chez *E. coli*

Les facteurs de virulence impliqués dans la pathogénicité des *E. coli* peuvent être regroupés en cinq catégories : des adhésines, des toxines, des sidérophores, d'autres protéines parmi lesquelles des protéines impliquées dans le pouvoir invasif, et des protéines associées à des souches pathogènes, mais dont le rôle précis reste mal connu.

Ces facteurs de virulence sont mis en évidence par comparaison de souches pathogènes isolées chez des patients avec le génome de souches de laboratoire classique (K12 le plus souvent). La découverte d'un facteur de virulence se fait en plusieurs étapes, qui suivent le postulat de KOCH :

- 1- Association de l'agent causal au syndrome
- 2- Isolement de l'agent en culture pure
- 3- Reproduction du syndrome après transmission de l'agent infectieux à des animaux sains
- 4- Réisolement de l'agent infectieux (identique à celui précédemment isolé) de l'hôte.

Parmi les facteurs de virulence retrouvés au sein des *E. coli* pathogènes, tous n'ont pas été caractérisés selon les quatre étapes précitées. Le plus souvent, les étapes 1 et 2 sont réalisées, et les étapes 3 et 4 sont en cours, car elles sont plus coûteuses. On préfère bien caractériser les facteurs suspectés, sur un plan épidémiologique, moléculaire et génétique. Ainsi on citera des facteurs de virulence dont l'implication dans la pathogénicité des souches n'est que suspectée à l'heure actuelle, des études complémentaires étant nécessaire pour conclure sur le rôle précis de ces facteurs.

a) Les supports des adhésines

Ces facteurs conditionnent la spécificité (espèces cibles plus ou moins nombreuses) et le tropisme (type cellulaire impliqué, organes touchés, ...) des *E. coli* pathogènes. Ainsi elles sont le plus souvent à l'origine de la distinction des différents pathovars* rencontrés. Leur déterminisme génétique est plasmidique ou chromosomique, et implique le plus souvent des éléments mobiles du génome. Elles sont souvent associées à d'autres facteurs de virulence chez les souches pathogènes.

Leur implication dans la pathogénicité des souches est souvent démontrée *in vitro* (adhésions sur culture cellulaires, le plus souvent de cellules intestinales (Hep-2*) ou de cellules vésicales Vero. La démonstration *in vivo* est moins systématique (modèles animaux par administration de souches porteuses, et analyse histologique des tissus cibles).

Le tableau 9 regroupe les différentes adhésines associées aux *E. coli* pathogènes, ainsi que leur principales propriétés :

Tableau 9 : Caractérisation des principales adhésines rencontrées chez les *E. coli* pathogènes. (PC = porc ; BV = bovins)

Nom	Variants	Support génétique	Rôle pathogène	Souches	Réf.
CFA	F4ab/ac/ad (=K88) (PC) ⁽¹⁾ , F5(=K99)(BV), F6(=987P)(PC), F18 ab/ac (PC), F42 (PC)	Plasmide	Colonisation de l'épithélium intestinal; spécificité d'hôte forte	ETEC*	103 44
	F41 (veaux)	Chromosome	Colonisation de l'épithélium intestinal	ETEC*	103 44
AIDA	AIDA-1 ⁽²⁾	Plasmide ; souvent associé à d'autres facteurs de virulence	Adhésion diffuse	ETEC* DAEC* STEC* porcins	140 156 111
F17	F17a à d	Chromosome (dans des PAI*) ou plasmide associé avec les gènes <i>cnf*2</i> et <i>cdt3</i>	Incertain ; associé à des souches diarrhéogènes et septicémiques. Implication dans la colonisation intestinale non démontrée	Certains ETEC* STa+ ; certains ExPEC* CS31A+ et CNF*2+	140 85
Eae	17 variants d' <i>eae</i>	Chromosome : PAI LEE ⁽³⁾	Attachement/ effacement sur cellules intestinales	AEEC (EPEC* et pEHEC*)	119 161 9
EspA	1 seul variant	Chromosome : PAI LEE ⁽³⁾	Attachement/ effacement sur cellules intestinales	AEEC (EPEC* et pEHEC*)	21
Bfp	1 seul variant	Plasmide EAF	Attachement/ effacement sur cellules intestinales	EPEC* typiques	21
AAF	AAF-I à III	Plasmide AA	Adhésion en briques empilées sur cellules intestinales	EAggEC*	16
Afa⁽⁴⁾	AfaI à VIII, Dr, F1845, NFA	Chromosome, parfois gènes <i>afa3</i> , <i>afa5</i> , <i>afa8</i> et <i>daa</i> sur des plasmides, associés aux gènes <i>cnf*2</i> et <i>cdt3</i>	Adhésion diffuse sur cellules intestinales, urinaires et endométriales	DAEC* : ExPEC* et surtout UPEC*	140 85
Fimbriae P	F7.1, F7.2, F8, F9, F10, F11 (=F165-1), F12, F13, F14, F15 et F16	Chromosome, souvent associé aux gènes <i>cnf-1</i> et <i>hlyα</i>	Adhésion par fixation sur un récepteur eucaryote spécifique	ExPEC* et surtout UPEC*	85
Fimbriae S	SfaI, SfaII, F1C, F165-2	Chromosome, deux ou trois opérons	Adhésion par fixation sur un récepteur (sialosaccharide) eucaryote spécifique	ExPEC* : UPEC*, NMEC*, <i>E coli</i> septicémiques (homme) diarrhéogènes (veau et procelet)	85

(1) On retrouve différentes appellations pour les CFA : ainsi F4 correspond à l'ancienne appellation K88, il est principalement retrouvé chez des souches d'origine porcine ; F5 correspond à l'ancienne appellation K99 et est retrouvé chez les souches d'origine bovines ; F6 correspond à l'ancienne appellation 987P et est associé à des souches d'origine porcine. F18 est principalement associé à des souches d'origine porcine, ainsi que F42 ; F41 est associé à des souches d'origine bovines.

(2) L'adhésine afimbriale AIDA-I (Adhesin involved in diffused adhesion) confère aux souches porteuses des propriétés d'adhésion diffuse sur cellules Hep-2*, ce qui classe les souches porteuses parmi les DAEC*. Son rôle dans la pathogénicité des souches porteuses est encore discuté, car elle est toujours associée à d'autres facteurs de virulence.

Les gènes codant pour l'expression d'AIDA sont sur deux séquences de lecture ouvertes : *orfA* et *orfB* ; *orfB* code pour une pré pro protéine qui sera clivée pour donner la protéine finale AIDA-I, et son translocateur AIDA^C, intégré à la membrane externe ; *orfA* code pour une protéine cytoplasmique de 45 kDa, qui modifie AIDA-I, lui permettant ainsi d'adhérer à sa cellule cible.

(3) Le LEE est bien connu. L'agencement des gènes sur ce locus est représenté sur la figure ci-dessous. Il contient 41 séquences de lecture ouverte, arrangées au moins en 5 opérons polycistroniques, appelés LEE1, LEE2, LEE3, LEE4 et LEE5. Sur la figure 2 sont représentés les gènes connus pour être impliqués dans la pathogénicité des AEEC*.

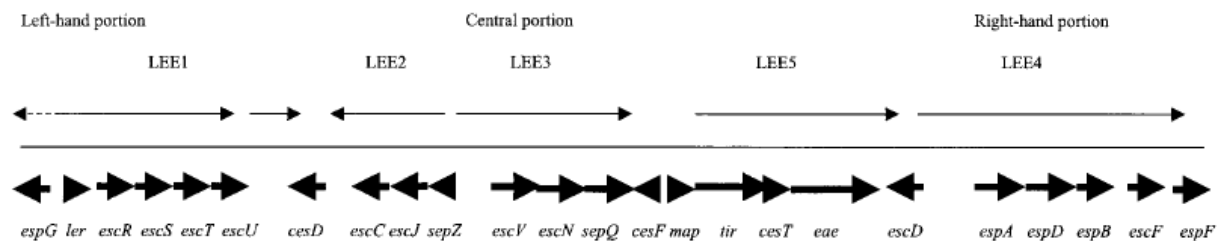


Figure 2 : Représentation schématique du LEE des EPEC (source : [21]).

En ce qui concerne l'intimine, codée par le gène *eae*, différents variants ont été mis en évidence chez les souches EHEC* et pEHEC*. La partie C-Terminale, responsable de la reconnaissance spécifique du récepteur cible, est la plus divergente, et pourrait être à l'origine de la spécificité de tropisme tissulaire observée entre les EPEC* (intestin grêle) et les EHEC* (côlon), et d'une spécificité d'hôtes relative. Il n'existe pas d'association stricte entre pathovar et variant d'intimine [119]. Des tendances sont observées: les variants Eaeε, Eaeγ1 et Eaeβ1 sont le plus souvent associés aux souches EHEC, et les variants Eaeα et Eaeδ aux souches EPEC.

De plus, les différents variants d'intimine ne sont pas strictement associés à un hôte spécifique [72]. Il semble cependant que l'intimine β soit largement distribuée au sein des souches AEEC animales [161, 72]. Ainsi dans l'étude de KRAUSE *et al.* [72], sur 96 souches isolées chez des bovins, des ovins, des porcins, des chiens, des chats et des oiseaux, 50 (51,6%) sont de type β, avec une majorité de β1. L'autre variant le plus fréquemment isolé est θ, avec 23 (27,3%) souches isolées.

(4) Les gènes codant les adhésines Afa sont classiquement regroupés en six groupes [85]:

- les gènes codant pour l'adhésine (*afaE*, *nfaA*, *bmaE*) ou la sous-unité majeure à fonction d'adhésine (*draA*, *daaE*) ;
- les gènes codant pour une protéine d'ancrage (*afaC*, *nfaC*, *draD*, *daaC*, *bmaC*) ;
- les gènes codant pour une invasine prouvée ou potentielle (*afaD*, *nfaB*, *draC*, *daaD*, *bmaD*) ;
- les gènes codant pour une protéine chaperone (*afaB*, *nfaE*, *draE*, *daaB*, *bmaB*) ;
- les gènes codant pour des fonctions de régulation (*afaA*, *afaF*, *nfaD*, *daaA*, *bmaA*) ;
- des gènes à fonction inconnue (*draB*, *daaF*, *afaG-7*).

b) Les supports des toxines

Le pouvoir diarrhéogène des *E. coli* est souvent lié à la production d'entérotoxines, comme cela a été démontré pour les ETEC* (toxines ST et LT) et les EHEC* (toxines Stx) [103]. D'autres toxines ont été mises en évidence : EAST1*, CNF*, CDT*. Des modèles expérimentaux ont permis de mettre en évidence leurs effets cytotoxiques. Des études épidémiologiques les relient à des souches pathogènes. Cependant, leur implication dans la pathogénicité des *E. coli* demande encore à être étayée.

Le tableau 10 reprend les principales caractéristiques des toxines produites par les *E. coli* pathogènes.

Tableau 10 : Caractéristiques des principales toxines produites par les *E. coli* pathogènes.

Nom	Variants	Support génétique	Pathogénicité	Souches	Réf.
ST	STa et STb	Plasmides conjugatifs le plus souvent ou transposons	Diarrhée osmotique	ETEC*	61, 28, 103, 126
LT	LT-I et LT-II	Plasmide le plus souvent ou transposon	Diarrhée osmotique	ETEC*	61, 28, 103, 126
Stx	Stx1 et stx2 ⁽¹⁾	Phages ⁽²⁾	Bloque les synthèses protéiques : apoptose	STEC* (pEHEC*)	1
Hémolysines	Hly	Opérons <i>hlyADCD</i> : plasmide pour souches PC et CN ; chromosome, souvent PAI*, chez l'homme et les autres animaux	Lyse cellulaire par formation de pores dans la membrane plasmique ; permettrait ainsi l'accès aux réserves intracellulaires en fer (hèmes, ...)	ExPEC*	1, 148, 85
	E-hlyA	Plasmide	Idem Hly	pEHEC*	1
Sen		Chromosome	Diarrhées osmotique?	EIEC*	107
PET		Plasmide AA	Diarrhées osmotique?	EAggEC*	16, 36
CNF*	CNF*-1	PAI-V ⁽²⁾	Agit sur le cytosquelette ; implication dans la pathogénèse non démontrée	(NTEC*) ExPEC* dont UPEC*	85, 86, 3
	CNF*-2	Plasmide Vir ⁽²⁾	Idem CNF-1 ; rôle dans l'appartition de diarrhée suspecté	(NTEC*) ExPEC* dont UPEC*	85, 86, 3
CDT	CDT-I à IV, CDT-S et CDT-C	Chromosome pour cdt-I, cdt-II, cdt-IV, cdt-s, cdt-c ; plasmide Vir pour cdt-III	Cyclomoduline capable de bloquer le cycle cellulaire et de conduire à l'apoptose	pEHEC*, ExPEC*	85, 1
EAST1	Différents variants identifiés	Plasmide et/ou chromosome	Diarrhées ?	EAggEC* pEHEC* EPEC* DAEC* Salmonelles	156, 103

⁽¹⁾ Les toxines Stx sont divisées en deux classes : Stx1 et Stx2, présentant chacune de nombreux variants, comme détaillé page 35.

⁽²⁾ Les toxines Stx sont codées par des phages lysogènes, codant pour Stx1 ou pour Stx2,

parmi lesquels :

- le phage H-19B, caractérisé chez la souche H19 de sérotype O26:H11, code Stx1. Ce phage est proche du phage λ
- le phage 933W, caractérisé chez la souche EDL933 de sérotype O157:H7, code Stx2. Ce phage est proche du phage P22

L'analyse du génome de la souche *E. coli* O157:H7 EDL933 a permis de mettre en évidence 16 à 24 prophages de taille différente, codant pour les toxines Stx.

Tous les phages codant des toxines Stx ont la même organisation génique : une région impliquée dans la morphogénèse du phage, une zone permettant les mécanismes de recombinaison, de régulation et de réplication, et enfin une région impliquée dans l'étape de lyse. C'est dans la dernière région qu'est situé l'opéron *stx*.

Les bactériophages joueraient également un rôle dans la régulation de l'expression des toxines Stx :

- *via* l'augmentation du nombre de copies de l'opéron *stx* lors de la réplication du phage ;
- par l'intervention de deux promoteurs de transcriptions. L'un est directement en amont de l'opéron *stx* et permet l'expression de la toxine à un niveau de base ; l'autre est un promoteur tardif, activé au moment du cycle lytique.

⁽²⁾ Bien que les souches sécrétant des toxines CNF* soient parfois regroupées sous l'acronyme NTEC*, ce groupe est très hétérogène. Le fait que ces deux toxines soient codées sur des éléments mobiles du génome explique l'hétérogénéité du groupe.

Des associations ont été recherchées entre les gènes *cnf1**, *cnf2** et d'autres gènes codant pour des facteurs de virulence [155]. Ainsi, *cnf1** semble souvent associé aux gènes codant pour adhésines fimbriaires de type P et hémolysine α au sein du même PAI, et *cnf2** serait plutôt associée, sur le plasmide Vir, aux gènes codant pour les adhésines F17, l'aérobactine et la résistance à l'activité bactéricide du complément.

L'association des gènes *cnf** ou non avec des facteurs de virulence pourrait expliquer les différences de pathogénicité des souches NTEC* observées (plus de la moitié des souches NTEC* ont été isolées sur des sujets sains [87]). Cela ne remet pas en cause les propriétés cytotoxiques de ces toxines, mais suggère que les NTEC* sont des pathogènes opportunistes, ayant besoins de circonstances favorables pour exprimer leur potentiel virulent.

3. Les principaux plasmides rencontrés

Bon nombre de facteurs de virulence sont codés sur des plasmides. Aux adhésines et toxines citées précédemment, on peut rajouter les facteurs de virulence associés aux EIEC*, codés sur le plasmide pINV, ainsi que d'autres gènes conférant des avantages sélectifs pour les souches porteuses (gènes de résistance aux antibiotiques, des gènes codant pour des colistines*, des gènes codant pour des sidérophores).

Sept grandes catégories de plasmides s'échangent ainsi au sein de la population des *E. coli*, comme le résume le tableau 11 :

Tableau 11 : Les principaux plasmides rencontrés dans les pathovars d'*E. coli* (d'après [32]).

Nom	Souches porteuses	Gènes de virulence portés
<i>Pas de nom particulier</i>	ETEC*	Adhésines, gènes de résistance aux antibiotiques, toxines LT et ST.
<i>Pas de nom particulier</i>	NTEC*2	F17 et <i>cnf</i> *2.
EAF	EPEC*	Gènes <i>bfp</i> et régulateur <i>per</i> .
pO157	O157	Gène <i>ehx</i> et <i>katP</i> , ainsi qu'adhésines potentielles.
AA	EaggEC*	Entre autres <i>aafI</i> et <i>astA</i> .
pINV	EIEC*	Système de sécrétion de protéines de type III (<i>mix</i> , <i>spa</i>), protéines sécrétées (<i>ipa</i>) et toxine Sen
Plusieurs décrits, dont ColV [96]	ExPEC* principalement	Gènes de résistance aux antibiotiques ; gènes codant pour des colistines* (ici colistines de type V [96]) ; gènes codant des sidérophores (ici l'aérobactine [96]).

D. Les différents assortiments de facteurs de virulence rencontrés

Les facteurs de virulence cités ci-dessus sont pour la plupart codés sur des éléments mobiles du génome. L'évolution des souches d'*E. coli* a ainsi pu donner lieu à différents assortiments génétiques, conservés ou non au fil des générations. Les combinaisons conservées sont celles qui confèrent un avantage à la bactérie dans le milieu où elle évolue, d'où l'apparition des spécificités d'hôtes, notamment retrouvées chez les ETEC*. L'avantage du pouvoir pathogène est discuté par MAINIL [87], qui conclut que les conséquences néfastes pour l'hôte ne le sont pas forcément pour la bactérie, hypothèse confortée par l'émergence des différents pathovars* !

Le répertoire de ces combinaisons est en perpétuelle évolution et chaque isolement d'*E. coli* permet de le compléter. Une liste des différents assortiments rencontrés au sein des *E. coli* isolées chez l'animal est disponible sur le site de l'université de Montréal [152] : <http://www.ecl-lab.com/fr/ecoli/virulence.asp> (dernière visite le 11/05/06).

La connaissance des différentes combinaisons rencontrées est le principal enjeu de l'étude des *E. coli*, et ce à des fins tant diagnostiques que cliniques (mise au point de vaccins notamment).

E. Pathogène ou porteur de facteur de virulence ?

1. Problématique

Cette question est au cœur des débats à chaque publication présentée. L'étude des souches isolées se fait désormais beaucoup par recherche de gènes associés aux souches pathogènes. L'enjeu réside dans la conversion ou non de ces séquences identifiées en des

informations biologiques connues, ainsi que la compréhension des mécanismes conduisant à l'expression de ces gènes *in vivo* [32].

Le problème est également entier en ce qui concerne notamment les STEC* : la découverte de gènes codant pour les toxines Stx suffit-elle à conclure que la souche sera pathogène pour l'homme ? A titre d'exemple, les STEC* *stx2e* sont fréquemment isolées chez les porcs atteints de maladie de l'œdème, alors qu'elles n'ont jamais ou très rarement été isolées chez les patients humains. L'analyse d'autres facteurs de virulence communément retrouvés chez les STEC* isolées chez des patients atteints de SHU* permet de définir une combinaison de gènes de virulence plus précise, avec association notamment de facteurs de virulence portés par le LEE (Intimine (Eae), Tir, EspA, EspB, EspD, EspC (entérotoxine)). Cependant certaines souches pathogènes isolées chez l'homme ne portent pas LEE. L'hétérogénéité du groupe rend les conclusions délicates.

2. L'importance des systèmes de régulation

L'expression des gènes bactériens est régulée par des mécanismes de contrôle très stricts, sous l'influence des conditions du milieu extérieur [88]. Ces mécanismes comprennent des activateurs et des inhibiteurs de la transcription et de la traduction des gènes, ainsi que des molécules impliquées dans le « quorum sensing », qui permet aux bactéries de « communiquer » entre elles, *via* la libération d'hormones bactériennes. La meilleure compréhension des mécanismes de régulation de l'expression des gènes est nécessaire pour comprendre le passage du stade « porteur de facteur de virulence » à celui de « pathogène ».

MOKADY *et al.* [96] illustrent ce propos avec l'exemple des « curli » (fibres bouclées). Ces éléments sont des fibres d'aggrégation de surface, de type amyloïde. Ce sont des adhésines capables de fixer une laminine, la fibronectine, le plasminogène, les protéines de phase de contact humaine, les protéines de classe 1 du complexe majeur d'histocompatibilité humain. En l'absence de « curli », l'adhérence des souches septicémiques aviaires sur tissu de poulet diminue.

Si on définit un facteur de virulence comme étant un facteur spécifique, qui contribue à la pathogénicité, et qui est codé par des gènes qui sont présents sur les souches pathogènes et absents sur les souches commensales, alors on ne compte pas les « curly » parmi les facteurs de virulence, car elles sont portées par les souches K12 et beaucoup d'autres *E. coli* commensales.

MOKADY *et al.* [96] proposent alors d'ajouter la notion de niveau d'expression à la définition de facteur de virulence. En effet, ils émettent l'hypothèse que chez les souches non pathogènes, les conditions rencontrées chez leur hôte (niveau d'osmolarité, température, ...) n'induisent pas l'expression des « curly », alors que dans les mêmes circonstances, les souches septicémiques les expriment.

Ainsi l'élément clé de la pathogénicité de facteurs associés aux souches ExPEC* ne serait pas la présence ou l'absence de gènes de virulence, mais plutôt leur niveau d'expression *in vivo*.

3. L'importance des différents assortiments de facteurs de virulence rencontrés

De plus, beaucoup de facteurs de virulence ne mènent à une pathologie que s'ils sont associés, comme cela semble être le cas pour les ETEC* : les toxines ST ou LT seules ne permettent pas de reproduire les signes cliniques de diarrhées rencontrées en présence d'ETEC*. Elles doivent être associées à l'adhésion à la cellule épithéliale pour induire une réponse cellulaire locale à l'origine de la diarrhée osmotique [126].

Il est donc nécessaire de mieux connaître chaque pathovar*, afin de déterminer les combinaisons de gènes rencontrées et de mieux appréhender les effets de l'association de divers facteurs de virulence. L'exemple des NTEC* illustre bien ce propos : quel panachage de facteurs de virulence fait entrer les souches *cnf**+ du statut d'*E. coli* commensales à celui d'*E. coli* pathogène ?

IV. Portage des souches pathogènes par l'homme et les animaux

Cette partie vise à répondre aux questions suivantes :

- Quels sont les espèces cibles de chaque pathovar* ?
- Quels sont les réservoirs animaux de ces souches pathogènes ?
- Les différents pathovars* rencontrés sont-ils des agents zoonotiques ?
- Quels sont les effluents susceptibles de véhiculer ces souches pathogènes ?

A. Le portage des ETEC

1. Les ETEC isolés chez l'homme

a) Pathogénicité et populations cibles

Les ETEC* sont à l'origine de diarrhées aqueuses non sanglantes avec peu, voire pas, de fièvre. Ces infections touchent principalement les enfants des pays en voie de développement : dans son étude rétrospective sur la prévalence des diarrhées dues aux ETEC* dans les pays en voie de développement publiée en 2004, WENNERAS [163] estime qu'un enfant né dans un pays en voie de développement a une chance sur deux par an de contracter une diarrhée due à un ETEC* jusqu'à ses cinq ans. Au delà, le risque annuel passe à 0,1.

Dans les pays développés, l'infection est le plus souvent contractée lors d'un séjour à l'étranger, dans une zone endémique. Les infections dues aux ETEC* représentent 20 à 40% des cas de « diarrhée du voyageur » et sont les premières causes d'apparition de ce syndrome chez les voyageurs européens et nord américains [126]. Des cas sporadiques ont également été reportés aux USA et au Japon, liés à la contamination d'aliments suite à des fautes d'hygiène [33].

b) Les réservoirs d'ETEC pathogènes pour l'homme

Les sources d'ETEC* pathogènes pour l'homme sont à la fois les malades, qui excrètent un titre élevé de bactéries, et des porteurs sains, dans les fèces desquels on retrouve des ETEC* sans qu'ils ne présentent de diarrhée. Ainsi, dans une étude menée sur deux ans en Argentine [159], 13,3% des 593 prélèvements de fèces d'enfant sans diarrhée se sont révélés positifs à la recherche d'entérotoxines sur les souches d'*E. coli* isolées, contre 18,3% des 137 prélèvements d'enfants diarrhéiques.

c) Les effluents susceptibles de contenir des ETEC pathogènes pour l'homme

Ce sont toutes les eaux usées souillées par des fèces humaines (cf. IC1). Selon les cas, les risques de contamination humaine sont maîtrisés (cas des eaux traitées) ou non. Cela explique l'existence de tableaux épidémiologiques très différents entre les pays développés et ceux en développement.

Le principal mode de contamination de l'homme par les ETEC* est la consommation d'eau ou d'aliments souillés [126].

2. Les ETEC pathogènes pour les animaux

Ils sont principalement responsables de colibacilloses chez le porcelet nouveau-né, le porcelet au sevrage, le veau et l'agneau [162]. Les principales adhésines CFA rencontrées sont [102] :

- chez le porc : F4 (=K88) la plupart du temps, puis F6 (=987P), et F5 (=K99). Occasionnellement F41, F42 et F165 ;
- chez le veau et l'agneau : F5 (=K99), F41 et occasionnellement F17.

Plus rarement, des ETEC* ont été également isolés dans d'autres fèces d'animaux diarrhéiques :

- chez des chevreaux diarrhéiques, des ETEC* K99 ont été isolés ;

- des ETEC* ont également été retrouvés sporadiquement sur des lapins malades, ainsi que sur des chevaux et des poulets.

3. Les dangers pour l'homme que représentent les ETEC retrouvés chez les animaux

a) Problématique

Comme expliqué précédemment, d'une part seules les souches ETEC* exprimant des CFA sont pathogènes (i.e. capables d'induire une diarrhée chez les populations cibles) ; d'autre part, les CFA sont spécifiques d'espèce.

Les ETEC* ne sont donc pas à proprement parler des agents zoonotiques [8 ; 162]. Cependant, on peut se demander si les ETEC* retrouvées chez les animaux peuvent jouer le rôle de réservoir de virulence, et permettre l'acquisition des gènes codant pour des entérotoxines par des souches *E. coli* possédant des CFA humains.

b) Comparaison des entérotoxines retrouvées chez l'homme et chez l'animal

Quelques études ont comparé les toxines produites par des souches isolées chez l'homme et chez l'animal.

(1) Les toxines thermolabiles

SERIWATANA *et al.* en 1988 [139] ont retrouvé les gènes codant pour une toxine (type II heat labile enterotoxin, LT-II) dans des souches en provenance de bovins, de buffles et d'hommes. Cependant, le pouvoir pathogène de LT-II est discuté. Des modèles expérimentaux sur anses intestinales ligaturées de lapins montrent que le variant LT-IIa ne stimule pas la sécrétion de fluides. De même, le variant LT-IIb n'a pas d'effet diarrhéogène chez l'homme [103].

TSUJI *et al.* en 1990 [145] ont trouvé des similitudes structurelles entre l'entérotoxine LT-Ip produite par des ETEC* d'origine porcine et LT-Ih, produite par des ETEC* d'origine humaine.

(2) Les toxines thermostables

Les STa isolées chez l'homme et chez les animaux domestiques (porcs en particulier) diffèrent de quelques acides aminés, d'où la distinction de variants STa-H (STa humaine) et STa-P (STa porcine) [103].

Cependant, à la lumière de données épidémiologiques récentes, les souches ETEC* de l'homme peuvent sécréter les toxines STa-P. De même, les ETEC* des animaux, et du porc notamment, peuvent également être porteurs de STa-H [103]. A titre d'exemple, dans une étude conduite entre 1992 et 1997 en Argentine, l'équipe de PARMA [121] a recherché la présence de souches ETEC* dans les fèces de porcs, par détection des gènes codant pour une entérotoxine stable fréquemment retrouvée dans les isolats prélevés sur des porcelets et les veaux atteints de colibacillose, ainsi que pour une entérotoxine sensible à la chaleur (LT). Parmi les 223 prélèvements de fèces analysés (en provenance de porcs sains, atteints de diarrhées ou avec retard de croissance), 36 souches porteuses du gène de l'entérotoxine « heat-stable » ont été isolées, 11 souches porteuses du gène LT ; et parmi ces souches, 9 portaient également le gène codant pour une entérotoxine stable à la chaleur fréquemment isolée chez l'homme.

NAGY *et al.* [103] précisent cependant que le portage animal de souches STa-H est rare, alors que STa-P est communément associée aux ETEC* isolées chez l'homme.

En ce qui concerne les STb, leur portage par des souches isolées chez l'homme est exceptionnel [126].

c) Pour conclure

Les ETEC* des animaux ne sont pas directement pathogènes pour l'homme. Cependant, les souches animales produisent les mêmes toxines (notamment STa-P) impliquées dans la pathogénicité des souches humaines. Rappelons que les entérotoxines sont le plus souvent codées par un transposon plasmidique [103], ce qui en fait des éléments génétiques mobiles, facilement transmissibles d'une souche à l'autre, au sein du tube digestif, comme en témoigne la grande diversité observée au sein des souches ETEC* porcines [103, 126]. On peut donc considérer les ETEC* d'origine animale comme un réservoir de gènes de virulence pour les ETEC* humaines, en gardant à l'esprit que les entérotoxines n'induisent de diarrhées que si elles sont portées par des souches ayant des facteurs d'adhésion de type CFA.

B. Le portage des EPEC

1. Les EPEC chez l'homme

De nombreuses études rapportent la détection d'EPEC* dans les selles d'enfants diarrhéiques, et la communauté scientifique est unanime pour dire que les EPEC* peuvent être responsables de diarrhées chez l'enfant [161].

Dans leur synthèse, TRABULSI *et al.* [150] concluent à la lumière des articles qu'ils ont lus que les EPEC* sont principalement isolés chez des enfants diarrhéiques de moins de un an. Chez des enfants d'âge supérieur ou chez les adultes, ils ne sont que rarement associés à de la diarrhée.

Ils remarquent également que les diarrhées à EPEC* sont plus fréquentes dans les pays en voie de développement que dans les pays développés.

Par contre, dans les pays développés, la prévalence en EPEC* dans les selles d'enfants analysées diminue, en parallèle avec une augmentation de la prévalence en EPEC* atypiques (ayant perdu leurs plasmides EAF). La tendance semble s'amorcer au Brésil, avec une diminution progressive de la prévalence en EPEC* pour une augmentation de celle en EPEC* atypiques. Les auteurs attribuent ce glissement à l'amélioration des thérapies, des conditions sanitaires, et au contrôle des infections contractées à l'hôpital.

Comme pour les ETEC*, les effluents susceptibles de contenir des EPEC* et des EPEC* atypiques sont ceux contenant des fèces d'homme.

2. Les EPEC pathogènes pour les animaux

a) A-t-on retrouvé des EPEC chez les animaux ?

Dans leur synthèse sur les AEEC, WALES *et al.* [161] rapportent que des souches d'*E. coli* porteuses des facteurs de virulence caractéristiques des souches EPEC* isolées chez l'homme ont été retrouvées dans les fèces d'animaux. Cependant, les sérotypes rencontrés diffèrent de ceux des EPEC* couramment rencontrés chez l'homme [108]. WALES *et al.* [161] proposent de parler de EPEC*-like pour souligner cette différence entre les souches isolées chez l'homme et celles isolées chez les animaux, la notion d'EPEC* étant également rattachée à la notion de souches pathogènes chez l'homme.

(1) Chez les bovins

Nous citerons 7 études qui se sont intéressées à la recherche d'AEEC dans les fèces d'animaux sains ou diarrhéiques. Les méthodes de détection utilisées sont :

- recherche d'effets histopathologiques sur culture de cellules HeLa* ;
- recherche d'un facteur de virulence impliqué dans les lésions de type AE* : le gène codant pour l'intimine Eae, protéine souvent responsable de l'adhésion intime entre AEEC et les cellules épithéliales.

Pour l'étude conduite par ORDEN *et al.* (1998) [117], la recherche d'AEEC dans les fèces de jeunes veaux diarrhéiques a permis de détecter 38 prélèvements *eae+* par hybridation sur empreinte de colonies*, dont 18 contenant des souches *eae+* et *stx-* (EPEC*-like).

Dans une étude similaire conduite par CHINA *et al.* en 1998 [19] sur des veaux diarrhéiques un peu plus âgés (4 à 6 semaines), la recherche de gènes *eaeA* par hybridation sur empreinte de colonies* donne 15 prélèvements sur 295 positifs (5%), avec isolation de 32 souches *eaeA+*, parmi lesquelles 16 étaient également *stx+* (VTEC*), et 16 étaient *stx-* (EPEC*-like). La même étude faite sur prélèvement unique de veaux sains donne 75 prélèvements *eae+* sur 311 (24%), avec isolation de 255 souches *eaeA+*, parmi lesquelles 84 (33%) sont *stx+* (VTEC*) et 171 (67%) *stx-* (EPEC*-like).

