

Université de Montréal

**Facteurs associés à la présence et à la diversité d'*Escherichia coli* O157 dans les parcs d'engraissement bovins du Kansas, États-Unis**

Par

Prosper Akla-Esso Pitcholo

Département de pathologie et microbiologie  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade  
Maîtrise es sciences (M.Sc.)  
en sciences vétérinaires  
option épidémiologie

Juillet, 2006

© Prosper Akla-Esso PITCHOLO, 2006



SF

607

US4

2007

V.003

**Direction des bibliothèques**

**AVIS**

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

**NOTICE**

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Facteurs associés à la présence et à la diversité d'*Escherichia coli*  
O157 dans les parcs d'engraissement bovins du Kansas, États-Unis

Présenté par  
Prosper Akla-Esso PITCHOLO

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Serge Messier, président-rapporteur  
Alex Thompson, directeur de recherche  
Michel Bigras-Poulin, codirecteur  
John Fairbrother, membre du jury

## Résumé

Une analyse de prélèvements de selles, d'eau de boisson et de sédiments a été conduite dans 30 parcs d'engraissement du Kansas dont les effectifs variaient de 7.500 à 230.000 têtes de bovins. Les buts poursuivis par cette étude étaient de déterminer le nombre d'échantillons positifs d'*Escherichia coli* O157, de relever les facteurs de risque associés à leur occurrence mais aussi au nombre de pulsetypes et de sous-pulsetypes d'*Escherichia coli* O157 et enfin de détecter les agrégats de souches dans les parcs. Au total 4499 prélèvements de selles, 900 d'eau et 600 de sédiments ont été collectés de mai à août 2001. Les résultats ont montré que 7,27% de tous les prélèvements étaient positifs à *E. coli* O157 (8,47% de selles, 3,11% d'eau et 4,5% de sédiment). L'origine extérieure (hors du Kansas) des animaux ( $p=0,005$ ) est positivement associée au nombre d'échantillons positifs à *E. coli* O157, de même que l'état humide du sol ( $p=0,03$ ) aux sous-pulsetypes. La surface disponible (le nombre de pieds carrés par animal) est positivement associée au nombre d'échantillons positifs ( $p=0,04$ ) alors que la race Brahmane ( $p<0,0001$ ) y est négativement associée. La race Brahmane est aussi négativement associée aux pulsetypes ( $p=0,0004$ ) et aux sous-pulsetypes ( $p<0,0001$ ) d'*E. coli* O157. Il n'y avait aucun agrégat détecté aussi bien pour les échantillons positifs que pour les pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les 30 parcs.

**Mots-clés :** *E. coli* O157, pulsetypes, sous-pulsetypes, parc d'engraissement, enclos, facteurs de risque, agrégat (cluster).

## **Abstract**

Analysis of samples of feces, drinking water and water containing sediment was conducted in 30 Kansas feedlots populated with 7,500 to 230,000 head of cattle, to determine the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, the risk factors linked to the prevalence of *E. Coli* O157, the diversity of pulsetypes and subpulsetypes of *E. coli* O157:H7 and clustering *E. Coli* O157 isolates by feedlot. A total of 4499 fecal samples, 900 water samples and 600 water tank-sediment samples were collected from may to august 2001. The results had shown that 7.27% of all samples were positive for *E. coli* O157 (8.47% fecal, 3.11% water and 4.5% sediment). The external origin (outside Kansas) of animals ( $p=0.005$ ) was positively associated with the *E. Coli* O157 prevalence, as was the state of wetness of the ground ( $p=0.03$ ) with the O157: subpulsetypes. The density (number of square feet per animal) was positively associated with the prevalence of *E. Coli* O157 ( $p=0.04$ ) whereas the Brahman breed was negatively associated with the prevalence of *E. Coli* O157 ( $p<0.0001$ ). The Brahman breed was also negatively associated with *E. Coli* O157 pulsetypes ( $p=0.0004$ ) and subpulsetypes ( $p<0.0001$ ). There was no evidence for clusters of prevalence of *E. Coli* O157 or of pulsetypes and subpulsetypes of *E. Coli* O157 among the 30 feedlots.

**Keywords:** *E. coli* O157, pulsetypes, subpulsetypes, feedlot, pen, prevalence, risk factors, cluster

## Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des tableaux en annexes.....	x
Liste des abréviations.....	xi
Dédicace.....	xii
Remerciements.....	xiii
Introduction.....	1
Chapitre premier : Recension de la littérature.....	4
1.1. Description et classification d' <i>E. coli</i> .....	4
1.1.1. ETEC ( <i>E. coli</i> entérotoxigènes).....	5
1.1.2. EPEC ( <i>E. coli</i> entérotoxigènes).....	6
1.1.3. STEC ( <i>E. coli</i> producteurs de shigatoxines).....	6
1.1.4. NTEC ( <i>E. coli</i> nécrotoxigènes).....	7
1.2. La maladie humaine due à <i>E. coli</i> O157:H7.....	7
1.3. Les sources d' <i>E. coli</i> O157:H7 responsables d'épidémies.....	10
1.3.1. La viande de bœuf.....	10
1.3.2. Les légumes.....	11
1.3.3. L'eau.....	11
1.3.4. Les jus de pomme et de cidre.....	12
1.3.5. Les autres échanges épidémiologiques.....	12
1.4. La surveillance d' <i>E. coli</i> O157:H7.....	13
1.4.1. Les outils de la surveillance.....	13
1.4.2. La prévalence d' <i>E. coli</i> O157:H7 chez l'homme.....	14

1.4.2.2. La prévalence aux États-Unis .....	15
1.4.2.3. La prévalence au Canada.....	15
1.4.2.4. La prévalence en Amérique du Sud.....	16
1.4.2.5. La prévalence en Europe.....	16
1.5. Les principales infections animales dues à <i>E. coli</i> .....	17
1.6. Les méthodes d'analyse .....	20
1.7. La prévalence de STEC chez les animaux .....	23
1.8. Les facteurs de risque .....	26
1.9. Les parcs d'engraissement et l'industrie bovine .....	27
Chapitre deuxième : Méthodologie.....	30
2.1. Protocole de sélection .....	30
2.1.1. Analyse complémentaire d'une base de données .....	30
2.1.2. Population et conditions de participation .....	30
2.2. Protocole d'échantillonnage.....	31
2.2.1. Unité épidémiologique .....	31
2.2.2. Sélection des parcs et des enclos .....	32
2.2.3. Sélection des animaux.....	32
2.2.4. Le mode de prélèvement des échantillons .....	33
2.2.5. Les échantillons prélevés sont-ils suffisants pour la détection d' <i>E. coli</i> O157?.....	33
2.2.5.1. Échantillons prélevés au niveau des parcs.....	33
2.2.5.2. Échantillons prélevés au niveau des enclos .....	34
2.3. Questionnaire .....	34
2.3.1. Les informations relatives à la gestion des fermes .....	35
2.3.1.1. Le nombre d'animaux .....	35
2.3.1.2. Le nombre d'enclos .....	35
2.3.1.3. Les données sur l'entretien des enclos.....	35
2.3.1.4. La date d'entrée en embouche .....	36



2.3.1.5. Les sources d'approvisionnement .....	36
2.3.2. Les informations relatives à la génétique et à l'alimentation .....	36
2.3.2.1. La race .....	36
2.3.2.2. L'aliment .....	37
2.3.2.3. Le poids .....	37
2.3.3. Les informations liées à la climatologie .....	37
2.4. Protocole microbiologique : les analyses de laboratoire .....	37
2.4.1. Analyse des prélèvements de selles.....	38
2.4.2. Analyse des prélèvements d'eau et de sédiments.....	39
2.5. Le protocole de typage .....	39
2.6. Le protocole statistique .....	39
2.6.1. L'analyse spatiale .....	40
2.6.2. Analyse des échantillons positifs .....	40
2.6.3. L'analyse des facteurs de risque .....	41
2.6.3.2. Les facteurs de risque .....	42
2.6.3.3. Le niveau de signification des tests en binomiale négative.....	44
Chapitre Troisième : Présentation des résultats.....	45
3.1. Description statistique des données .....	45
3.1.1. Les échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157 dans les parcs et les enclos .	45
3.1.2. Les pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 dans les parcs et les enclos.....	49
3.1.3. Les sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 dans les parcs et les enclos .....	53
3.1.4. Situation particulière des abreuvoirs .....	56
3.2.1. Les facteurs liés à la présence des échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157.....	59
3.2.2. Étude des facteurs liés à la diversité des pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 .....	60
3.2.3. Étude des facteurs liés à la diversité des sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O15761	
Chapitre quatrième : Discussion générale.....	64

4.1. Description statistique des échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157, des pulsetypes et des sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 .....	64
4.2. Les facteurs de risque .....	71
4.3. La détection des agrégats .....	75
4.4. Les limites et perspectives de l'étude.....	77
Conclusion .....	78
BIBLIOGRAPHIE.....	79
Annexes.....	xiv