Le suivi sur 12 semaines d'une troisième population de veaux nouveau-nés, à raison de deux prélèvements par semaine, a permis d'isoler 490 isolats *eaeA+* dans 429/1164 prélèvements en provenance de 79/89 veaux. Toutes les fermes prélevées se sont révélées positives à la recherche d'AEEC (7/7) avec des prévalences intra ferme allant de 11 à 63%. Parmi ces isolats, 363 (74%) sont *stx-* (EPEC*-like). Parmi les veaux testés, 59 étaient diarrhéiques et porteurs de souches *eaeA+*, soit 66%, contre 22 (25%) de veaux porteurs sains.

MAINIL *et al.* [84] ont analysé 296 souches en provenance de fèces de veaux diarrhéiques, en vue de préciser leur arsenal génétique. Ils ont recherché, entre autres, la présence de gènes *eae*, *stx1* et *stx2*, et du plasmide EAF par PCR*. 70 souches (23,6%) se sont révélées *eae+*, parmi lesquelles 60 avaient au moins un gène *stx*, et 10 se sont révélées négatives à la recherche de gènes *stx*. Parmi les 10 souches *stx-*, 9 ont le sérotype O26, fréquemment associé aux souches *stx+*. Les auteurs émettent donc un doute à l'encontre de ces souches : sont-elles des souches initialement *stx-*, ou ont-elles perdu leur gène *stx* au cours de cultures successives, comme le décrivent POHL *et al.* [124] pour 8 souches initialement *stx+*, qui sont devenues *stx-* au gré des cultures.

HOLLAND *et al.* en 1997 [57] ont analysé les fèces de 114 veaux diarrhéiques : après isolement d'*E. coli* sur gélose de Mac Conkey*, ils ont recherché la présence de gènes *eae* et de gènes *stx* par PCR*. 23 prélèvements se sont révélés positifs, parmi lesquels 12 (52%) étaient *stx-* (EPEC*-like). La même étude conduite sur 101 veaux sains a permis de mettre en évidence des souches *eae+* dans 40 prélèvements, soit 40%, parmi lesquels 50% étaient *stx-* (EPEC*-like). Les veaux sains de cette étude portent significativement plus d'AEEC que les veaux diarrhéiques ($p < 0,01$).

AKTAN *et al.* [2] ont recherché la présence d'AEEC dans les fèces de bovins prélevées à l'abattoir, par hybridation sur empreinte de colonies*, confirmée par PCR* *eae*. Sur les 426 isolats d'*E. coli* analysés, 24 sont porteurs du gène *eae* (confirmé par PCR*). Parmi ces 24 souches, 5 sont *stx1+* (définies par PCR*). Ainsi, 19 souches EPEC*-like ont été isolées (4,4%).

ORDEN *et al.* [118] ont recherché la présence de souches EPEC*-like dans les fèces de bovins laitiers sains, après culture sur gélose de Mac Conkey*, isolation de souches et recherche des gènes *eae* et *espB* par hybridation sur empreinte de colonies. Dans cette étude, 34 des 412 animaux se sont révélés porteurs de souches EPEC*-like, soit 8,2%. 86/1648 colonies se sont révélées positives à l'hybridation avec la séquence du gène *eae* utilisée. Parmi celles-ci 69/86 (80,2%) sont *stx-* (EPEC*), et 28/86 (32,6%) sont *eae+/espB+*, dont 22/86 (25,6%) sont *stx-* (EPEC*-like).

Tableau 12 : Prévalences en EPEC-like chez les bovins

Animaux prélevés.	Mode de détection	Prévalences			Réf
		AEEC (<i>eae+</i>)	STEC (<i>eae+ stx+</i>)	EPEC-like (<i>eae+ stx-</i>)	
Veaux laitiers diarrhéiques, 1-30j d'âge	Hybridation sur empreinte de colonies* pour <i>eae</i> et <i>espB</i> ; PCR* pour <i>stx</i> .	38/221	20/221 (9%)	18/221 (8,1%)	117
Veaux à diarrhées, 2-8 semaines	Hybridation sur empreinte de colonies*	15/295 soit 5% des veaux morts de diarrhées	A partir de ces 15 prélèvements : 16/32 isolats <i>eaeA+</i> et <i>stx-</i>	A partir de ces 15 prélèvements : 16/32 isolats <i>eaeA+</i> et <i>stx-</i>	19
Veaux sains	Hybridation sur empreinte de colonies*	75/311 soit 24% des veaux	1151/1322 souches <i>stx+</i> isolées dans ces 75 prélèvements.	171/1322 isolats <i>stx-</i> dans ces 75 prélèvements.	19
296 <i>E. coli</i> isolées de fèces de veaux diarrhéiques	Recherche <i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i> , EAF (pour LA), F1845 et AIDA1 (pour DA) et Agg (pour AA)	70/296 (23,6%)	60/70 isolats <i>eae+</i> et <i>stx+</i>	10/70 isolats <i>eae+/stx-</i> soit	84
114 veaux Holstein diarrhéiques ; 32 ont reçu un traitement antibiotique	PCR* <i>eae</i> et <i>stx</i> sur souches <i>E. coli</i> isolée sur gélose de Mac Conkey*	23/114 (20,2%)	11/23 <i>stx+</i>	12/23 <i>stx-</i>	57
		8 des 23 avaient reçu un traitement antibiotique dans les semaines précédent le prélèvement.			
101 veaux Holstein sains	PCR* <i>eae</i> et <i>stx</i> sur souches <i>E. coli</i> isolée sur gélose de Mac Conkey*	40/101 (40%)	8/40 <i>stx+</i>	32/40	57
Prélèvements de fèces dans le rectum de bovins après randomisation, à l'abattoir, en Angleterre et au Pays de Galle	Isolation de colonies sur Mac Conkey* ; hybridation sur empreinte de colonies* pour <i>eae</i> ; confirmation par PCR* et recherche de gènes <i>stx</i> .	24/426 isolats retrouvés soit 5,4%	6/24 <i>stx+</i> parmi lesquels 5 <i>stx1+</i> et 0 <i>stx2+</i> .	18/24 <i>eae+</i> <i>stx-</i>	2
101 veaux (<3mois), 114 génisses (3 à 12) et 197 adultes (>12mois)	Isolation de 4 colonies par prélèvement sur Mac Conkey* et hybridation sur empreinte de colonies* <i>E. coli</i> confirmée biochimiquement.	86/1648 souches <i>eae+</i> , parmi lesquelles 28 sont également <i>espB+</i> (32,6%).	sur les 28 <i>eae+/espB+</i> , 6 sont aussi <i>stx+</i> .	69/86 (80,2%)	118

(2) Chez les petits ruminants

La situation a été moins approfondie. Dans leur synthèse, WALES *et al.* [161] citent des prévalences en AEEC allant de 7 à 21% chez des chevreaux ou agneaux diarrhéiques et de 33 à 50% chez les petits ruminants sains.

Dans leur étude publiée en 2002, de la FUENTE *et al.* [29] ont analysé les fèces en provenance de 1013 petits ruminants : 332 agneaux diarrhéiques, 116 sains, et 142 ovins adultes, ainsi que 170 chevreaux diarrhéiques, 94 sains et 159 adultes sains.

Parmi les animaux diarrhéiques, 56 se sont révélés porteurs de souches d'*E. coli* possédant le gène *eae* (AEEC) détecté par hybridation sur empreinte de colonies*, autant d'agneaux que de chevreaux, soit respectivement 28/332 agneaux (20,3%) et 28/170 chevreaux (28,8%).

Parmi les animaux sains, les prévalences sont statistiquement plus élevées chez les jeunes (56/116 soit 48,3% des agneaux porteurs, et 31/94 soit 33% des chevreaux) que chez les adultes (4/142 soit 2,8% pour les ovins, et 3/159 soit 1,9% pour les caprins). Notons par ailleurs que sur les 159 souches *eae+* isolées chez les agneaux sains, 4 produisaient des vérotoxines (détectées par VCA*), et ne sont donc pas des EPEC*. De même, 2 des 90 souches *eae+* isolées chez les chevreaux sains peuvent être classées parmi les VTEC*. Toutes les autres souches isolées ne produisent pas de vérotoxines, et peuvent être considérées comme des EPEC*-like, ce qui nous donne donc les prévalences suivantes :

- au minimum 29/94 prélèvements (30,8%) contenant des EPEC-like pour les caprins, si l'on considère que les deux souches VTEC proviennent du même animal, 30/94 (31,9%) si on considère qu'elles proviennent de deux animaux différents.

- au minimum 52/94 prélèvements (55,3%) contenant des EPEC-like pour les ovins, si l'on considère que les quatre souches VTEC proviennent du même prélèvement, au maximum 55/94 (58,5%) si elles proviennent toutes d'un animal différent.

Dans une étude publiée en 2001, CID *et al.* [20] ont analysé des souches d'*E. coli* isolées à partir de fèces d'agneaux diarrhéiques (246) et de chevreaux diarrhéiques (152), à la recherche de gène *eae* par hybridation sur empreinte de colonies*. 23 des prélèvements ovins se sont révélés positifs, et 27 des prélèvements caprins. Parmi les souches *eae+*, la production de Shiga-toxines de type I a été mise en évidence pour 8 souches d'origine ovine et 1 souche d'origine caprine. Ainsi, 15 des 246 souches d'origine ovine peuvent être assimilées à des EPEC*-like (6,0%), et 26 des 152 souches caprines analysées (17%).

AKTAN *et al.* [2] ont également recherché la présence d'AEEC dans les fèces d'ovins prélevées à l'abattoir, par hybridation sur empreinte de colonies, confirmée par PCR* *eae* ; sur les 401 isolats d'*E. coli* analysés, 72 sont porteurs du gène *eae* (confirmé par PCR*), et aucune ne porte de gène *stx* : 17,7% des souches analysées sont donc des EPEC*-like.

KRAUSE *et al.* [72] ont également recherché la présence de gène *eae* par hybridation sur empreinte de colonies, confirmée par PCR* *eae*, parmi 514 souches d'*E. coli* isolées à partir de fèces de 120 moutons adultes sains. 23 animaux se sont révélés porteurs de ce gène, avec isolation de 28 souches (4 animaux étaient porteurs de plusieurs souches), soit une prévalence estimée à 19% d'animaux porteurs. Parmi ces souches, quelques unes des 4 souches O119:H25 isolées portaient le gène *stx1*. Pour les autres, aucun gène *stx* n'a été mis en évidence par PCR*. Ainsi au minimum 16% des animaux sains étaient porteurs de EPEC*-like, correspondant à 4,5% des souches.

Tableau 13 : Prévalences en EPEC-like trouvées chez les petits ruminants.

Catégories d'animaux prélevés		Prévalences	Réf.		
Ovins	Jeunes	Sains	Entre 55,3 ⁽¹⁾ et 58,5% des animaux prélevés De 33 à 50% des animaux ⁽²⁾ prélevés	29 161	
		Avec diarrhées	20,3% ⁽³⁾ des animaux prélevés 6% des souches analysées De 7 à 21% des animaux ⁽²⁾ prélevés	29 20 161	
		Adultes (sains)	2,78% des animaux prélevés 17,7% ⁽⁴⁾ des souches analysées 4,5% ⁽⁴⁾ des souches analysées soit 16% ⁽⁴⁾ des animaux prélevés	29 2 72	
	Caprins	Jeunes	Sains	Entre 30,8 et 31,9% ⁽¹⁾ des animaux prélevés	29
			Avec diarrhées	28,8% ⁽³⁾ des souches analysées 17% des souches analysées De 33 à 50% des animaux ⁽²⁾ prélevés	29 20 161
		Adultes (sains)	1,9% des souches analysées De 7 à 21% des animaux ⁽²⁾ prélevés	29 161	

⁽¹⁾ Chiffre minimum obtenu si chaque souche *stx+* avait été isolée chez le même animal, chiffre maximum si chaque souche avait été isolée chez un animal différent.

⁽²⁾ Ces résultats englobent la prévalence rapportée chez les agneaux et les caprins, deux espèces confondues.

⁽³⁾ La prévalence en AEEC chez les animaux diarrhéiques est certainement sous estimée, du fait que pour 245 agneaux et 153 chevreaux, un seul isolat a été étudié, contre 4 pour l'ensemble des autres animaux.

⁽⁴⁾ Toutes les études citées ont mis en évidence les souches EPEC*-like par hybridation sur empreinte de colonies*. AKTAN *et al.* [2] et KRAUSE *et al.* [72] ont confirmé leurs résultats par recherche PCR* du gène *eae* sur les colonies détectées par hybridation.

(3) Chez les porcins

Des souches EPEC*-like ont été isolées chez le porc, capables de produire des lésions d'attachement/ effacement conduisant à des diarrhées hémorragiques ou non chez les porcelets de la naissance au sevrage [161]. Le principal séro groupe rencontré est O45, suivi de près par les séro groupes O26, O75, O116 et OK [161]. Le gène *eae* n'a pas pu être mis en évidence chez certaines souches, laissant supposer soit que ces souches ne portent pas de LEE, soit que les amorces utilisées ne permettaient pas de détecter le variant d'intimine en présence (la deuxième hypothèse est la plus probable). La majorité des souches dont l'intimine a été détectée portent le variant β de l'intimine Eae [5, 72].

Des souches STEC* produisant des toxines Stx2e ont été isolées chez le porc. Cependant, elles adhèrent à la muqueuse épithéliale via les fimbriæ F18 et non via le système Eae/Tir.

La recherche des Bfp par PCR* en utilisant une amorce spécifique du gène *bfpA* n'a pas permis de les détecter chez les souches AEEC isolées chez les porcs [5, 170, 21]. Par contre, d'autres séquences du plasmide EAF ont pu être repérées dans certaines souches *bfpA*- [5]. Cela laisse supposer soit que les Bfp n'interviennent pas dans la formation des lésions d'AE, comme c'est le cas pour certaines souches EHEC*, soit que l'on est en présence d'un nouveau variant de Bfp non décelé par les amorces classiques.

(4) Chez les oiseaux

Peu d'études sont publiées sur le sujet. Trois souches EPEC* atypiques ont été isolées à

partir de 261 souches isolées dans 132 fèces de volailles [72]. Une de ces souches a des caractéristiques proches de celles retrouvées chez les patients humains : sérotype O26:H11 et gène *ehxA* codant l'entérohémolysine.

WALES *et al.* [161] rapportent quelques études qui montrent que des EPEC*-like atypiques ont été retrouvées chez des oiseaux domestiques et sauvages : 15% des poulets d'élevage sains seraient porteurs d'*E. coli eaeβ+*, *stx-* ; 40% des oies sauvages porteraient des souches *eae+* et *stx-* ; des *E. coli* O86:K61 *eae+* et *cdt+* auraient également été associés à des adénovirus chez des pinsons, donnant lieu à une forte mortalité.

(5) Chez les carnivores

Des souches EPEC*-like typiques ont été retrouvées dans les fèces de chiens et de chats [72], à raison de 7,2% des prélèvements positifs pour les chiens (153 chiens prélevés, 269 souches analysées, 11 porteuses du gène *eae*, toutes isolées chez des chiens différents) et de 6,5% pour les chats (62 chats prélevés, 132 souches analysées, 5 porteuses du gène *eae*, isolées chez 4 chats différents).

b) Les EPEC retrouvés sont-ils pathogènes pour leurs hôtes ?

WALES *et al.* [161] rapportent que certaines souches d'EPEC* induisent des diarrhées chez les jeunes porcelets, souvent avant le sevrage, mais quelques fois aussi après le sevrage.

Pour la situation chez les ruminants, des lésions d'AE ont été mises en évidence suite à des infections naturelles. Des souches EPEC* ont été isolées à partir de ces lésions. L'inoculation expérimentale des souches isolées à des veaux a permis de reproduire le même type de lésions [161].

Chez les oiseaux, les EPEC*-like isolés chez des animaux malades étaient souvent associés à des virus à la pathogénicité aviaire reconnue ; la pathogénicité propre des EPEC* est suspectée mais non démontrée.

Cependant, les forts taux d'infections retrouvés chez des animaux sains font penser à une grande hétérogénéité au sein des EPEC*-like, en faisant un groupe parmi lequel certaines souches expriment un phénotype de pathogénicité et d'autres non.

3. Les dangers pour l'homme que représentent les EPEC isolés chez les animaux

a) Comparaison des EPEC et des EPEC-like

Certaines études montrent que les EPEC* et les EPEC*-like n'ont pas les mêmes caractéristiques :

Dans leur synthèse, NATARO *et al.* [108] précisent que les EPEC* isolées chez des animaux (lapins, porcs, chiens...) n'étaient pas du même sérotype que les EPEC* retrouvées chez des patients humains. NATARO *et al.* concluent que les souches EPEC* retrouvées chez les animaux ne sont pas les mêmes que les souches EPEC* pathogènes pour l'homme, et ne considèrent pas les EPEC* comme étant des agents zoonotiques.

WALES *et al.* [161] rapportent également que les facteurs de virulence associés à ce phénotype pathogène ne sont pas les mêmes chez les souches EPEC*-like que chez les souches EPEC* isolées chez l'homme. A titre d'exemple, la majorité des EPEC*-like ne portent pas le plasmide EAF (EPEC*-like atypiques), alors que la majorité des souches isolées chez les patients humains sont des EPEC* typiques. De plus, l'insertion de LEE se fait à des endroits du génome qui diffèrent en fonction de l'hôte chez qui la souche est isolée, ce qui suggère que ce locus a été acquis indépendamment par les souches en présence. Ils rappellent ainsi que la relation entre les EPEC* humains et animaux reste incertaine, même lorsqu'ils sont de même sérotype (O26:H11 notamment).

Cependant, d'autres publications mettent l'accent sur leurs similitudes :

STEPHAN *et al.* [145] ont isolé des souches O157:H45 retrouvées chez des bovins, avec des facteurs de virulence identiques à ceux de souches isolées chez l'homme, à savoir : sur 11 souches porteuses du LEE, toutes les intimines sont *eae_{α1}* ; 10 souches ont le plasmide EAF parmi lesquelles 9 sont *bfpA*⁺, et toutes portent le gène *astA* (codant pour EAST1). Les gènes *stx* et *ehx* n'ont pas été retrouvés par PCR* sur ces souches.

KRAUSE *et al.* [72] ont caractérisé les souches *eae*⁺ trouvées dans les fèces en provenance de 7 espèces animales. Seules trois souches *stx1*⁺, *EhlyA*⁺ et *bfpA*⁻ ont été trouvées, de sérotype O119:H25. Pour les autres souches *eae*⁺, 4,1% portaient le gène *bfpA* : ce sont des EPEC*-like typiques ; 92,1% ne portaient ni le gène *bfpA* ni les gènes *stx1* et *stx2* : ce sont des EPEC* atypiques.

Parmi les EPEC* trouvés, certains appartiennent à des sérotypes associés à des pathologies chez l'homme ou chez l'animal : 13,6% appartiennent au sérotype O26:H11 ; d'autres appartiennent aux sérotypes O103:H2, O119:H25, 128:H2, O145:H28, O177:H11. De plus, 5 des sérotypes précités sont fréquemment associés à des souches *stx*⁺. Or, les souches de ces sérotypes, isolées dans cette étude, possèdent par ailleurs des facteurs de virulence proche des souches EHEC*, à savoir qu'elles possèdent le même type d'intimine et produisent des EHEC-hémolysine. Les auteurs rappellent que ces souches pourraient acquérir un gène *stx* au cours d'une infection concomitante d'un animal avec une souche *eae*⁺, *EhlyA*⁺, et *stx*⁻ et une souche *stx*⁺. La forte prévalence des souches STEC* chez les bovins en particulier augmente ce risque. De plus, si la plupart des sérotypes rencontrés sont spécifiques d'espèce, certains cependant ont été retrouvés chez plusieurs espèces : O2:H8, O26:H11, O109:H25 et O145:H28, ce qui laisse supposer qu'ils ont acquis la capacité de coloniser de multiples espèces...

A la lumière de ces éléments, KRAUSE *et al.* [72] concluent que ces souches EPEC*-like représentent un risque potentiel de contamination de l'homme, de part leurs propres facteurs de virulence, et de part le fait qu'ils pourraient acquérir des gènes *stx*...

LEOMIL *et al.* [81] ont comparé 33 souches O26 isolées chez les animaux (bovins, ovins, porcins et poulets) et chez l'homme. Ils concluent à la lumière des facteurs de virulence observés que bon nombre d'espèces animales servent de réservoir pour les O26 pathogènes pour l'homme.

En ce qui concerne les différents variants d'intimine, nous rappellerons que ces variants ne sont pas spécifiques d'espèce au sens strict, puisque les mêmes variants ont pu être isolés sur des souches humaines et animales, et notamment les variants *Eaeβ* [161, 72].

b) Pour conclure

A ce jour, aucun lien épidémiologique ne relie la contamination de l'homme par des EPEC* d'origine animale. Cependant, les animaux de rente sains portent dans leur tube digestif des EPEC*, parmi lesquels certains ont des facteurs de virulence proches de ceux retrouvés chez les souches pathogènes pour l'homme. On ne sait pas encore si ces souches sont directement pathogènes pour l'homme, ou si elles doivent acquérir des facteurs de virulence complémentaires pour le devenir, notamment le plasmide EAF et les *bfp* qu'il code.

Certaines souches possédant toutes les caractéristiques des souches pathogènes pour l'homme, et notamment ce plasmide EAF, ont été retrouvées chez les carnivores domestiques. Ces animaux pourraient servir de réservoir pour les germes pathogènes pour l'homme, ce qui est d'autant plus préoccupant que la promiscuité entre l'homme et ses carnivores domestiques est grandissante...

Comparé au danger représenté par les ETEC* animales, il semble que celui représenté par les EPEC* animales soit plus préoccupant, car les mécanismes de pathogénicité sont plus proches, et notamment celui qui permet l'adhésion à la muqueuse intestinale, point de départ de l'émergence des souches pathogènes dans le tube digestif.

C. Le portage des EHEC

Depuis la première épidémie américaine de colite hémorragique due aux EHEC* en 1983 [1], la communauté scientifique travaille sur la connaissance du cycle épidémiologique des EHEC*. Il est clairement établi que la contamination humaine peut trouver son origine chez les animaux de rente (l'épidémie de 1982 était due à la consommation de hamburger peu cuits, d'où le nom de « maladie du hamburger » parfois donné à ces colites hémorragiques). D'énormes recherches ont été faites pour caractériser le rôle des différentes espèces animales dans le portage et la dissémination des EHEC*.

L'objectif de cette partie est de donner des éléments de compréhension de la répartition des souches potentiellement EHEC* au sein des différentes espèces animales domestiquées, afin de cibler les effluents qui sont susceptibles de participer à la dissémination de souches EHEC* dans l'environnement.

Cependant, la multitude des études publiées sur le sujet, ainsi que la multitude des matériels et méthodes utilisés, nécessitent qu'on s'y arrête un peu avant de discuter des résultats cités :

1. Méthodes de détections utilisées et seuils de détection

La grande diversité des méthodes analytiques utilisées pour rechercher des souches potentiellement EHEC* rend difficile la comparaison des résultats donnés en terme de prévalence. Il est donc difficile d'avoir une vue d'ensemble de la situation épidémiologique en terme de répartition de ces pathovars* dans les populations saines.

Nous concentrerons nos recherches sur les publications portant sur la recherche d'*E. coli* potentiellement entéro-hémorragiques (pEHEC*) dans les matières fécales, en accord avec les objectifs de cette partie.

a) Importance du choix du matériel prélevé

Parmi les différentes publications sur le sujet, la recherche de pEHEC* a été faite à partir de matières fécales prélevées :

- dans l'environnement ;
- dans le rectum d'un animal vivant ;
- dans une portion du tube digestif d'un animal mort, à l'abattoir.

On peut se demander comment le choix du type de prélèvement et de la quantité analysée peut affecter la sensibilité des méthodes employées.

(1) Pour les prélèvements effectués dans l'environnement

(a) Le risque de contamination des échantillons

Tout d'abord les fèces peuvent être souillées par des bactéries de l'environnement après l'exonération fécale. Dans les études portant sur la prévalence en pEHEC* d'un troupeau, la question est de savoir s'il y a ou non circulation de pEHEC* au sein du troupeau. La mise en évidence de pEHEC* dans l'environnement proche des animaux suffit à suspecter la circulation de ces bactéries chez les animaux, car les *E. coli* sont avant tout des bactéries fécales. Cependant, la récolte de fèces à même le sol ne permet pas de tirer des conclusions sur les prévalences individuelles, car dans ce cas la contamination extérieure des bouses est un biais qui conduira à surestimer cette prévalence. Notons également que par cette méthode de récolte on peut être amené à collecter deux fois des fèces d'un même animal, ce qui biaisera une fois de plus les prévalences individuelles.

Les publications [115, 131, 52, 55, 53] utilisent cette technique de prélèvement.

(b) La répartition des pEHEC dans les fèces

Les prélèvements analysés ne comprennent généralement qu'une fraction des fèces émises. Or des études montrent que les pEHEC* ne sont pas répartis de façon homogène dans les bouses.

PEARCE *et al.* [123] ont travaillé sur la distribution des *E. coli* O157 dans les bouses de bovins. Sur 87 échantillons analysés, prélevés en trois points de bouses distincts, 62 se sont révélés positifs à la recherche d'*E. coli* O157 par IMS*. Sur ces 62, 17 n'étaient pas positifs pour les trois échantillons appartenant à la même bouse. Cela peut donc sous-estimer la prévalence réelle en pEHEC*.

Le choix de la fraction de fèces prélevées n'est pas précisé dans les études citées ici.

(2) *Pour les prélèvements effectués sur l'animal*

(a) La quantité de fèces prélevée

La quantité analysée influe sur la sensibilité des méthodes employées [123] or elle varie considérablement d'une étude à l'autre.

PEARCE [123] rapporte que sur 27 études, un seul prélèvement a été analysé. 9 de ces études ont analysé des compresses de fèces prélevées sur les animaux ou dans leur environnement, 7 ont analysé 1g de fèces prélevées sur les animaux ou dans leur environnement, et 10 ont analysé plus de 10g de fèces prélevées sur les animaux ou dans leur environnement. Dans les deux autres études, les quantités analysées n'étaient pas précisées.

Parmi les 71 études qui sont citées ici, 24 ont recherché des pEHEC* à partir de compresses tamponnées sur les fèces à analyser, 10 à partir de 10g de fèces, 10 à partir de 1g, et d'autres sur des quantités variables (de 0,1 à 600g en fonction des études). Pour 16 études, la quantité analysée n'était pas précisée.

Le tableau 14 répertorie la quantité de fèces analysée dans les différents études citées ultérieurement :

Tableau 14 : Quantités de fèces analysées dans les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC.

Quantité de fèces analysée	Nombre d'études	Références
600 g	1	131
25g	1	115
20g	1	56
10g	10	37, 34, 35, 37, 38, 42, 45, 73, 79, 164
3 à 10g	1	55
5g	1	62
2g	1	90
1g	10	12, 27, 41, 58, 69, 120, 134, 143, 160
0,5g	1	144
0,3 à 0,5	1	75
0,2g	1	125
0,1g	1	43
0,05g	2	31
Comresse imprégnée	24	7, 17, 18, 22, 23, 24, 93, 99, 80, 47, 52, 54, 55, 65, 111, 121, 128, 132, 164, 171
Non précisé	16	6, 14, 56, 127, 129, 149, 167

(b) Les sites de prélèvement

Le site de prélèvement a également une répercussion sur la détection de pEHEC*.

Pour la recherche d'*E. coli* O157:H7, une étude a été publiée en 2003 par NAYLOR *et al.* [109] dans laquelle des veaux ont été inoculés avec quatre souches d'*E. coli* O157:H7 isolées chez des humains atteints de colites hémorragiques dues à O157:H7 d'origine bovine. La recherche des souches inoculées a été faite par culture sur gélose SMAC* et test LAT* avec recherche des antigènes O157. Les prélèvements analysés provenaient soit de fèces émises peu de temps avant la mort, avec prélèvements en superficie et au cœur des bouses, soit de la lumière du tube digestif, à différents endroits du tractus gastro-intestinal, soit de portions de muqueuses prélevées à proximité de la jonction recto-anale, ne contenant pas de matières fécales à l'œil nu.

Les plus fortes prévalences ont été obtenues par recherche de *E. coli* dans les fèces, par rapport aux prélèvements effectués dans le côlon pour 13 animaux sur 15 (différences significatives), et plus précisément à la périphérie des bouses, en accord avec l'étude menée par PEARCE. Les régions où le plus grand nombre de micro-colonies ont pu être observées par immunofluorescence microscopique avec anticorps anti-O157 sont les muqueuses épithéliales situées à 5 cm de la jonction recto-anale, avec une forte densité de follicules lymphoïdes.

Une étude complémentaire a démontré que la culture de compresses tamponnées sur des portions de muqueuses denses en follicules lymphoïdes prélevées en région terminale du rectum [43] était plus sensible pour la détection d'*E. coli* O157:H7 que la recherche par IMS* sur fèces enrichies, sur des veaux expérimentalement inoculés depuis plus de 40 jours (temps nécessaire à la colonisation de la muqueuse recto anale). GREENQUIST *et al.* dans une étude publiée en 2005 [133], trouvent également que la détection de O157:H7 par culture de compresses tamponnées sur la muqueuse recto anale est plus sensible à la recherche d'*E. coli* O157:H7 que la culture de fèces. Ils ont obtenu ces résultats en comparant la prévalence estimée en *E. coli* O157:H7 parmi 747 bovins de race à viande : la première méthode annonçait une prévalence de 9,5%, contre 4,5% pour la deuxième. L'analyse par PFGE* des souches détectées suggère que les deux méthodes ont permis de détecter les mêmes souches.

Quant aux pEHEC* non-O157:H7, l'étude de NAYLOR [78] indique qu'ils n'ont pas de tropisme particulier pour la muqueuse de la jonction recto anale. Une étude menée par STEVENS *et al.* [146] suggère que les pEHEC* de sérotype O5 et O111, porteur du gène *efal*, colonisent préférentiellement le côlon de bovins.

Ainsi donc, le choix du site de prélèvement affecte les prévalences obtenues : rechercher les pEHEC* dans le contenu du côlon risque de sous-estimer le portage d'*E. coli* O157:H7. La recherche de pEHEC* par écouvillon de la muqueuse recto anale avantage la détection en *E. coli* O157:H7 au détriment des autres souches potentiellement pathogènes ...

Parmi les études citées ici, les échantillons prélevés directement sur l'animal proviennent en majeure partie des fèces (n=38), collectées par palpation transrectale (PTR) (n=16) le plus souvent, sur animaux vivants (n=10) ou mort depuis peu (n=6). Les prélèvements de contenu intestinal à l'abattoir sont également effectués dans 2 études. Dans les autres études (18), les modalités de prélèvement ne sont pas décrites.

Ces données sont synthétisées dans le tableau 15 :

Tableau 15 : Type de prélèvements de fèces dans les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC (# PTR = Palpation trans rectale).

Prélèvement		Nombre d'études	Références
A l'abattoir :	PTR [#]	6	18, 75, 120, 129, 134, 144.
	contenu digestif	2	6, 62.
	Non précisé	7	12, 14, 24, 41, 43, 47, 125.
Sur animal vivant	PTR [#]	10	7, 27, 31, 34, 37, 38, 45, 73, 149, 160.
	Compresses rectales	11	17, 35, 52, 54, 55, 65, 80, 93, 99, 165.
	Non précisé	11	22, 23, 56, 111, 121, 127, 129, 132, 143, 167, 171.

b)

c) L'acheminement du prélèvement au laboratoire

La question soulevée ici est celle de la conservation du matériel recherché dans le prélèvement analysé. L'enjeu est différent selon que l'on travaille sur colonies vivantes ou que l'on recherche du matériel génétique (gènes *stx* par PCR* sur ADN extrait par exemple). Ce dernier peut être retrouvé même si les bactéries porteuses sont mortes ou incapables d'être cultivées par la suite. Par contre, la préservation de la viabilité des souches pathogènes au milieu de la flore digestive commensale est fondamentale lorsque l'on veut remettre en culture les bactéries. C'est particulièrement important lorsqu'on travaille sur des prélèvements effectués chez des animaux sains où les concentrations fécales en pEHEC* sont bien inférieures à celles de la flore digestive commensale. La perte de quelques colonies lors de la conservation des prélèvements peut alors être à l'origine de faux-négatifs.

Différentes stratégies sont mises en œuvre pour préserver la viabilité des souches initialement vivantes au cours du transport et à l'arrivée au laboratoire. Ainsi, certaines équipes ont transporté les prélèvements sous couvert du froid, par ajout de glace par exemple [120, 35]. D'autres équipes précisent que les prélèvements ont été réfrigérés [75] ou congelés [144] dès leur arrivée au laboratoire. L'utilisation de milieux de transport favorables à la conservation des *E. coli* (milieu de transport d'Amies, Cary Blair ou Stuart) est également décrite.

De plus, le délai qui sépare le moment du prélèvement et l'analyse influe sur la quantité de bactéries présentes et peut avoir des répercussions sur les prévalences obtenues. Ainsi, KUDVA *et al.* [74] ont incubé des fèces de bovins pendant 28 jours et ont regardé l'évolution de la population d'*E. coli* O157:H7 pour des températures allant de 23 à 37°C, la concentration décroît de 1 log par heure pendant les 24 premières heures. Certaines équipes en tiennent compte en assurant un délai de moins de 24 heures entre le prélèvement et le traitement de l'échantillon. D'autres s'appuient sur des études internes pour déterminer le délai acceptable entre le moment du prélèvement et celui de l'analyse [75].

Le tableau 16 reprend les précautions particulières décrites par certaines équipes des études citées ici pour caractériser le portage animal en pEHEC*. Pour les études non citées, les précautions prises ne sont pas précisées.

Tableau 16 : Précautions prises pour la préservation de la viabilité des souches entre la collecte et l'analyse des prélèvements parmi les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC.

Précautions		Etudes concernées
Milieu de transport	Amies	65
	Stuart	80, 99.
	Cary Blair	17, 53, 111
Maîtrise de la température	Pendant le transport	35, 42, 43, 53, 55, 79, 120, 131, 165.
	Dès réception	53 (congélation à -70°C avant analyse), 75, 144.
Délai avant traitement du prélèvement	Moins de 6h	43 (4h)
	Moins de 24h	79, 131, 165.
	Plus de 24h (durée max.)	75 (14 jours), 111 (48h).

d) Les différentes méthodes utilisées

La lecture des différents articles portant sur la recherche de pEHEC*, et le bilan Afssa 2003 sur l'étendue des connaissances relatives aux *E. coli* producteurs de Shiga-toxines [1], font ressortir les différentes méthodes utilisées pour détecter les pEHEC*.

(1) Les méthodes bactériologiques : isolement de souches suspectes

Certaines études cherchent à isoler des souches d'*E. coli* puis à déterminer leur profil de virulence. D'autres études cherchent directement à isoler des STEC*.

Ainsi le bilan Afssa 2003 rapporte les particularités biochimiques des STEC* qui permettent leur isolement. A l'inverse de la majorité des *E. coli* (93%), la plupart des *E. coli* O157:H7 d'une part ne fermentent pas le sorbitol, ce qui est mis à profit par l'utilisation de géloses MacConkey* au sorbitol (SMAC*) ; d'autres part, la plupart des STEC* O157 ne produisent pas de β -glucuronidase, ce qui est mis à profit par l'ajout de 5-bromo-4-chlor-indoxy- β -glucuronide (BCIG) aux géloses SMAC* par exemple [1].

Cependant, ces propriétés biochimiques ne sont communes qu'aux souches O157:H7. Des variants O157:NM, isolés chez des patients atteints de SHU*, fermentent le sorbitol et produisent des β -glucuronidases [67], ainsi que les autres EHEC* isolés chez les patients humains. Les milieux SMAC sont pourtant fortement utilisés pour isoler les STEC*. L'absence de spécificité quant à l'isolement des souches non O157:H7 par rapport à l'arrière plan de souches d'*E. coli* commensales diminue la sensibilité de l'isolement.

Pour affiner la sélection de souches pEHEC*, des étapes d'enrichissement sont souvent mises en œuvre, avec utilisation de milieux spécifiques (Tryptical Soy Broth, milieu minimum pour *E. coli*, gélose de Mac Conkey* pour les plus fréquents). L'ajout d'antibiotiques est fréquents : vancomycine*, novobiocine*, tellurite potassique, cefsulodine*, cefixime*, ..., seuls ou associés. Les concentrations utilisées sont globalement homogènes. D'autres équipes jouent également sur la thermotolérance des *E. coli* et incubent les souches non pas à 37°C comme la plupart des équipes, mais à 42°C pendant des durées variables ([115] et [43] pendant 6h, [37] pendant 18h et [111] toute une nuit).

La diversité des protocoles d'enrichissement induit des biais supplémentaires et rend les comparaisons délicates. Par exemples, l'ajout fréquent de tellurite potassique aux géloses de Mac Conkey* supplémentées en sorbitol permet, certes, d'isoler les souches O157:H7 porteuses d'un gène de résistance à cet antibiotique, mais est défavorable à la croissance des souches O157:NM, dépourvues de ce facteur de résistance, ce qui peut conduire à une sous-estimation de la prévalence de ses souches dans les études conduites [67].

Notons également qu'il existe des formes viables non cultivables, qui peuvent coloniser leur hôte mais que l'on ne sait pas cultiver en laboratoire. Toutes les techniques de détection, ou de confirmation, faisant intervenir des étapes de culture bactérienne ne permettent pas de mettre en évidence ces bactéries, et peuvent ainsi sous estimer la prévalence en souches pathogènes initialement présentes dans le prélèvement.

(2) La recherche d'un effet cytotoxique sur culture de cellules Vero :

Ce test se réalise :

- à partir d'un surnageant de fèces mis en suspension dans un milieu favorable à la culture d'*E. coli* ;
- à partir d'un extrait de colonies isolées remises en suspension, ce qui augmente sa spécificité.

La recherche d'un effet cytotoxique sur culture de cellules Vero (VCA* pour Vero Cells Assay) peut également être complétée par un test d'inhibition de l'effet cytotoxique par ajout d'anticorps anti-Shiga-toxines dans le surnageant des souches VCA*+. On gagne ainsi en sensibilité.

Ce test est rarement utilisé pour rechercher la présence ou l'absence de VTEC* dans un prélèvement. Il est par contre mis à profit pour caractériser les souches isolées après recherche de gènes *stx*, ou pour caractériser les souches O157 mises en évidence.

Le tableau 17 décrit l'utilisation du VCA* dans les différentes études citées ultérieurement :

Tableau 17 : Utilisation du VCA parmi les études citées pour caractériser le portage animal en pEHEC (sorb- = ne fermentant pas le sorbitol ; β glu+ = présentant une activité β -glucuronidase).

Méthode de détection		Références
Cytotoxicité sur cellules Vero*	Surnageant de bouillon d'enrichissement	14, 24.
	Surnageant D' <i>E. coli</i>	6, 7, 99.
	Surnageant de STEC* présumées (sorb- et β glu+)	132, 149.
Autre ; VCA* sur surnageant de STEC*	IMS* O157	18, 56, 120.
	Recherche de gènes <i>stx</i>	17, 31, 65, 80, 90, 93, 125, 127, 134, 166.

(3) La recherche de propriétés immunologiques

Deux techniques sont utilisées :

- l'immunoséparation magnétique (IMS*) à partir d'un surnageant de fèces mis en suspension dans un milieu favorable à la culture d'*E. coli* ;
- le test d'agglutination avec les anticorps anti O157 et H7 sur latex (test LAT*).

Ces techniques présentent l'avantage d'être spécifiques de l'antigène recherché. Cependant, nous avons vu que les pEHEC* sont associés à un grand nombre de sérogroupes, si bien que ces techniques ne permettent pas de tirer des conclusions sur la globalité de la présence des souches pEHEC* dans les prélèvements analysés.

Ces techniques sont mises à profit dans la recherche de la prévalence de souches précises (O157, O26 par exemple), ainsi que pour la caractérisation des souches isolées (sérotypage notamment).

Globalement, les protocoles d'IMS* se font en 4 étapes :

- une étape d'enrichissement des prélèvements :

C'est l'étape la plus variable (cf. tableau 18), avec différentes combinaisons de milieux de culture (BPW*, Gram Negativ broth, géloses de Mac Conkey*, milieu pour *E. coli* modifié, Tryptical Soy Broth), d'antibiotiques associés (cefixime*, cefsulodine*, novobiocine* et vancomycine*), et de durée d'incubation : 6 heures [132, 120, 34], 16 à 24 heures [55], 18 heures [165] et 24 heures ([18] ; [165] pour IMS* O26).

Tableau 18 : Les milieux d'enrichissement utilisés avant de réaliser les IMS O157 et O26 dans les études citées (les cases barrées correspondent à des combinaisons non utilisées).

Milieux de culture	Antibiotiques				
	Cefixime* Vancomycine* Cefsulodine*	Cefixime* Vancomycine*	Novobiocine*	Vancomycine*	Aucun
Buffered Pepton Water*	132, 62			B26	120
Gram Negativ broth*	34				35, 160
géloses de mac Conkey*	18				
milieu pour <i>E. coli</i> modifié			56, 165		134
Tryptical Soy Broth		79			43, 45, 55.

- une étape de fixation aux billes magnétiques, globalement homogène au sein des études parcourues ;
- une étape de mise en culture des souches fixées sur les billes magnétiques, réalisée sur gélose de Mac Conkey* complétementée en sorbitol, avec ajout de cefixime* et de tellurite potassique, plus ou moins associée à la recherche d'une activité β -glucuronidase ;
- une étape de vérification de l'appartenance des souches sorbitol négatives au sérotype O157, par agglutination avec des anticorps anti-O157.

(4) La recherche de matériel génétique

On utilise des amorces pour l'amplification des gènes *stx* :

- par screening-PCR* sur le surnageant de fèces mis en suspension dans un milieu favorable à la culture d'*E. coli* ; puis, mise en culture des échantillons positifs et hybridation ur empreinte de colonies avec les amorces des gènes *stx1* et *stx2* pour isoler les colonies positives ;
- par PCR* sur des colonies suspectes isolées.

La sensibilité de la PCR* varie dans le sens croissant en fonction du milieu utilisé pour la recherche des gènes : fèces avec bouillon de culture, surnageant de cultures bactériennes, colonies isolées avec ajout de bouillon de culture, ADN extrait ... En effet, les fèces contiennent des inhibiteurs de PCR*. Plus le prélèvement sera purifié, plus la détection de matériel génétique par PCR* sera efficace.

De plus, la présence de gènes *stx* dans le surnageant de culture n'est pas forcément associée à la présence de souches STEC*, mais peut simplement correspondre à la présence de bactériophages *stx+*, en quantité non négligeable [100]. Un isolement de souches *stx+* est donc nécessaire pour conclure sur la nature des éléments trouvés par PCR*.

Pour les cultures bactériennes, le choix des milieux de culture et des antibiotiques associés modifie également la population de bactéries au sein de laquelle les gènes *stx* sont recherchés, ce qui peut induire un biais supplémentaire, notamment si les milieux choisis sont adaptés à la recherche d'*E. coli* O157.

Notons également que certains auteurs rapportent le fait que des souches initialement *stx+* ont perdu cette caractéristique au gré des cultures [66, 124].

Tableau 19 : Les différents supports utilisés pour rechercher des pEHEC par PCR parmi les études citées pour caractériser les souches pEHEC.

Support de PCR*		Références
Fèces en suspension		
Bouillon d'enrichissement pour <i>E. coli</i>	Surnageant	27, 47, 65, 69.
	ADN extrait	12, 31, 42, 75, 144.
Cultures sur milieux sélectifs (antibiotiques) ou d'isolement (type SMAC*)	Surnageant	54, 69, 125, 127.
	ADN extrait	41, 127, 134, 143.
Colonies pEHEC*-like en suspension		
4, 17, 70, 80, 93, 121, 131, 166, 167, 171.		

(5) Quelques éléments de comparaison de ces techniques

Dans une étude publiée en 1995, l'équipe de SANDERSON [136] a comparé des méthodes de détection de O157:H7 dans les fèces de bovins. Ils ont conduit trois études distinctes :

- l'expérience n°1 portait sur la recherche d'une souche d'*E. coli* résistante à l'acide nalidixic inoculée sur des fèces de vaches laitières adultes ;
- l'expérience n°2 portait sur l'excrétion fécale d'*E. coli* O157:H7 par des veaux laitiers naturellement infectés, élevés dans un élevage où *E. coli* O157:H7 avait été isolé lors d'une étude précédente ;
- et l'expérience n°3 portait sur l'excrétion fécale de la souche résistante à l'acide nalidixic inoculée oralement à des veaux laitiers.

Au cours de ces expériences, ils ont testé l'efficacité de détection de différentes méthodes : enrichissement de 0,1g ou de 10g de fèces, sur TSB* +/- antibiotiques (cefixime*,

tellurite et/ou vancomycine*), avant ensemencement de gélose de Mac Conkey* au sorbitol +/- antibiotiques (cefixime* +/- vancomycine*), et réalisation d'IMS* O157 ou non.

Il est ressortit de cette étude que :

- l'enrichissement des prélèvements sur TSB*+cefixime* (50ng/ml)+vancomycine* (40µg/ml) (noté TSB*cv) suivi d'un étalement sur gélose de Mac Conkey* au sorbitol+cefixime* (50ng/ml) + tellurite (2,5µg/ml) après dilution à 10^{-3} ou 10^{-4} , est la méthode la plus sensible de celles testées ici ;
- l'enrichissement de 10g de fèces au lieu de 0,1g a tendance à augmenter la sensibilité (différence non significative dans cette étude) ;
- l'utilisation de l'IMS* aurait également tendance à augmenter la sensibilité (légèrement meilleure mais pas de différence significative ici entre l'utilisation de l'IMS* sur culture enrichie sur TSB*cv et l'ensemencement de géloses CT-SMAC* de cultures de 0,1g de fèces enrichies sur TSB*cv) ;
- les seuils limites de détection de 50% sont de 10^2 CFU/g pour l'IMS* après enrichissement sur TSB*cv et pour l'enrichissement TSB*cv puis ensemencement CT-SMAC* dans la troisième expérience.

Gardons à l'esprit que les seuils de détection de ces différentes techniques sont très différents, et on ne peut comparer que les résultats en terme de prévalence obtenus avec la même technique.

2. Les biais induits par l'échantillonnage

a) Le choix de la population visée par l'enquête

On ne peut comparer que les résultats donnés pour des populations bien définies, séparées par des critères d'âge, de sexe, de race, de conduite d'élevage, d'alimentation, ... Les données relatives à ces critères ne sont pas toujours fournies dans les publications, mais il est prudent d'en tenir compte.

En matière de STEC*, les principaux critères testés sont :

- l'âge [47, 160, 23, 165, 54] ;
- le stade physiologique [75, 70, 45];
- le régime alimentaire [48, 154] ;
- pour les études concernant les veaux, les pEHEC* ont été recherchées chez des animaux sains [62, 4, 144, 143], et chez d'autres diarrhéiques [167, 14, 166, 121, 129, 93, 80]

De même, GOBELJI *et al.* [24] ont mis en évidence des prévalences significativement différentes entre les petites exploitations (109 des 589 animaux testés) et les grands élevages hors-sol (17 des 235 animaux testés). Les données sur la taille des exploitations sont cependant peu citées dans les études concernant la répartition des pEHEC* chez l'animal.

GEUE *et al.* [47] se sont demandés si le stress lié au transport entre le lieu d'élevage et l'abattoir, corrélé à sa durée, pouvait avoir une incidence sur le taux d'excrétion en pEHEC* des bovins prélevés à l'abattoir. Aucune tendance n'a été remarquée.

Il faut également prendre en compte la population bactérienne étudiée, qui peut varier en fonction du protocole de préparation du prélèvement. Ainsi, on ciblera les populations dominantes si on examine des colonies isolées après dilutions successives de l'échantillon de base. En effet, la dilution permet de diminuer la concentration en bactéries, et on a statistiquement plus de chances d'isoler un clone majoritaire. Par contre, on aura accès aux clones minoritaires si on utilise une méthode très sensible sur un échantillon non dilué, par exemple l'IMS* O157 pour rechercher les *E. coli* O157 ou la PCR*. C'est particulièrement important quand on recherche des pathovars* à partir de sujets sains, car ils ne font alors pas partie de la population majoritaire. Or les doses infectieuses pour les pEHEC* sont faibles [1], si bien qu'il est important de détecter ces pathovars* même s'ils sont présents en faible

quantité. Ici, quelques études ont eu recours à la dilution des prélèvements : [53], [58].

b) La représentativité de l'échantillon

Quand on parle de prévalence, il faut s'intéresser à la représentativité de l'échantillon étudié, pour savoir à quel groupe les résultats peuvent être extrapolés. Bien souvent, les études menées permettent de dresser un bilan de zones géographiques restreintes. De plus, la date des prélèvements est importante car le portage animal évolue avec le temps.

Quand on s'intéresse à la prévalence en pEHEC*, il faut regarder sur quels critères les fermes ont été choisies : ont-elles été sélectionnées suite à un échantillonnage aléatoire ? [111] après questionnaire et acceptation de l'étude par l'éleveur ? [120, 34] suite à une épidémie épidémiologiquement liée à la ferme ? [128, 127]

Le choix des animaux prélevés peut également biaiser la représentativité de l'échantillon en introduisant des facteurs de variation supplémentaires.

c) La taille des échantillons

La taille des échantillons prélevés est également un critère important pour l'extrapolation des résultats. Seuls les résultats accompagnés d'intervalles de confiance permettent une comparaison des prévalences annoncées. La taille des échantillons est souvent trop petite pour permettre d'avoir des résultats interprétables. Cependant, les résultats annoncés donnent une idée sur la présence ou l'absence de pEHEC* dans la population étudiée avant d'entreprendre des études de prévalence globale.

3. Portage de pEHEC par les bovins

a) Les principales caractéristiques de l'excrétion des pEHEC par les bovins adultes

(1) Présentation des principales études citées

Sept études sont présentées ici pour illustrer les grandes lignes données par le bilan Afssa 2003 sur le profil d'excrétion en pEHEC* par les bovins [1].

La première a été conduite en Allemagne par GEUE *et al.* [47]. Ils ont suivi pendant 3 ans quatre troupeaux de bovins (trois de race à viande et un de race laitière), avec recherche de STEC* sur des tampons rectaux de fèces après enrichissement par passage sur des bouillons de Luria Bertani*, puis analyse du surnageant après centrifugation.

Ils ont ainsi obtenu sur les 3 années de suivi, à raison d'un prélèvement toutes les 2 à 4 semaines, respectivement 28,8% de prélèvements positifs pour un groupe, 40% pour deux autres groupes, <60% pour un quatrième groupe et 81,5% pour le dernier groupe. Cela correspond à 970 prélèvements positifs sur 2163 analysés (44,8%), avec isolation par « southern blot » des souches sur 810 prélèvements positifs, soit 37% de prélèvements totaux.

Dans l'étude conduite aux USA par THAN [149], un troupeau de 23 génisses de race à viande a été suivi sur une période d'un an, avec une série de prélèvements à chaque saison. Les prélèvements rectaux de fèces ont été enrichis avant d'être étalés sur gélose SMAC* en vue d'isoler des colonies d'*E. coli* ne fermentant pas le sorbitol. Ces colonies ont été caractérisées biochimiquement à l'aide de galeries API20E, puis ont été testées sur cellules Vero*. 5 prélèvements issus de génisses différentes ont révélé la présence de STEC*, soit 21,7%.

L'équipe a également recherché le sérotype O157:H7 par hybridation sur empreinte de colonies dans les 86 prélèvements en provenance des 23 génisses : sur les 5 colonies positives, 1 seule a été confirmée O157:H7 par sérotypage dans un centre de référence, soit 1,2% des prélèvements [149].

Dans l'Etat de Washington (USA) en 1997, HANCOCK *et al.* [54] ont isolé des *E. coli* O157 à partir de prélèvements de fèces de bovins de 13 troupeaux et d'un centre d'alotement pour veaux (10 veaux prélevés mensuellement, âgés de moins d'une semaine à 10-25 jours). Le suivi a duré 13 mois à raison d'un prélèvement par mois. 5 troupeaux étaient initialement positifs (sur la base d'études conduites entre 1991 et 1993) et 8 initialement négatifs. Parmi les 1040 prélèvements en provenance de veaux, 13 sont positifs (soit 1,3%). Parmi les 3483 en provenance de génisses, 58 le sont (soit 1,7%), ainsi que 20 des 4762 isolés chez l'adulte (0,4%).

En Louisiane (USA), l'équipe de DUNN *et al.* [34] a suivi de février à octobre 5 troupeaux de vaches laitières adultes. Ils ont recherché la présence d'*E. coli* O157 par incubation de 20g de fèces incubées 6h à 42°C dans du bouillon pour Gram négatifs, supplémenté en cefsulodine*, vancomycine* et cefixime*. Puis ils ont isolés les souches O157 par IMS* et culture sur CT-SMAC*, 37°C pendant 18 à 24h. Au maximum 3 colonies phénotypiquement typiques des souches O157:H7 ont été ensuite confirmées par sérotypage ELISA, puis par PCR* *rfb*_{O157} et *fliC*_{H7}. 4 campagnes de prélèvements ont été effectuées, en février (163 vaches prélevées), mai (157 vaches), juillet (156 vaches) et octobre (159 vaches).

Au Canada, LEJEUNE *et al.* [79] ont suivi d'avril à septembre 2000 l'excrétion de *E. coli* O157:H7 par des bovins en provenance d'un élevage hors-sol. Les bovins étaient élevés en stabulation de 500, avec une rotation importante (75 000 animaux environ ont transité dans cette station au cours de l'étude). Les prélèvements - 10g de 30 bouses fraîches récoltées sur une semaine tous les 14 jours - ont été analysés avec recherche d'*E. coli* O157:H7 par IMS* après enrichissement sur TSB* supplémenté avec vancomycine* et cefixime*. Les colonies ne fermentant pas le sorbitol ont été isolées sur CT-SMAC*, puis leur sérotype a été contrôlé par agglutination (antigène O157 et H7). Ensuite, les souches en provenance de 8 enclos ont

été analysées par PFGE*, avec restriction par XbaI.

Au Japon, EZAWA *et al.* [38] ont recherché la présence d'*E. coli* O157:H7 dans un troupeau de génisse en centre de regroupement en vue de subir une insémination artificielle, qu'ils ont suivi pendant 3 ans (changement quasi-complet du cheptel chaque année). Ils ont enrichi leurs prélèvements rectaux sur mEC* avec novobiocine*, puis ont isolé des colonies sorbitol-négatives par culture sur CT-SMAC* et leur ont fait subir un test d'agglutination avec des anticorps anti-O157 et des anticorps anti-H7. Ils ont ainsi mis en évidence la présence de *E. coli* O157:H7 dans 10,6% de leurs prélèvements en 1998, contre 5,6% en 1999 et en 2000.

Au Japon toujours, WADIASIH *et al.* [165] ont étudié la durée et l'importance de l'excrétion fécale en STEC* O157 et O26 par des bovins naturellement infectés dans une ferme de la région de Tohoku. Ils ont ainsi prélevé les fèces de veaux âgés de 1 à 10 mois, au cours de trois campagnes de prélèvements (en hiver, au printemps et en été) étalées chacune sur 14 semaines pour O157 et 6 pour O26. La recherche des STEC* s'est faite par IMS* après enrichissement sur bouillon mEC* supplémenté en novobiocine* puis sur TSB*. La culture des billes magnétiques a été faite sur gélose CT-SMAC* pour les *E. coli* O157, et sur CT-RMAC* pour les *E. coli* O26. Les O157 et O26 isolées ont ensuite été confirmées STEC* par recherche de gènes *stx* par PCR*. Ainsi, des STEC* O157 ont été retrouvés dans 11 des 324 prélèvements (3,5%) et les O26 dans 14 des 178 prélèvements. Les deux sérotypes n'ont jamais été isolés chez les mêmes animaux.

Les tendances que l'on peut dégager de ces études sont les suivantes :

(2) Les prévalences obtenues sont très hétérogènes

Les différentes études précitées mettent en avant une hétérogénéité importante des prévalences trouvées. Ainsi GEUE *et al.* [47] mettent en évidence d'une part la grande hétérogénéité du portage en STEC* entre les fermes (de 28,8 à 81,5% en fonction des fermes), et d'autre part la grande hétérogénéité du portage entre les animaux d'une même ferme, avec des animaux souvent excréteurs (75 à 100% des échantillons prélevés au cours des 3 ans sur ces animaux positifs) et d'autre plus rarement (0 à 10% de prélèvements positifs). HANCOCK *et al.* [54] font également remarquer que sur les 8 troupeaux initialement négatifs (études de recherche de O157 menée entre 1991 et 1993), quatre se sont positivés au cours de l'étude (menée en 93/94). THAN *et al.* [149] remarquent également que le nombre de prélèvements positifs varie en fonction du jour de récolte.

Ces constats relativisent l'importance que l'on peut donner aux études annonçant des prévalences au sein de différents groupes d'animaux. Il faut en effet garder à l'esprit que les études basées sur des prélèvements ponctuels ne sont que des photographies de la situation sur l'animal prélevé, le jour de ce prélèvement.

(3) Y a-t-il un effet saison pour l'excrétion de pEHEC ?

Un pic d'excrétion a pu être remarqué en été dans plusieurs études, en parallèle avec une recrudescence des cas cliniques humains à cette période (dû à des habitudes alimentaires différentes en été et en hiver, ou à une plus grande exposition en été, ou...). La plupart des études ponctuelles, avec des campagnes de prélèvements s'étalant sur plusieurs mois mettent en avant le fait que les prévalences trouvées sont plus importantes durant les mois chauds que les mois plus frais ; cependant, d'autres biais peuvent interférer avec ces différences (pour les études à l'abattoir, origines des bovins différentes, différences de systèmes d'exploitations...). Les tendances données par les études longitudinales, qui se focalisent sur le suivi des mêmes troupeaux sur une longue période, permet de mieux apprécier l'effet saison.

Citons par exemple l'étude longitudinale menée par DUNN *et al.* [34] sur 5 troupeaux de vaches laitières prélevées 4 fois en 9 mois, qui confirme l'élévation de la prévalence pendant les mois chauds : les prévalences observées en mai (7,6%) et juillet (6,6%) sont ici significativement supérieures à celles observées en février (0,61%) et octobre (0,63%). De

même, THAN *et al.* [149] notent une tendance aux variations saisonnières du portage, avec une seule génisse porteuse au printemps, une en automne et trois en hiver. La petite taille de l'échantillon ne permet pas de conclure cependant. WIDIASIH *et al.* [165] ont également noté un effet saison, avec des excrétions maximales au printemps et en été.

HANCOCK *et al.* [54] remarquent également que les prévalences ponctuelles obtenues varient d'une saison à l'autre dans cette étude, avec des prévalences de 2,6% en juin contre 0% en décembre. EDRINGTON *et al.* [35] font le même constat, avec absence de détection d'*E. coli* O157:H7 dans les fèces de 120 vaches laitières de 4 grandes exploitations en janvier, alors que les 4 fermes ont été positives au moins une fois lors des deux campagnes de prélèvements d'août. Cependant, les pourcentages d'animaux positifs par exploitation au mois d'août varient entre les fermes (de 0 à 35% d'animaux excréteurs), et entre les deux campagnes pour la même ferme (de 1,7% d'animaux positifs à 35% pour une ferme par exemple).

De même, dans l'étude conduite par EZAWA *et al.* [38], l'effet saison se fait ressentir mais est variable en fonction de l'année : en 98 et en 99, les prévalences apparentes d'été et d'hiver sont supérieures à celles de printemps, alors qu'en 2000, les prévalences de printemps sont supérieures à celles d'hiver et d'été, et ce malgré des conditions climatiques et zootechniques identiques.

Bien que cet effet saison ne soit pas bien caractérisé, certaines équipes choisissent de prélever leurs animaux durant les mois chauds pour maximiser les chances de détecter des STEC* (étude ponctuelle de DUNN *et al.* [34] par exemple).

(4) La durée d'excrétion de pEHEC par les bovins

De nombreuses études longitudinales ont mis en avant le fait que la plupart des bovins positifs lors du prélèvement effectué à la date n sont négatifs à celui de la date $n+1$. Ainsi, par exemple, aucune des 5 génisses porteuses de pEHEC* dans l'étude de THAN *et al.* [149] n'a été positive deux fois au cours des quatre campagnes de prélèvements, espacées de 3 mois. L'étude de HANCOCK *et al.* [54] confirme cette tendance (prélèvements mensuels), ainsi que celle de l'équipe d'EZAWA [38] (prélèvements mensuels). L'étude de WIDIASIH *et al.* [165] permet d'affiner la durée d'excrétion, avec des campagnes de prélèvements hebdomadaires de 14 semaines pour *E. coli* O157 et de 6 semaines pour O26 : la durée d'excrétion d'*E. coli* O157 par des veaux de 1 à 10 mois est comprise entre 1 et 10 semaines, alors qu'elle est plus courte pour O26 : entre 1 et 3 semaines. De même, LE JEUNE *et al.* [79] ont remarqué la persistance de 4 clones proches (détectés par PFGE* avec restriction par XbaI) dans 8 enclos pendant 4 mois au moins.

LIEBANA *et al.* [82] ont étudié la persistance d'*E. coli* O157 dans 9 fermes épidémiologiquement non liées en Angleterre et au Pays de Galles. D'avril 2000 à février 2001, ils ont prélevé 90 vaches, à raison d'un prélèvement par mois, en intégrant lors de chaque campagne les animaux de la cohorte originale, chaque nouveau-né, et chaque vache nouvellement arrivée. 648 *E. coli* O157 ont été isolés, parmi lesquels 318 ont été analysés avec détermination de leur profil PFGE*. Dans la plupart des cas, différents profils ont été mis en évidence, sur des animaux différents, mais persistant au sein de la ferme. A différentes occasions, le même profil a été retrouvé durant 4 sessions de prélèvements successives. Certains clones ont pu être isolés dans la même ferme durant 17 mois, et chez le même animal durant 7 mois. Un site de colonisation a été mis en évidence pour les *E. coli* O157 [109] à la proximité de la jonction recto anale. La situation reste encore floue pour les autres pEHEC*.

Pour conclure, l'excrétion de STEC* par les bovins lors d'infection naturelle est intermittente. Par contre, si à l'échelle d'un animal l'excrétion est de courte durée, elle persiste plus longtemps au sein d'un troupeau, comme le montre les résultats obtenus par THAN [149], EZAWA [38], WIDIASIH [165] et GEUE [47]. Il reste à définir si les bovins éliminent totalement les pEHEC* de leur tube digestif, ou s'ils y persistent à bas bruit, sans être détectés dans les fèces.

b) Les prévalences de l'excrétion de pEHEC par les bovins adultes

(1) En Europe

Un échantillon de 11 publications parues entre 1993 et 2005 a été utilisé pour dresser ce bilan. Trois méthodes différentes ont été utilisées pour rechercher les pEHEC* : les épreuves de cytotoxicité sur cellules Vero*, la recherche de gènes *stx* par PCR* et la séparation immunomagnétique (IMS*).

(a) Les prévalences obtenues par épreuve de cytotoxicité sur cellules Vero (VCA)

En Allemagne en 1993 [6], BEUTIN *et al.* ont effectué des épreuves sur cellules Vero* à partir de colonies d'*E. coli* isolées à partir de fèces de bovins prélevées dans le côlon en abattoir ou dans le rectum en élevage : 10% des 20 prélèvements se sont révélés positifs à l'abattoir, contre 23% en élevage (122 prélèvements).

En Italie la même année, CAPRIOLI *et al.* [14], ont recherché des VTEC en effectuant des tests sur cellules Vero* sur les surnageants de fèces incubées une nuit à 37°C dans du bouillon de soja/tryptical en provenance de 18 vaches laitières : 11,1% de prélèvements se sont révélés positifs.

(b) Les prévalence obtenues par recherche des gènes *stx*

En France, ROGERIE *et al.* [134] ont cherché par PCR* des STEC* dans 851 prélèvements de 1g de fèces de bovins sevrés (374 vaches laitières, 371 bovins viande et 106 taurillons), prélevés dans le rectum, dans 7 abattoirs en 1997, et dont l'ADN a été extrait. Ils ont trouvés 18% de prélèvements positifs, et ont pu isoler des souches STEC* dans 7,9% des prélèvements totaux.

Une autre étude a été menée également en France d'octobre 1997 à septembre 1998 [125] avec recherche de STEC* par PCR*-*stx* sur le surnageant de 0,2g de fèces ensemencées sur des géloses SMAC* avec incubation de 8h à 37°C. Ils ont trouvé 70% des 470 prélèvements positifs, avec isolement de souches sur 34% des échantillons.

Avant de comparer ces deux résultats, il convient de noter la différence de taille des prélèvements analysés (1g versus 0,2g), et la différence dans la préparation des prélèvements : dans la deuxième étude, une étape supplémentaire d'enrichissement sur gélose adaptées aux *E. coli* O157 a pu augmenter la sensibilité de la méthode de détection: l'équipe estime que le seuil de détection de leur technique avoisine les 10 organismes par grammes.

En Allemagne en 1996-1998, ZSCHOCK *et al.* [171] ont recherché des gènes *stx* sur colonies *E. coli*-like après incubation sur gélose de Gassner* : 130 des 726 prélèvements (18%) présentent au moins une colonie STEC*.