## Liste des tableaux

Tableau I : Liste des variables indépendantes, leur nature et leur signification....	43
Tableau II : Distribution des prélèvements positifs pour <i>E. coli</i> O157.....	45
Tableau III : Distribution des enclos positifs pour <i>E. coli</i> O157 dans les parcs et les échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157 en rapport avec le nombre total d'échantillons prélevés dans chaque catégorie d'échantillons .....	46
Tableau IV : Les enclos et des échantillons positifs à <i>E. coli</i> O157 vs nombre échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157 par enclos.....	48
Tableau V : Distribution des pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 en fonction du nombre des pulsetypes par parc.....	51
Tableau VI : Nombre d'enclos en fonction du nombre de pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 par enclos.....	53
Tableau VII : Distribution des sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 en fonction du nombre de sous de sous-pulsetypes par parcs.....	55
Tableau VIII : Distribution des sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 par enclos.....	56
Tableau IX : Analyse des estimés des paramètres GEE des facteurs liés à la présence des échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157.....	60
Tableau X : Analyse des estimés des paramètres GEE des facteurs liés à la à la diversité des pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157.....	61
Tableau XI : Analyse des estimés des paramètres GEE des facteurs liés à la Diversité des sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157.....	62
Tableau XII : Enclos et échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157 reliés aux facteurs de risque.....	62

## Liste des figures

Figure 1 : Récapitulatif des symptômes dus à <i>E. coli</i> O157 :H7chez l'homme .....	9
Figure 2 : Les pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 en fonction de la nature du prélèvement dans les parcs.....	50
Figure 3 : Nombre d'échantillons positifs pour <i>E. coli</i> O157, de pulsetypes et de sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 par parc .....	52
Figure 4 : Les sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157en fonction de la nature du prélèvement dans les parcs.....	54

## Liste des tableaux en annexes

Annexe 1 : Statistiques des variables prédictives numériques.....	I
Annexe 2 : Estimation annuelle des coûts liés à certains pathogènes responsables d'intoxications alimentaires chez l'homme aux E-U.....	II
Annexe 3 : Effectif et rang des productions animales au Kansas.....	III
Annexe 4 : Temps de survie de divers pathogènes.....	IV
Annexe 5 : Liste des sérotypes de <i>E. coli</i> fréquemment rencontrés dans les infections diarrhéiques.....	V

## Liste des abréviations

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

STEC : Shigatoxigenic *E. coli*

VTEC : Verotoxigenic *E. coli*

EHEC : Enterohemorrhagic *E. coli*

EPEC : Enteropathogenic *E. coli*

ETEC : Enterotoxinogenic *E. coli*

EIEC : Enteroinvasive *E. coli*

NTEC : *E. coli* necrotoxinogenic *E. coli*

Lésion AE : Lésion de type d'attachement et d'effacement (Attaching-effacing)

CNF1 ou CNF2: Cytotoxic Necrotizing Factor1 ou 2

Toxine LT: Toxine thermo labile

Toxine ST: Toxine thermo stable

Stx: Shigatoxine

CDC: Centre of Disease Control and Prevention (Atlanta, GA)

PFGE: Pulse-Field Gel Electrophoresis

TSB: Tryptic Soy Broth

SMAC: Sorbitol MacConkey Agar

CT-SMAC: Cefixime - Tellurate SMAC

IMS: Immuno Magnetic Separation

PCR: Polymerase Chain Reaction

ADN: Acide Désoxyribonucléique

ZIP : Zone Improvement Plan

*À Mon Dieu : pour ta présence dans les moments délicats, toute mon adoration.*  
*À Marguerite: pour tous les sacrifices consentis pour notre foyer, tout mon amour.*  
*À Marie-Michel et à Richard : ce travail est le vôtre, pour que vous fassiez mieux.*

## Remerciements

### *Docteur Alex Thompson*

Pour m'avoir trouvé une base de données et accepté de m'encadrer tout au long de ce Travail. Mille fois merci!

### *Docteur Michel Bigras-Poulin*

Pour avoir accepté de codiriger ce travail. Merci pour votre aide précieuse!

### *Tous les professeurs de la faculté de Médecine Vétérinaire,*

Pour l'enseignement reçu : toute notre reconnaissance

### *Monsieur Guy Beauchamp,*

Pour votre apport précieux lors du traitement des données

### *Madame Jan Sargeant*

Pour avoir accepté que je travaille sur votre base de données

### *Docteurs Pascal Michel et Philippe Berthiaume*

Pour vos conseils dans le cadre de mon comité

### *Professeurs Serge Messier et John Fairbrother*

Pour avoir accepté d'évaluer ce travail

## Introduction

*Escherichia coli* O157:H7 est un agent zoonotique qui provoque chez l'homme des toxi-infections alimentaires se traduisant par des diarrhées graves, pouvant se compliquer dans 2 à 10 % des cas par des troubles rénaux appelés Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) (Spika et al. 1998, Griffin 1998, Armstrong et al. 1996, Cobbold et Desmarchelier 2001, Lopez et al. 1998). Les bovins, réservoirs primaires de la bactérie sont considérés comme la principale source des infections humaines (Synge 1999, Spika et al. 1998, Akiba et al. 2000, Bach et al. 2005, Berg et al. 2004, Berry et Miller 2005, Bono et al. 2004, Bopp et al. 2003B, Fegan et al. 2004, Miller et al. 2004, Lopez et al. 1998, Caprioli et Tozzi 1998, Khaisha et al. 2003, Sargeant et Smith 2003, Smith et al. 2001).

L'homme s'infecte en mangeant de la viande de bœuf préalablement contaminée par les fèces pendant les opérations d'abattage et insuffisamment cuite mais aussi des saucisses, des légumes comme le radis, en buvant le lait ou l'eau, en nageant ou même en visitant les fermes (Smith et al. 1998, Lopez et al. 1998, Griffin 1998, Michino et al. 1998). L'incidence humaine annuelle aux États-Unis varie de 2,6 à 5 cas pour 100.000 habitants (Lopez et al. 1998, Griffin 1998). Au Canada, elle est de 3 à 5,3 pour 100.000 habitants avec un pic de 16,0 pour 100.000 habitants en Alberta en 1989 (Spika et al. 1998). Le Québec et l'Ontario qui regroupent 60% de la population canadienne ont une incidence respectivement de 4,5 et 4,3 cas pour 100.000 habitants. La souche la plus largement impliquée en Amérique de Nord est *E. coli* O157:H7 (Spika et al. 1998, Griffin 1998, Smith et al. 1998, Lopez et al. 1998).

Depuis une décennie, les méthodes de détection d'*E. coli* O157:H7 ont été changées. Les nouvelles méthodes d'isolement utilisant des milieux de cultures plus sélectifs et des techniques performantes ont permis de détecter la bactérie à de très faibles concentrations, mais aussi à partir de spécimens de plus en plus



variés (Smith et al. 1998, Robins-Browne et al. 1998, Bono et al. 2004, Karch et al. 1996).

Pour mieux contrôler cet agent pathogène, de nombreuses études ont été entreprises pour évaluer la prévalence chez les bovins. Aux États-Unis et au Canada, plus de 50% des enclos et 90% des parcs d'engraissement sont positifs à *E. coli* O157 (Sargent et al. 2003, Sanderson et al. 2005, Elder et al. 2000, Van Donkersgoed et al. 2005, Renter et al. 2004, Gannon et al. 2002). Même si les prévalences dans les troupeaux sont relativement faibles, *E. coli* O157:H7 est largement distribué (Laegreid et al. 1999, Sargeant et al. 2000, Van Donkersgoed 2005, Dewell et al. 2005, Elder et al. 2000).

Au Kansas, l'industrie bovine occupe une part importante dans l'économie (NAHMS 2000, Kansas Agricultural Statistics). De nombreuses études ont permis de montrer que la prévalence au Kansas n'est pas différente de celle des autres États du midwest, grands producteurs de bovins de boucherie (Sargeant et al. 2000, Sargeant et al. 2003, Sanderson et al. 2005, Laegreid et al. 1999). En Australie, en Europe continentale et au Royaume-Uni, *E. coli* O157 est fréquemment isolé des selles des bovins adultes et des veaux (Robins-Browne et al. 1998, Caprioli et Tozzi 1998, Smith et al. 1998, Ogden et al. 2004, Johnsen et al. 2001, Eriksson et al. 2003, Bonardi et al. 1999, Dontorou et al. 2004).

Malgré sa distribution cosmopolite, la présence d'*E. coli* O157 dans les élevages bovins est associée à de nombreux facteurs identifiés. La chaleur et les fortes températures de la saison estivale, l'alimentation et la promiscuité entre animaux sont souvent mis en cause (Bach et al. 2005, Berg et al. 2004, Callaway et al. 2004A, Callaway et al. 2004B, Dewell et al. 2005, Elder et al. 2001, Sanderson et al. 2005, Sargeant et al. 2004B, Smith et al. 2001, Stanford et al. 2005B). Mais l'état physiologique des animaux (Gannon et al. 2002, Rugbjerg et al. 2003), les systèmes de production (Fegan et al. 2004), l'hygiène (Sanderson et al. 2005,

Sargeant et al. 2004A, Sargeant et al. 2004B), l'utilisation des facteurs de croissance et des antibiotiques (Lefebvre et al. 2005, Sargeant et al. 2004A) de même que la géographie (Dewell et al. 2005, Sargeant et al. 2004B) ont aussi une influence sur la présence de cette bactérie dans les fermes d'élevage. C'est dans le but de contribuer à une meilleure compréhension de cette problématique que cette étude se fixe pour objectif l'étude de la prévalence d'*E. coli* O157:H7, ainsi que l'étude des types et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 rencontrés, la détermination des facteurs de risque et enfin l'exploration des agrégats (clusters) dans les parcs d'engraissement bovins du Kansas.