(c) Les prévalences obtenues par IMS avec antigènes anti O157

En France (ROGERIE *et al.* [134]), la recherche d'*E. coli* O157:H7 dans 851 prélèvements de 1g de fèces de bovins sevrés (374 vaches laitières, 371 bovins viande et 106 taurillons), prélevées dans le rectum, dans 7 abattoirs en 1997, a permis l'isolation par IMS* de 8 souches, trouvées dans 4 prélèvements différents.

En Angleterre, dans la région de Sheffield (CHAPMAN *et al.* [18]) des IMS* ont été réalisées sur 1840 tampons rectaux de fèces de bovins prélevés pendant un an à l'abattoir, après incubation 6h à 37°C avec de l'eau peptonée tamponnée associée à de la vancomycine*, de la cefixime* et de la cefsulodine*. 15,7% des prélèvements ont permis l'isolement d'au moins une souche d'*E. coli* O157, avec une prévalence mensuelle allant de 4,8 à 36,8%.

Une autre étude a été réalisée en 1999-2000 dans 118 abattoirs de Grande Bretagne, (PAIBA *et al.* [120]), sur des fèces de bovins destinés à la consommation humaine (donc de moins de 30 mois, dont la majorité âgés de 18 à 30 mois). Les prélèvements ont été réalisés à l'abattoir, puis 1g a été mis en incubation 6h à 37°C avec de l'eau peptonée tamponnée avant

de subir une IMS*. Des *E. coli* O157 ont pu être mis en évidence dans 4,7% des prélèvements (IC à 95% = [4,1%; 5,4%]).

En Norvège, une étude réalisée en 1995 (VOLD *et al.* [160]), sur 1970 bovins laitiers de 197 troupeaux, la recherche d'*E. coli* O157 par IMS* sur 1g de fèces incubées dans du bouillon pour Gram négatif a permis l'isolement de souches dans six prélèvements (0,3%), provenant de deux troupeaux (soit 1%).

Une autre étude (JOHNSON *et al.* [62]) a été menée en 1998-1999 sur 1300 bovins adultes de 848 troupeaux, à partir de l'analyse du surnageant de 5g de fèces incubées pendant 6h à 37°C dans de l'eau peptonée tamponnée associée à de la vancomycine*, de la cefixime* et du cefsulodine*. 3 des 1300 prélèvements sur bovins adultes ont permis l'isolement d'*E. coli* O157 par IMS*, soit 0,23%. Cela ramène la prévalence individuelle à 0,19%, et celle de troupeau à 0,35%.

WATSON [162] dans une revue sur les *E. coli* zoonotiques rapporte une étude danoise menée en 1999 par NIELSEN *et al.* [112] sur 60 troupeaux bovins, dans laquelle 10 troupeaux (soit 17%) seraient positifs pour *E. coli* O157:H7.

Le tableau 20 reprend les principales caractéristiques des études citées pour caractériser le portage en pEHEC* chez les bovins en Europe.

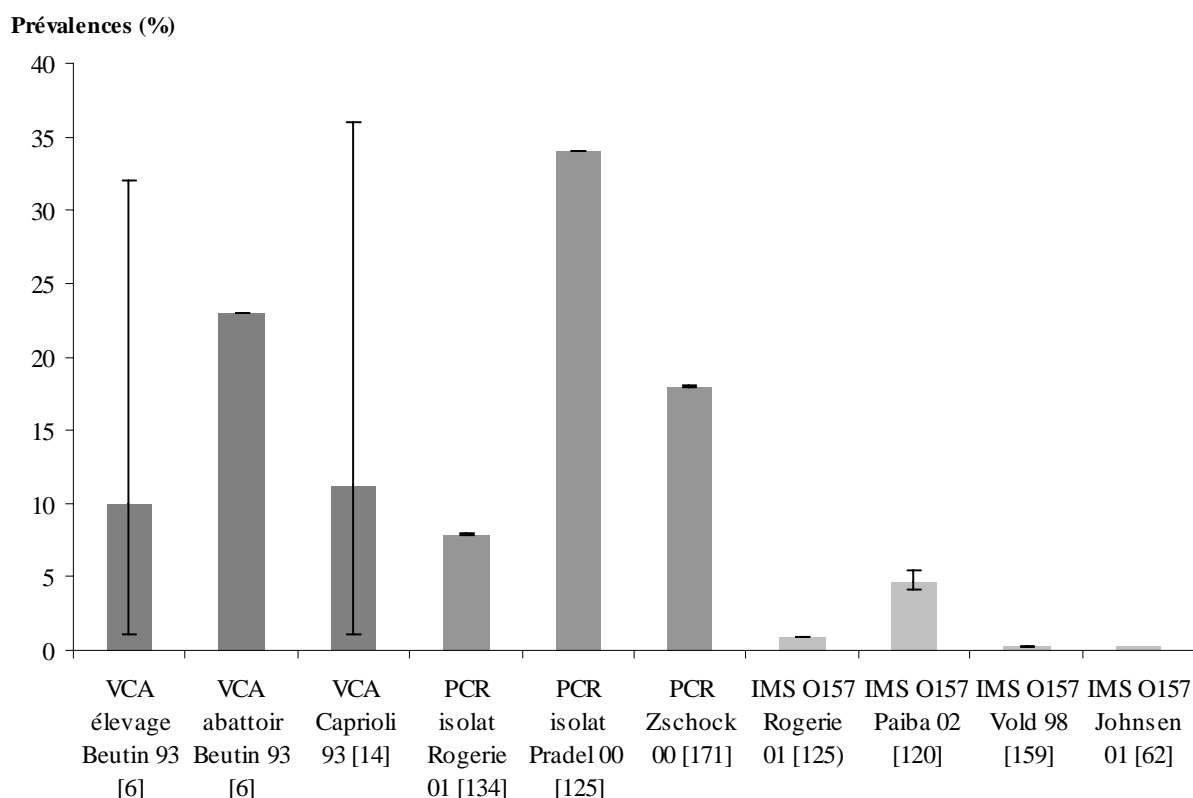
Tableau 20 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes en Europe. NP = non précisé.

Pays	Année de prélèvement	Méthode	Groupe	Prévalence individuelle	Prévalence troupeau	Réf.
France	1997	PCR* <i>stx</i> sur ADN purifié	Bovins adultes à l'abattoir	18% avec 7,9% d'isolats	NP	134
	1997/98	PCR* <i>stx</i> sur colonies	Bovins adultes à l'abattoir	70% avec 34% d'isolats	NP	125
	1997	IMS* O157	Bovins adultes et taurillons à l'abattoir	0,5%	NP	134
Allemagne	1996/98	PCR* <i>stx</i> sur colonies	Bovins en élevage	18%	NP	171
	1993	VCA sur colonies	Bovins élevage	23%	NP	6
			Bovins abattoir	10%	NP	
1993	VCA	Vaches laitières	11%	NP	14	
Italie	1997	IMS* O157	Bovins adultes à l'abattoir	15,7%	NP	18
Angleterre	1999/2000	IMS* O157	Bovins abattoir	4,7%	NP	120
Grande Bretagne	1995	IMS* O157	Bovins laitiers élevage	0,3%	1%	160
Norvège	1998/99	IMS* O157	Bovins abattoir	0,19%	0,35%	62
Danemark	1999	IMS* O157	Bovins	NP	17%	162

(d) Synthèse sur le portage des pEHEC chez les bovins adultes en Europe :

Pour la recherche de VTEC par VCA, la taille des échantillons permet d'obtenir des intervalles de confiance acceptables, excepté pour deux études : BEUTIN *et al.* [6] pour la recherche de VTEC chez des bovins prélevés en élevage, avec un intervalle de confiance à 95% de [1% ; 32%] (déterminé avec la méthode décrite par SCHWARTZ [138]) et CAPRIOLI *et al.* [14] avec une prévalence apparente comprise entre 1 et 36%. L'autre étude conduite par BEUTIN *et al.* [6] sur des bovins prélevés à l'abattoir donne une prévalence proche de 23%, avec un intervalle de confiance à 95% acceptable : [22,9 ;23,1].

Pour les méthodes PCR*, la taille supérieure des échantillons permet d'affiner les résultats, qui sont de 7,9 ; 18 ou 34% en fonctions des études. La recherche d'*E. coli* O157 par IMS* montre des prévalences plus faibles, inférieures à 1% [134, 160, 62] ou proches de 4% [120].



Graphique 1 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes en Europe. Les intervalles de confiance à 95% indiqués sur le graphique ont été obtenus soit d'après la méthode décrite par SCHWARTZ [138], soit selon des données propres aux études citées.

(2) En Amérique du Nord

(a) Ordre de grandeur des prévalences trouvées

De nombreuses études ont été conduites en vue de caractériser la prévalence en *E. coli* O157:H7 des troupeaux de bovins en Amérique du Nord (USA + Canada). Ainsi HUSSEIN ET BOLLINGER [59] citent des prévalences en *E. coli* O157:H7 isolées chez les bovins à viande adultes allant de 0,3 à 13,6% pour les bovins prélevés en élevage hors-sol ; de 0,7 à 1,2% pour ceux prélevés au pâturage ; de 5,9 à 28,7% pour ceux prélevés en atelier de découpe ; et de 1,2 à 6,9% pour ceux prélevés en élevage extensif. Pour les bovins laitiers adultes, HUSSEIN ET SAKUMA [60] citent des études se focalisant sur la recherche d'*E. coli* O157:H7 ; les prévalences obtenues dans les 4 études citées vont de 0,2 à 8,4%.

Les études consacrées à la recherche des autres sérotypes pEHEC* sont plus rares. Dans leur synthèse, HUSSEIN ET BOLLINGER [59] citent des prévalences en STEC* non-O157 dans les fèces de bovins à viande allant de 4,7 à 19,4% en fonction des études. Pour les vaches laitières, HUSSEIN ET SAKUMA [60] citent des prévalences en STEC* allant de 0,4 à 8,4% (études ayant recherché des STEC* sans se focaliser sur les *E. coli* O157:H7, mais sans les exclure non plus).

Tableau 21 : Prévalences en *E. coli* O157 chez les bovins adultes en Amérique du Nord (d'après les synthèses de HUSSEIN *et al.*).

Pays	Catégorie d'animaux prélevés	Prévalence individuelle estimée	Prévalence troupeau estimée	Réf.
USA	Veaux laitiers	0,4 à 40%	22 à 50% des troupeaux selon une étude.	60
	Génisses laitières	1,6 à 3,0%		
	Vaches laitières adultes	0,2 à 8,4%		
USA	Bovins allaitants en feedlots	0,3 à 13,3%%	NP	59
	Bovins allaitants à l'herbe	0,7 à 1,2%		
	Bovins de race à viande prélevés en atelier de découpe	5,9 à 27,8%		
Canada	Bovins allaitants	4/1000 soit 0,4% en 1994 à 13/48 (même troupeau) soit 27,3% en 1997	NP	59
Canada	Bovins laitiers	26/291 chez les adultes soit 8,9% et 19/115 pour les veaux soit 16,5%	NP	60

Nous avons sélectionné 12 études pour étayer les prévalences en pEHEC* chez les bovins adultes en Amérique du Nord.

(b) Portage par les bovins à viande

(i) Prévalences de troupeau

Cinq études sont citées ici : quatre concernent les Etats-Unis, et une le Canada ; quatre s'intéressent au portage en pEHEC des bovins élevés en élevage hors-sol, et une au portage des bovins élevés en pâtûre.

Pour les bovins en élevage hors sol, les prélèvements ont été effectués par tamponnage de bouses fraîches, récoltées dans les stabulations. Pour les bovins au pâturage, les fèces ont été prélevées dans le rectum, ce qui limite les contaminations extérieures, et la dégradation des bactéries.

Parmi les études s'intéressant aux bovins en élevage hors-sol, trois sont réalisées aux Etats-Unis, par l'équipe de HANCOCK en 1994 [52], en 1997 [53], et en 1998 [55] ; et une au Canada, en Alberta, par l'équipe de RENTER en 2004 [131].

Les études américaines recherchent exclusivement des *E. coli* O157:H7, par LAT* O157 après culture sur gélose SMAC* pour les études [53] et [52]. Une étape de dilution du prélèvement original a également été ajoutée pour l'étude de 1994 [53], ce qui modifie la population bactérienne à laquelle on s'intéresse, ainsi qu'une étape d'enrichissement sur TSB*, ce qui améliore la sensibilité du test [136]. Dans ces deux études, la sélection des colonies sur leurs propriétés biochimiques avant de tester leur agglutination, permet d'augmenter la spécificité de la recherche. Pour l'étude publiée en 1998 [55], la recherche d'*E. coli* O157 s'est faite par IMS* après culture sur gélose SMAC*.

Le champs d'investigation de l'étude canadienne est plus large : RENTER *et al.* [131] ont recherché les STEC par PCR *stx1* et *stx2* sur colonies *E. coli*-like isolées sur gélose de Mac Conkey, puis ont recherché parmi les prélèvements positifs des marqueurs de trois sérotypes souvent associés à des SHU chez l'homme : O26:H11, O111:H8 et O157:H7. Les marqueurs employés pour la recherche de ces trois sérotypes sont des allèles du gène *eae*, de séquence propre à chaque sérotype : l'allèle *eae*_{O26:H11}, l'allèle *eae*_{O111:H8} et l'allèle *eae*_{O157:H7}. Pour le sérotype O157:H7, la recherche du gène *fliC* codant pour l'antigène flagellaire H7 a également été recherché. Dans cette étude, les souches positives à la PCR n'ont pas été isolées par la suite, et donc leur sérotype n'a pas été confirmé.

Les prévalences en *E. coli* O157:H7 de troupeaux de bovins adultes élevés en élevage hors-sol s'étalent de 10 à 100%. HANCOCK *et al.* [55] ont retrouvé des *E. coli* O157 dans les 6 troupeaux prélevés, soit 100%. Cependant, le nombre de troupeaux inclus dans cette étude est inférieur à celui testé dans les autres études. Dans l'étude [52], 20 troupeaux ont été testés et 2 se sont révélés positifs soit 10%. Dans l'étude [53], 100 troupeaux ont été testés, et le traitement des prélèvements a été fait dans deux laboratoires : le premier a testé 40 troupeaux, dont 31 se sont révélés positifs, soit 77%, et le deuxième en a testé 60, dont 30 se sont révélés positifs, soit 50%.

Pour ce qui est de la recherche en STEC*, l'étude canadienne [131] rapporte des prévalences très élevées : sur les quatre exploitations testées, des STEC ont été retrouvées dans au moins un des enclos prélevés, et sur la totalité des 25 enclos prélevés, 23 sont positifs, soit 92%. Les prélèvements en provenance de 20/23 enclos ont permis l'amplification des séquences *eae*_{O26:H11}, 5/23 enclos celle des séquences *eae*_{O111:H8} et 2/23 celle des séquences *eae*_{O157:H7} et *fliC*_{H7}. Rappelons qu'aucune isolation de souche n'a été faite, si bien que rien ne permet de savoir si les gènes *eae* trouvés étaient portés par des souches *stx+*.

Tableau 22 : Prévalences en pEHEC dans les troupeaux de bovins adultes de race à viande en Amérique du Nord (tpx = troupeaux).

Pays	Catégorie d'animaux prélevés	Prélèvement	Cible	Prévalence troupeau	Méthode	Réf
Canada, Alberta, 2004, juillet	Elevages hors-sol de 5 000 à 18 000 têtes ; animaux à 90j de l'abattage	30 bouses fraîches prélevées par enclos ; poids analysé : 600g	STEC* et O157:H7 O111:H8 O26:H11	23/25 enclos positifs (92%) et 4/4 feedslot. 20/23 <i>eae</i> _{O26:H11+} 5/23 <i>eae</i> _{O111:H8+} 2/23 <i>eae</i> _{O157:H7+}	Isolation de colonies suspectes sur Mac Conkey* et PCR* <i>stx1</i> et <i>stx2</i> puis 3 PCR <i>eae</i> sur prélèvements <i>stx+</i> .	131
USA, Washington 1997, de 07 à 11	Elevage hors-sol	Compresses tamponnées sur des bouses fraîches	O157:H7	2/20 tpx soit 10%	Culture sur gélose SMAC*, LAT* O157 puis PFGE* pour comparaison avec les clones isolés chez des patients humains	52
USA, 1994: Sud : Arizona, California, Texas Centre : Colorado, Kansas, Oklahoma Nord : Idaho, Illinois, Iowa, Minnesota Nebraska, Sud Dakota, Washington	Elevage hors-sol, animaux jeunes	Compresses tamponnées sur des bouses fraîches (moins de 2h après défécation) ; mises sur milieu de transport avec de la glace. 2 laboratoires ont fait les analyses (lab1 et lab2)	O157:H7 et O157:H-	<u>O157 :</u> 32/40 (80%) pour lab1 et 31/60 (52%) lab2. <u>O157:H7 :</u> 31/40 (77%) pour lab1 et 30/60 (50%) pour lab2	Compresses mises en suspension dans du TSB* ; dilution 10 ⁻⁴ ; enrichissement sur TSB* avec cefixime* et vancomycine* ; isolement sur CT-SMAC*, recherche de la fermentation du lactose (lact) et d'une activité β-glucuronidase (β-glu) ; LAT* avec recherche de O157 pour sorb-, lact+ et β-glu- et PCR* <i>stx</i>	53
Nord des USA, 1997 (07 à 11) : Oregon, Idaho et Washington	Bovins de 6 élevages hors-sol, avec 250 à 14 750 animaux par ferme (médiane à 1550) ; pas randomisation	Compresses tamponnées sur bouses fraîches, mises en suspension dans du TSB* avec vancomycine et cefixime*	O157	Au moins un prélèvement positif par ferme	Prélevées et mises dans TSB* avec vancomycine*, isolement CT-SMAC* et IMS* O157	55
USA, Washington 1997, de 07 à 11	Bovins en pâture	Compresses tamponnées sur des fèces dans le rectum	O157:H7	4/25 tpx soit 16%	Culture sur gélose SMAC*, puis LAT* O157 et PFGE* pour comparaison avec les clones isolés chez des patients humains	52

(ii) Prévalences individuelles

Pour les bovins en élevage hors-sol, parmi les 11 881 prélèvements de bouses fraîches récoltés (30 bouses prélevées par enclos, 4 enclos par ferme, 100 fermes) HANCOCK *et al.* [53] ont détecté 188 O157:H7 et 22 O157:H-. Dans une autre étude [52], deux des 600 prélèvements de bouses récoltés ont permis d'isoler des O157:H7. Enfin, 10 des 1046 prélèvements en provenance de 6 fermes ont été positifs pour l'étude conduite dans le nord des USA [55]. Cependant, les prévalences individuelles déterminées à partir de prélèvements effectués sur le sol peuvent être biaisées (possibilité de prélever des bouses en provenance du même animal, possibilité de contamination des bouses par l'environnement...).

Pour les études basées sur la recherche d'*E. coli* O157 sur des prélèvements individuels de fèces, HANCOCK *et al.* [52] font état de 10 prélèvements positifs sur les 1412 testés, issus de 25 troupeaux, par culture sur gélose SMAC* et LAT* avec anticorps anti-O157.

GANNON *et al.* [45] ont cherché la prévalence en *E. coli* O157 au sein d'un troupeau de vaches 1 semaine avant le vêlage : 6 des 38 vaches testées étaient porteuses. Dans l'étude de HANCOCK *et al.* [55], les prévalences intra troupeaux pour les troupeaux de race à viande s'évaluent de 1,6 à 6,1%.

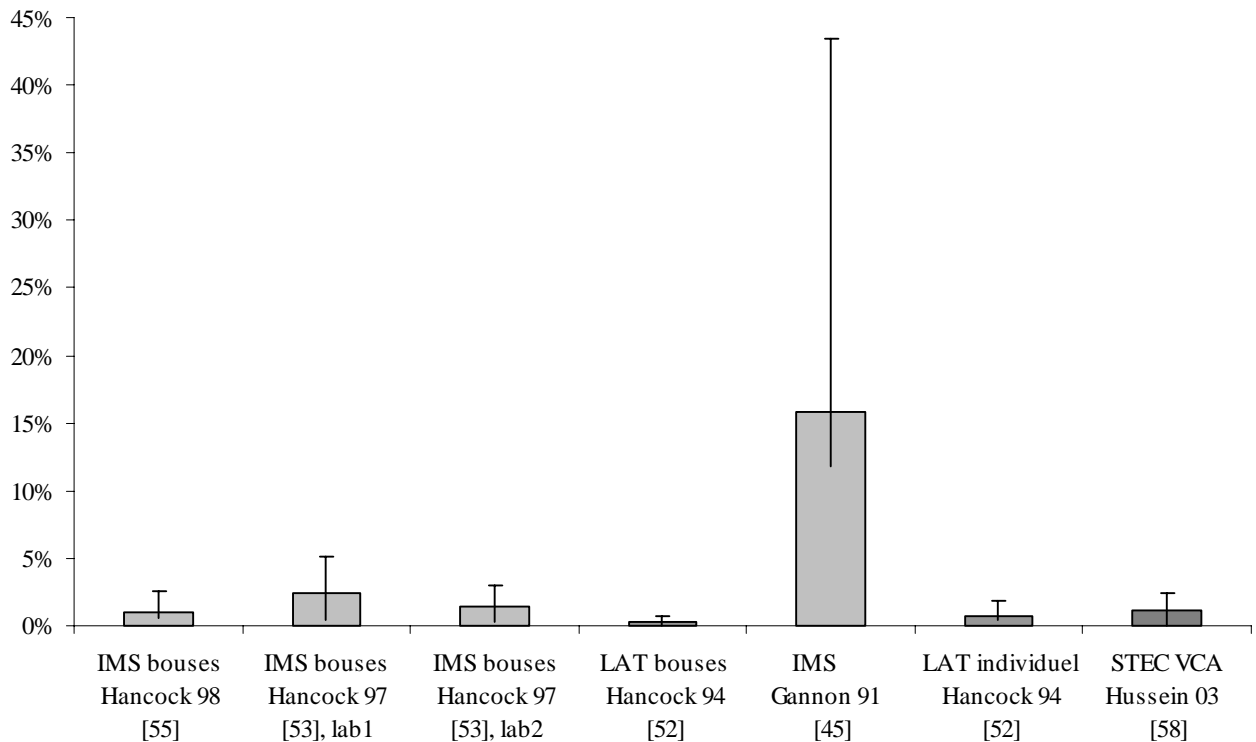
HUSSEIN *et al.* [58] ont recherché la présence de VTEC* par VCA* à partir de culture sur gélose CT-SMAC* de fèces diluées chez 82 vaches laitières de réforme en provenance de 8 fermes. 7 prélèvements ont permis l'isolat de 17 souches vérotoxiques que cellules Vero*, porteuses d'un gène *stx* au moins, et capables de produire des verotoxines*. 5 souches d'O157:H7 ont pu être isolées chez une seule vache.

Tableau 23 : Prévalences individuelles en pEHEC chez les bovins de race à viande adultes en Amérique du Nord.

Pays	Catégorie d'animaux prélevés	Prélèvement	Cible	Prévalence individuelle	Méthode	Réf.
USA, Washington, 1994 (07 à 11)	Bovins au pâturage (25 troupeaux)	Compresses tamponnées sur les fèces dans le rectum, acheminées sous couvert du froid	O157:H7	10/1412 soit 0,71%	Culture sur gélose SMAC*, puis LAT* O157 et PFGE* pour comparaison avec les clones isolés chez des patients humains	52
Canada et Centre Ouest des USA, 1996 (mars)	Vaches à 1 semaine PP (un troupeau positif)	10g de fèces par prélèvement rectal.	O157	6/38 soit 15,8%	Isolement sur CT-SMAC*, puis IMS* O157 et culture des billes sur CT-SMAC*; seuil de détection environ 100 UFC/g	45
USA, 1999-00 (sept à janvier)	Vaches de réforme, 8 à 12 ans (8 troupeaux)	1g de fèces prélevées dans le rectum, transporté sur glace	VTEC*	7/82 (8,5%) dont 1 souche O157:H7 (1,2%)	Isolement sur CT-SMAC* après dilutions successives puis VCA*	58

Le graphique 2 reprend les différentes études citées. Il permet de visualiser l'hétérogénéité des prévalences observées en fonction des études citées.

Prévalences



Graphique 2 : Synthèse des prévalences en pEHEC chez les bovins adultes de race à viande en Amérique du Nord. (Les intervalles de confiance à 95% ont été calculés à l'aide de [138]).

En bref :

Le portage en pEHEC* par les bovins adultes de race à viande en Amérique du Nord est hétérogène. La tendance générale dégagée par cette étude est que des pEHEC* et notamment les *E. coli* O157 circulent dans la plupart des élevages, mais avec des prévalences individuelles au sein de chaque troupeau qui varient beaucoup en fonction des études citées, avec un rôle suspecté de la saison, de la conduite d'élevage, de l'alimentation ...

(c) Portage par les bovins laitiers

Cinq études sont citées ici afin de caractériser le portage en pEHEC par les bovins adultes laitiers en Amérique du Nord.

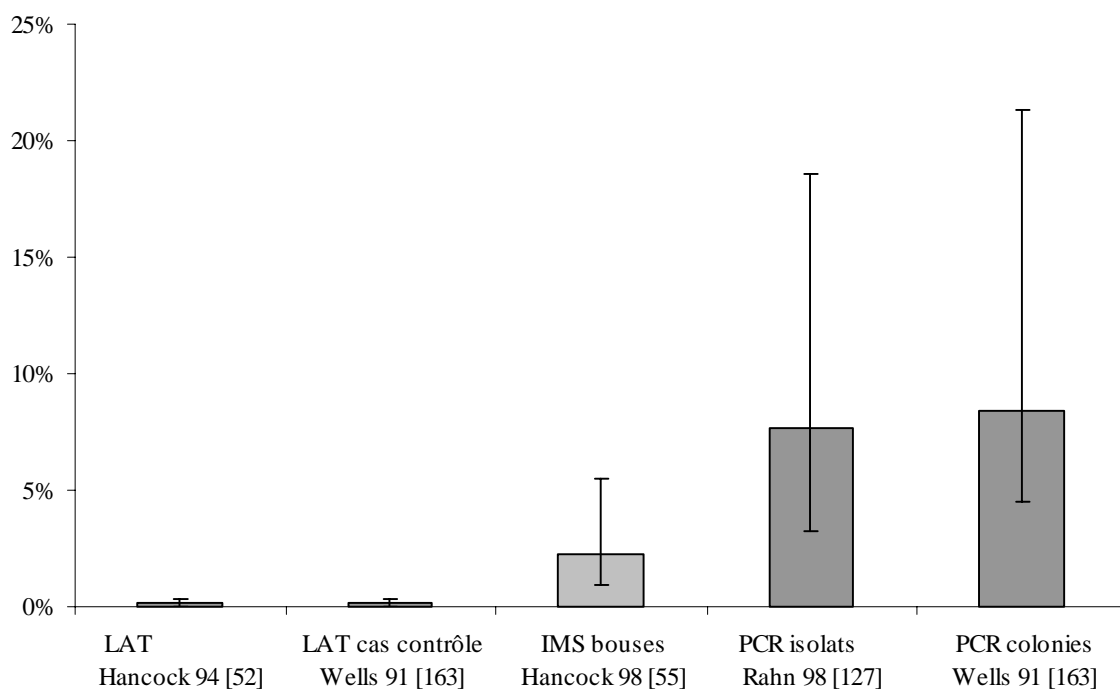
HANCOCK *et al.* [52] et WELLS *et al.* [164] ont recherché la présence d'*E. coli* dans les fèces de vaches laitières adultes enrichies sur TSB* ou non, par isolement sur gélose SMAC* et test d'agglutination en présence d'anticorps anti O157, avec confirmation des sérotypes par la suite. Parmi les 1273 prélèvements effectués dans 20 troupeaux, HANCOCK *et al.* [52] ont détecté 2 prélèvements positifs pour les vaches en lactation, et 1/477 pour les tarries. WELLS *et al.* [164] n'ont isolé qu'une souche O157:H7 parmi les 662 vaches laitières de 22 fermes prélevées. Notons cependant que ces fermes ont été sélectionnées car elles étaient épidémiologiquement liées à une épidémie humaine d'infection à EHEC*. La souche isolée a été trouvée chez une vache en provenance d'une ferme directement liée à une épidémie.

L'utilisation de l'IMS* pour la recherche du sérotype O157 a permis de montrer l'ubiquité de la présence en O157 parmi les 10 fermes testées par les études de EDRINGTON *et al.* [35] et de HANCOCK *et al.* [55]. Les prévalences intra troupeau données par ces études sont variables, respectivement : de 1,7% à 35% en août pour la première, et de 1 à 3,9% pour la seconde, qui s'appuie sur la récolte de bouses fraîches dans les enclos.

Les deux études citées pour l'évaluation du portage en pEHEC* non O157 par les bovins laitiers ont été réalisées sur des troupeaux épidémiologiquement liés à une contamination humaine. Au Canada, RAHN *et al.* [128] ont recherché des STEC* par PCR* sur ADN extrait par chauffage à partir de bouillon de culture de fèces : 58/274 prélèvements se sont révélés *stx+* (21,2%), dont 21 ont permis l'isolation de STEC* (7,7%). Dans le Wisconsin, des isolats STEC* non O157 ont pu être détectés chez les animaux de 8 des 10 fermes testées par WELLS *et al.* [164] ; 13 des 154 vaches adultes (8,4%) ont permis l'isolation d'une souche STEC* non O157 au moins.

Le graphique 3 synthétise les prévalences décrites précédemment, en montrant les intervalles de confiance des pourcentages trouvés :

Prévalences



Graphique 3 : Synthèse des prévalences individuelles en pEHEC observées chez les vaches laitières adultes en Amérique du Nord. (Les intervalles de confiance à 95% ont été déterminés à l'aide de [138]).

Le tableau 24 reprend toutes les études citées, en insistant sur les méthodes de prélèvement et de détection utilisées :

Tableau 24 : Prévalences en pEHEC chez les bovins laitiers adultes en Amérique du Nord.

Pays	Animaux prélevés	Prélèvement	Prévalence	Méthode	Réf.
Recherche de O157 ou de O157:H7					
USA, Washington ; 1994	Vaches en lactation (20 troupeaux)	Compresses tamponnées sur des bouses fraîches	2/1273 soit 0,16% pour les vaches en lactation, 1/477 soit 0,21% pour les taries	Enrichissement sur TSB*+ vancomycine*, culture sur gélose SMAC*, puis LAT* O157 et PFGE*	52
USA, Wisconsin et Washington ; 11 fermes reliées à une épidémie, et 11 fermes épidémiologiquement liées à celles-ci	Vaches laitières de plus de 24 mois	Compresses tamponnées sur des fèces (lieu de prélèvement non précisé)	1/662 soit 0,15%, isolé dans une ferme de cas contrôle	Conservation à -70°C, certains prélèvements enrichis sur TSB* ; puis culture sur SMAC* et test d'agglutination O157 pour les sorbitol négatives ; confirmation du sérotype O et H	164
USA, Sud ouest, prélèvements en août 01, janvier 02 et août02	4x60 vaches en lactation, prélevées dans 4 exploitations (de 2000 à 3000 laitières par ferme)	10g de fèces prélevées dans le rectum, transportée sur glace	Chaque troupeau positif en août et négatif en janvier ; prévalences intra troupeaux variables (de 0 à 35%), et différentes entre les 2 été: de 1,7 à 35%	Isolement après enrichissement sur bouillon Gram Négatif et IMS* O157	35
Nord des USA, 1997 (07 à 11) : Oregon, Idaho et Washington	Vaches adultes de 6 fermes dans 3 états, avec 290 à 1700 bovins par ferme	Compresses tamponnées sur bouses fraîches	Au moins un prélèvement positif par ferme ; 25/1097 prélèvements positifs <i>in toto</i> , soit 2,3%; prévalence intra troupeau entre 1 et 3,9%	Prélevées et mises dans TSB* avec vancomycine*, isolement CT-SMAC* et IMS* O157	55
Recherche de STEC*					
Canada	Fermes sélectionnées après isolement de VTEC* dans des membres de la famille du fermier	Compresses tamponnées sur les fèces dans le rectum	PCR* : 58/274 soit 21,2% Isolats : 21/274 soit 7,7%	Culture sur BHIB* puis PCR* <i>stx1</i> et <i>stx2</i> sur ADN extrait par centrifugation (3 fois à 12000g) et par chauffage	128
USA, <1991 : Wisconsin et Washington, 3 fermes reliées à une épidémie, et 11 fermes épidémiologiquement liées à celles-ci	Vaches laitières de plus de 24 mois et génisses laitières (de 4 à 24 mois d'âge)	322 prélèvements de fèces (compresses tamponnées) : 154 vaches laitières adultes et 168 génisses	<u>Cytotoxicité sur cellules HeLa</u> : 43/132 prélèvements positifs, dont 32 confirmés par isolement de colonies cytotoxiques (24,2%); 32 isolats O157:H7 retrouvés. <u>STEC* non-O157</u> : retrouvés dans 8/10 fermes et 13/154 adultes	Recherche d'un effet cytotoxique sur cellules HeLa* pour 33 prélèvements d'adultes et 99 de génisse, culture sur gélose de Mac Conkey* et PCR* <i>stx1</i> et <i>stx2</i> sur colonies sélectionnées pour les autres	164

(3) Au Japon :

Au Japon, de nombreuses études ont été menées pour déterminer le statut du cheptel bovin en terme de portage de pEHEC*.

Un sondage national pour la surveillance des STEC* chez les animaux de production a été publié en 2005 (KIJIMA-TANAKA [69]). Il fait état de 23% de positivité (62/272) au sein des bovins testés pour la recherche de STEC* par PCR* sur ADN extrait par chauffage de fèces enrichies sur TSB* + vancomycine* ou sur mEC* + novobiocine*.

D'autres études ont été publiées auparavant, portant sur la détection de STEC* chez les bovins :

Le bilan Afssa 2003 [1] fait état de prévalence de 66% chez les jeunes bovins, et de 69% chez les vaches adultes.

SHINAGAWA *et al.* [143] ont prélevé des fèces de 306 vaches adultes (plus de 1 an). Ils en ont enrichi 1g sur mEC* avec novobiocine*, 18h à 37°C, puis ont cultivé 1ml d'enrichissement sur milieu triptical/soja à 37° 18h, et ont extrait l'ADN par chauffage. La recherche de gènes *stx* par PCR* annonce 40,8% des prélèvements positifs (125/306).

L'équipe de FUKUSHIMA *et al.* [43] a recherché la présence de STEC* dans les fèces de bovins (0,1g) collectées à l'abattoir, après enrichissement des prélèvements par traitement à l'acide et recherche de gènes *stx* par PCR* : 37,5% des prélèvements sont positifs. Le protocole développé ici est particulier :

- 1) enrichissement des deux tiers d'une solution obtenue par dilution (10 fois) des 0,1g de fèces sur TSB* 6h à 42°C
- 2) IMS* avec recherche des antigènes O26, O111 et O157 sur 1ml de cet enrichissement
- 3) Mélange des cultures traitées par IMS* et du reste de la solution d'enrichissement, homogénéisation et traitement à l'acide : ajout d'un même volume d'une solution acide (125N HCl et 0,5% de NaCl)
- 4) Etalement sur gélose CT-SMAC* et chromocult (CCA)
- 5) PCR* multiplex *stx1* et *stx2* sur ADN extrait par chauffage (d'après la méthode décrite par FAGAN *et al.* [40]) des plaques de gélose par balayage des colonies.
- 6) Isolement de 50 colonies par plaque positive sur gélose chromocult, 18h à 37°C, et recherche de gènes *stx* par PCR* multiplex *stx1*, *stx2*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *eae* et *hlyA* par mélange de 5 colonies, puis recherche sur colonie seule si positif.

Ainsi, des prélèvements fécaux se sont révélés *stx* positifs sur 227 des 605 prélèvements (37,5%), sans différence significative entre les races testées (479 Japanese Black cattle, 97 Holstein de réforme et 29 croisement). 112 STEC* ont été isolés en provenance de 97 animaux, appartenant à 40 sérotypes différents (16%), dont 30 souches O26 (20 isolats), O157 (9 isolats) ou O111 (1 isolat).

EZAWA *et al.* [37] ont recherché la présence de pEHEC* O157 dans les fèces de vaches laitières adultes par la réalisation de test d'agglutination avec les anticorps anti-O157, sur des colonies isolées sur CT-SMAC* : 6/200 (3%) des prélèvements étaient positifs.

Le tableau 25 regroupe les prévalences en pEHEC chez les bovins au Japon estimées par les études pré-citées :

Tableau 25 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes au Japon.

Année de prélèvement	Animaux prélevés	Cible	Méthode	Prévalence individuelle	Réf
1999 (juin) à 2001 (mars)	Bovins sur l'ensemble du Japon (272 de 268 fermes dans 47 préfectures, 1 prélèvement par exploitation)	STEC*	Enrichissement de 1g de fèces sur TSB*+6mg/l de vancomycine*, ou sur mEC*+20mg/l novobiocine*, puis PCR* <i>stx</i> après chauffage et isolation de souches sur CT-SMAC*	62/272 soit 23%, avec au moins 1 souche <i>stx</i> + isolée par prélèvement ; isolées dans 32 préfectures	69
2000 (avril) à 2001 (mars)	bovins à l'abattoir (605)	STEC*	Dénombrement après traitement à l'acide (HCl) puis confirmation STEC* avec PCR* ; parallèlement IMS* O26, O111 et O157	37,5% sur 605 prélèvements ; 114 souches isolées sur 97 bovins (15,9%)	43
2001	Vaches	STEC*	screening PCR*	69%	1
1998 (novembre) à 1999 (juillet)	Adultes > 1 an	STEC*	enrichissement puis PCR* sur ADN extrait	125/306 soit 40,8%	143
2004	Vaches adultes laitières	<i>E. coli</i> O157	enrichissement et agglutination O157	6/200 soit 3%	37

(4) Situation dans quelques autres pays

En **Argentine**, une étude a été réalisée en 2000 avec pour objectif de décrire le taux de portage de jeunes bovins sains à l'engrais (14 à 16 mois). A partir de 200 prélèvements rectaux effectués à l'abattoir, l'équipe de MEICHTRI *et al.* [90] a recherché la présence de STEC* après enrichissement sur TSB* puis culture sur gélose de Mac Conkey* ou sur CT-SMAC*. Au total, 138 prélèvements se sont révélés positifs à la recherche de gènes *stx1* et *stx2* par PCR* sur les zones de confluences des géloses, soit 69%. L'isolation de souches STEC* a été permise sur 39% des échantillons uniquement.

Au **Brésil**, nous citerons deux études qui s'intéressent au portage de pEHEC* par les bovins adultes. Une étude menée en 1996-97 par CERQUEIRA *et al.* [17] dans la région de Rio de Janeiro estime la prévalence en STEC* au sein du cheptel allaitant à 53% contre 82% pour le cheptel laitier. Les compresses imprégnées de fèces ont été mises en suspensions, et étalées sur gélose déficiente en cystéine, lactose et électrolytes. Les zones de confluence polymicrobiennes ont ensuite été prélevées en vue de réaliser une PCR* *stx*. Chaque zone de confluence est ensuite confirmée par une deuxième PCR*.

L'équipe de MOREIRA *et al.* [99] a recherché entre juillet 99 et décembre 2000 la présence de VTEC* par des tests de cytotoxicité sur cellules Vero* après enrichissement sur milieu spécifique des fèces prélevées par tampons rectaux parmi les bovins laitiers de 60 fermes du sud du Brésil. Au total, 95% des fermes testées ont révélé la présence d'au moins un animal positif sur les 4 testés. 49% des échantillons prélevés se sont révélés positifs, sans différence significative entre les trois classes d'âges testées (vaches > 24 mois : 52%, génisses entre 12 et 24 mois : 57% et veaux < 12 mois : 44%).

En **Inde**, le bilan Afssa 2003 [1] cite deux articles où la présence de STEC* a été recherchée dans les fèces de bovins en milieu semi urbain : les prévalences étaient estimées à 10,5% pour une étude menée en 1999 et 18% dans une autre étude menée en 2000.

En **Australie**, COBBOLD ET DESMARCHELIER [22] ont suivi, pendant 1 an, 3 fermes laitières. Au total, 294 vaches furent testées pour la recherche de STEC* par PCR* *stx* sur ADN extrait par chauffage de leur fèces, prélevées par écouvillon rectal enrichi sur bouillon EC modifié, supplémenté en novobiocine* (0,02 mg/ml). Pour chaque prélèvement positif, des souches *E. coli* présumées ont été isolées sur gélose nutritive, testée par PCR* pour la présence de gènes *stx*, et confirmée biochimiquement par les galeries MICROBACT 12E. Sur l'année de prélèvements, les 3 fermes se sont révélées positives à l'isolement de STEC* chez les vaches testées, avec des différences entre les fermes (19/103 positifs pour la ferme A, 1/109 pour la ferme B et 2/82 pour la ferme C). Une souche O157 a été isolée, et aucune souche O26 ni O111 (sérotype le plus fréquemment isolé chez les patients australiens).

En **Afrique**, peu d'études ont été faites pour rechercher la présence de STEC*. Cependant, des cas sporadiques d'entérites dues à des EHEC* ont été rapportés en Afrique du Sud, en Centrafrique, et une épidémie s'est déclarée au Cameroun [26]. A l'heure actuelle, une seule étude s'est intéressée au portage de STEC* par les bovins : elle a été menée en **Ouganda** par KADDU-MOLINDW [65] : 45 des 159 prélèvements de fèces de zébus se sont révélés positifs à la recherche de VTEC* par VCA* (soit 28,3%), avec isolation de 47 souches parmi les prélèvements positifs. En **Côte d'Ivoire**, une étude publiée en 2000 par DADIE *et al.* [26] rapporte l'isolement de deux souches O157:H7 à partir de prélèvements fécaux humains et de produits alimentaires d'origine animale.

En **Serbie**, une étude a été menée en 2004 par l'équipe de COBELJIC [24] pour la recherche de STEC* chez les animaux domestiques : des fèces ont été prélevées sur 824 bovins en provenance de 174 fermes. Après isolation de souches sorbitol positives sur gélose de Mac Conkey*, puis réalisation de VCA* sur colonies traitées par la méthode « colony sweep-polymixin », les colonies des échantillons ayant une activité cytotoxique ont ensuite été isolées puis un autre VCA* a été réalisé. Ils ont ainsi isolés des STEC* sur 126 échantillons, soit 15,3%, correspondant à 70 des 175 troupeaux testés (40%).

Tableau 26 : Prévalences en pEHEC chez les bovins adultes dans quelques pays hors Europe, Amérique du Nord et Japon. NP = non précisé, déc = décembre.

Pays	Année de récolte	Groupe	Prévalence individuelle	Prévalence troupeau	Méthode	Réf.
Argentine	2000	Jeunes bovins à l'engrais, 3-4 mois au grain	138/200 soit 69%	NP	Enrichissement sur TSB* avec ou sans antibiotiques puis culture sur Mac Conkey*; PCR* <i>stx</i> sur colonies isolées	90
Brésil	1996 – 1997	Bovins allaitants	40/76 soit 53%	95%	Culture sur « Cystéine Lactose Electrolyte Deficient » Agar et PCR* <i>stx1</i> et <i>stx2</i> sur zones de confluences	17
		Bovins laitiers	99/121 soit 82%	NP		
Brésil	Déc1999 Déc2000	Vaches laitières >24mois	33/63 soit 52%	NP	VCA*	99
Inde	1999 et 2002	Bovins en milieu semi urbain	10,5% pour la première étude ; 18% pour la deuxième	NP	NP pour la première, PCR* pour la seconde	1
Inde	2004	Bovins laitiers : vaches	PCR : 21/111 soit 18,9% ; <u>Isolation de souches</u> : 5/111 soit 4,5%	Un seul troupeau de 1000 bovins étudié	Enrichissement sur « Bacto EC medium » puis screening-PCR* <i>stx1</i> et <i>stx2</i>	27
Australie	1996	294 vaches adultes laitières de 3 fermes	22/294 soit 7,5%, différences significatives entre les fermes : 9/103 (8,7%), et 1/109 (0,91%) puis 2/82 (2,4%)	Au moins un prélèvement positif par ferme sur les 12 mois de l'étude	Enrichissement sur mEC* + novobiocine* (0,02 mg/ml) puis PCR* <i>stx</i> sur échantillon bouilli 10 minutes, puis recherche de colonies par hybridation <i>stx1/stx2</i> suivie d'isolation sur géloses nutritives, PCR* <i>stx</i> et confirmation <i>E. coli</i> avec Microbact 12 ^E	22
Ouganda	Mars – avril 1998	Zébus en pâture	PCR : 45/159 soit 28,3%, <u>Isolation de souches</u> : 43/159 soit 27%	Un seul troupeau de 2100 bovins étudié	Enrichissement sur TSB*, puis PCR* <i>stx</i> et VCA*	65
Serbie	2004	Bovins, 174 troupeaux	126/824 soit 15,3%	NP	VCA* après enrichissement gélose de Mac Conkey*; + si colonie VCA*+ isolée sur gélose de Mac Conkey*	24

c) Les prévalences de l'excrétion de pEHEC par les jeunes bovins

(1) Le portage en pEHEC des veaux

(a) Le portage par des veaux sains

En Italie en 1993 (CAPRIOLI *et al.* [14]), le test sur cellules Vero* appliqué au surnageant de fèces incubées une nuit à 37°C dans du bouillon de soja/tryptical en provenance de 153 veaux de boucherie a donné 12,4% de prélèvements positifs.

Une étude conduite en 1994 dans l'Ontario (Canada) [137] révèle la présence de VTEC* dans 289/592 prélèvements de fèces sur des veaux laitiers de moins de trois mois, soit 48,8%. La recherche de VTEC* s'est faite par test de cytotoxicité sur cellules Vero* dans le culot de centrifugation, issus de cultures de fèces préalablement enrichies sur bouillon de Mac Conkey* puis sur BHIB, avec confirmation par VCA* sur colonies isolées sur gélose de Mac Conkey*, puis recherche de gènes *stx1/stx2* sur colonies positives.

Au Japon, WIDIASIH *et al.* [165] ont recherché la présence de *E. coli* O157 dans les fèces de veaux âgés de 1 à 10 mois par IMS* après enrichissement de leurs prélèvements sur milieu de culture pour *E. coli* modifié. La prévalence moyenne détectée était de 11/324 soit 3,4%, avec des écarts considérables entre les saisons : 9/52 (17,3%) en été pour 2/106 (1,9%) en hiver. La recherche d'*E. coli* O26 selon la même technique que décrit précédemment donne 14 des 178 prélèvements analysés positifs (7,9%) avec, là encore, un creux hivernal. Les O157 ont été isolées chez des veaux âgés de 2 à 10 mois, avec un pic chez les veaux de 5 à 6 mois, alors que pour les O26, ce sont les veaux âgés de 1 à 7 mois qui sont excréteurs, avec un maximum de O26 retrouvées chez les veaux âgés de 1 à 2 mois.

En Australie, dans une étude conduite en 1997 par SIDJABAT-TAMBUNAN *et al.* [144], 18% des 105 prélèvements de fèces de veaux à l'abattoir se sont révélés positifs à la recherche de pEHEC* par PCR* après enrichissement sur bouillon de Luria Bertani*. L'isolation de colonies vérotoxiques à partir de cultures sur gélose de Mac Conkey* puis réalisation de VCA* confirmé par recherche de gène *stx* sur les colonies positives, a été possible pour 13% des échantillons.

(b) Le portage par des veaux diarrhéiques

En Italie en 1993 [14], le test sur cellules Vero* appliqué au surnageant de fèces incubées une nuit à 37°C dans du bouillon de soja/tryptical en provenance de 65 veaux diarrhéiques a donné 7,7% de prélèvements positifs (et 19/153 pour les veaux sains).

Une étude menée en Allemagne et en Belgique [167] sur des fèces de veaux de moins de 16 mois présentant de la diarrhée donne 3% des 5483 prélèvements analysés positifs à la recherche de gènes *stx* sur des colonies *E. coli*-like isolées sur milieux de culture spécifiques.

Enfin, en 2003 au Brésil, l'équipe de LEOMIL *et al.* [80] a recherché par PCR* *stx* après isolation de colonies STEC*-like sur gélose de Mac Conkey* la présence de STEC* dans les fèces de 205 veaux sains : 7,8% des échantillons étaient positifs. La même étude conduite au sein de veaux atteints de diarrhée a donné 20% d'échantillons positifs.

(2) Y a-t-il un effet âge ?

Pour HUSSEIN ET SAKUMA [60], dans leur synthèse sur les pEHEC* chez les bovins laitiers (2005), l'effet « âge » est clairement établi pour les *E. coli* O157:H7 chez les bovins laitiers : la prévalence au sein des veaux sevrés est plus grande qu'au sein des veaux non sevrés et des adultes. Cependant, l'effet n'est globalement pas significatif pour les STEC* non O157 dans les articles qu'ils ont analysés, à l'exception de deux publications danoises : NIELSEN *et al.* 2002 [112], dans laquelle la prévalence pour les STEC* des veaux de 2 à 6 mois est de 8,6% contre 0,7% pour les veaux de moins de 2 mois ; et RUGBJERG *et al.* 2003 [135], dans laquelle la prévalence pour les STEC* des veaux de 3 à 4 mois est de 11,8%

contre 2,1% pour les veaux de 1 à 2 mois.

Une autre étude (JOHNSEN *et al.* [62]) a été menée en 1998-1999 en Norvège sur 241 veaux à l'abattoir (dont 6 sevrés), avec recherche d'*E. coli* O157 par IMS* dans le surnageant de 5g de fèces enrichies 6h à 37°C dans de l'eau peptone tamponnée associée à de la vancomycine*, de la cefixime* et de la cefsulodine*. Aucun *E. coli* n'a été détecté chez les veaux prélevés (contre 3/1300 bovins adultes).

L'équipe de RAHN [128] a recherché des pEHEC* dans les fèces de bovins en provenance de 16 fermes canadiennes sélectionnées car des pEHEC* ont été retrouvés dans les fèces d'un membre au moins de la famille du fermier lors d'une étude précédente. Tous les troupeaux étudiés se sont révélés positifs. Pour les veaux prélevés, 68/135 se sont révélés positifs. Des souches VTEC* ont pu être isolées dans 28 prélèvements de veaux, soit 20,7%, contre 21/274 adultes soit 7,7%.

En Ontario en 1992, l'équipe de WILSON [168] a recherché la cytotoxicité sur cellules Vero* de prélèvements de fèces effectués chez des veaux de moins de trois mois, après enrichissement sur bouillon de Mac Conkey*. Les échantillons positifs ont été contrôlés par isolation de colonies et VCA* sur colonies suspectes : la prévalence est estimée à 24,7% (intervalle de confiance à 95% : 20,2 à 29,3%). Sur les bovins adultes, la prévalence est estimée à 9,5% (intervalle de confiance à 95% : 7,1 à 11,8). Ces deux prévalences sont significativement différentes à 95%.

En Australie, COBBOLD ET DESMARCHELIER [22] ont suivis trois troupeaux de bovins laitiers pendant 1 an, en recherchant la présence de STEC* dans leurs fèces prélevées sur compresse dans le rectum, enrichies sur mEC* + novobiocine* (0,02mg/ml) avant de leur faire subir une PCR* *stx* et de confirmer la positivité des prélèvements par isolation de souches d'*E. coli stx+* par hybridation *stx1/stx2*, culture sur milieu nutritif et confirmation des souches isolées par PCR* individuelle et utilisation du système d'identification des bacilles Gram négatif Microbact 12E.

Durant leur 1 an de suivi, 98 des 588 prélèvements se sont révélés positifs, soit 16,7%. Les trois troupeaux étudiés ont des prévalences très différentes (sur l'année, 26,3% des prélèvements STEC* positifs dans l'une contre 8,9% dans une autre). Dans chaque ferme, l'excrétion par le groupe des veaux non sevrés est supérieure à celle observée chez les génisses de remplacement ou chez les vaches laitières.

En Inde, une étude longitudinale a également été menée entre juillet 2001 et mars 2002 dans une ferme laitière de la région de Kolkata (DAS [27]). Les PCR* *stx1* et *stx2* directement sur bouillon de fèces enrichies sur milieu Bacto EC ont permis la mise en évidence de STEC* dans 21/111 (18,9%) prélèvements fécaux réalisés chez des vaches adultes et dans 36/111 (32,4%) de ceux effectués sur des veaux. L'isolement de souches *stx+* a été possible pour 5 des 21 prélèvements en provenance des vaches adultes, et de 11 des 36 prélèvements des veaux. Les faibles taux d'excrétion observés ne permettent pas l'extrapolation de cette tendance.

Dans l'Etat de Washington en 1997, HANCOCK *et al.* [54] ont recherché la présence de gène *stx* par PCR* après enrichissement sur [TSB* + cefixime* (50ng/l) + vancomycine* (40µg/l)] des prélèvements de fèces de veaux de moins de trois mois, de génisses et de vaches adultes. Les prévalences trouvées sont respectivement de 1,3% (13/1040), 1,7% (58/3483) et de 0,4% (20/4762).

L'équipe de MOREIRA *et al.* [99] a recherché entre juillet 99 et décembre 2000 la présence de VTEC* par des tests de cytotoxicité sur cellules Vero* après enrichissement sur milieu spécifique des fèces prélevées par tampons rectaux parmi les bovins laitiers de 60 fermes du sud du Brésil. Au total, 95% des fermes testées ont révélé la présence d'au moins un animal positif sur les 4 testés ; 49% des échantillons prélevés se sont révélés positifs, sans différence significative entre les trois classes d'âges testées (vaches > 24 mois : 52%, génisses entre 12 et 24 mois : 57% et veaux < 12 mois : 44%).

Au Japon cependant, le bilan Afssa 2003 [1] fait état de prévalence de 46% chez les veaux, de 66% chez les jeunes bovins et de 69% chez les vaches adultes. SHINAGAWA *et al.* [143] donnent des prévalences similaires pour les veaux après recherche de STEC* par PCR* sur ADN extrait de cultures enrichies : 39,4% pour les veaux de moins de 2 mois. Cependant, les prévalences trouvées chez les jeunes bovins semblent plus élevées : 78,9% pour les jeunes bovins de 2 à 8 mois et celle des bovins adultes plus faibles : 40,8% pour les bovins de plus de 1 an. De même, EZAWA *et al.* [37] ont recherché la présence de pEHEC* O157 dans les fèces de génisses de race laitière ou de race viande, et dans les fèces de vaches laitières adultes et de veaux laitiers par la réalisation de test d'agglutination avec les anticorps anti-O157, sur des colonies isolées sur CT-SMAC* : les prévalences trouvées étaient respectivement de 28/91 (33,7%), 6/22 (22,7%), 6/200 (3%) et 0/4.

De même en Serbie, de janvier 98 à décembre 2002, l'équipe de COBELJIC [24] a recherché la présence de VTEC dans les fèces de bovins de différentes classes d'âges : des veaux de moins de 4 mois, des génisses de 4 à 12 mois, et des bovins adultes. Après incubation une nuit sur gélose de Mac Conkey*, ils ont testé le pouvoir cytotoxique sur cellules Vero* des colonies obtenues. Ainsi, 25/233 veaux (<4mois) sont porteurs de VTEC* isolés, dont 3 des 49 veaux de 1 jour testés. Notons cependant que 15 veaux étaient diarrhéiques au moment du prélèvement, dont 4 porteurs de VTEC* : le portage de VTEC par les veaux sains est donc de 22/218 soit 10%. 17 des 75 prélèvements en provenance de génisses ont été positifs à la recherche de VTEC* soit 23%, et 84 des 516 adultes de plus de 12 mois soit 16%.

(3) Pour conclure sur le portage en pEHEC des veaux

La plupart des études citées montrent une tendance à une prévalence plus grande de la présence de pEHEC* chez les veaux.

COBBOLD *et al.* [22] mettent en avant le fait que la majorité des vaches STEC*+ testées ont produit des veaux STEC*- (veaux de moins de 7 jours, tétant la mère). Cependant, un veau né de mère porteuse a deux fois plus de chances de naître porteur qu'un veau né de mère négative.

Ils remarquent également que le groupage des veaux avant sevrage augmente le risque de portage, tendance déjà constatée par GARBER *et al.* en 1995 [46] et par SHERE *et al.* en 1998 [142].

En bref :

Les pEHEC* sont réparties mondialement chez les bovins, avec des variations importantes observées en fonction des pays. Le manque d'homogénéité dans les protocoles des études réalisées rend difficile la comparaison des prévalences apparentes. On peut cependant retenir que la majorité des troupeaux sont porteurs occasionnellement dans les pays industrialisés (Europe, Amérique du Nord, Australie). La distribution des clones pathogènes parmi les animaux d'un même troupeau est hétérogène et est sous le contrôle de facteurs mal connus. Parmi ceux-ci, un effet saison est suspecté, avec une augmentation des prévalences durant les mois chauds ; de même, les veaux testés ont globalement tendance à être plus souvent porteurs que les adultes.

4. Portage en pEHEC par les petits ruminants

Les publications concernant le portage par les petits ruminants sont nombreuses, des cas humains ayant été épidémiologiquement attribués à des sources de contamination ovines [1]. La situation a été plus étudiée chez les ovins que chez les caprins. Ainsi nous illustrerons nos propos à partir du bilan Afssa 2003 [1] et de 9 publications pour les ovins, trois seulement pour les caprins.

a) Les prévalences chez les ovins

Nous détaillerons la situation en Europe, puis dans les autres pays du monde, et notamment aux Etats-Unis, en Autriche, en Serbie et au Brésil.

(1) En Europe

(a) Prévalences données par épreuve de cytotoxicité sur cellules Vero (VCA)

En Allemagne, une étude a été conduite en 1993 par BEUTIN *et al.* [6] sur 20 prélèvements de fèces dans le côlon à l'abattoir et sur 110 prélèvements rectaux en élevage, sur lesquels des souches d'*E. coli* ont été isolées puis testées sur cellules Vero*. 10 prélèvements ont été trouvés positifs à l'abattoir, soit 50%, et 70 en élevage, soit 63,6%, ramenant la prévalence globale à 61,5%.

Une autre étude a été conduite pendant 6 mois en 1997 [7] par la même équipe, sur un troupeau de 25 ovins (24 femelles et un male) maintenu isolé des autres animaux. Au cours de ces 6 mois, 88% des prélèvements, isolés sur 22 animaux, étaient cytotoxiques pour les cellules Vero*.

En Espagne, REY *et al.* [132] ont décelé 246 tampons rectaux contenant des colonies *E. coli* - like positives au test sur cellules Vero* parmi les 697 prélèvements de fèces d'agneau de plus de 2 mois analysés après incubation sur gélose SMAC*, soit 35,3%.

(b) Prévalences données par recherche des gènes stx

En Allemagne, ZSCHOCK *et al.* [171] ont recherché la présence de gènes *stx* dans 28 tampons rectaux de moutons laitiers provenant de 3 fermes, après enrichissement sur gélose de Gassner*, et sélection de 16 colonies lactose + par échantillon incubé. 9 prélèvements ont révélé la présence de gènes *stx* sur les colonies analysées, soit 32,1%.

(c) Prévalences données par séparation immunomagnétique avec antigènes anti-O157 (IMS)

En Angleterre, CHAPMAN *et al.* [18] ont analysé 1000 tampons rectaux prélevés juste après abattage : les tampons ont été mis en incubation 6h à 37°C avec de l'eau peptonée tamponnée supplémentée en vancomycine*, cefixime* et cefsulodine*. Ensuite l'IMS* a été réalisée, puis les colonies isolées sur CT-SMAC* avant d'être confirmées O157:H7 par des tests d'agglutination. 22 prélèvements ont permis l'isolement d'*E. coli* O157:H7, soit 2,2%.

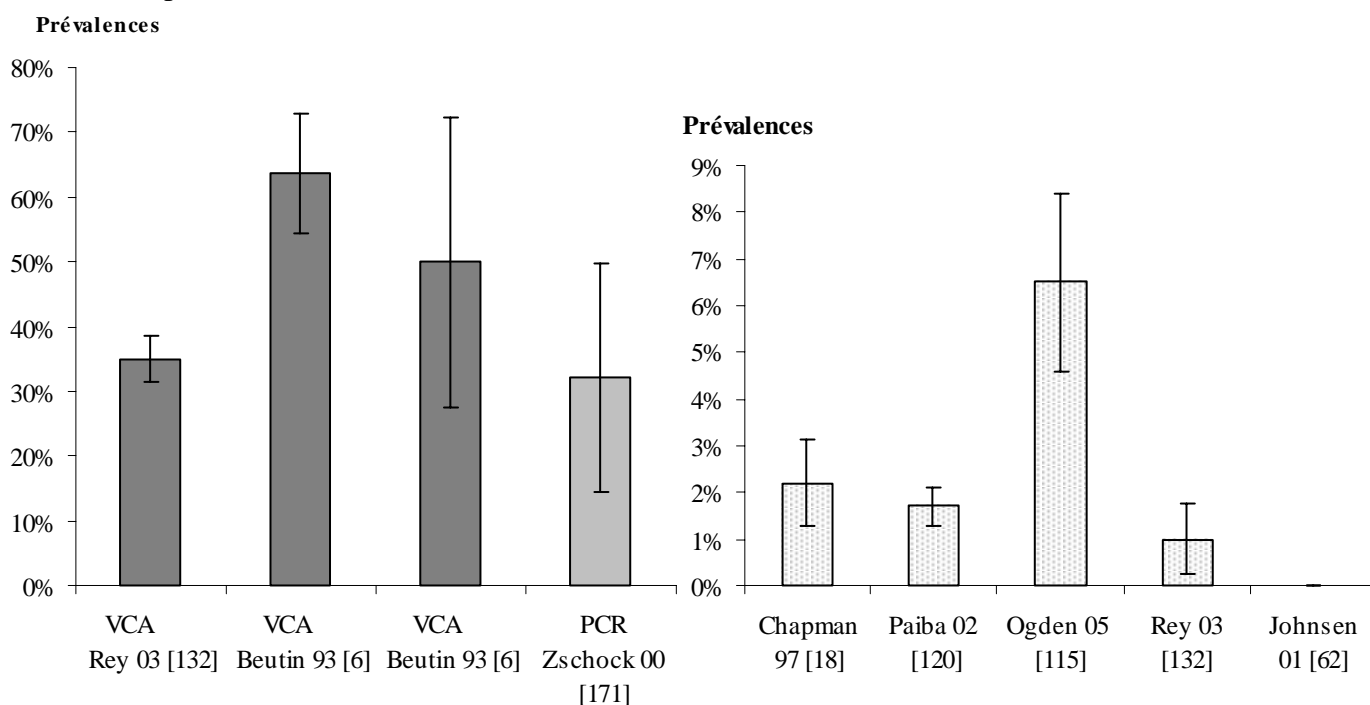
Une étude similaire a été conduite avec des prélèvements dans 118 abattoirs répartis sur tout le territoire (PAIBA *et al.* [120]). Sur les 4171 prélèvements de 1g analysés, 1,7% ont permis l'isolation de colonies d'*E. coli* O157 [IC à 95% = 1,3 - 2,1].

Une troisième étude a été conduite en Écosse en 2004, (OGDEN *et al.* [115]), avec analyse de 25g de fèces fraîches ramassées dans des pâtures de moutons. Les prélèvements ont été mis à incuber 6 heures à 42°C pour diminuer la flore d'arrière plan avant de réaliser l'IMS*, en effectuant une extraction manuelle de 0,5 ml après chaque lavage (contre 0,95ml en routine). La prévalence individuelle a été estimée à 6,5% [IC à 95% = 4,6 à 8,4%] et 6 troupeaux sur 15 ont présenté au moins un prélèvement positif (soit 40%, IC à 95% = 15 à 65 %). On notera cependant que d'une part les prélèvements ne sont pas individuels, si bien que deux prélèvements provenant de la même pâture peuvent provenir du même animal. De plus, les modifications dans la procédure d'IMS* par rapport aux deux études précédemment citées ont, en accord avec les notes de l'équipe, augmenté le seuil de détection de la méthode. La prise en compte de ces deux éléments permet en partie d'expliquer les différences de prévalence constatées.

En Espagne (REY *et al.* [132]), l'analyse de 697 tampons rectaux prélevés sur des agneaux de plus de 2 mois après incubation 6h à 37°C sur eau peptonée tamponnée avec vancomycine*, cefixime* et cefsulodine* suivi de l'isolement d'*E. coli* O157 par IMS* a donné 7 prélèvements positifs, soit 1%.

En Norvège (JOHNSEN *et al.* [62]), l'analyse selon la même technique de 665 prélèvements de 5g de fèces dans le gros intestin de moutons provenant de 605 fermes, n'a pas permis l'isolation de souches d'*E. coli* O157.

Les graphiques 4 et 5 synthétisent les données relatives aux prévalences en pEHEC* chez les ovins en Europe. Les intervalles de confiance ont été calculés d'après la méthode décrite par Schwartz [138] :



Graphique 0: Prévalences observées en pEHEC chez les ovins en Europe

Graphique 0: Prévalences observées en *E. coli* O157 par IMS chez les ovins en Europe.

En complément des graphiques 4 et 5, le tableau 27 reprend les données collectées sur les prévalences du portage en pEHEC obtenues chez les ovins en Europe :

Tableau 27 : Prévalences en pEHEC chez les moutons en Europe. NP = non précisé.