## Chapitre premier : Recension de la littérature

### 1.1. Description et classification d'*E. coli*

Les genres *Escherichia*, *Shigella* et *Salmonella* sont classés dans la famille des *Enterobacteriaceae*. Les espèces appartenant à ces trois genres sont des bâtonnets à Gram négatifs qui poussent très bien sur la gélose MacConkey (Quinn et al. 1994). Ces organismes sont pour la plupart mobiles grâce à leurs flagelles péritriches c'est-à-dire implantés sur toute la périphérie de la cellule. Le genre *Escherichia* est composé de bactéries mobiles comme non mobiles et comporte cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, et *E. vulneris*. L'espèce type *E. coli* est caractérisée par une grande diversité antigénique (Gyles et Henton 2004, Bopp et al. 2003A, Mead et Griffin 1998).

*E. coli* est une très petite bactérie qui mesure 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long sur 0,7  $\mu\text{m}$  de diamètre. Isolée, groupée par deux ou plus rarement en amas, elle peut apparaître sous forme coccobacillaire ou filamenteuse dans les vieilles cultures. Sa culture est très facile avec une grande tolérance à la variation du pH. Le pH optimum est de 7,5. Elle pousse entre 15°C et 45°C avec une température optimale de 37°C. Elle résiste bien à la chaleur. Incubée à 45°C, elle fermente le glucose, le mannitol et le lactose avec production importante de gaz. Elle reste relativement sensible aux antibiotiques, réduit les nitrates en nitrites, fermente irrégulièrement le saccharose et la salicine. Elle dégrade le tryptophane en indole. La plupart des souches possèdent une lysine décarboxylase (Bopp et al. 2003A, Gyles et Henton 2004). *E. coli* est indole positif (signe distinctif des *Enterobacteriaceae*), mais uréase, citrate et hydrogène négatifs. *E. coli* ne peut utiliser le citrate contrairement au *Citrobacter*, fermente le lactose qui lui donne sa couleur rosée sur la gélose MacConkey.

Les colonies sont lisses ou rugueuses mais des formes intermédiaires peuvent aussi apparaître. Les colonies lisses ont un contour régulier, elles sont brillantes, convexes et facilement dispersibles dans une solution saline alors que les formes rugueuses sont irrégulières, sèches, mates et difficiles à disperser dans une solution saline. Ces dernières seraient le résultat d'une mutation qui leur aurait fait perdre une chaîne polysaccharidique de la paroi cellulaire (Gyles et Henton 2004).

Sur le plan international, un schéma de sérotypage a été mis en place et basé sur les antigènes de la paroi cellulaire (O : numérotés de 1 à 173), de la capsule (K : de 1 à 103), des flagelles (H : de 1 à 50) (Gyles et Henton, 2004). Tous les isolats qui ont un antigène O appartiennent au sérotype du même nom. Les pili ou fimbriae sont des facteurs de virulence qui sont aussi utilisés pour caractériser les bactéries. Elles portent alors la lettre F. Le sérotypage contribue à distinguer les souches pathogènes des souches non pathogènes. Quatre catégories ou pathotypes de *E. coli* sont responsables des maladies entériques chez les hommes et les animaux : *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* entérotoxigènes (EPEC), *E. coli* productrices de shigatoxines (STEC). On peut ajouter un 4<sup>e</sup> groupe suspecté dans les diarrhées du veau qui produit des facteurs de nécrose : *E. coli* nécrotoxigènes (NTEC). Ces pathotypes sont basés sur la présence des facteurs de virulence (Gyles et Henton 2004).

#### 1.1.1. ETEC (*E. coli* entérotoxigènes)

Elles produisent une ou plusieurs entérotoxines, colonisent l'intestin grêle et se fixent sur des récepteurs spécifiques par le biais de leur fimbriae et causent les diarrhées colibacillaires chez le veau et le porcelet (Bertschinger 1999, Fairbrother 1999). Les ETEC des bovins produisent une entérotoxine thermostable ST. Les

représentants ETEC du groupe O sont : O8, O9, O20, O64 et O101 (Gyles et Henton 2004).

### 1.1.2. EPEC (*E. coli* entéropathogènes)

Elles ne produisent pas de toxines mais induisent une lésion caractéristique d'attachement et d'effacement (attaching-effacing : AE) dans l'intestin grêle et le gros intestin, ce qui implique un attachement intime dû à une adhésine bactérienne, l'intimine. Les EPEC ont été retrouvées dans les diarrhées chez le veau, le porcelet, l'agneau et même chez l'homme (Bertschinger 1999, Fairbrother 1999, Gyles et Henton 2004)

### 1.1.3. STEC (*E. coli* producteurs de shigatoxines)

Elles produisent au moins une shigatoxine (Stx anciennement shiga-like toxine) encore appelée vérotoxine ou vératrine (toxique pour le rein du singe vert) d'où leur nom VTEC. Certains sous-groupes de STEC sont impliqués dans les maladies entériques et systémiques chez l'homme, dans la maladie de l'œdème des porcins, dans les dysenteries chez le veau et le chevreau. Le sous-groupe des STEC causant les maladies chez l'homme est encore appelé *E. coli* entérohémorragique (EHEC) pour sa capacité à provoquer des lésions hémorragiques dans le gros intestin. Les STEC sont plus importants en terme de pathologie pour l'homme que pour les bovins eux-mêmes desquels ils proviennent. En fait, la plupart de ces STEC colonisent et persistent dans l'intestin des bovins mais ne causent pas la maladie et ainsi constituent un réservoir d'infection pour les humains. Dans de nombreux pays et surtout en Amérique du Nord, *E. coli*

O157:H7 est le STEC le plus rencontré dans les maladies humaines (Sargeant et Smith 2003, Griffin 1998, Mead et Griffin 1998, Gannon et al. 2002, Renter et Sargeant et Smith 2003). D'autres STEC rencontrés sont aussi O26, O111, O126, O78. Cependant, la prévalence des infections dues aux STEC non-O157 est moins bien connue étant donné que leur détection n'est pas aussi facile que celle des STEC O157:H7.

#### 1.1.4. NTEC (*E. coli* nécrotoxigènes)

Elles produisent un ou deux facteurs cytotoxiques, CNF1 ou CNF2 responsables de la nécrose cellulaire. Elles sont associées à certaines diarrhées du veau, des septicémies et la colite létale chez le bovin adulte, surtout le sérotype O78 (Gyles et Henton 2004, Fairbrother 1999).

#### 1.2. La maladie humaine due à *E. coli* O157:H7

De nombreux facteurs interviennent dans le pouvoir pathogène de *E. coli* O157:H7 et la première étape reste la fixation de la bactérie sur les cellules hôtes. *E. coli* comme plusieurs bactéries pathogènes disposent pour cela des fimbriae. Leur pouvoir adhésif se localise à leur sommet ou le long de la structure (Gyles et Henton 2004). Ils se fixent sur des récepteurs et jouent un rôle majeur dans l'adhérence aux cellules des mammifères. Cette première adhésion souvent lâche sera renforcée par l'intimine, qui est une protéine de la membrane externe. Elle provoque l'attachement aux cellules épithéliales. Sa présence est un facteur important de virulence.

Les symptômes des maladies provoquées par EHEC sont notamment des crampes abdominales et des diarrhées susceptibles d'évoluer vers des diarrhées sanglantes (colite hémorragique). La fièvre et les vomissements peuvent également s'observer. La période d'incubation est de 3 à 8 jours, avec une médiane de 3 à 4 jours. Dans la plupart des cas, la guérison s'obtient dans les 10 jours, mais chez un petit nombre de patients (en particulier le jeune enfant et la personne âgée), l'infection peut conduire à une affection mortelle comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU). Celui-ci est caractérisé par une défaillance rénale aiguë, une anémie hémolytique et une thrombopénie. On estime que l'infection à EHEC peut évoluer en SHU chez 10% des patients atteints, avec un taux de létalité de 3 à 5%. Globalement, le SHU est la cause la plus fréquente d'insuffisance rénale aiguë du jeune enfant. Il peut être à l'origine de complications neurologiques (telles que convulsions, accidents cérébrovasculaires et coma) dans 25% des cas de SHU, et de séquelles rénales chroniques, bénignes en général, chez 50% des survivants ([www.who.int](http://www.who.int))

Figure1 : Récapitulatif des symptômes dus à *E. coli* O157:H7 chez l'homme  
(Source: <http://www.jsonline.com>, Juillet 2000)

### Maladie pouvant être fatale

#### 1 Maladie du système nerveux central

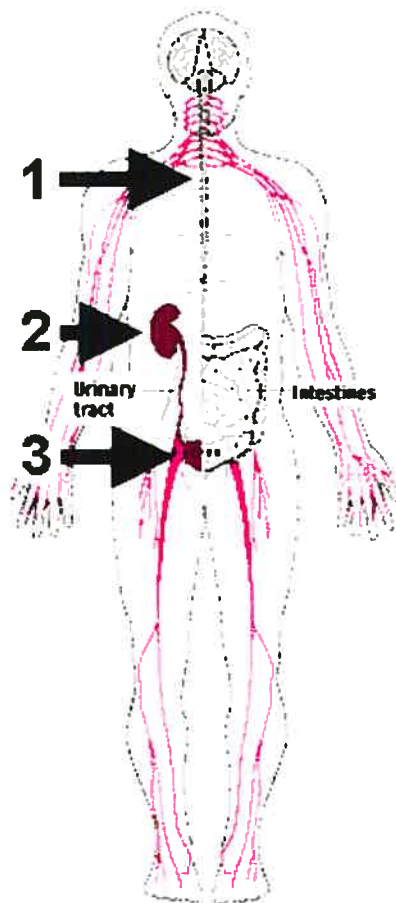
- Chez l'adulte, l'infection peut progresser au Système Nerveux Central, causer le coma
- Effets différés: caillots sanguins dans le cerveau;

#### 2 Syndrome Hémolytique et Urémique

- Souvent causé chez les enfants de moins de 5 ans et les personnes âgées
- Destruction des globules rouges
- Insuffisance rénale aiguë
- Traitement : transfusion sanguine
- Effets différés : Insuffisance rénale chronique, désordre intestinal, cécité, accident vasculaire

#### 3 Maladie non souvent fatale

- Diarrhées sanguinolentes - Bactérie colonise les intestins, produisant une puissante toxine, qui provoque dans les 10 jours de sévères crampes abdominales; diarrhée aqueuse, souvent sanguinolente; vomissement et nausée; inflammation
- Traitement: souvent se résorbe
- Effets différés: souvent aucun





### 1.3. Les sources d'*E. coli* O157:H7 responsables d'épidémies

Depuis sa première identification en 1982 dans une épidémie, *E. coli* O157:H7 est devenu l'un des agents pathogènes les plus impliqués dans les toxi-infections alimentaires chez l'humain. Ceci à cause de sa faible dose infectieuse généralement évaluée à moins de 100 bactéries (Meng et al. 1998, Tuttle et al. 1999, Besser et al. 2001). De nombreux aliments ont été identifiés comme véhicules d'*E. coli* O157:H7 dans les épidémies. On peut citer la viande hachée, le steak de bœuf, le charqui, le salami, le lait, le yaourt, la laitue, le cidre non pasteurisé, le cantaloup, le radis et les patates (Meng et al. 1998). En général, la bactérie contamine la viande lors des opérations d'abattage et les légumes sont elles contaminées par le lisier utilisé pour fertiliser les sols.

#### 1.3.1. La viande de bœuf

La restauration rapide par le bœuf haché «le hamburger» insuffisamment cuit est la principale source incriminée dans les intoxications. Entre 1982 et 1994, 22 épidémies ont été induites par la viande hachée soit plus de 50% des épidémies impliquant les aliments aux États-Unis (Meng et al. 1998). En 1989, une épidémie a fait 243 victimes dont 32 hospitalisations et 4 morts dans plusieurs États. En 1993, à Seattle une autre épidémie a fait 734 victimes dont 4 morts. En 1996 au Canada, 1039 cas d'*E. coli* O157:H7 ont été rapportés. Une enquête portant sur 4 chaînes de restauration rapide a révélé qu'une seule avait des méthodes de cuisson adéquates alors que dans les autres restaurants, les méthodes de cuisson n'étaient pas automatisées et l'on faisait cuire la viande d'un seul côté seulement (Spika et al. 1998). En Écosse une épidémie très meurtrière a fait 496 infectés avec 20 morts en 1996/1997 (Ahmed et Donaghy 1998). En Australie en 1995, la

saucisse fermentée a été impliquée dans une épidémie qui a fait 23 victimes avec 22 SHU et un mort (Robins-Browne et al. 1998, Paton et al. 1996).

### 1.3.2. Les légumes

Les légumes, en particulier la laitue et le radis, ont été identifiés dans plusieurs épidémies dues à *E. coli* O157:H7 en Amérique du Nord, en Europe et au Japon (Griffin 1998, Michino et al 1998, Smith et al. 1998, Tanaka et al. 2001). En 1996 la laitue a été incriminée dans une épidémie qui a touché 47 personnes dans l'Illinois et le Connecticut (Meng et Doyle 1998). Au Japon, deux grandes épidémies impliquant les radis ont fait en Juillet 1996, 5727 victimes et en mars 1997, 96 victimes avec 43 hospitalisations et un mort (Michino et al. 1998, Watanabe et al. 1999, Tanaka et al. 2001).

### 1.3.3. L'eau

Entre 1982 et 1996, 4 épidémies ont été signalées aux États-Unis impliquant l'eau de consommation et l'eau récréative contaminées (Meng et al. 1998). C'est surtout au Canada que l'une plus importantes épidémies impliquant l'eau de consommation est enregistrée. En effet, en mai 2000, l'épidémie de Walkerton en Ontario a eu des conséquences retentissantes sur la vision de la population par rapport à cette bactérie et à la manière de gérer les eaux distribuées par les municipalités. Sur les 5000 résidents de la municipalité, plus de 2300 personnes ont présenté des cas de gastroentérites, 28 SHU confirmés et 7 morts ont été enregistrés suite à la consommation de l'eau distribuée par le réseau de distribution de la municipalité (Ali 2004, [www.inspection.gc.ca](http://www.inspection.gc.ca)). L'eau contaminée

a été aussi impliquée dans les épidémies en Écosse, au Japon et en Afrique (Meng et al. 1998, Coia 1998B). Cette eau est souvent contaminée par les matières fécales de bovins.

#### 1.3.4. Les jus de pomme et de cidre

Le jus de pomme ou le cidre non pasteurisé a également été à la source d'une infection à *E. coli* O157:H7 après une contamination des pommes par la bouse de vache. En 1991, une épidémie a fait 23 victimes au Massachusetts et en 1996, la ville de Seattle dans l'État de Washington a déclaré une toxi-infection survenue dans les États de la côte ouest des États-Unis et du Canada (Meng et al. 1998) suite à la consommation d'une boisson commerciale à base de jus de pomme.

#### 1.3.5. Les autres échanges épidémiologiques

Les contaminations de personne à personne sont de plus en plus mises en cause. Même si la première contamination est d'origine animale, l'amplification de l'épidémie se fait souvent par les contacts entre personnes (Spika et al. 1998, Lopez et al. 1998, Caprioli et Tozzi 1998, Michino et al, 1998, Smith et al. 1998, Griffin 1998). Sur les 139 épidémies rapportées entre 1982 et 1996 aux États-Unis, 67% sont dues aux aliments et 22% à la contamination de personne à personne. Ce type de contamination est facile du fait de la faible dose infectieuse (Griffin 1998, Meng et al. 1998, Tuttle et al. 1999). Elle a été retrouvée dans les écoles, les familles et les institutions pour personnes âgées. L'eau récréative est responsable de 8% des contaminations et l'eau de boisson de 2% (Griffin 1998, Feldman et al. 2002). Des infections à *E. coli* O157:H7 ont aussi été signalées dans les campings,

les foires agricoles, au cours des visites de fermes, dans les mini zoos, les centres d'achat et même dans les laboratoires et les hôpitaux (Kassenborg et al. 2004, Coia 1998A, Crump et al. 2003, Feldman et al. 2002).

#### 1.4. La surveillance d'*E. coli* O157:H7

##### 1.4.1. Les outils de la surveillance

Les toxi-infections dues à *Escherichia coli* O157 sont responsables de plus de 73.000 cas de toxi-infections et d'une soixantaine de décès chaque année aux États-Unis, avec des pertes économiques de plus de 700 millions de dollars (Coia 1998B, [www.ers.usda.gov](http://www.ers.usda.gov)). De plus, l'utilisation des bulles magnétiques a grandement augmenté la sensibilité des techniques pour la détection des STEC O157:H7, et la mise en œuvre du typage moléculaire par Électrophorèse sur Gel à Champ Pulsé (PFGE), a grandement amélioré la surveillance et la détection des épidémies (Gupta et al. 2004, [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)). Les laboratoires de santé publique aux États-Unis font de façon routinière le subtypage de tous les isolats d'*E. coli* O157:H7 par PFGE. Tous les résultats sont recensés dans une base de données nationale appelée PulseNet (Réseau National de Typage Moléculaire). Au début, les laboratoires affiliés à PulseNet utilisaient une seule enzyme de digestion avant de comparer les patrons PFGE et déterminer s'ils appartiennent au même agrégat. Ces patrons sont ensuite communiqués électroniquement au Centre de Contrôle et de Prévention des Maladies (CDC, Atlanta, GA) où les isolats provenant de divers États sont définitivement comparés. Cependant, la politique de PulseNet stipule que les isolats non distinguables après une digestion primaire doivent subir une autre digestion par une deuxième enzyme avant d'entreprendre toute investigation épidémiologique (Gupta et al. 2004, [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)).

PulseNet a été développé en 1996 par le CDC en accord avec les laboratoires de santé publique des états du Massachusetts, Minnesota, Texas, et Washington. Le réseau s'est étendu plus tard à 7 laboratoires régionaux dont ceux du Massachusetts, Michigan, Minnesota, Texas, Utah, Virginia, et Washington. Au total 43 laboratoires de santé publique d'États et 5 laboratoires de comtés ou de villes sont partenaires. PulseNet Canada dispose de 6 laboratoires de santé publique provinciaux et le laboratoire fédéral de biosécurité (alimentaire) a rejoint le réseau en 1999 ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)).

Dans d'autres pays, notamment en Amérique du Sud et en Europe, les registres des hôpitaux et les laboratoires d'analyses sont les lieux privilégiés pour la collecte des données pour la surveillance (Lopez et al. 1998).