Pays	Année	Lieu de prélèvement	Prévalence individuelle	Prévalence troupeau	Méthode	Réf.
Allemagne	1996/98	En élevage	32,1%	NP	PCR* <i>stx</i> sur colonies	171
	1993	En élevage	63,6%	NP	VCA* sur colonies	6
		A l'abattoir	50%			
	1993	En élevage	88% sur 6 mois	Un seul troupeau suivi.	VCA* sur colonies	7
Angleterre	1997	A l'abattoir	2,2%	NP	IMS* O157	18
Grande Bretagne	1999/2000	A l'abattoir	1,7%	NP	IMS* O157	120
Ecosse	2004	En élevage : fèces fraîches sur le pré	6,5%	40% IC ₉₅ 15 à 65 %	IMS* O157 <i>modifiée</i>	115
Espagne	2000/01	En élevage, âge >2mois	35%	NP	VCA*	132
			1%		IMS* O157	
Norvège	1998/99	Ovins à	0 sur 665	0 sur 605	IMS* O157	62

		l'abattoir				
--	--	------------	--	--	--	--

(2) Dans quelques autres pays

Aux **Etats-Unis**, peu d'études sont faites sur le sujet. Nous citerons une étude publiée en 1997 (KUDVA *et al.* [73]) qui décrit la présence de pEHEC* dans les fèces d'ovins au sein d'un troupeau expérimental, naturellement infecté, en Idaho.

La recherche de STEC* par hybridation sur empreinte de colonies d'*E. coli* (caractérisation biochimique) issues de fèces d'agneaux cultivées sur gélose SMAC* sans enrichissement préalable, a permis de détecter 15 prélèvements positifs sur 85 (17%), confirmés ultérieurement par VCA* sur 10 souches aléatoirement prélevées par gélose.

La recherche d'*E. coli* O157:H7 sur les fèces des brebis élevées dans ce troupeau, lors d'une étude de suivi sur 16 mois, après enrichissement sur TSB* – cefixime* - tellurite potassium puis isolation sur gélose CT-SMAC*, test au MUG* et caractérisation biochimique des souches sorbitol négatives et MUG* négatives, a permis de déceler des taux d'excrétion allant de 0% à 32% en juin 1994, 4% en juin 1995 et 6% en août 1994.

Nous citerons deux études sur la prévalence en STEC* au sein du cheptel ovin **australien**.

La première, conduite par DJORDJEVIC *et al.* en 1996 [31] s'intéresse à la prévalence au niveau des troupeaux de moutons et d'agneaux : des fèces fraîches ramassées dans les pâtures de ces deux catégories d'animaux sont testées pour la présence de STEC* par la recherche de gènes *stx1/stx2*, *eae* et *ehxA* après enrichissement sur bouillon mEC*. Sont considérés comme positifs les prélèvements dans lesquels ont été retrouvés trois gènes au moins : *stx1* ou *stx2*, et *eae*, et *ehxA*. Les prévalences ainsi obtenues sont de 26/29 soit 90% des troupeaux d'agneaux testés, et 33/36 soit 92% des troupeaux de moutons testés. Les auteurs précisent que la récolte des échantillons de fèces sur les pâtures peut avoir donné lieu à la collecte de plusieurs prélèvements de fèces en provenance d'un même animal, et peut ainsi avoir constitué un biais à l'estimation de la prévalence réelle en STEC* des troupeaux étudiés.

La deuxième, conduite par FEGAN en 2001 [41] s'intéresse à la prévalence individuelle d'agneaux en âge d'être consommés (prélèvements à l'abattoir) et de moutons âgés de 5 à 8 ans. La recherche de gènes *stx1/stx2* dans le surnageant de culture de fèces enrichies sur milieu de culture pour *E. coli* sans sels biliaires, a permis de détecter des STEC* dans 36% des fèces d'agneaux analysées (26/72) et dans 45% des fèces de moutons (65/144).

D'autres études sur le sujet rapportent des taux de positivité à la recherche de *stx* par PCR* dans les fèces de l'ordre de 68 à 88% [31].

Une étude menée en **Serbie** par COBELJIC *et al.* [24], vise à rechercher les VTEC* dans des fèces d'ovins. Des prélèvements de fèces d'ovins en provenance de 6 troupeaux ont été enrichis sur gélose de Mac Conkey* puis ont été testés sur cellules Vero* en vue de détecter une éventuelle cytotoxicité. Chaque prélèvement positif a été vérifié par isolation de colonies sur gélose de Mac Conkey* et réalisation de VCA* sur colonies sorbitol négatives. La prévalence en VTEC* s'élevait à 66,8% (135/202).

Au **Brésil**, la recherche de pEHEC* dans deux troupeaux de moutons par l'équipe de VETTORATO [158] a donné 52,1% de positivité (25/48). Les prélèvements de fèces ont été transportés sur milieu de Stuart, avant d'être cultivés sur gélose de Mac Conkey* et des colonies prélevées dans les zones de confluence ont été testées pour la présence de gènes *stx* par PCR*. Chaque colonie positive a été confirmée *E. coli* par des tests biochimiques puis isolée par propagation sur TSA avant d'être caractérisée génétiquement.

Tableau 28 : Prévalences en pEHEC chez les ovins dans quelques pays hors Europe

Pays	Année de prélèvement	Groupe	Prévalence	Méthode	Réf.
USA	1994 - 1995, sur 16 mois; un prélèvement tous les 60 jours	Brebis	<u>Juin 1994:</u> ≈ 32%, <u>Août 1994:</u> 6% <u>Juin 1995:</u> 4%. <u>Autres dates:</u> ≈ 0%	Enrichissement de 10g de fèces sur TSB* + cefixime* et potassium tellurite puis isolation sur CT-SMAC* et test au MUG*: sérotypage de 30 souches sorbitol négatives et MUG*-.	73
USA	Janvier 1994; un seul prélèvement par animal	Agneaux	15/85 cultures positives, soit 17%	Mise en culture sur gélose SMAC* de 10g de fèces, puis hybridation sur empreinte de colonies <i>stx1/stx2</i> sur 10 colonies prélevées aléatoirement, et VCA* sur 11 souches représentatives par gélose	73
Australie	Non précisée ; étude publiée en 1999	Agneaux à l'abattoir	26/72 soit 36%	Enrichissement de 1g de fèces sur milieu de culture pour <i>E. coli</i> sans sels biliaires; PCR* <i>stx1/stx2</i> sur ADN extrait par chauffage ; quand positif, isolation de colonies sur gélose à l'éosine et au bleu de Méthylène : détection des colonies STEC* par PCR* <i>stx</i>	41
		Moutons à l'exploitation	65/144 soit 45%		
Australie	Non précisée ; étude publiée en 2001	29 troupeaux d'agneaux de 4 à 12 mois, 25 prélèvements par troupeaux	26/29 soit 90% et 20 à 25 prélèvements positifs par troupeaux	PCR* multiplex <i>stx1et2</i> , <i>eae</i> et <i>ehxA</i> après enrichissement de 50 mg de fèces sur bouillon mEC*, puis isolation des souches sur gélose SMAC* et caractérisation biochimique	31
		36 troupeaux de moutons de 1 à 8 ans; 25 prélèvements par troupeaux	33/36 soit 92% ; 1 à 17 prélèvements positifs par troupeaux		
Serbie	2004	202 moutons, 6 troupeaux	135+ soit 66,8%	VCA* après enrichissement gélose de Mac Conkey*; + si colonie VCA*+ isolée sur gélose de Mac Conkey*	24
Brésil, Soa Polo	Non précisée, étude publiée en 2003	48 ovins, 2 fermes	25/48 soit 52,1%	Transport sur milieu de Stuart, puis étalement sur gélose de Mac Conkey*, et prélèvement de colonies dans la zone de confluence pour PCR* <i>stx1/stx2</i> ; si positif, caractérisation biochimique des souches	158

(3)Prévalences chez les caprins

Les cas humains liés à des sources épidémiologiquement caprines sont moins nombreux. Est-ce dû à une plus faible répartition des pEHEC* au sein de l'espèce caprine ou à une exposition humaine moins importante?

En Allemagne, deux études ont été conduites sur des prélèvements de fèces caprins, l'une en 1993 par BEUTIN *et al.* [6] et l'autre par ZSCHOCK *et al.* en 2004 [171].

L'équipe de BEUTIN a recherché les souches d'*E. coli* vérotoxiques par test sur cellules Vero* après isolement sur milieux spécifiques : 37 prélèvements sur 66 étaient positifs, soit 61,2%.

L'équipe de ZSCHOCK a recherché la présence de gènes *stx* par PCR* sur colonies *E. coli* -like isolées sur gélose de Gassner* : 70 prélèvements sur 93 étaient positifs, soit 75,3%.

En Serbie, COBELJIC *et al.* [24] ont également cherché la présence de pEHEC* par VCA* sur fèces de 42 caprins, en provenance d'un seul troupeau : 31 se sont révélées positives, soit 73,8%.

Tableau 29 : Prévalences en pEHEC chez les caprins observées en Allemagne et en Serbie.

Pays	Année	Groupe	Prévalence	Méthode	Réf.
Allemagne	1993	Caprins en élevage	37/66 soit 56%	Isolation de <i>E. coli</i> après incubation, identification biochimique puis VCA*	6
Allemagne	Avril 1996- Août 1998.	93 caprins laitiers en provenance de 9 fermes	70/93 soit 75,3%	Enrichissement sur gélose de Gassner*, puis PCR* <i>stx1/stx2</i> sur 16 colonies fermentant le lactose et identifiées biochimiquement comme étant des <i>E. coli</i>	171
Serbie	Janvier 1998- Décembre 2002	42 chèvres, 1 troupeau	31+ soit 73,8%	VCA* après enrichissement gélose de Mac Conkey*; + si colonie VCA*+ isolée sur gélose de Mac Conkey*	24

5. Portage de pEHEC par d'autres animaux de rente

a) Chez le porc

(1)En Europe

En France, une étude réalisée en 2002 par BOUVET *et al.* [12] rapporte la prévalence en gènes *stx*

(2) Dans d'autres pays industrialisés

Aux **Etats-Unis**, une étude a été conduite en 2000 [42] dans le cadre d'une série d'enquêtes sur la santé et les performances dans les cheptels porcins américains. Des porcs ont été prélevés aléatoirement dans des exploitations participant au programme « Swine 2000 », qui couvre 94% du cheptel porcins américains. Après enrichissement des prélèvements de fèces sur milieu non spécifique, l'équipe de FRATIMACO [42] a recherché les gènes *stx* sur ADN extrait par chauffage et centrifugation : 484 des 687 prélèvements se sont révélés positifs (70%), confirmés par hybridation sur empreinte de colonies après culture sur gélose de Luria Bertani*.

Au **Japon**, nous citerons deux études portant sur la détection de pEHEC* chez les porcins.

La première a été conduite entre juin 1999 et mars 2001 : KIJIMA *et al.* [69] ont prélevé des fèces fraîches de porcs en provenance de 46 préfectures japonaises, réparties sur tout le territoire. Après enrichissement des prélèvements sur TSB*+vancomycine* ou sur milieu pour *E. coli* modifié avec novobiocine*, ils ont prélevés un peu de ces bouillons de culture, qu'ils ont mis à incuber 4h à 37°C, et qu'ils ont chauffé, avant de faire une recherche de gènes *stx* par PCR*. Chaque prélèvement donné positif suite à la PCR* a été confirmé par isolation des colonies sur milieu spécifique (CT-SMAC* et gélose avec desoxycholate, hydrogen sulfate et lactose), recherche de gènes *stx1*, *stx2* par PCR*, caractérisation biochimique des souches (à l'aide de galeries API20E). Au minimum une souche a été identifiée par prélèvement positif. Ainsi, la prévalence en STEC* est de 25/179, soit 14%.

KIJIMA *et al.* [69] citent également les travaux de FUKUYAMA *et al.*, qui estiment la prévalence en pEHEC* au sein des 4 préfectures japonaises sur lesquelles porte l'étude, à 10,5% (44/411).

Concernant la prévalence en *E. coli* O157:H7, une étude, menée en par NAKAZAWA *et al.* [111] en mai-juin 1997, l'estime à 3/221 soit 1,4% des prélèvements positifs, issus de 35 fermes japonaises, choisies aléatoirement (0,24% du cheptel japonais a été testé). Des fèces fraîches ont été enrichies sur gélose de Mac Conkey*, puis les colonies ne fermentant pas le sorbitol ont été confirmées par test d'agglutination O157 puis H7.

En **Australie**, une étude a été publiée en 1996 par SIDJABAT-TAMBUNAN [144], portant sur la recherche de STEC* dans des fèces de porcs prélevées à l'abattoir. 0,5g de fèces ont été mis en culture sur bouillon Luria-Bertani, puis l'ADN a été extrait d'1ml de la culture précédente, centrifugé 5 minutes à 13 000g puis bouilli et testé pour la recherche de gènes *stx* par PCR*. Les prélèvements positifs ont été confirmés par isolation de souches sur géloses de Mac Conkey* et hybridation sur empreinte de colonies puis sur colonies isolées : 21/129 prélèvements se sont révélés positifs, soit 1,5%.

Le tableau 31 synthétise les données relatives aux prévalences en pEHEC observées chez les porcins hors-Europe :

Tableau 31 : Prévalences en pEHEC chez les porcins dans quelques pays industrialisés, hors Europe.

Pays,année de prélèvement	Animaux prélevés	Cible	Prévalence	Méthode	Réf.
USA, 2004, (Swine 2000 study)	Porcs à la ferme	STEC*	PCR* : 484/787 soit 70% Isolation : 40%.	10g de fèces fraîches enrichies sur TSB* puis PCR* <i>stx1/stx2</i> sur ADN extrait par chauffage; culture sur gélose LB puis hybridation sur empreint de colonies* et confirmation parPCR*	42
Japon, non précisé ; publication en 2005	Sondage sur l'ensemble du japon: 179 porcs	STEC*	32 soit 14%	Enrichissement de fèces fraîches sur TSB*+6mg/l de vancomycine*, ou sur mEC*+20mg/l novobiocine*, puis PCR* <i>stx</i> après chauffage et isolation de souches sur CT-SMAC*	69
Japon, avril – octobre 2000	411 porcs dans 4 préfectures du Japon	VTEC*	44/411 soit 10,7%	Fèces fraîches analysées	Etude citée par 69
Japon, mai - juin 1997	221 porcs dans 35 fermes choisies au hasard parmi l'ensemble des fermes du Japon (soit 0,24% du cheptel testé)	O157:H7	3/221 soit 1,4%	Enrichissement de compresses tamponnées sur des fèces puis culture sur gélose de Mac Conkey* et agglutination et recherche de H7	111
Australie, 1997	Porcs à l'abattoir	STEC*	21 ou 1,5% après PCR*, 0 isolats vérotoxiques	0,5 g de fèces congelé puis enrichi et PCR* sur ADN extrait ; isolement sur gélose de Mac Conkey* ; « colony blot hybridization » et recherche <i>stx</i> sur colonies pour confirmer	144

(3) Dans quelques pays en voie de développement

Une étude a été publiée en 2004 en **Serbie** par COBELJIC *et al.* [24], au cours de laquelle des prélèvements de fèces de porcs en provenance de 128 exploitations ont été enrichis sur gélose de Mac Conkey* puis ont été testés sur cellules Vero* en vue de détecter une éventuelle cytotoxicité. Chaque prélèvement positif a été vérifié par isolation de colonies sur gélose de Mac Conkey* et réalisation de VCA* sur colonies sorbitol négatives. La prévalence en VTEC* s'élevait à 135/1191, soit 11,3%.

En **Argentine**, l'équipe de PARMA *et al.* [121] ont recherché des pEHEC* en provenance de porcs avec diarrhées, de porcs sains et de porcs avec retard de croissance. Parmi les 19 prélèvements obtenus à partir de porcs sains, aucun n'a été trouvé positif après enrichissement sur bouillon de Luria-Bertani et PCR* *stx*. Par contre, les prélèvements en provenance de porcs diarrhéiques ont révélé la présence de VTEC* (5,9% des prélèvements).

Tableau 32 : Prévalences observées en pEHEC chez les porcins en Argentine et en Serbie.

Pays	Année	Groupe	Ce qui est recherché	Prévalence	Méthode	Réf.
Argentine	1992-1997	127 Porcs avec diarrhées 19 sains et 48 avec retard de croissance	VTEC*	5,9%, tous chez des porcs diarrhéiques	Enrichissement sur gélose de Luria-Bertani et recherche PCR* de STIa, LTI, Stx1, Stx2 et Stx2e	121
Serbie	2004	1191 Porcs, 128 fermes	STEC*	135+ soit 11,3%	VCA* après enrichissement sur milieu de croissance; + si colonie VCA*+ isolée.	24

(4) Pour conclure

Les prévalences retrouvées chez les porcs sont plus faibles que chez les ruminants d'élevage, et que chez les bovins en particulier. Est-ce dû à une résistance plus grande de ces animaux à la colonisation par les STEC* ? ou à une plus faible exposition à ces bactéries ???

L'équipe de CORNICK *et al.* [25] a travaillé sur la transmission d'*E. coli* O157:H7 entre des porcs de 3 mois infectés expérimentalement par 2 souches cultivées en laboratoire, et des porcs « naïfs », c'est-à-dire des porcs de trois mois n'excrétant pas d'*E. coli* O157:H7 avant d'être mis dans le même enclos que les porcs inoculés. Ils ont ainsi démontré que le passage d'*E. coli* O157:H7 entre les deux populations de porcs était possible, avec une dose infectieuse estimée à 6×10^3 CFU/g de fèces. Les autopsies des porcs infectés expérimentalement et après contact avec des porcs « donneurs » ont révélé la présence d'O157:H7 au niveau de leurs tonsilles, laissant croire qu'une auto-infection à partir de ce réservoir est possible...

Cette étude suggère donc que le degré de sensibilité des porcs à *E. coli* O157:H7 est du même ordre que celle des veaux (dose infectieuse estimée à 5×10^3 jusqu'à 9×10^3 CFU), et plus grande que les bovins (dose infectieuse de l'ordre de 10^7 CFU) et que des ovins (10^5 CFU). Les auteurs concluent que la différence de prévalence observée entre les porcs et les bovins est plutôt due à des différences de conduite d'élevage...

De plus, la caractérisation génétique des STEC* retrouvées chez les porcs met en avant le fait que les souches porcines ne portent pas les mêmes facteurs de virulence que les souches isolées chez l'homme malade [1].

Ainsi, le danger pour l'homme lié par la présence de rares STEC* chez les porcs est faible comparé à celui représenté par la présence de STEC chez les bovins.

b) Chez les volailles d'élevage

(1) Recherche de VTEC et de STEC

En **Allemagne**, l'équipe de BEUTIN [6] n'a pas mis en évidence de prélèvements de fèces de poulets ayant des effets cytotoxiques par test sur cellules Vero* parmi les 700 prélèvements analysés.

La recherche de VTEC* en **Serbie** a permis d'isoler des souches VTEC* dans 4 prélèvements parmi les 401 analysés (1%) pour la recherche de VTEC* par VCA* après culture sur gélose de Mac Conkey* puis VCA* de contrôle sur colonies isolées.

L'utilisation de la PCR* *stx* comme moyen de détection a donné des résultats similaires en **Finlande** et au **Japon** : en Finlande, l'analyse de fèces en provenance de 199 poulets de 23 troupeaux différents [71] n'a pas permis de mettre en évidence la présence de gènes *stx* par PCR* et hybridation sur empreinte de colonies à partir de tampon cloacaux incubés respectivement sur bouillon de soja - tryptical modifié et sur SMAC*. Au Japon, parmi les 158 prélèvements de fèces effectués dans 158 exploitations réparties sur tout le territoire [69] (43 préfectures couvertes), aucun ne s'est révélé positif à la recherche de STEC* par PCR* *stx* sur ADN dénaturé par chauffage, à partir de fèces fraîches cultivées sur TSB* vancomycine* ou sur mEC* novobiocine*.

(2) Recherche d'*E. coli* O157

Sur deux études conduites en **Angleterre** en 1997 [18] et aux **Pays Bas** en 1999 [56], s'intéressant à la prévalence dans les élevages de poulets d'*E. coli* O157 détectés par IMS*, aucune n'a permis de trouver de prélèvements positifs parmi les 1000 tampons rectaux et les 501 tampons de fèces émises respectivement étudiés. La recherche par IMS* d'*E. coli* O157 parmi 459 tampons de fientes fraîches dans une élevage de dindes a révélé 6 échantillons positifs, soit 1,4% [56].

En **Slovaquie** cependant, une équipe a trouvé 9,6% des 216 échantillons de fèces de poulets positifs à la recherche d'*E. coli* O157 [1].

Les prévalences en pEHEC* des poulets sont donc faibles par rapport aux autres espèces. Cependant, le bilan Afssa 2003 [1] rappelle que BEERY *et al.* en 1985 ont mis en évidence la capacité des souches d'*E. coli* O157:H7 à coloniser le cæcum de poulets inoculés expérimentalement. Une étude publiée en 2005 par LA RAGIONE [78] montre que certaines souches d'*E. coli* O157 sont capables de persister, chez le poulet de 6 semaines, jusqu'à 156 jours après inoculation.

Le tableau 33 synthétise les prévalences observées dans les études citées ci-dessus chez les porcs :

Tableau 33 : Prévalences en pEHEC chez les volailles à travers le monde.

Pays	Année	Espèce	Prévalence	Méthode	Réf.
Allemagne	1993	Poulets	0/700	VCA*	6
Serbie	NP	401 poulets, 92 exploitations	4/401 soit 1%	culture sur gélose de Mac Conkey* puis VCA*; + si colonie "VCA*+" isolée ultérieurement sur gélose de Mac Conkey*.	24
Finlande	1999 – 2000	Poulets	0/199 en provenance de 23 exploitations (2 compagnies différentes)	Enrichissement sur TSB* puis étalement sur SMAC* et détection de <i>stx</i> par PCR*.	71
Japon	Juin 1999 à Mars 2001	Sondage sur l'ensemble du japon : 158 poulets, 158 fermes dans 43 préfectures	0/158	enrichissement de 1g de fèces sur TSB*-vancomycine* ou sur mEC* novobiocine*; PCR* après 4h à 37°C et chauffage; isolation sur CT-SMAC* et identification biochimique	69
Angleterre	1997	Poulets	O/1000	IMS* O157 sur culture enrichie	18
Pays Bas	1999	Poulets	0/501	IMS* O157 sur culture enrichie	56
		Dindes	6/459 soit 1,4%		
Slovaquie	1999	Poulets	9,60%	Recherche de O157	1

6.

7. Quelle contamination de l'environnement à partir des effluents d'origine animale ?

L'épidémiologie des infections à EHEC* chez l'homme, et la compréhension des modes de contamination, a permis de mettre en avant le fait que les EHEC* se retrouvent non seulement sur des viandes contaminées à l'abattoir, mais aussi dans l'environnement !

Ainsi, une étude rétrospective des épidémies à EHEC* O157:H7 aux Etats-Unis entre 1982 à 2002 [130] fait ressortir le fait que 61% des infections étaient dues à la consommation de nourriture contaminée (5 269 cas), 3% (280) à la baignade dans des plans d'eau contaminée, 15% (1 265) à la boisson d'eau contaminée, et 4% (319) au contact direct avec un animal excréteur (visite à la ferme par exemple). Les autres cas étaient dus à des contacts entre personnes contaminées ou à des modes de contamination non déterminés.

Cette étude met en avant la capacité des souches O157:H7 à se répandre dans les sols et l'eau, vraisemblablement à partir d'un réservoir animal.

a) Présence de pEHEC dans les effluents d'origine animale

Des équipes ont cherché à caractériser la présence de pEHEC* dans les effluents d'origine animale :

L'équipe de VERNOZY-ROZAND [157] a recherché, sur des effluents de porcs et de bovins, la présence de STEC* par PCR* *stx1* et *stx2* sur ADN extrait, et plus particulièrement les sérotypes O26, O111, O55 et O157 après culture sur gélose de Mac Conkey*, ainsi que O157:H7 par immunoconcentration automatique (selon la méthode VIDAS*) sur souches *uidA+*. Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau 34.

Tableau 34 : Recherche de STEC dans des effluents d'origine porcine et bovine (source : [157]).

Origine	Prélèvement	Nombre de prélèvement	Prélèvements <i>stx+</i> à la PCR*	Souches VTEC* isolées	Facteurs de virulence retrouvés
Elevage de porcs	Fèces	88	15 soit 17%	5	1 souche <i>stx1/eaeA/ehx</i>
	Lisier	39	0	0	
	Pré-lisier	45	4 soit 9%	0	
	Fumier	10	0	0	
	Composte	10	0	0	
Elevage de bovins	Fèces	48	4 soit 8%	2	2 souches <i>stx2</i> , 1 <i>stx1/stx2/ehx</i> 1 souche <i>stx1/ehx</i> et une autre <i>stx2/ehx</i>
	Lisier	30	3 soit 10%	2	
	Fumier	45	5 soit 11%	3	

Il ressort de cette étude que pour les effluents d'origine porcine, la prévalence retrouvée chez les animaux est plus grande que celle retrouvée dans les effluents d'élevage, ce qui n'est pas le cas ici pour les effluents d'origine bovine. Il reste à savoir si cela est le reflet d'une réduction significative du nombre d'*E. coli* présents, ou si le résultat est biaisé par un taux de détection plus faible dans les effluents prélevés que dans les fèces, ou à un problème d'échantillonnage...

LOUKIADIS *et al.* [83] ont recherché des STEC* dans différents effluents émis par 12 abattoirs français, à différentes étapes du traitement épuratoire. 23 des 224 prélèvements effectués ont permis l'isolement de colonies *stx+*, et 35 de colonies *stx-/eae+* (dont 1 isolée dans les boues destinées à être épandues et 2 dans les effluents traités, déversés dans une rivière). De plus, les prélèvements effectués en amont et en aval du lieu de rejet des effluents traités par 6 abattoirs disposant de station d'épuration complète ont montré une plus forte

contamination de la rivière en aval.

Ainsi, cette étude montre que les systèmes de traitement des effluents permettent de diminuer la dissémination de souches potentiellement pathogènes pour l'homme, mais qu'ils laissent tout de même survivre quelques souches, qui sont ensuite capables de survivre dans le milieu aquatique.

b) Evolution des pEHEC dans les effluents d'origine animale

L'évolution des pEHEC* dans les effluents émis est en partie caractérisée :

OGDEN *et al.* [114] se sont intéressés à l'évolution des populations d'*E. coli* et d'*E. coli* O157:H7 dans le sol après épandage de lisier, sur des modèles de sols argileux et sablonneux, reconstitués en laboratoire.

La cinétique de décroissance de la population d'*E. coli* initialement présente dans les lisiers est maximale dans les 3-4 premiers jours, avec perte de la portion sensible. Puis, la fraction résiduelle décroît jusqu'au 18^{ème} voire 24^{ème} jour. Après 4 semaines, moins de 100 UFC/g de sol sont retrouvées. Les premières eaux de ruissellement sont particulièrement chargées en *E. coli*. La cinétique de la population d'*E. coli* O157:H7 est la même que celle des autres *E. coli*.

KUDVA *et al.* [74] ont étudié la survie de souches O157:H7 dans du fumier naturellement contaminé après infection expérimentale d'ovins et de bovins, et stocké en plein air. Ainsi ils ont pu détecter des *E. coli* O157:H7 pendant 21 mois pour le fumier d'origine ovine, avec des concentrations allant de 10^2 à 10^6 UFC/g. Pour le fumier périodiquement aéré, la persistance est réduite à 4 mois dans cette étude. Pour le fumier d'origine bovine, la survie des *E. coli* O157 est moins bonne, avec une persistance maximale de 47 jours. Les *E. coli* O157 ont été détectés après enrichissement de 10g de fumier dans du TSB* complétement en cefixime* (50µg/l), tellurite potassique (2,5 mg/l) et vancomycine* (40mg/l), dilution en séries jusqu'à 10^{-10} , et étalement sur gélose SMAC* complétement en MUG* (100 mg/l). Les colonies ne fermentant pas le sorbitol et n'utilisant pas le MUG* ont été sérologiquement confirmées O157 et H7.

En parallèle, ils ont inoculé expérimentalement du fumier, du lisier non traité et du lisier traité, d'origine bovine et ovine, avec une souche O157:H7. Ils ont fait varier la température et la ventilation des échantillons ainsi préparés. Les persistances diffèrent de celles observées avec le fumier conservé à l'extérieur. Des souches ont pu être retrouvées 100 jours après inoculation dans les échantillons de fumier bovin congelé à -20°C sans ventilation, et dans les échantillons de fumier ovins conservés à 4 et 10°C. Pour les autres échantillons, les souches ont persisté entre 24h et 40 jours.

8. Pour conclure sur le portage de pEHEC par les animaux :

Il ressort de cette étude sur la répartition des pEHEC* chez les animaux vivants et leurs effluents :

- que les pEHEC* sont mondialement répartis, et sont retrouvés chez de nombreuses espèces animales domestiquées.
- que les ruminants et, *a fortiori*, les bovins sont ceux qui excrètent le plus souvent des pEHEC*. Les ovins arrivent juste après. Les prévalences publiées sur les caprins sont plus faibles.
- que les porcs peuvent également concourir à la dissémination de STEC*. Cependant les souches isolées portent *a priori* à l'heure actuelle d'autres facteurs de virulence que ceux des souches isolées chez des patients humains.
- que les effluents de poulets semblent ne pas présenter de risque de contamination humaine, en accord avec les données épidémiologiques de recherche de pEHEC* dans les fientes de volailles, et avec les données épidémiologiques des infections humaines relatées.

Pour ce qui est des chiens et des chats, les quelques études sur la question révèlent l'isolement de rares pEHEC* [1], ce qui permet de dire que ces espèces sont potentiellement porteuses de pEHEC*. Leur rôle épidémiologique dans les contaminations humaines semble limité.

La majorité des animaux sont excréteurs sains, d'où des seuils de positivité en abattoir élevés et un risque accru de contamination de denrées consommables; notons tout de même que les veaux et les porcelets porteurs peuvent déclarer des maladies (respectivement diarrhées ou maladies de l'œdème, [28]), sous certaines conditions qui ne sont pas clairement élucidées à ce jour.

Des disparités existent entre les prévalences décrites dans les différents pays étudiés. Il semble qu'elles soient le reflet de différences épidémiologiques vraies dans la répartition des pEHEC*, et pas uniquement des biais liés aux différents protocoles mis en place pour la détection des pEHEC*.

D. Concernant les EIEC

1. Les EIEC chez l'homme

NATARO *et al.* [107] rapportent que les *Shigella* et les EIEC* induisent des diarrhées aqueuses chez l'homme. Ces diarrhées peuvent se compliquer de syndromes dysentériques bacillaires, caractérisés par l'émission fréquente de fèces de petit volume, avec mucus et sang, accompagnées de ténésme. Elles causent la mort de 600 000 personnes par an dans le monde. Selon NATARO *et al.* 1998 [108], au cours d'une épidémie à EIEC*, 7% des personnes atteintes développent un syndrome dysentérique.

Dans le rapport du WHO sur les *E. coli* qui provoquent des diarrhées [97], les EIEC* causent des diarrhées chez les enfants en pays en voie de développement, et chez les adultes en pays industrialisés.

Selon NATARO *et al.* [108], les principales voies de contamination connues à ce jour sont les mêmes que celles des ETEC*, à savoir les aliments et l'eau contaminés par des fèces humaines. Par exemple, des épidémies de diarrhées à EIEC* ont eu lieu dans les pays développés, d'origine alimentaire, comme ce fut le cas au Texas, touchant 370 personnes...

Les transmissions de personne à personne sont plus fréquentes lors d'infection à *Shigella* que lors d'infections à EIEC*.

2. Retrouve-t-on des EIEC chez les animaux ?

Dans le rapport WHO sur les *E. coli* qui provoquent des diarrhées [97], les auteurs ne considèrent pas les EIEC* comme des souches zoonotiques.

A ce jour aucune étude ne fait état de la découverte de facteurs de virulence associés aux EIEC* chez les souches d'*E. coli* isolées chez les animaux. Une étude est en cours [LOUKIADIS *et al.*, données non publiées à ce jour], avec la recherche de gènes codant pour la protéine IpaH, produite par la souche de référence EIEC* 85b, dans les effluents de douze abattoirs français de grande et moyenne capacité .

E. Concernant les EAggEC

1. Les EAggEC chez l'homme

La question de savoir si les EAggEC* sont des agents responsables de diarrhées est longtemps restée sans réponse. Ainsi, parmi les études comparant la prévalence en souches ayant un profil d'adhésion en mur de briques sur cellules Hep-2* chez les enfants sains avec celles retrouvées chez des enfants diarrhéiques, certaines montraient une association entre le portage de ces souches et l'apparition de diarrhées, et d'autres non [77]. Est-ce dû à un problème de détection des souches en présence ? A une divergence dans les populations étudiée (âges différents, régions différentes...) ? A une forte hétérogénéité dans le potentiel pathogènes des souches EAggEC* ?