#### 1.4.2. La prévalence d'*E. coli* O157:H7 chez l'homme

##### 1.4.2.1. La dose infectieuse

Chez l'humain, de très faibles quantités d'*E. coli* O157:H7 ingérées ont pu provoquer des épidémies. Aux États-Unis, dans une épidémie humaine survenue dans les états du Midwest en 1993, l'analyse des hamburgers impliqués a permis d'évaluer la dose infectieuse à moins de 700 bactéries *E. coli* O157:H7 par portion (Tuttle et al. 1999, Griffin 1998). Dans le salami séché, la dose infectieuse est beaucoup plus faible encore. Elle a été estimée à moins de 50 *E. coli* O157:H7 lors d'une épidémie dans les états de Washington et de la Californie en 1994 (Tilden et al. 1996). Il n'a fallu qu'un seul microorganisme d'*E. coli* O111:H- pour une portion de 10 grammes de salami séché pour provoquer une épidémie ayant impliqué

entre janvier et février 1995, 21 personnes dont un mort à Adélaïde au Sud de l'Australie (Paton et al. 1996).

#### 1.4.2.2. La prévalence aux États-Unis

Les données de surveillance ne détectent par définition qu'une petite proportion des malades (Griffin 1998, Michel et al. 2000B, Chalmers et al. 1999). Aux États-Unis ce sont les laboratoires d'analyse qui fournissent les meilleures données. Ils sont par ailleurs tenus de déclarer tout cas d'*E. coli* au CDC. Entre 1993 et 1994, une hausse des cas a été attribué à une large campagne de sensibilisation avec près de 29% des analyses de selles positives à *E. coli* O157:H7 alors que entre 1991 et 1992 seuls 0,4% des échantillons de selles et 7,8% des selles avec diarrhées sanguinolentes étaient positifs (Griffin 1998). L'incidence annuelle varie de 2,6 à 3 cas pour 100.000 habitants selon les États (Lopez et al. 1998)

#### 1.4.2.3. La prévalence au Canada

Le laboratoire national des pathogènes entériques (Santé Canada) collecte tous les cas d'*E. coli* O157:H7 au Canada. Et selon ce centre, l'incidence humaine au Canada varie de 3,0 à 5,3 cas pour 100.000 habitants (Spika et al. 1998). L'Alberta a été la province la plus touchée en 1989 avec un pic de 16,0 cas pour 100.000 habitants. Depuis, il y a eu une baisse significative et l'incidence s'est établie à 7,4 cas pour 100.000 habitants. L'Île du Prince Édouard reste la province la plus touchée avec 10,2 cas pour 100.000 habitants pour une population de 135.000 habitants majoritairement installée en région rurale. L'Ontario et le Québec qui rassemblent 60 % de la population canadienne sont proches de la moyenne

nationale avec respectivement 4,3 cas et 4,5 cas pour 100.000 habitants (Spika et al. 1998).

#### 1.4.2.4. La prévalence en Amérique du Sud

L'incidence d'*E. coli* O157:H7 isolé dans les selles chez les patients souffrant d'infections dues aux STEC est de 3% en Argentine avec une variation de 0 à 18% selon les données hospitalières (Lopez et al. 1998). Mais chez les enfants de moins de 4 ans, elle est de 22 cas pour 100.000 habitants et de 4,2 cas au Chili. Dans ce dernier pays, 9% des malades présentant un SHU sont positifs à *E. coli* O157. En Uruguay, l'incidence chez les enfants de moins de 5 ans est de 5 cas pour 100.000 habitants (Lopez et al. 1998).

#### 1.4.2.5. La prévalence en Europe

En Europe, le Royaume-Uni et spécialement l'Écosse présente une incidence de 5 cas pour 100.000 habitants alors qu'elle est de 1,5 cas pour le reste du Royaume (Smith et al. 1998, Synge 1999, Coia et al. 1998B, Ogden et al. 2004). On note des variations géographiques entre le nord plus atteint et le sud (Smith et al. 1998, Ahmed et Donaghy 1998). Mais en Europe Continentale, les souches non-O157 jouent un rôle plus important dans les intoxications humaines dues aux STEC (Caprioli et Tozzi 1998, Blanco et al. 2003).

#### 1.4.2.6. Dans le reste du monde

Depuis 1994, une surveillance active est entreprise en Australie pour rechercher *E. coli* O157:H7 principalement chez les enfants de moins de 15 ans. Les données disponibles montrent une incidence de 0,9 cas pour 100.000 habitants pour les enfants de moins de 15 ans et de 2,8 cas pour 100.000 habitants pour les enfants de moins de 5 ans entre 1995 et 1996 (Robins-Browne et al. 1998). Au Japon de nombreuses épidémies impliquant *E. coli* O157:H7 ont été déclarées affectant surtout les jeunes enfants (Michino et al. 1998, Watanabe et al. 1999, Tanaka et al. 2001) mais les données générales sur l'incidence au sein de la population ne sont pas disponibles. En Afrique, le Swaziland et l'Afrique du Sud ont déclaré des épidémies d'*E. coli* O157 mais les données sur l'incidence de cette maladie au sein de la population ne sont pas disponibles (Coia et al. 1998B, Effler et al. 2001).

#### 1.5. Les principales infections animales dues à *E. coli*

Flore prédominante du tube digestif de nombreux animaux, *E. coli* est l'une des premières à s'installer lors de la naissance. Si la plupart des souches ne sont pas pathogènes, quelques-unes ont acquis des gènes codant pour les facteurs de virulence et sont donc devenues pathogènes (Gyles et Henton, 2004). Chez les animaux, l'infection à *E. coli* peut être entérique ou extra-intestinale. L'infection entérique est due à la colonisation de l'intestin avec ou sans action des toxines, survenant surtout chez les nouveau-nés dans les élevages intensifs et rarement dans les ranchs avec comme manifestation clinique majeure la diarrhée (Fairbrother 1999, Fairbrother et al. 2005, Bertschinger 1999). Les infections extra-intestinales se manifestent sous forme de septicémies, œdèmes, mammites, infections utérines et avortements (Gyles et Henton 2004). C'est une maladie



cosmopolite, décrite partout dans le monde et qui a des implications économiques très importantes.

Dans les infections entériques, la transmission se fait généralement par la voie orofécale. L'ingestion d'une grande quantité de bactéries, le passage de la barrière stomacale, la présence de récepteurs spécifiques des fimbriae sur les cellules intestinales, les susceptibilités liées à l'âge, la présence ou l'absence d'anticorps spécifiques dans la lumière intestinale, vont permettre à la bactérie de se fixer dans l'intestin et de se multiplier. Par exemple, le nombre d'*E. coli* dans le jéjunum d'un veau en bonne santé est de  $10^4$  germes par gramme de contenu intestinal alors que chez le veau qui fait une entérite colibacillaire, ce nombre est de  $10^9$  (Gyles et Henton, 2004).

Les ETEC après leur fixation par les fimbriae et leurs adhésines, produisent alors une ou plusieurs toxines qui provoquent l'accumulation de fluide et d'électrolytes dans l'intestin. La diarrhée survient si la capacité d'absorption de l'intestin est dépassée. La perte d'eau et d'électrolytes provoque la déshydratation, puis l'acidose métabolique et la mort si rien n'est fait.

Les STEC bien que pouvant former les liaisons attachement et d'effacement (AE), sont surtout producteurs de shigatoxines (Stx1 et Stx2 avec des variantes Stx2c et Stx2e responsable des œdèmes) qui vont jouer un rôle majeur si elles sont absorbées. La gravité de l'infection dépend de la quantité de toxine absorbée mais aussi des organes qui possèdent les récepteurs pour ces toxines et qui par conséquent les fixent (Gyles et Henton 2004). Les EPEC agissent surtout par la formation des lésions AE par lesquelles ils sont identifiés (Gyles et Henton 2004).

Les infections septicémiques ne sont pas fréquentes mais elles sont retrouvées chez les porcelets et les veaux. Lors des septicémies secondaires, *E. coli* est isolé sur de jeunes animaux morts de diarrhée et de déshydratation. Ce phénomène peut être expliqué par le passage de la bactérie de l'intestin vers les organes lors de l'agonie du porcelet. Par contre, l'ombilic chez le nouveau-né peut constituer une porte d'entrée. Les animaux sont souvent immunodéficients, par exemple privés de colostrum. Les bactéries responsables de septicémies ne disposent pas d'entérotoxines comme dans le cas des entérobactéries. Le sérotype O78:K80 est souvent associé aux maladies septicémiques dans plusieurs pays (Gyles et Henton 2004, Bertschinger 1999, Fairbrother 1999).

Sur le plan épidémiologique, la maladie est le résultat de l'interaction entre la susceptibilité de l'hôte et la pathogénicité de la bactérie. Les souches infectantes doivent posséder les facteurs de virulence spécifiques nécessaires pour déjouer les mécanismes de défense de l'hôte. La voie de transmission par excellence dans les cas d'entérite colibacillaire étant la voie buccale, le suc gastrique joue un rôle de barrière naturelle qui par son acidité va détruire les bactéries ingérées. Parmi celles qui vont réussir à passer la barrière acide de l'estomac, il faut qu'elles possèdent les facteurs de virulence spécifiques pour adhérer à l'épithélium intestinal, se multiplier et produire les toxines. Chez les jeunes animaux, l'estomac est immature. Il ne secrète pas encore l'acide chlorhydrique. C'est l'une des raisons pour lesquelles ils sont sensibles à l'infection (Dean-Nystrom et al. 1997, Younts-Dahl et al. 2004, Brashears et al. 2003).

Le lait contient des anticorps spécifiques qui peuvent inhiber la colonisation du tractus digestif par les bactéries pathogènes (Rugbjerg et al. 2003). Le sevrage est donc un facteur de risque majeur pour l'excrétion de bactéries mais aussi le développement des colibacillooses entériques chez les jeunes (Cobbold et

Desmarchelier 2001, Laegreid et al. 1999, Gannon et al. 2002, Dunn et al. 2004B, Rugbjerg et al. 2003). Le colostrum pris dans les heures qui suivent la naissance est indispensable pour la protection du nouveau-né contre les maladies entériques et septicémiques à cause de la quantité et de la qualité des anticorps qu'il contient. Plus le temps passe avant l'ingestion par le nouveau-né du colostrum, plus la protection qu'il va lui procurer deviendra moins efficace (Rugbjerg et al. 2003). Les infections concomitantes comme les *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Eimeria* spp et *Cryptosporidium* peuvent prédisposer le jeune animal aux entériques colibacillaires.

Le manque d'hygiène est un facteur de risque car il y aura une contamination massive de l'environnement. L'humidité va jouer un rôle important dans la survie des bactéries dans le sol et l'eau (Sargeant et al. 2004A, Smith et al 1998, Ogden et al. 2004). Les nouveaux animaux vont rentrer en contact avec les souches auxquelles ils n'étaient pas exposés et de nouvelles souches peuvent aussi faire leur entrée dans l'enclos. Ces facteurs sont très importants dans les élevages de veaux surtout si les sources d'approvisionnement sont multiples. Le stress causé par le transport, la surpopulation, le mélange de plusieurs portées et le manque de chaleur maternelle peuvent prédisposer les jeunes animaux à cette bactérie (Fairbrother 2005, Bertschinger, 1999, Gyles et Henton 2004).

#### 1.6. Les méthodes d'analyse

Les méthodes traditionnelles d'isolement d'*E. coli* O157:H7 basées sur les milieux de cultures exploitant les caractères biochimiques de la bactérie tels que les milieux Gram Négatif, Tryptic Soy Broth (TSB), Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) n'ont pas toujours permis de détecter la bactérie à de faibles doses (Chapman 1999, Meng et al. 1998, Quinn et al. 1994, Strockbine et al. 1998). Mais

l'introduction de nouvelles techniques comme la séparation immunomagnétique (IMS) et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), plus sensibles, a permis de dénombrier un plus grand nombre d'échantillons positifs, augmentant ainsi les prévalences apparentes (Karch et al. 1996, Meng et al. 1998, Bono et al. 2004, Lefebvre et al. 2005, Renter et al. 2004).

Dans la séparation immunomagnétique, les anticorps spécifiques O157, attachés aux billes de polymères paramagnétiques (anti-*E. coli* O157 Dynabeads; Dynal, Inc., Lake Success, N.Y) sont ajoutés à l'échantillon prélevé et préalablement enrichi par un bouillon de culture avant de subir la séparation magnétique. S'ils sont présents dans la culture enrichie, *E. coli* O157 va s'attacher à ses anticorps spécifiques et se déplacer avec les billes magnétiques. Le sédiment ainsi formé et contenant la bactérie enrobée sera ensemencé sur un milieu SMAC (Sorbitol-MacConkey Agar) ou CT-SMAC (Cefixime-Tellurate potassium SMAC) pour permettre que seules les bactéries recherchées poussent. Les bouillons souvent utilisés pour une IMS d'échantillons humains sont l'eau tamponnée peptonée, l'eau peptonée avec antibiotique, le bouillon GN Hajna. Selon une étude, l'IMS est une méthode très sensible et supérieure en cas d'épidémie humaine avec SHU aux méthodes moléculaires comme le PCR et les tests de cytotoxicité (Karch et al. 1996).

Le PCR consiste à détecter chez *E. coli* O157:H7 les gènes codant pour les Stx par amplification. Il utilise les amorces qui vont reconnaître les gènes producteurs de Stx1 ou Stx2 (Meng et al. 1998, Bono et al. 2004, Lefebvre et al. 2005, Renter et al. 2004, Oberst et al. 2003). Ces prélèvements seront au préalable mis en culture et enrichis avant de subir la réaction PCR qui amplifie et détecte l'ADN pathogène ciblé à l'aide d'amorces et de phares moléculaires spécifiques. Les phares moléculaires sont des séquences uniques permettant l'identification du

gène pathogène à un degré de spécificité élevé. Une fois liés à leur cible, les phares moléculaires émettent un signal fluorescent, proportionnel à la quantité d'ADN pathogène amplifié. Si la bactérie ciblée est absente de l'échantillon, aucun signal fluorescent n'est détecté. Pour la détection d'*E. coli* O157:H7, deux marqueurs sont utilisés. Le premier détecte la présence d'*E. coli* O157 et le second confirme la présence d'*E. coli* O157:H7. Les souches d'*E. coli* O157:NM (non-motiles) productrices de Stx, seront également détectées. Mais les souches O157:NM, non productrices de Stx donc non pathogènes ne seront pas détectés. Ensemble, les résultats positifs obtenus par ces deux marqueurs confirmeront la présence de contamination par *E. coli* O157:H7 ou par *E. coli* O157:NM (Shaw 2006, Bono et al. 2004, Dodd et al. 2003).

L'introduction de la génotypie en l'occurrence le typage est devenu un élément essentiel dans les investigations épidémiologiques. L'électrophorèse en champ pulsé encore appelé Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE), est très utilisée en Amérique du Nord (Griffin 1998, Barrett et al. 2006, Scott et al. 2006). C'est une technique basée sur l'analyse de l'ADN et qui permet d'associer à chaque souche, son empreinte génétique caractéristique. C'est une méthode de référence utilisée en bactériologie clinique. L'ADN bactérien est soumis à l'action des enzymes de restriction (*Xba* I obtenue de *Xanthomonas badrii*, *Not* I obtenu de *Nocardia otitidis-caviarum* ou *Sfi* I obtenu de *Streptomyces fimbriatus*) qui sont en mesure de reconnaître des sites de coupure rares. La coupure de l'ADN bactérien permettra de générer des fragments qui sont trop grands pour être séparés par l'électrophorèse conventionnelle (Strockbine et al. 1998, Bopp et al. 2003B). La taille et le nombre des fragments sont caractéristiques de l'isolat étudié. Les fragments obtenus sont généralement de grande taille (10 à 1000 kb) et en petit nombre (entre 5 et 20) (Arsenault 2003). La préparation de l'ADN se fait par lyse "in situ" des cellules d'une colonie bactérienne dans une matrice semi-solide

d'agarose pour éviter les forces de cisaillement susceptibles d'endommager l'ADN. Après digestion par une enzyme de l'ADN, les fragments résultant sont séparés selon une technique particulière d'électrophorèse basée sur l'application d'un champ électrique alterné multidirectionnel (champ pulsé), à l'origine du nom de la méthode. Les fragments séparés sont alors révélés par simple coloration au bromure d'éthidium pour donner le patron PFGE (pulsetype) empreinte génétique caractéristique de chaque isolat analysé (Preston et al. 2000, Tenover et al. 1995, Barrett et al. 2006).

La difficulté de cette technique, basée sur l'analyse du chromosome bactérien intact, réside précisément au niveau de la manipulation de ces fragments de grande taille qu'il faut éviter d'endommager lors de la préparation de l'échantillon, puis lors de la séparation des fragments d'ADN. Pour déterminer la parenté d'une bactérie, les patrons des fragments d'ADN ainsi séparés seront comparés entre eux. Il n'y a pas de critères standardisés pour l'analyse des patrons de fragments d'ADN. Il est fréquent que des experts en viennent à des conclusions différentes avec les mêmes résultats PFGE. Tenover et al. 1995 propose une ligne de conduite pour l'interprétation des patrons générés par PFGE. Selon cette méthode, les isolats sont regroupés selon le nombre et la taille des bandes générées. Une autre méthode de comparaison est basée sur le calcul de coefficient prenant en compte le nombre de bandes similaires et le nombre de bandes différentes entre deux ou plusieurs isolats.

### 1.7. La prévalence de STEC chez les animaux

La présence d'*E. coli* O157:H7 dans les selles ou sur la peau avant l'abattage des animaux se traduit par une présence sur les carcasses (Elder et al. 2000, Dunn et

al. 2004A, Dewell et al. 2005, Sargeant et al. 2004B, Van Donkersgoed et al. 2005, Stanford et al. 2005A, Gannon et al. 2002), ce qui fait penser que la première source de contamination de la viande reste l'animal lui-même si les opérations d'abattage ne sont pas bien menées.

Aux États-Unis, plusieurs études ont été menées dans le Midwest. En effet une grande étude impliquant 4 états à savoir le Kansas, l'Oklahoma, le Nebraska et le Texas, a permis de prélever 14.000 échantillons dont plus de 10.000 de selles (Sargeant et al. 2003). La prévalence moyenne au niveau fécal est de 10,2 % alors que 52 % des enclos et 95 % des parcs étaient positifs à *E. coli* O157. Une autre étude menée toujours dans ces 4 états a permis d'analyser 504 prélèvements d'aliments distribués aux animaux dans 54 parcs avec 125 animaux en moyenne a montré que 14,9 % des échantillons d'aliments étaient positifs à *E. coli* O157 et 44,4 % des parcs avaient au moins un échantillon d'aliment positif à *E. coli* O157 (Dodd et al. 2003). La prévalence d'*E. coli* O157 a aussi été étudiée sur des prélèvements de selles de 3162 bovins répartis dans 29 enclos étalés sur 5 états du Midwest. Cette étude montre que 23% des échantillons de fèces étaient positifs à *E. coli* O157 et 100 % des enclos avaient au moins 1 échantillon de selles positif (Smith et al. 2001).