L'inoculation de quatre clones EAggEC* à des adultes volontaires non immunisés préalablement contre les facteurs d'adhésions de ces souches par NATARO *et al.* [77] crédibilise la dernière hypothèse. En effet, une seule souche a induit des diarrhées chez les adultes inoculés. A la différence des trois autres souches, elle portait l'adhésine Afa-II et non Afa-I. Cependant, les quatre souches ont colonisé le tube digestif des adultes inoculés. Les EAggEC* profitent peut-être de circonstances favorisant pour exprimer leur potentiel pathogène, ce qui expliquerait l'importance des diarrhées à EAggEC* chez les adultes HIV positifs [77].

Parmi les études qui s'intéressent à la distribution des EAggEC* chez les enfants, les prévalences apparentes trouvées sont très variables d'une étude à l'autre, et l'absence de protocoles standard de détection rend les comparaisons hasardeuses.

A l'avenir, la meilleure connaissance des facteurs de virulence associés aux EAggEC*, et le développement concomitant de méthodes de détections fiables devrait permettre de mieux connaître la répartition des souches EAggEC* au sein des populations d'hommes sains et malades.

2. Les EAggEC chez les animaux

Décrire le portage animal de souches EAggEC* ou de facteurs de virulence associés à ces souches présente bien évidemment les mêmes difficultés que pour faire le point sur la situation chez l'homme.

Des modèles expérimentaux ont été fait sur lapins et sur porcelets gnotobiotiques : l'inoculation de souches EAggEC* a entraîné l'apparition de diarrhées parfois mortelles au sein des animaux testés. L'analyse histologique de prélèvements de muqueuses a montré la capacité des souches EAggEC* à la coloniser.

In vivo, aucune étude ne rapporte à ce jour d'infection animale naturelle due à une souche EAggEC*. Cependant, peu d'études ont recherché la présence d'EAggEC* chez l'animal. Une étude publiée en 2004 par CASSARD *et al.* [15] n'a pas permis de détecter d'EAggEC* dans les fèces d'ovins, de bovins ni de porcins, prélevées à l'abattoir et analysées à la recherche de séquences spécifiques du plasmide de 60 à 65 kDa fréquemment associé aux EAggEC*.

D'autres études visent à rechercher la présence de toxine EAST1. Rappelons que cette toxine n'est pas spécifique des EAggEC*, puisqu'elle est également retrouvée entre autre chez des EHEC*, des EPEC* et des DAEC* et *Salmonelles* [156, 103]. Parmi les études citées, VEILLEUX *et al.* [156] n'en rapportent aucune qui ait recherché l'association entre le gène *astA* (codant pour EAST1) et des séquences spécifiques du plasmide AA (codant les adhésines responsables du profil d'adhésion en briques empilées sur cellules Hep-2).

3. Evaluation du danger de contamination de l'homme *via* l'animal

A ce jour, aucune épidémie due à une souche EAggEC* n'a été associée à une source de contamination animale. Cependant, l'origine des contaminations humaines reste inconnue [15]. Des souches EAST1 positives ont été retrouvées par PCR* dans 16/54 prélèvements d'eau contaminée par les effluents d'animaux d'élevage. L'assortiment de facteurs de virulence était différent de ceux rencontrés chez les souches humaines. Une contamination d'étudiants par des souches EAST1 positives à partir d'eau souillée par des fèces animales au Japon est rapportée [156], mais elle implique des souches EPEC* atypiques (*asta+*, *eae+* mais *bfp-*).

Des études complémentaires sont donc nécessaires pour faire le point sur le danger représenté par les EAggEC*, et notamment sur la question de l'origine animale ou non des contaminations humaines.

F. Concernant les ExPEC

Contrairement aux pathovars* intestinaux, les ExPEC* ne présentent pas de facteurs de virulence communs [96, 10]. Une large diversité existe au sein des ExPEC*, comme en témoigne la comparaison de 158 séquences du génome de souches O2 et O78 d'origine aviaire et humaine [95]. Les ExPEC* semblent avoir à leur disposition un pool de facteurs de virulence, diversement associés. Les assortiments rencontrés sont très variables, mais conduisent à des pathologies très proches. La question que l'on se pose ici est de savoir si l'on trouve des similitudes entre le pool de facteurs de virulence accessibles aux ExPEC* humains et celui des ExPEC animaux.

1. Les adhésines des ExPEC humains et animaux.

a) AIDA-1

AIDA-I est parmi les premières adhésines des DAEC* à avoir été décrite. Elle a été identifiée pour la première fois dans des fèces d'enfants diarrhéiques. Par la suite, elle a été identifiée dans 2 à 4% des isolats humains [113]. Elle a également été mise en évidence sur des souches d'*E. coli* isolées chez des porcs : parmi 1002 souches testées, 23 se sont révélées AIDA-I positives, dont 17 produisaient également les toxines EAST-1 et STa et/ou STb [113] : ces souches sont donc des ETEC*.

Le rôle d'AIDA-I dans la survenue de diarrhées chez le porc n'est pas encore bien déterminé, car ce gène est toujours associé à d'autres facteurs de virulence dans les souches où il a été isolé. Une autre étude note l'association de AIDA-I avec les facteurs de virulence *stx2e* (Shiga-toxine associée à la maladie porcine de l'œdème) et l'adhésine fimbriaire F18, elle aussi associée à la maladie de l'œdème. Le sérotype O26 est souvent associé aux souches AIDA-I [103].

b) Les adhésines des DAEC typiques

Rappelons que trois classes d'adhésines sont associées aux DAEC* typiques : les adhésines Afa (Afa-I à VIII), les adhésines Dr et les fimbriae F1845. Les adhésines Dr ou F1845 n'ont pas été retrouvées chez l'animal [140]. En ce qui concerne les adhésines Afa, seules les variants Afa-VII et Afa-VIII ont été isolés chez l'animal. Seul Afa-VIII a été retrouvé à la fois chez l'animal (veau et porc) et chez l'homme. Cependant, les souches humaines Afa-VIII positives ne semblent pas associées à des diarrhées [140].

La comparaison de 65 souches *afa8* positives isolées chez l'homme et chez l'animal [49] a mis en évidence la présence de facteurs de virulence présumés communs aux souches humaines et animales. Ainsi le gène *astA* codant EAST1 a été isolé chez 24 des 77 souches en présence, isolées en proportions égales chez des hommes, pour la plupart lors de bactériémie, et chez des bovins malades. L'îlot de pathogénicité* HPI est présent sur 69% des souches testées, d'origine humaine (72 et 78% des isolats) ou animale (de 47 à 84% des isolats testés). Des séquences codant pour un fimbriæ de type P ont également été retrouvées sur 39 des 77 souches analysées, avec notamment la présence de l'allèle III, présent sur des souches humaines comme animales. De même, le complexe fimbriaire F17c est fréquent dans la série de souches analysées : 34 souches humaines porteuses et 11 souches animales.

Les sérotypes exprimés par 52 souches *afa8* positives d'origine humaine et animale analysées sont restreints [49] : O11 (21 souches), O101 (9), O8 (6), O118 (2), O86 (2), O9 (2), et O4 (1), O83 (1), O78 (6) (2 souches de sérotype non déterminé).

A la lumière des similitudes rencontrées chez les souches *afa8* positives, en terme de facteurs de virulence et de sérotypes, GIRARDEAU *et al.* [49] concluent au chevauchement des populations ExPEC* d'origine humaine et animale.

c) Le complexe fimbriaire F165

Il a été retrouvé dans des souches isolées chez l'homme, le veau et le porcelet [51, 30]. La comparaison des facteurs de virulence associés à 18 souches F165 positives isolées chez des porcins et des bovins révèle une forte hétérogénéité dans le pool de facteurs associés [30]. Parmi ceux recherchés, on peut citer la concomitance au sein des souches *papA* positives avec les gènes codant pour les fimbriae F11 (*incD*, *traT* et *papC*). Pour les autres facteurs de virulence, les associations sont variables.

Des facteurs de virulence associés aux souches pathogènes pour l'homme ont également été retrouvés sur ces souches animales. Ainsi, l'allèle III du gène *papG* (PapG est une adhésine portée par les fimbriae F165-1 notamment) est associé ici à 6 des 9 souches porcines [30]. Cet allèle est également fréquemment porté par les souches isolées en cas de cystite chez l'homme, et parfois en cas de bactériémie ou de pyélonéphrite. De même, les gènes *espP* ont été décelés [30]. Rappelons que les EspP sont impliquées dans la pathogénicité des EHEC* pour l'homme, avec leur propriété à cliver le facteur humain de coagulation de type V. Cette étude est la seule à citer la présence de ce facteur de pathogénicité sur des souches F165 positives. Notons tout de même que les ExPEC* F165 isolées ici portent moins de facteurs de virulence que ceux pathogènes pour l'homme.

La diversité dans le pool de virulence des souches F165 analysées conforte l'hypothèse d'une acquisition divergente de facteurs de virulence en fonction de la pression de sélection rencontrée chez l'hôte, signant une adaptation des souches à l'espèce où elles sont isolées. Ceci n'est pas en faveur d'une contamination directe de l'homme par des souches animales, mais soulève tout de même le problème de la transmission horizontale de facteurs de virulence codés par des éléments mobiles et évolutifs du génome.

d) Les fimbriae F17

Ils ont été retrouvés sur des souches bovines, aviaires, porcines et humaines. Ces fimbriae sont capables de se lier à des récepteurs N-acetyl-D-glucosamides, que l'on retrouve entre autre sur les entérocytes humains, bovins et porcins, ainsi que sur les cellules épithéliales mammaires, ce qui explique la capacité de ces souches à se fixer sur les types cellulaires précités [86]. Quatre variants (A à D) sont connus à ce jour, isolés chez les bovins (de quelques % à 50% des animaux porteurs en fonction des études), ainsi que chez les oiseaux, l'homme, le porc, le chat et le chien, d'origine systémique ou intestinale.

F17a est associé à des souches ETEC* sécrétant l'entérotoxine STa, et responsables de diarrhées chez le veau et l'agneau. F17b et F17c sont souvent associés à la toxine CNF*-2 et à l'adhésine CS31A sur des souches responsables de troubles digestifs et septicémiques chez les ruminants. Le rôle des F17 dans l'invasion n'est pas encore établi.

Le variant le plus répandu chez les souches aviaires, porcines et humaines est F17c, suivi par F17a [86].

2. Les toxines des ExPEC humains et animaux

Trois classes de toxines sont souvent associées aux ExPEC* : EAST1, CNF* et CDT. Ces toxines ne sont pas spécifiques des ExPEC*, et leur rôle dans la pathogénicité des ExPEC* reste hypothétique [96].

a) EAST1

EAST1 est largement distribué au sein des *E. coli* pathogènes chez l'animal. Ainsi, le gène *astA* est bien représenté dans les souches porcines isolées chez des porcelets en diarrhée, avec des prévalences allant de 22,7% à 65,8% en fonction des études [156].

Il est principalement associé aux gènes codant la toxine STa et au facteur d'adhésion F4. On le retrouve également sur des souches STEC* et sur des souches porteuses de l'adhésine AIDA-1. VEILLEUX ET DUBREUIL [156] rapportent également que le gène *astA* a été retrouvé sur des souches STEC* isolées à partir de fèces de bovins, ainsi que sur 11

souches bovines EPEC* O157:H45 parmi les 12 étudiées.

Une étude rapporte également l'isolement inattendu de souches *cnf*1*, *cnf*2* et *astA* positives sur des lésions intestinales observées après inoculation de souches O157:H7.

b) Les toxines CNF

Les souches productrices de CNF*-1 (NTEC*1) sont associées à des ITU* chez l'homme, alors que les souches productrices de CNF*-2 (NTEC*2) n'ont été isolées que chez l'animal, en particulier les veaux à diarrhées ou en septicémie [118], mais également chez une large proportions de veaux sains, ce qui remet en question son pouvoir pathogène.

MAINIL *et al.* [87] dans leur synthèse sur les NTEC* décrivent la répartition de ces souches chez les bovins, les porcs, les carnivores et l'homme.

Les NTEC* sont retrouvées dans 10 à 50% des cas de colibacillose invasive chez les ruminants, et 5 à 20% des cas de diarrhées colibacillaires. 50% des bovins sains portent également des NTEC* dans leurs fèces. Le variant CNF*-2 est nettement plus fréquent que son homologue CNF*-1, isolé sporadiquement chez les bovins.

Chez le porc, les NTEC* sécrétant des toxines CNF* de type 1 sont isolés dans 1 à 10% des cas de colibacillose. Aucun isolement de souches NTEC*2 n'est rapporté à ce jour. Le portage par des animaux sains est élevé.

La recherche de la présence de gènes *cnf** chez des carnivores sains a révélé une prévalence en NTEC*1 proche de 50%, alors qu'aucun NTEC*2 n'a été détecté.

Des études rapportent également l'isolement de NTEC*1 chez des lapins et des chevaux atteints d'entérite hémorragique. Une étude rapporte l'isolement de NTEC*2 chez une jument à métrite.

Chez l'homme, les NTEC* sont isolées chez des enfants atteints de diarrhées. Les plus fortes prévalences sont rencontrées lors d'infection extra intestinale : 40 à 50% des *E. coli* isolées en cas d'infection colibacillaire du tractus urinaire ou autre sont des NTEC*1.

Chez les oiseaux, moins de 1% des souches *E. coli* testées portent le gène *cnf*1*, et *cnf*2* n'a pas été isolé.

c) Les toxines CDT

D'après VAN BOST ET MAINIL [155], les toxines CDT-I et CDT-II sont le plus souvent isolées chez l'homme, et associées aux facteurs de virulence LEE ou *stx*. CDT-III est retrouvée chez les souches NTEC*2 isolées chez les bovins, codée sur le plasmide Vir, associée aux gènes codant pour CNF*-II et F17b. CDT-IV est retrouvée sur des souches NTEC*1 isolées chez l'homme et l'animal, codée sur le chromosome bactérien.

VAN BOST ET MAINIL [155] précisent que les CDT et les CNF* ont une action synergique *in vitro* sur cellules LLC/PK1 : les toxines CNF* font entrer les cellules de la phase de repos vers la phase S. Ensuite les toxines CDT, activent uniquement sur les cellules en mitose, bloquent les cellules activées à la phase G2/M, ce qui conduit à l'apoptose des cellules après 4 à 5 jours d'incubation.

3. Les autres facteurs associés à l'invasion des ExPEC humains et animaux

a) La résistance à la phagocytose

Les antigènes capsulaires sont impliqués dans la résistance des *E. coli* à la phagocytose. L'antigène le plus fréquemment retrouvé chez les souches ExPEC* humaines est l'antigène K1. On peut également citer d'autres antigènes K retrouvés chez l'homme : K5, K28, K29 [86]. Chez les animaux (porcelets et veaux), les antigènes capsulaires retrouvés sont différents : K79, K80 et KV165 [86]

Le rôle des antigènes O est suspecté mais pas prouvé. GIRARDEAU *et al.* [49] précisent que les sérogroupes O sont relativement restreints au sein des ExPEC* : O1, O2, O4, O18, O75 et O83 notamment. Des souches O4 et O83 ont été retrouvées sur des souches *afa8*

positives isolées chez l'homme et chez l'animal [49].

b) Les sidérophores

Les sidérophores sont largement distribués parmi les souches ExPEC* d'origine animale et humaine [86]. Il ne semble pas qu'il y ait de différences majeures dans les systèmes mis en œuvre.

Leur codage sur des éléments mobiles du génome laisse penser à des échanges possibles entre souches d'origine animale et humaine. Des variations sont notées dans la structure génétique des sidérophores, et notamment dans l'îlot de pathogénicité* HPI des souches *afa8* positives isolées chez les bovins, qui est tronqué dans ces souches [49], traduisant une évolution divergente entre les souches bovines et humaines.

4. Y a-t-il un réservoir animal d'ExPEC pathogènes pour l'homme ?

Le tableau 35 synthétise les principales similitudes entre les facteurs de virulence retrouvés chez les souches ExPEC pathogènes pour l'homme et celle pathogènes pour l'animal :

Tableau 35: Les principaux variants des facteurs de virulence des ExPEC communs aux souches d'origine humaine et animale.

Facteurs de virulence	Variants portés à la fois par des ExPEC humains et des ExPEC animaux	Associés à d'autres facteurs de virulence communs aux souches humaines et animales
Adhésines	AIDA-1	NON ; isolé chez des souches ETEC porcines, et STEC non impliquées dans des pathologies humaines (Stx _{2e} , F18+)
	Afa8	OUI : associé à EAST1, PAI HPI, allèle III des fimbriæ P, F17c, sérotypes restreints.
	F165-1	OUI pour une seule étude : EspP associée à une souche F165+. NON pour les autres études.
	F17c	NON
Toxines	EAST1	OUI : parfois associé à Stx, AIDA1, et même CNF-1 pour une étude
	CNF-1	OUI : parfois associé à CDT-IV
	CDT-IV	OUI : parfois associé à CNF-1

Rappelons également que les souches ExPEC humaines et animales possèdent des sidérophores proches voire identiques.

JONHSON *et al.* [63] ont recherché la présence de facteurs de virulence associés aux ExPEC* dans les fèces de chiens. Sur 59 prélèvements, 19 ont révélés la présence d'*E. coli* portant l'allèle III du gène *papG* codant un fimbriæ de type P souvent retrouvé dans des souches ExPEC* isolées chez l'homme. La caractérisation complémentaire de ces souches par comparaison des empreintes RAPD* a clairement mis en évidence que les souches isolées chez les chiens sont proches voire non distinguables des souches pathogènes pour l'homme. A titre d'exemple, les souches O18:K1 canines sont proches des souches O18:K1:H7 responsables de méningites néonatales humaines. Les souches O6:F48 canines sont proches des souches O6:F48 isolées dans des cas cliniques humains.

MAINIL *et al.* [87] rapportent également que des adhésines associées à des souches

ExPEC* isolées chez l'homme sont retrouvées dans des souches isolées chez les carnivores domestiques (PrsG, Sfa et F1C notamment).

MAYNARD *et al.* [89] ont également comparés des souches ExPEC* isolées chez l'homme et l'animal. Ils concluent à une similitude entre les ExPEC* trouvées chez les carnivores domestiques et celles trouvées chez l'homme, établie par comparaison des profils phylogénétiques et par recherche de quelques facteurs de virulence (recherche de gènes *afaC/afaD*, *afaD8*, *sfaDE*, *papC*, *hlyA*, *iucD*). Les souches isolées chez d'autres animaux domestiques (porcs, poulets et bovins) étaient plus éloignées des souches humaines.

La découverte de souches si proches des souches pathogènes pour l'homme chez les carnivores domestiques est préoccupante. Les risques de contaminations sont grands : contamination environnementale, surtout en milieu urbain où les concentrations en chiens sont importantes, et contamination directe, favorisées par des contacts de plus en plus rapprochés entre l'homme et son animal domestique...

L'implication des animaux de rente dans les contaminations humaines est supposée par la découverte de facteurs de virulence proches. De plus, différents assortiments génétiques sont rencontrés chez les souches d'origine animale et humaine, ainsi qu'entre des souches pathogènes pour une même espèce [95]. Ainsi la question de la spécificité d'hôte reste entière...

Le danger semble également associé aux éventuels transferts horizontaux de facteurs de virulence lors de la rencontre entre une souche animale et une souche humaine.

Cependant, une meilleure compréhension des mécanismes de pathogénicité des ExPEC*, et la mise au point de méthodes de détections fiables sont nécessaires pour apporter une réponse éclairée à la question.

Conclusion :

De nombreux pathovars* d'*E. coli* sont décrits à ce jour. Les plus fréquemment cités sont les ETEC*, les EPEC*, les EHEC*, les EIEC*, les EAggEC* et les ExPEC*. Certains facteurs de virulence sont bien connus, d'autres moins. La meilleure compréhension des mécanismes de pathogénicité, et des facteurs de virulence impliqués, est une étape importante pour la mise au point de méthodes de détection rapides et spécifiques. Cela permettrait ainsi de contourner les difficultés liées à la mise en évidence de souches pathogènes parmi la multitude d'*E. coli* commensales présentes dans certains prélèvements (féces, effluents, ...). L'analyse des facteurs de virulence des *E. coli* pathogènes, et la comparaison de leur répartition chez l'animal domestique et chez l'homme, permettent de les classer en trois grandes catégories :

- 1) Les souches pathogènes non anthroozoonotiques. Elles sont capables de coloniser un nombre restreint d'hôtes, pour lesquels elles sont pathogènes, et elles sont incapables de franchir la barrière d'espèce. Ce sont les ETEC*, avec notamment des souches pathogènes pour les bovins, d'autres pathogènes pour les porcins, et enfin d'autres pathogènes pour l'homme. Les EIEC* sont également classées dans cette catégorie : elles ne sont pathogènes que pour l'homme ; leur répartition chez l'animal sain reste à approfondir.
- 2) Les souches fortement pathogènes, anthroozoonotiques. C'est le cas des EHEC*, avec l'existence d'un réservoir animal bien documentée. Les EHEC* sont principalement retrouvés chez les bovins, puis chez les petits ruminants. Ils sont également isolés chez les porcins, mais les facteurs de virulence retrouvés sont différents de ceux des souches isolées chez les patients humains. C'est également le cas des EPEC*, avec des similitudes entre les souches isolées chez l'homme et celles isolées chez l'animal. Certaines des souches EHEC* et EPEC* isolées chez l'animal sont zoonotiques (pathogènes pour l'animal), alors que d'autres n'induisent pas de signes cliniques chez les animaux porteurs. Ces dernières représentent donc un réel danger en terme de santé publique, parce qu'elles sont susceptibles de se retrouver dans les denrées d'origine animale destinées à la consommation humaine, ainsi que dans les effluents d'abattoirs, rejetés dans l'environnement après traitement. Des études montrent que les traitements mis en place à l'heure actuelle ne garantissent pas l'éradication des agents pathogènes, permettant ainsi leur dissémination ultérieure dans l'environnement.
- 3) Les souches faiblement pathogènes. C'est le cas des ExPEC*. Pour ces pathovars*, tout se passe comme s'ils avaient à disposition un pool de facteurs de virulence, dont l'assortiment varie en fonction de l'espèce cible. La persistance des combinaisons de gènes de virulence ainsi formées chez les espèces cibles est fonction de l'avantage sélectif conféré par cet assortiment. Le danger représenté par ces souches potentiellement pathogènes pour l'homme n'est pas lié à un passage direct de l'animal vers l'homme. Cependant, il est lié au risque de brassage génétique -chez l'homme- entre des souches commensales du tube digestif de l'homme, et des souches animales porteuses de facteurs de virulence. De ce brassage pourrait naître des souches avec un arsenal de gènes de virulence nouveau, permettant l'expression d'une pathogénicité chez l'homme.

Quant aux EAggEC*, à ce jour aucun cas de contamination directe de l'homme par l'animal n'a été rapporté, et aucun EAggEC* n'a été isolé chez l'animal. Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer à quelle catégorie de pathovars* elles appartiennent, et ainsi pouvoir qualifier le danger qu'elles représentent en terme de santé publique.

Ainsi le portage animal de souches pathogènes pour l'homme doit être approfondi pour les souches EIEC* et EAggEC*. De même, il est nécessaire de mieux comprendre les mécanismes de pathogénicité de chaque pathovar*, en particulier pour les souches ExPEC*, afin de mieux appréhender et surveiller l'émergence de souches d'*E. coli* pathogènes pour l'homme à partir du réservoir animal.

Références Bibliographiques :

- [1] **AFSSA** Bilan des connaissances relatives aux *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC*^{*}).
Maisons-Alfort : Afssa, avril 2003. 220p.
- [2] **AKTAN I, SPRIGINGS KA, LA RAGIONE RM, et al.** Characterisation of attaching-effacing *E. coli* isolated from animals at slaughter in England and Wales.
Vet Microbiol. 2004 Aug 19;**102**(1-2):43-53.
- [3] **ANDERSON GG, DODSON KW, HOOTON TM, et al.** Intracellular bacterial communities of uropathogenic *E. coli* in urinary tract pathogenesis.
Trends Microbiol. 2004 Sep;**12**(9):424-30.
- [4] **ANDRAL B., DECOMBLE C., DUCOTTERD B., et al.** Contamination des filières bovines par *E. coli* O157:H7: résultats d'une pré-étude en abattoir.
Le point Vétérinaire 1999;**30**:565-567.
- [5] **AN H, FAIRBROTHER JM, DESAUTELS C, et al.** Presence of the LEE (locus of enterocyte effacement) in pig attaching and effacing *E. coli* and characterization of eae, espA, espB and espD genes of PEPEC* (pig EPEC*) strain 1390.
Microb Pathog. 2000 May;**28**(5):291-300.
- [6] **BEUTIN L., GEIER D., STEINRUCK H., et al.** Prevalence and some properties of Verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *E. coli* in seven different species of healthy domestic animals.
J Clin Microbiol 1993;**31**:2483-2488.
- [7] **BEUTIN L., GEIER D., ZIMMERMANN S., et al.** Epidemiological relatedness and clonal types of natural populations of *E. coli* strains producing Shiga toxins in separate populations of cattle and sheep.
Appl Environ Microbiol 1997;**63**:2175-2180.
- [8] **BLANCO JE, BLANCO M, BLANCO J.** Enterotoxigenic, verotoxigenic, and necrotoxigenic *E. coli* in food and clinical samples. Role of animals as reservoirs of strains pathogenic for humans.
Microbiologia. 1995 Mar;**11**(1):97-110.
- [9] **BLANCO M, SCHUMACHER S, TASARA T, et al.** Serotypes, intimin variants and other virulence factors of eae positive *E. coli* strains isolated from healthy cattle in Switzerland. Identification of a new intimin variant gene (eae-eta2).[En ligne]
BMC Microbiol. 2005 May 9;**5**(1):23. Adresse URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/5/23> [page consultée le 28/05/06]
- [10] **BONACORSI S, BINGEN E.** Molecular epidemiology of *E. coli* causing neonatal meningitis.
Int J Med Microbiol. 2005 Oct;**295**(6-7):373-81. Revue.
- [11] **BONARDI S, MAGGI E, PIZZIN G, et al.** Faecal carriage of Verocytotoxin-producing *E. coli* O157 and carcass contamination in cattle at slaughter in northern Italy.
Int J Food Microbiol. 2001 May 21;**66**(1-2):47-53.
- [12] **BOUVET J., MONTET M.P., ROSSEL R., et al.** Effects of slaughter processes on pig carcass contamination by verotoxin-producing *E. coli* and *E. coli* O157:H7.
Int J Food Microbiol. 2002;**77**:99-108.
- [13] **BURK C, DIETRICH R, ACAR G, et al.** Identification and characterization of a new variant of Shiga toxin 1 in *E. coli* O157:H19 of bovine origin.
J Clin Microbiol. 2003 May;**41**(5):2106-12.
- [14] **CAPRIOLI A., NIGRELLI A., GATTI R., et al.** Characterisation of verocytotoxin-producing *E. coli* isolated from pigs and cattle in northern Italy.
Vet Rec 1993;**133**:323-324.
- [15] **CASSAR CA, OTTAWAY M, PAIBA GA, et al.** Absence of enteroaggregative *E. coli*

in farmed animals in Great Britain.

Vet Rec. 2004 Feb 21;**154**(8):237-9

[16] **CERNA JF, NATARO JP, ESTRADA-GARCIA T.** Multiplex PCR* for dETEC*^{tion} of three plasmid-borne genes of enteroaggregative *E. coli* strains.

J Clin Microbiol. 2003 May;**41**(5):2138-40.

[17] **CERQUEIRA A.M., GUTH B.E., JOAQUIM R.M., et al.** High occurrence of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) in healthy cattle in Rio de Janeiro State, Brazil.

Vet Microbiol 1999;**70**:111-121.

[18] **CHAPMAN P.A., SIDDON C.A., GERDAN MALO A.T., et al.** A 1-year study of *E. coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry.

Epidemiol Infect 1997;**119**:245-250.

[19] **CHINA B, PIRSON V, MAINIL J.** Prevalence and molecular typing of attaching and effacing *E. coli* among calf populations in Belgium.

Vet Microbiol. 1998 Oct;**63**(2-4):249-59.

[20] **CID D, RUIZ-SANTA-QUITERIA JA, MARIN I, et al.** Association between intimin (eae) and EspB gene subtypes in attaching and effacing *E. coli* strains isolated from diarrhoeic lambs and goat kids.

Microbiology. 2001 Aug;**147**(Pt 8):2341-53.

[21] **CLARKE SC, HAIGH RD, FREESTONE PP, et al.** Virulence of enteropathogenic *E. coli*, a global pathogen.

Clin Microbiol Rev. 2003 Jul;**16**(3):365-78

[22] **COBOLD R, DESMARCHELIER P.** A longitudinal study of Shiga-toxigenic *E. coli* (STEC*) prevalence in three Australian dairy herds.

Vet Microbiol. 2000 Jan;**71**(1-2):125-37.

[23] **COBOLD R., DESMARCHELIER P.** Characterisation and clonal relationships of Shigatoxigenic *E. coli* (STEC*) isolated from Australian dairy cattle.

Vet Microbiol 2001;**79**:323-335.

[24] **COBELJIC M, DIMIC B, OPACIC D, et al.** The prevalence of Shiga toxin-producing *E. coli* in domestic animals and food in Serbia.

Epidemiol Infect. 2005 Apr;**133**(2):359-66

[25] **CORNICK NA, HELGERSON AF.** Transmission and infectious dose of *E. coli* O157:H7 in swine.

Appl Environ Microbiol. 2004 Sep;**70**(9):5331-5.

[26] **DADIE A, KAROU T, ADOM N, et al.** [Isolation of enteric pathogenic agents in Cote d'Ivoire: *E. coli* O157:H7 and enteroaggregative *E. coli*]

Bull Soc Pathol Exot. 2000 Apr;**93**(2):95-6. Français.

[27] **DAS SC, KHAN A, PANJA P, et al.** Dairy farm investigation on Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) in Kolkata, India with emphasis on molecular characterization.

Epidemiol Infect. 2005 Aug;**133**(4):617-26.

[28] **DEBROY C, MADDOX CW.** Identification of virulence attributes of gastrointestinal *E. coli* isolates of veterinary significance.

Anim Health Res Rev. 2001 Dec;**2**(2):129-40. Revue.

[29] **DE LA FUENTE R., GARCIA S, ORDEN JA, et al.** Prevalence and characteristics of attaching and effacing strains of *Escherichia coli* isolated from diarrheic and healthy sheep and goats.

Am J Vet Res. 2002 Feb;**63**(2):262-6.

[30] **DEZFULIAN H, BATISSON I, FAIRBROTHER JM, et al.** Presence and characterization of extraintestinal pathogenic *E. coli* virulence genes in F165-positive *E. coli* strains isolated from diseased calves and pigs.

J Clin Microbiol. 2003 Apr;**41**(4):1375-85.

- [31] **DJORDJEVIC S.P., HORNITZKY M.A., BAILEY G., et al.** Virulence properties and serotypes of Shiga toxin-producing *E. coli* from healthy Australian slaughter-age sheep. *J Clin Microbiol.* 2001;**39**:2017-2021.
- [32] **DOBRINDT U.** (Patho)-Genomics of *E. coli*. *Int J Med Microbio* 2005;**295**(6-7): 357-371.Revue.
- [33] **DOYLE J. EVANS JR.** Dolores G. Evans, section 1: bacteriology, 25: *E. coli* in Diarrheal diseases; Noninflammatory Diarrhea caused by ETEC*. In: *Medical Bacteriology, 4th ed.* BARON, Samuel, editor. Galveston (TX): University of texas, Medical Branch; 1996. disponible sur le Web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mmed.section.1418> [page visitée le 26/05/06].
- [34] **DUNN JR, KEEN JE, THOMPSON RA.** Prevalence of Shiga-toxigenic *E. coli* O157:H7 in adult dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 2004 Apr 1;**224**(7):1151-8.
- [35] **EDRINGTON TS, HUME ME, LOOPER ML, et al.** Variation in the faecal shedding of Salmonella and *E. coli* O157:H7 in lactating dairy cattle and examination of Salmonella genotypes using pulsed-field gel electrophoresis. *Lett Appl Microbiol.* 2004;**38**(5):366-72.
- [36] **ESLAVA C, NAVARRO-GARCIA F, CZECZULIN JR, et al.** Pet, an autotransporter enterotoxin from enteroaggregative *E. coli*. *Infect Immun.* 1998 Jul;**66**(7):3155-63.
- [37] **EZAWA A, GOCHO F, KAWATA K, et al.** High prevalence of enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC*) O157 from cattle in selected regions of Japan. *J Vet Med Sci.* 2004 May;**66**(5):585-7.
- [38] **EZAWA A, GOCHO F, SAITOH M, et al.** A three-year study of enterohemorrhagic *E. coli* O157 on a farm in Japan. *J Vet Med Sci.* 2004 Jul;**66**(7):779-84.
- [39] **FACULTAD DE VETERINARIA,** Universidad de Santiago de Compostela, Lugo (Espagne). Laboratorio de Referencia de *E.coli* (LREC), Departamento de Microbiología y Parasitología. Kits for E. Coli serotyping (E. coli antisera): Determination of O antigen. [En ligne]. Adresse URL: <http://www.lugo.usc.es/ecoli/kitsi.htm> [page visitée le 26/07/06].
- [40] **FAGAN PK, HORNITZKY MA, BETTELHEIM KA, et al.** DETEC*tion of shiga-like toxin (stx1 and stx2), intimin (eaeA), and enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC*) hemolysin (EHEC* hlyA) genes in animal feces by multiplex PCR*. *Appl Environ Microbiol.* 1999 Feb;**65**(2):868-72.
- [41] **FEGAN N., DESMARCHELIER P.** Shiga toxin-producing *E. coli* in sheep and preslaughter lambs in eastern Australia. *Lett Appl Microbiol* 1999;**28**:335-339.
- [42] **FRATAMICO PM, BAGI LK, BUSH EJ, et al.** Prevalence and characterization of shiga toxin-producing *E. coli* in swine feces recovered in the National Animal Health Monitoring System's Swine 2000 study. *Appl Environ Microbiol.* 2004 Dec;**70**(12):7173-8.
- [43] **FUKUSHIMA H, SEKI R.** High numbers of Shiga toxin-producing *E. coli* found in bovine faeces collected at slaughter in Japan. *FEMS Microbiol Lett.* 2004 Sep 1;**238**(1):189-97.
- [44] **GAASTRA W AND DE GRAAF F K** Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *E. coli* strains. *Microbiol Rev.* 1982 June;**46**(2):129-161.
- [45] **GANNON VP, GRAHAM TA, KING R, et al.** *E. coli* O157:H7 infection in cows and calves in a beef cattle herd in Alberta, Canada. *Epidemiol Infect.* 2002 Aug;**129**(1):163-72.

- [46] **GARBER L.P., WELLS S.J., HANCOCK D.D. et al.** Risk factor for *E. coli* O157:H7 in dairy calves.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 1995;**207**:46-49.
- [47] **GEUE L., SEGURA-ALVAREZ M., CONRATHS F.J., et al.** A long-term study on the prevalence of shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) on four German cattle farms.
Epidemiol Infect 2002;**129**:173-185.
- [48] **GILBERT RA, TOMKINS N, PADMANABHA J, et al.** Effect of finishing diets on *E. coli* populations and prevalence of enterohaemorrhagic *E. coli* virulence genes in cattle faeces.
J Appl Microbiol. 2005;**99**(4):885-94
- [49] **GIRARDEAU JP, LALIOUI L, SAID AM, et al.** Extended virulence genotype of pathogenic *E. coli* isolates carrying the afa-8 operon: evidence of similarities between isolates from humans and animals with extraintestinal infections.
J Clin Microbiol. 2003 Jan;**41**(1):218-26.
- [50] **GUIRAUD J. P.** Génétique microbienne, Bases théoriques et introduction aux applications pratiques. Paris : Technique et documentation-Lavoisier, 1993 ;chap 2 et 3, pages 83-151.
- [51] **GYLES C.L.** Infections causées par *E. coli*. Diarrhée post sevrage et septicémie dues à *E. coli*. : Étude des mécanismes de virulence et des stratégies de prévention. Présentation du groupe d'étude. [En ligne]. Adresse URL : <http://www.medvet.umontreal.ca/reseau/fra/themesFRA/ecoli.htm> [page consultée le 11/05/06].
- [52] **HANCOCK D.D., BESSER T.E., KINSEL M.L., et al.** The prevalence of *E. coli* O157:H7 in dairy and beef cattle in Washington State.
Epidemiol Infect 1994;**113**:199-207.
- [53] **HANCOCK D. D., RICE D. H., THOMAS L. A., et al.** Epidemiology of *E. coli* O157 in feedlot cattle.
J. Food Prot. 1997;**61**:462-465.
- [54] **HANCOCK D.D., BESSER T.E., RICE D.H., et al.** A longitudinal study of *E. coli* O157 in fourteen cattle herds.
Epidemiol Infect 1997;**118**:193-195.
- [55] **HANCOCK D.D., BESSER T.E., RICE D.H., et al.** Multiple sources of *E. coli* O157 in feedlots and dairy farms in the northwestern USA.
Prev Vet Med 1998;**35**:11-19.
- [56] **HEUVELINK A.E., ZWARTKRUIS-NAHUIS J.T., VAN DEN BIGGELAAR F.L., et al.** Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *E. coli* O157 from slaughter pigs and poultry.
Int J Food Microbiol 1999;**52**:67-75.
- [57] **HOLLAND RE, WILSON RA, HOLLAND MS, et al.** Characterization of eae+ *E. coli* isolated from healthy and diarrheic calves.
Vet Microbiol. 1999 May;**66**(4):251-63.
- [58] **HUSSEIN HS, THRAN BH, HALL MR, et al.** Verotoxin-producing *E. coli* in culled beef cows grazing rangeland forages.
Exp Biol Med (Maywood). 2003 Apr;**228**(4):352-7.
- [59] **HUSSEIN HS, BOLLINGER LM.** Prevalence of Shiga toxin-producing *E. coli* in beef cattle.
J Food Prot. 2005 Oct;**68**(10):2224-41
- [60] **HUSSEIN HS, SAKUMA T.** Prevalence of shiga toxin-producing *E. coli* in dairy cattle and their products.
J Dairy Sci. 2005 Feb;**88**(2):450-65. Revue.
- [61] **INSTITUT PASTEUR, CNR des E. coli et des Shigella.** Les *E. coli* pathogènes [en ligne]. Adresse URL : <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadre/cnr/ecolishig/fram-ecolishig->

pathogenes.html [page consultée le 14/09/2005].

[62] **JOHNSEN G, WASTESON Y, HEIR E, et al.** *E. coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999.

Int J Food Microbiol. 2001 May 10;**65**(3):193-200.

[63] **JOHNSON JR, STELL AL, DELAVARI P.** Canine feces as a reservoir of extraintestinal pathogenic *E. coli*.

Infect Immun. 2001 Mar;**69**(3):1306-14.

[64] **JOHNSON JR, RUSSO TA.** Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *E. coli*.

Int J Med Microbiol. 2005 Oct;**295**(6-7):383-404. Revue.

[65] **KADDU-MULINDW D.H., AISU T., GLEIER K., et al.** Occurrence of Shiga toxin-producing *E. coli* in fecal samples from children with diarrhea and from healthy zebu cattle in Uganda.

Int J Food Microbiol 2001;**66**:95-101.

[66] **KARCH H, MEYER T, RUSSMANN H, et al.** Frequent loss of Shiga-like toxin genes in clinical isolates of *E. coli* upon subcultivation.

Infect Immun. 1992 Aug;**60**(8):3464-7.

[67] **KARCH H, TARR PI, BIELASZEWSKA M.** Enterohaemorrhagic *E. coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol.* 2005 Oct;**295**(6-7):405-18. Revue.

[68] **KELLER R, ORDONEZ JG, DE OLIVEIRA RR, et al.** Afa, a diffuse adherence fibrillar adhesin associated with enteropathogenic *E. coli*.

Infect Immun. 2002 May;**70**(5):2681-9.

[69] **KIJIMA-TANAKA M, ISHIHARA K, KOJIMA A, et al.** A national surveillance of Shiga toxin-producing *E. coli* in food-producing animals in Japan.

J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2005 Jun;**52**(5):230-7.

[70] **KOBAYASHI H, SHIMADA J, NAKAZAWA M, et al.** Prevalence and characteristics of shiga toxin-producing *E. coli* from healthy cattle in Japan.

Appl Environ Microbiol. 2001;**67**:484-489.

[71] **KOBAYASHI H, POHJANVIRTA T, PELKONEN S.**

Prevalence and characteristics of intimin- and Shiga toxin-producing *E. coli* from gulls, pigeons and broilers in Finland.

J Vet Med Sci. 2002 Nov;**64**(11):1071-3.

[72] **KRAUSE G, ZIMMERMANN S, BEUTIN L.** Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin- (eae) gene positive *E. coli* types.

Vet Microbiol. 2005 Mar 20;**106**(1-2):87-95.

[73] **KUDVA I.T., HATFIELD P.G., HOVDE C.J.** Characterisation of *E. coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* serotypes isolated from sheep.

J Clin Microbiol. 1997;**35**:892-899.

[74] **KUDVA I.T., BLANCH K., HOVDE C.J.** Analysis of *E. coli* O157: H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry.

Applied and Environmental Microbiology 1998;**64**:3166-3174.

[75] **KUHNERT P, DUBOSSON CR, ROESCH M, et al.** Prevalence and risk-factor analysis of Shiga toxigenic *E. coli* in faecal samples of organically and conventionally farmed dairy cattle.

Vet Microbiol. 2005 Aug 10;**109**(1-2):37-45.

[76] **LAN R, ALLES MC, DONOHOE K, et al.** Molecular evolutionary relationships of enteroinvasive *E. coli* and Shigella spp.

Infect Immun. 2004 Sep;**72**(9):5080-8.

[77] **LAW D, CHART H.** Enteroaggregative *E. coli*, a review.

J Appl Microbiol. 1998;**84**:685-697. Revue

- [78] **LA RAGIONE RM, BEST A, SPRIGINGS K, et al.** Variable and strain dependent colonisation of chickens by *E. coli* O157.
Vet Microbiol. 2005 Apr 25;**107**(1-2):103-13.
- [79] **LEJEUNE JT, BESSER TE, RICE DH, et al.** Longitudinal study of fecal shedding of *E. coli* O157:H7 in feedlot cattle: predominance and persistence of specific clonal types despite massive cattle population turnover.
Appl Environ Microbiol. 2004 Jan;**70**(1):377-84.
- [80] **LEOMIL L, AIDAR-UGRINOVICH L, GUTH BE, et al.** Frequency of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) isolates among diarrheic and non-diarrheic calves in Brazil.
Vet Microbiol. 2003 Dec 2;**97**(1-2):103-9.
- [81] **LEOMIL L, PESTANA DE CASTRO AF, KRAUSE G, et al.** Characterization of two major groups of diarrheagenic *E. coli* O26 strains which are globally spread in human patients and domestic animals of different species.
FEMS Microbiol Lett. 2005 Aug 15;**249**(2):335-42.
- [82] **LIEBANA E, SMITH RP, BATCHELOR M, et al.** Persistence of *E. coli* O157 isolates on bovine farms in England and Wales.
J Clin Microbiol. 2005 Feb;**43**(2):898-902.
- [83] **LOUKIADIS E, KEROUREDAN M, BEUTIN L, et al.** Characterization of Shiga Toxin Gene (stx)-Positive and Intimin Gene (eae)-Positive *E. coli* Isolates from Wastewater of Slaughterhouses in France.
Appl Environ Microbiol. 2006 May;**72**(5):3245-51.
- [84] **MAINIL JG, JACQUEMIN ER, KAECKENBEECK AE, et al.** Association between the effacing (eae) gene and the Shiga-like toxin-encoding genes in *E. coli* isolates from cattle.
Am J Vet Res. 1993 Jul;**54**(7):1064-8.
- [85] **MAINIL J.** Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E. coli* (I). Les adhésines et facteurs de colonisation.
Ann. Med. Vet. 2003;**147**(2):105-126. Revue.
- [86] **MAINIL J.** Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E. coli* (II). Franchissement des muqueuses et propriétés invasives.
Ann. Med. Vet. 2003;**147**(3):159-171. Revue.
- [87] **MAINIL J., VAN BOST S.** Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E. coli* (IV). Souches nécrotoxigènes.
Ann. Med. Vet. 2004;**148**(3):121-132. Revue.
- [88] **MAINIL J.** Régulation de l'expression des gènes de virulence par «quorum-sensing» : science ou science-fiction ?
Ann. Med. Vet. 2005;**149**(C):33-40. Revue.
- [89] **MAYNARD C, BEKAL S, SANSCHAGRIN F, et al.** Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extraintestinal *E. coli* isolates of animal and human origin.
J Clin Microbiol. 2004 Dec;**42**(12):5444-52.
- [90] **MEICHTRI L, MILIWEBSKY E, GIOFFRE A, et al.** Shiga toxin-producing *E. coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties.
Int J Food Microbiol. 2004 Nov 1;**96**(2):189-98.
- [91] **MÉNARD, DUBREUIL.** Enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1): a new toxin with an old twist.
Crit. Rev. Microbiol. 2002;**28**:43-60
- [92] **MERAZ IM, ARIKAWA K, OGASAWARA J, et al.** Epithelial Cells Secrete Interleukin-8 in Response to Adhesion and Invasion of Diffusely Adhering *E. coli* Lacking Afa/Dr Genes.
Microbiol Immunol. 2006;**50**(3):159-69.
- [93] **MERCADO EC, GIOFFRE A, RODRIGUEZ SM, et al.** Non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* isolated from diarrhoeic calves in Argentina.

- J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2004 Mar;**51**(2):82-8.
- [94] **MICROBIONET**. The VTEC* Table: SEROTYPES of VTEC* [En ligne]. Adresse URL : http://www.microbionet.com.au/VTEC*1u.htm. [page consultée le 28/05/06].
- [95] **MOKADY D, GOPHNA U, RON EZ**. Extensive gene diversity in septicemic *E. coli* strains.
J Clin Microbiol. 2005 Jan;**43**(1):66-73.
- [96] **MOKADY D, GOPHNA U, RON EZ**. Virulence factors of septicemic *E. coli* strains.
Int J Med Microbiol. 2005 Oct;**295**(6-7):455-62. Revue.
- [97] **MOLBAK K., SCHEUTZ F**. Verocytotoxin-producing *E. coli* and other diarrhoeagenic *E. coli* In: World Health Organisation. Waterborne Zoonoses. **J.A. COTRUVO, A. DUFOUR, G. REES, et al**. Londre: IWA Publishing. Pages 213-237. Egalement disponible en ligne: http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/zoonoses.pdf : 231-245. [page visitée le 28/05/06].
- [98] **MOON JY, PARK JH, KIM YB**. Molecular epidemiological characteristics of virulence factors on enteroaggregative *E. coli*.
FEMS Microbiol Lett. 2005 Dec 15;**253**(2):215-20. Epub 2005 Oct 11.
- [99] **MOREIRA CN, PEREIRA MA, BROD CS, et al**. Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) isolated from healthy dairy cattle in southern Brazil.
Vet Microbiol. 2003 May 29;**93**(3):179-83
- [100] **MUNIESA M, JOFRE J**. Abundance in sewage of bacteriophages infecting *E. coli* O157:H7.
Methods Mol Biol. 2004;**268**:79-88.
- [101] **MYERS LL, GUINEE PA**. Occurrence and characteristics of enterotoxigenic *E. coli* isolated from calves with diarrhea.
Infect Immun. 1976 Apr;**13**(4):1117-9.
- [102] **NAGY B, FEKETE PZ**. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC*) in farm animals.
Vet Res. 1999 Mar-Jun;**30**(2-3):259-84. Revue.
- [103] **NAGY B, FEKETE PZ**. Enterotoxigenic *E. coli* in veterinary medicine.
Int J Med Microbiol. 2005 Oct;**295**(6-7):443-54. Revue.
- [104] **NATARO JP, DENG Y, MANEVAL DR, et al**. Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *E. coli* mediate adherence to HEp-2 cells and hemagglutination of human erythrocytes.
Infect Immun. 1992 Jun;**60**(6):2297-304.
- [105] **NATARO JP, YIKANG D, GIRON JA, et al**. Aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *E. coli* requires two unlinked plasmid regions.
Infect Immun. 1993 Mar;**61**(3):1126-31.
- [106] **NATARO JP, YIKANG D, YINGKANG D, et al**. AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *E. coli*.
J Bacteriol. 1994 Aug;**176**(15):4691-9.
- [107] **NATARO JP, SERIWATANA J, FASANO A, et al**. Identification and cloning of a novel plasmid-encoded enterotoxin of enteroinvasive *E. coli* and Shigella strains.
Infect Immun. 1995 Dec;**63**(12):4721-8.
- [108] **NATARO JP, KAPER JB**. Diarrheagenic *E. coli*.
Clin Microbiol Rev. 1998 Jan;**11**(1):142-201. Revue. Erratum in: *Clin Microbiol Rev* 1998 Apr;**11**(2):403.
- [109] **NAYLOR SW, LOW JC, BESSER TE, et al**. Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 in the bovine host.
Infect Immun. 2003 Mar;**71**(3):1505-12.
- [110] **NAYLOR SW, GALLY DL, LOW JC**. Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine.
Int J Med Microbiol. 2005 Oct;**295**(6-7):419-41. Revue.

- [111] **NAKAZAWA, M., AKIBA, M.** Swine as a potential reservoir of shiga toxin-producing *E. coli* O157:H7 in Japan.
Emerg Infect Dis. 1999;**5**:833-834.
- [112] **NIELSEN EM, TEGTMEIER C, ANDERSEN HJ, et al.** Influence of age, sex and herd characteristics on the occurrence of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in Danish dairy farms.
Vet Microbiol. 2002 Sep 2;**88**(3):245-57.
- [113] **NIEWERTH U, FREY A, VOSS T, et al.** The AIDA autotransporter system is associated with F18 and stx2e in *E. coli* isolates from pigs diagnosed with edema disease and postweaning diarrhea.
Clin Diagn Lab Immunol. 2001 Jan;**8**(1):143-9.
- [114] **OGDEN LD, FENLON DR, VINTEN AJ, et al.** The fate of *E. coli* O157 in soil and its potential to contaminate drinking water.
Int J Food Microbiol. 2001 May 21;**66**(1-2):111-7.
- [115] **OGDEN ID, MACRAE M, STRACHAN NJ.** Concentration and prevalence of *E. coli* O157 in sheep faeces at pasture in Scotland.
J Appl Microbiol. 2005;**98**(3):646-51
- [116] **OHMURA-HOSHINO M, HO ST, KURAZONO H, et al.** Genetic and immunological analysis of a novel variant of Shiga toxin 1 from bovine *E. coli* strains and development of bead-ELISA to detect the variant toxin.
Microbiol Immunol. 2003;**47**(10):717-25.
- [117] **ORDEN JA, RUIZ-SANTA-QUITERIA JA, CID D, et al.** Verotoxin-producing *E. coli* (VTEC*) and eae-positive non-VTEC* in 1-30-days-old diarrhoeic dairy calves.
Vet Microbiol. 1998 Oct;**63**(2-4):239-48.
- [118] **ORDEN JA, CID D, RUIZ-SANTA-QUITERIA JA, et al.** Verotoxin-producing *E. coli* (VTEC*), enteropathogenic *E. coli* (EPEC*) and necrotoxicogenic *E. coli* (NTEC) isolated from healthy cattle in Spain.
J Appl Microbiol. 2002;**93**(1):29-35.
- [119] **OSWALD E, SCHMIDT H, MORABITO S, et al.** Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *E. coli*: characterization of a new intimin variant.
Infect Immun. 2000 Jan;**68**(1):64-71.
- [120] **PAIBA G. A., GIBBENS J. C, PASCOE S. J, et al.** Faecal carriage of verocytotoxin-producing *E. coli* O157 in cattle and sheep at slaughter in Great Britain.
Vet. Rec. 2002;**150**:593-598.
- [121] **PARMA A.E., SANZ M.E., VINAS M.R., et al.** Toxigenic *E. coli* isolated from pigs in Argentina.
Vet Microbiol 2000;**72**:269-276.
- [122] **PATON AW, BEUTIN L, PATON JC.** Heterogeneity of the amino-acid sequences of *E. coli* Shiga-like toxin type-I operons.
Gene. 1995 Feb 3;**153**(1):71-4.
- [123] **PEARCE MC, FENLON D, LOW JC, et al.** Distribution of *E. coli* O157 in bovine fecal pats and its impact on estimates of the prevalence of fecal shedding.
Appl Environ Microbiol. 2004 Oct;**70**(10):5737-43.
- [124] **POHL P, DAUBE G, LINTERMANS P, ET AL.** Description de 70 souches d'*E. coli* d'origine bovine possédant les gènes des vérotoxines.
Ann Méd Vét. 1991;**35**:265-272.
- [125] **PRADEL N., LIVRELLI V., DE CHAMPS C., et al.** Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *E. coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France.
J Clin Microbiol 2000;**38**:1023-1031.

- [126] **QADRI F, SVENNERHOLM AM, FARUQUE AS, et al.** Enterotoxigenic *E. coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention.
Clin Microbiol Rev. 2005 Jul;**18**(3):465-83. Revue.
- [127] **RAHN K, RENWICK SA, JOHNSON RP, et al.** Persistence of *E. coli* O157:H7 in dairy cattle and the dairy farm environment.
Epidemiol Infect. 1997 Oct;**119**(2):251-9.
- [128] **RAHN K, RENWICK SA, JOHNSON RP, et al.** Follow-up study of verocytotoxigenic *E. coli* infection in dairy farm families.
J Infect Dis. 1998 Apr;**177**(4):1139-40
- [129] **RANDALL L.P., WRAY C., MCLAREN I.M.** Studies on the development and use of a monoclonal sandwich ELISA for the detection of verotoxin-producing *E. coli* in animal faeces.
Vet Rec. 1997;**140**:112-115.
- [130] **RANGEL JM, SPARLING PH, CROWE C, et al.** Epidemiology of *E. coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002.
Emerg Infect Dis. 2005 Apr;**11**(4):603-9.
- [131] **RENTER DG, CHECKLEY SL, CAMPBELL J, et al.** Shiga toxin-producing *E. coli* in the feces of Alberta feedlot cattle.
Can J Vet Res. 2004 Apr;**68**(2):150-3.
- [132] **REY J., BLANCO J.E., BLANCO M., et al.** Serotypes, phage types and virulence genes of Shiga-producing *E. coli* isolated from sheep in Spain.
Veterinary Microbiology 2003;**94**,47-56.
- [133] **RICE DH, SHENG HQ, WYNIA SA, et al.** Rectoanal mucosal swab culture is more sensitive than fecal culture and distinguishes *E. coli* O157:H7-colonized cattle and those transiently shedding the same organism.
J Clin Microbiol. 2003 Nov;**41**(11):4924-9.
- [134] **ROGERIE F., MARECAT A., GAMBADE S., et al.** Characterization of Shiga toxin producing *E. coli* and O157 serotype *E. coli* isolated in France from healthy domestic cattle.
Int J Food Microbiol 2001;**63**:217-223.
- [135] **RUGBJERG H, NIELSEN EM, ANDERSEN JS.** Risk factors associated with faecal shedding of verocytotoxin-producing *E. coli* O157 in eight known-infected Danish dairy herds.
Prev Vet Med. 2003 May 15;**58**(3-4):101-13.
- [136] **SANDERSON M W, GAY J M, HANCOCK D D, et al.** Sensitivity of Bacteriologic Culture for detection of *E. coli* O157:H7 in Bovine Feces.
J Clin Microbiol. 1995 oct;**33**(10):2616-2619.
- [137] **SANDHU K S, CLARKE R C, MCFADDEN K, et al.** Prevalence of the *eaeA* gene in verotoxigenic *E. coli* strains from dairy cattle in southwest Ontario.
Epidemiol. Infect. 1996;**116**:1-7
- [138] **SCHWARTZ D,** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes, 4ème édition. Paris : Flammarion, Médecine-Sciences, 1993.
- [139] **SERIWATANA J, ECHEVERRIA P, TAYLOR DN, et al.** Type II heat-labile enterotoxin-producing *E. coli* isolated from animals and humans.
Infect Immun. 1988 May;**56**(5):1158-61.
- [140] **SERVIN A.** Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *E. coli*.
Clin Microbiol Rev. 2005 Apr;**18**(2):264-92. Revue.
- [141] **SHEIKH J, CZECZULIN JR, HARRINGTON S, et al.** A novel dispersin protein in enteroaggregative *E. coli*.
J Clin Invest. 2002 Nov;**110**(9):1329-37.
- [142] **SHERE J.A., BARTLETT K.J., KASPAR C.W.** Longitudinal study of *E. coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin.
Appl. Environ. Microbiol. 1998 ;**64** :1390-1399.

- [143] **SHINAGAWA K., KANEHIRA M., OMOE K., et al.** Frequency of Shiga toxin-producing *E. coli* in cattle at a breeding farm and at a slaughterhouse in Japan. *Vet Microbiol* 2000;**76**:305-309.
- [144] **SIDJABAT-TAMBUNAN H., BENSINK J.C.** Verotoxin-producing *E. coli* from the faeces of sheep, calves and pigs. *Austr Vet J* 1997;**4**:292-2.
- [145] **STEPHAN R, BOREL N, ZWEIFEL C, et al.** First isolation and further characterization of enteropathogenic *E. coli* (EPEC*) O157:H45 strains from cattle.[En ligne] *BMC Microbiol.* 2004 Mar 17;**4**:10. Adresse URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/4/10> [page consultée le 28/05/06]
- [146] **STEVENS MP, VAN DIEMEN PM, FRANKEL G, et al.** Efa1 influences colonization of the bovine intestine by shiga toxin-producing *E. coli* serotypes O5 and O111. *Infect Immun.* 2002 Sep;**70**(9):5158-66.
- [147] **SUZUKI M, KONDO F, ITO Y, et al.** Identification of a Shiga-toxin type I variant containing an IS1203 like element, from Shiga-toxin producing *E. coli* O157:H7. *FEMS Microbiol Lett.* 2004 May 1;**234**(1):63-7.
- [148] **TACKET CO, MOSELEY SL, KAY B, et al.** Challenge studies in volunteers using Escherichia coli strains with diffuse adherence to HEp-2 cells. *J Infect Dis.* 1990 Aug;**162**(2):550-2.
- [149] **THRAN B.H., HUSSEIN H.S., HALL M.R., et al.** Shiga toxin-producing *E. coli* in beef heifers grazing an irrigated pasture. *J Food Prot* 2001;**64**:1613-1616.
- [150] **TRABULSI L. R., KELLER R., AND TARDELLI GOMES T. A.** Typical and atypical Enteropathogenic *E. coli* *Emerging infectious diseases.* 2002 May;**8**(5):508-513.
- [151] **TSUJI T, JOYA JE, HONDA T, et al.** A heat-labile enterotoxin (LT) purified from chicken enterotoxigenic *E. coli* is identical to porcine LT. *FEMS Microbiol Lett.* 1990 Feb;**55**(3):329-32.
- [152] **UNIVERSITE DE MONTREAL.** Le laboratoire d'*E. coli*. Les *E. coli* pathogènes, Facteurs de virulence et sérogroupes. [En ligne]. Adresse URL : <http://www.ecl-lab.com/fr/ecoli/virulence.asp> [page consultée le 11/05/06]
- [153] **UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE, Paris.** Génétique ; Technique de séparation et d'analyse ; Technique électrophorétique ; Electrophorèse en champs pulsé. [En ligne]. Adresse URL : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/electrophorese/E2.html> [page consultée le 16/08/06].
- [154] **VAN BAALE MJ, SARGEANT JM, GNAD DP, et al.** Effect of forage or grain diets with or without monensin on ruminal persistence and fecal *E. coli* O157:H7 in cattle. *Appl Environ Microbiol.* 2004 Sep;**70**(9):5336-42.
- [155] **VAN BOST S.; MAINIL J.** Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E. coli*: (III). Production de toxines. *Ann. Med. Vet.* 2003;**147**(5):327-342. Revue.
- [156] **VEILLEUX S, DUBREUIL JD.** Presence of *E. coli* carrying the EAST1 toxin gene in farm animals. *Vet Res.* 2006 Jan-Feb;**37**(1):3-13. Revue.
- [157] **VERNOZY-ROZAND, C. V., MONTET M. P., LEQUERREC F., et al.** Prevalence of verotoxin *E. coli* (VTEC*) in slurry, farmyard manure and sewage sludge in France. *J. Appl. Microbiol.* 2002;**93**:473-478.
- [158] **VETTORATO MP, LEOMIL L, GUTH BE, et al.** Properties of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) isolates from sheep in the State of Sao Paulo, Brazil. *Vet Microbiol.* 2003 Aug 29;**95**(1-2):103-9.

- [159] **VIBOUD GI, JOUVE MJ, BINSZTEIN N, et al.** Prospective cohort study of enterotoxigenic *E. coli* infections in Argentinean children.
J Clin Microbiol. 1999 Sep;**37**(9):2829-33.
- [160] **VOLD L, KLUNGSETH JOHANSEN B, KRUSE H, et al.** Occurrence of shigatoxinogenic *E. coli* O157 in Norwegian cattle herds.
Epidemiol Infect. 1998 Feb;**120**(1):21-8.
- [161] **WALES AD, WOODWARD MJ, PEARSON GR.** Attaching-effacing bacteria in animals.
J Comp Pathol. 2005 Jan;**132**(1):1-26. Revue.
- [162] **WASTESON Y.** Zoonotic *E. coli*.
Acta Vet Scand Suppl. 2001;**95**:79-84. Revue
- [163] **WENNERAS C, ERLING V.** Prevalence of enterotoxigenic *E. coli*-associated diarrhoea and carrier state in the developing world.
J Health Popul Nutr. 2004 Dec;**22**(4):370-82.
- [164] **WELLS J G, SHIPMAN L D, GREENE K D, et al.** Isolation of *E. coli* Serotype O157:H7 and other Shiga-Like-Toxin-Producing *E. coli* from dairy cattle.
J Clin Microbiol. 1991 may;**29**(5):985-989.
- [165] **WIDIASIH DA, IDO N, OMOE K, SUGII S, et al.** Duration and magnitude of faecal shedding of Shiga toxin-producing *E. coli* from naturally infected cattle.
Epidemiol Infect. 2004 Jan;**132**(1):67-75.
- [166] **WIELER L.H., SCHWANITZ A., VIELER E., et al.** Virulence properties of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC*) strains of serogroup O118, a major group of STEC* pathogens in calves.
J Clin Microbiol 1998;**36**:1604-1607.
- [167] **WIELER L.H., VIELER E., ERPENSTEIN C., et al.** Shiga toxin-producing *E. coli* strains from bovines: association of adhesion with carriage of eae and other genes.
J Clin Microbiol. 1996;**34**:2980-2984.
- [168] **WILSON J.B., MCEWEN S.A., CLARKE R.C., et al.** Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *E. coli* isolated from Ontario dairy cattle.
Epidemiol Infect. 1992;**108**:423-439.
- [169] **ZHANG W., BIELASZEWSKA M., KUCZIUS T., et al.** Identification, characterization, and distribution of a Shiga toxin 1 gene variant (stx(1c)) in *E. coli* strains isolated from humans.
J Clin Microbiol 2002;**40**:1441-1446.
- [170] **ZHU C, HAREL J, JACQUES M, et al.** Virulence properties and attaching-effacing activity of *E. coli* O45 from swine postweaning diarrhea.
Infect Immun. 1994 Oct;**62**(10):4153-9.
- [171] **ZSCHOCK M., HAMANN H.P., KLOPPERT B., et al.** Shiga-toxin-producing *E. coli* in faeces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties.
Lett Appl Microbiol. 2000;**31**:203-208.

NOM : KERN-BENAIBOUT

Prénom : Estelle

TITRE : *E. coli* POTENTIELLEMENT PATHOGENES POUR L'HOMME :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE PORTAGE PAR LES ANIMAUX DOMESTIQUES ET LA
TRANSMISSION A L'HOMME PAR LA CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT.

RESUME : Dans l'espèce *E. coli* on retrouve des souches pathogènes, capables d'induire différents
signes cliniques : on parle de pathovars. Une définition des pathovars couramment décrits chez
l'homme ainsi que de leurs facteurs de virulence est présentée. Une synthèse est réalisée sur le
TRANSMISSION A L'HOMME PAR LA CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT.

RESUME : Dans l'espèce *E. coli* on retrouve des souches pathogènes, capables d'induire dif
signes cliniques : on parle de pathovars. Une définition des pathovars couramment décrit
l'homme ainsi que de leurs facteurs de virulence est présentée. Une synthèse est réalisée
portage de ces souches par les animaux domestiques, comparée avec la situation chez l'homme
prévalences rapportées de chacun des pathovars, sont analysées en tenant compte des différen
méthodes expérimentales employées, notamment pour les *E. coli* entérohémorragiques. Ce
aboutit à la classification en trois catégories des pathovars rencontrés : non pathogènes, faib
portage de ces souches par les animaux domestiques
prévalences rapportées de chacun des pathovars, so
méthodes expérimentales employées, notamment p
aboutit à la classification en trois catégories des pa
pathogènes ou pathogènes. La repercussion de
souches en terme de santé publique est également

ique - Pathogène - Gène - Flore intestinale -

MOTS-CLES : *E. coli* - Environnement - Génét
Prévalence - Réservoir animal.

E. coli FOR HUMAN:
THE BACTERIA AND THE TRANSMISSION TO
ATION.

ENGLISH TITLE: POTENTIALLY PATHOGENIC *E. coli*
A REVIEW ON DOMESTIC ANIMAL CARRYING
HUMAN THROUGH ENVIRONMENTAL CONTAMIN

pathogenic strains that can induce many clinical
usually described pathovars of *E. coli* and their

ABSTRACT: Among the *E. coli* species, there are
signs; known as pathovars. A definition of the
virulence factors are presented. A synthesis