Dans les états du Colorado, du Nebraska et du Montana une étude a concerné 15 enclos répartis sur 12 parcs d'engraissement. Entre 35 et 85 prélèvements de selles ont été effectués sur des animaux de même provenance dans les abattoirs de grande capacité d'abattage (plus de 3000 bêtes abattues par jour) 36 heures avant l'abattage des bovins. Les résultats montrent que 86,7% des enclos échantillonnés étaient positifs à *E. coli* O157 et à l'intérieur des enclos, la prévalence variait de 3,3% à 77,8% (Dewell et al. 2005). Toujours aux États-Unis, une autre étude portant sur 327 prélèvements de selles et 355 prélèvements sur la

peau a été effectuée. Au niveau des échantillons de selles, il en ressort que 28 % des échantillons de selles et 72 % des enclos échantillonnés sont positifs alors qu'*E. coli* O157 a été retrouvé sur la peau des animaux dans 11 % des cas et dans 38 % des enclos (Elder et al. 2000). D'autres études se sont intéressées à la prévalence au niveau des veaux dans les élevages spécialisés. C'est ainsi qu'en Louisiane, 408 prélèvements ont été effectués dans 29 fermes de veaux sur 3 sites différents. La prévalence fécale est de 2,5 % (Intervalle de Confiance 1 – 5) et 17,2 % (Intervalle de Confiance 6 – 36) des troupeaux échantillonnés étaient positifs à *E. coli* O157 (Dunn et al. 2004A).

Au Canada, l'Alberta et dans une moindre mesure la Saskatchewan sont de grands producteurs de bovins à viande. Une étude portant sur 218 enclos répartis dans 9 parcs d'engraissement de l'Alberta et de la Saskatchewan a permis d'évaluer la prévalence moyenne de l'infection à *E. coli* O157 dans les enclos à 5% avec une variation de 0 à 90% (Van Donkersgoed 2005). Une autre étude portant sur 25 enclos repartis sur 4 parcs comptant de 5.000 à 18.000 têtes, a permis d'isoler les STEC dans 92 % (23/25) des enclos, *E. coli* O157:H7 dans 8% (2/25) des enclos, *E. coli* O111 :H8 dans 20% (5/25) des enclos et *E. coli* O126:H11 dans 80 % (20/25) des enclos (Renter et al. 2004). Une étude portant sur 2 années et deux cycles de production de veaux a permis d'étudier la prévalence dans les enclos de veaux. La prévalence d'une année à l'autre est passée de 16 % à 26 % et moins d'une semaine après la naissance, les veaux étaient déjà infectés et excrétaient la bactérie (Gannon et al. 2002).

En Australie, 310 échantillons prélevés sur 2 groupes d'animaux élevés séparément a révélé que 13 % des fèces récoltées étaient positives à *E. coli* O157 et aucune différence significative entre le mode d'élevage en parc ou en ranch n'a été observée (Fegan et al. 2004)



## 1.8. Les facteurs de risque

Ces facteurs sont liés à l'hôte (génétique, espèce, âge) ou à l'environnement (alimentation, stress, géographie, saison, maladie).

Les bovins restent le grand réservoir d'*E. coli* O157 (Synge 1999). Même si les parcs et les enclos sont largement infectés, la prévalence individuelle semble plus faible chez les bovins de boucherie que chez les laitières et les bovins élevés en ranch (Cobbald et al. 2003, Chapman et al. 1997, Van Donkersgoed et al. 1999). De nombreuses études aux États-unis et au Canada ont évalué l'excrétion de la bactérie dans les matières fécales dans les parcs d'engraissement, les enclos et au niveau individuel avec des prévalences élevées au niveau des enclos et des parcs (Dewell et al. 2005, Barkocy-Gallager et al. 2001, Elder et al. 2000, Renter et al. 2004, Van Donkersgoed et al. 2005, Sargeant et al. 2004A). D'autres études montrent que les troupeaux de veaux excrètent aussi la bactérie mais à un degré moindre (Dunn et al. 2004B, Gannon et al. 2002, Nielsen et al. 2002).

Plusieurs facteurs alimentaires ont été identifiés comme favorisant l'excrétion de la bactérie dans les fèces. En effet, l'utilisation de céréales dans l'aliment des bovins de boucherie a été pointée du doigt par plusieurs études (Bach et al. 2005, Dewell et al. 2005, Sanderson et al. 2005, Berg et al. 2004, Callaway et al. 2004B). Une étude menée au Canada a comparé l'adjonction du maïs à celle de l'orge et conclut que les animaux supplémentés à l'orge, présentent un risque plus élevé d'excrétion d'*E. coli* O157 dans les selles (Bach et al. 2005, Berg et al. 2004, Rugbjerg et al. 2003). La présence des graines de coton dans la ration favorise aussi l'excrétion de la bactérie (Sargeant et al. 2004B). L'utilisation des facteurs de croissance et des antibiotiques dans l'alimentation favorise l'excrétion de la

bactérie (Lefebvre et al. 2005) alors que l'adjonction de facteurs acidifiants l'inhibe (Younts-Dahl et al. 2004, Callaway et al. 2004A, Brashears et al. 2003).

La saison chaude et les températures élevées sont propices à l'excrétion de la bactérie dans les fèces (Bach et al. 2005, Sanderson et al. 2005, Berg et al. 2004, Elder et al. 2000, Michel et al. 1999, Sargeant 2004B). En effet, l'été constitue la saison de prédilection pour l'excrétion maximale de la bactérie surtout les périodes allant de mai à août (Sargeant et al. 2000). Dans une étude portant sur 8 troupeaux laitiers au Danemark, le risque d'excrétion de la bactérie en fonction du mois a été évalué et ce risque est plus élevé en juin (12%) par rapport à septembre (8%), mars (4%) et janvier (2%) (Rugbjerg et al. 2003).

D'autres facteurs comme l'utilisation de distributeurs automatiques de nourriture, la grande taille des troupeaux, le type d'exploitation, la localisation géographique, le stress lié au sevrage, à la parturition, au transport, à l'abattage et aux maladies concomitantes favorisent l'excrétion d'*E. coli* O157 (Fegan et al. 2004, Gannon et al. 2002, Mapa 2000, Rugbjerg et al. 2003, Sanderson et al. 2005, Smith et al. 2001, Dewell et al. 2005, Sargeant et al. 2004B, Nielsen et al. 2002).

### 1.9. Les parcs d'engraissement et l'industrie bovine

Les parcs d'engraissements sont des industries chargées de la production intensive des bovins de boucherie. Les animaux sont concentrés dans des enclos, généralement entre 60 et 150 têtes et parfois plus. Les parcs peuvent compter de milliers de têtes. Cette forte concentration génère des problèmes sur le plan environnemental avec la gestion des déchets, des odeurs et des problèmes de

drainage, d'où l'importance de l'emplacement de l'industrie, mais aussi des problèmes sur le plan de la gestion des effectifs au niveau des abattoirs. Les animaux de plusieurs enclos, voire de plusieurs parcs peuvent être mélangés avant l'abattage et des contaminations peuvent alors survenir. Les régions de l'ouest américain et canadien sont propices au développement des parcs car ces régions disposent de grands espaces moins peuplés ainsi que de grandes prairies.

Les races exploitées dans les filières d'engraissement sont les races à fort potentiel de production de viande. Il s'agit des races britanniques (Angus, Hereford), les races continentales (Charolais et Simmental) mais aussi les Brahmanes. Des croisements sont effectués entre plusieurs races selon les spéculations et les qualités recherchées (NAHMS 2000). Les animaux sont répartis dans les enclos selon le sexe, la taille et la race. Les animaux sont nourris avec des rations hautement énergétiques, riches en céréales et en protéines.

En 2000, la National Agriculture Statistics Service a dénombré plus de 11.475.000 têtes de bovins en embouche aux États-Unis dont plus de 2.200.000 au Kansas ([www.usda.gov](http://www.usda.gov)). Cette production est essentiellement concentrée dans les états du Middle West comme le Texas, l'Oklahoma, le Nebraska, le Kansas et accessoirement en Arizona et en Californie. Au Canada, les Provinces de l'Ouest comme la Saskatchewan, la Colombie Britannique et surtout l'Alberta sont des producteurs de bovins de boucherie. La production totale est évaluée en 1996 par Statistiques Canada à 4.680.585 têtes dont la moitié en Alberta et le quart en Saskatchewan.

En vue de lutter contre *E. coli* O157:H7 dans la filière alimentaire, les chercheurs se sont concentrés sur l'industrie bovine. Les bovins constituent en effet la principale source de cette bactérie impliquée dans la plupart des infections de part

le monde (Griffin 1998, Elder et al. 2000, Lopez et al. 1998, Van Donkersgoed et al. 2005, Stanford et al. 2005B, Robins-Browne et al. 1998, Johnsen et al. 2001). Les abattoirs s'approvisionnent auprès des parcs pour leur besoin. Les parcs à l'image de l'économie mondiale depuis quelques décennies sont concentrés dans les mains de propriétaires de plus en plus gros. Entre 1996 et 1999, le nombre de parcs d'engraissement est passé de 112.109 à 102.119 aux États-Unis alors que pour la même période, le nombre de ferme de plus de 32.000 têtes est passé de 91 à 111 avec des effectifs en constante hausse (NAHMS 2000).

Notre objectif à travers cette étude est de mieux comprendre les facteurs qui expliquent la prévalence d'*E. coli* O157:H7 de même que la diversité des pulsetypes et sous-pulsetypes dans les enclos mais aussi d'explorer l'existence des agrégats d'*E. coli* O157:H7 dans les parcs.

## Chapitre deuxième : Méthodologie

### 2.1. Protocole de sélection

#### 2.1.1. Analyse complémentaire d'une base de données

Notre étude consiste en une analyse d'une partie de la base de données dont le résultat global a été publié par Sargeant et al. 2003. Cette grande base est constituée de 13.924 prélèvements effectués dans les parcs d'engraissement de 4 états du Midwest des États-Unis à savoir le Texas, l'Oklahoma, le Kansas et le Nebraska pour la recherche d'*E. coli* O157. Elle comporte 10.662 prélèvements de selles, 2.130 prélèvements d'eau et 1.132 sédiments. Les prélèvements d'eau et de sédiments proviennent des abreuvoirs des parcs dont les animaux sont échantillonnés.

Notre analyse porte sur 5999 prélèvements dont 4499 de selles, 900 d'eaux et 600 de sédiments, provenant de 30 parcs du Kansas, les seuls dont le code postal a été relevé. Les prélèvements ont eu lieu à l'été 2001, du 23 mai au 13 août (Sargeant et al. 2003).

#### 2.1.2. Population et conditions de participation

Les prélèvements ont été effectués sur les bovins d'embouche appartenant à des entreprises commerciales. Ces entreprises ont été identifiées non seulement par les vétérinaires de l'Université du Kansas mais aussi par les vétérinaires gouvernementaux assignés au suivi des animaux selon leur zone géographique. Les entreprises ont été sollicitées par une lettre et la participation à l'étude a été volontaire. Du fait que l'étude a lieu au même moment que sévissait l'épidémie de

fièvre aphteuse au Royaume-Uni, une assurance a été donnée aux participants sur la confidentialité de leur identité et des résultats individuels des parcs. Cependant un résumé des résultats sera donné à chaque entreprise en vue de prendre des actions biosécuritaires nécessaires (Sargeant et al. 2003).

## 2.2. Protocole d'échantillonnage

### 2.2.1. Unité épidémiologique

L'échantillonnage a pris en compte l'animal qui reste l'unité épidémiologique. L'échantillonnage est effectué en 3 étapes : les parcs sont d'abord sélectionnés, ensuite les enclos appartenant aux parcs et enfin les animaux situés dans les enclos sont sélectionnés. Mais toutes les informations pertinentes concernent l'enclos identifié dans lesquels vivent les animaux. C'est le cas de l'effectif des animaux au moment des prélèvements, de la surface disponible pour chaque animal, du nombre d'échantillons prélevés, du nombre de cas positifs, du nombre de pulsetypes et de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157. Les variables indépendantes aussi ont une précision au niveau de l'enclos. Ainsi, le nombre de jours que les animaux ont passés en enclos, la race de l'animal, le poids moyen des animaux dans un enclos, l'origine des animaux, l'aliment distribué, l'état du sol, l'enlèvement du fumier et le lavage de l'abreuvoir sont des indications de l'état des enclos. Seules les variables météorologiques sont liées au parc soit l'humidité relative, la température ambiante, la pluviométrie, le temps qu'il fait, de même que l'effectif général indiquant la taille de la ferme. Ces données étant les mêmes pour tous les enclos situés dans le même parc.

### 2.2.2. Sélection des parcs et des enclos

Les parcs sélectionnés sont ceux qui ont répondu favorablement à la demande de l'équipe. Dans chaque parc participant, un maximum de 10 enclos a été retenu. Les critères de sélection des enclos retenus sont les suivants :

- a) Les animaux doivent être à un mois ou moins de la date d'abattage
- b) Les animaux doivent recevoir l'aliment de finition.

Si dans un parc on a plus de 10 enclos qui respectent les critères de sélection des animaux, on ne retiendra que ceux qui sont les plus proches de la date d'abattage. Si dans un parc on a moins de 10 enclos qui respectent les critères de sélection, tous les enclos qui respectent ces critères de sélection sont alors retenus (Sargeant et al. 2003). Au Kansas, tous les parcs ayant participé à l'étude avaient au moins 10 enclos qui respectaient les critères de sélection.

### 2.2.3. Sélection des animaux

Aucun échantillonnage préalable des animaux n'a été fait. Les prélèvements de selles sont effectués sur les 15 premiers bovins surpris en pleine défécation dans les enclos retenus (Sargeant et al. 2003). Les prélèvements d'eau et de sédiments ont été effectués dans le seul abreuvoir se trouvant dans les enclos retenus.

#### 2.2.4. Le mode de prélèvement des échantillons

L'équipe récupère environ 10 grammes de selles fraîches juste après que l'animal ait déféqué. Ensuite elle prélève dans le même enclos 3 échantillons de 50 mL d'eau dans des bocaux identifiés et prévus à cet effet. Elle termine par le prélèvement de 2 échantillons de dépôt sédimentaire en raclant le fond de l'abreuvoir avant d'ajouter 25 mL d'eau du même abreuvoir. Les prélèvements sont au fur et à mesure conservés dans une glacière et recouverts de glace. A la fin du processus de prélèvement, tous les échantillons prélevés dans le parc sont acheminés immédiatement au laboratoire du Food Animal Health and Management Centre au Kansas State University (Sargeant et al. 2003). Chaque prélèvement est identifié par un code qui permet de reconnaître le parc, l'enclos, la date et le type de prélèvement.

#### 2.2.5. Les échantillons prélevés sont-ils suffisants pour la détection d'*E. coli* O157?

##### 2.2.5.1. Échantillons prélevés au niveau des parcs

Tous les parcs participants n'ont pas le même nombre d'enclos ni le même nombre d'animaux. Le nombre d'animaux varie dans les parcs de 7.500 à 230.000 têtes. Mais seulement 150 animaux ont été échantillonnés dans tous les parcs (Sargeant et al. 2003). L'estimation de la prévalence étant de 10% et l'intervalle de confiance de 95%, la sensibilité de notre échantillonnage permet de détecter au moins un échantillon positif au cas où la prévalence est supérieure à 2%.



#### 2.2.5.2. Échantillons prélevés au niveau des enclos

Au niveau enclos, du fait de l'échantillonnage en grappe, les 150 échantillons sont répartis sur 10 enclos de sorte que 15 échantillons de selles ont été prélevés dans tous les enclos quelque soit le nombre d'animaux (variant entre 28 et 341 têtes). L'estimation de la prévalence est de 10% (Sargeant et al. 2003), avec un intervalle de confiance de 95%. La sensibilité de notre échantillonnage permet de détecter au moins un échantillon positif au cas où la prévalence est située entre 6,67 et 24,84%.

#### 2.3. Questionnaire

De nombreuses informations ont été collectées sur le terrain en même temps que les prélèvements. Ces informations ont été collectées soit en notant les informations affichées à l'entrée de chaque enclos soit en posant des questions aux gestionnaires des fermes ou à leur représentant. Pour plus de clarté, nous allons classer ces informations en trois catégories :

- a) les informations relatives à la gestion des fermes,
- b) les informations relatives à la génétique et à l'alimentation et
- c) les informations relatives à la climatologie.

### 2.3.1. Les informations relatives à la gestion des fermes

#### 2.3.1.1. Le nombre d'animaux

Trois types d'informations ont été relevés. D'abord le nombre d'animaux entré en embouche dans le parc, le nombre d'animaux envoyés à l'abattoir avant le jour du prélèvement et le nombre d'animaux présents dans le parc le jour du prélèvement. Le nombre d'animaux présents dans l'enclos lors du prélèvement est aussi relevé.

#### 2.3.1.2. Le nombre d'enclos

Chaque parc d'engraissement est subdivisé en enclos en nombre et de capacité variables. Le nombre d'enclos dans chaque parc a été relevé. La date du prélèvement et le nombre d'enclos occupé dans le parc par les animaux ont aussi été relevés. La superficie en acre de chaque enclos a été relevée ce qui a permis de calculer la densité dans chaque enclos soit le nombre de pieds carrés occupés par animal.

#### 2.3.1.3. Les données sur l'entretien des enclos

Les informations relatives à l'entretien des enclos ont été relevées. Si l'abreuvoir est lavé (oui / non), cela est noté ainsi que le nombre de jours écoulés depuis le dernier lavage. La même question a été posée pour l'enlèvement du fumier. Au cas où ce fumier est enlevé, le nombre de jours depuis le dernier enlèvement est

noté. L'état du sol dans chaque enclos a été relevé et deux catégories (sec ou humide) sont enregistrées.

#### 2.3.1.4. La date d'entrée en embouche

Le mois pendant lequel l'animal est arrivé dans le parc est relevé. Le nombre de jours passé par l'animal dans le parc avant le prélèvement a aussi été relevé.

#### 2.3.1.5. Les sources d'approvisionnement

L'état de provenance des jeunes animaux a été relevé. C'est la seule précision relative à la provenance. Ni la ferme, ni le marché n'est précisé. Si pendant l'embouche, de nouveaux animaux ont été ajoutés à ceux déjà existants, cela est noté ainsi que le nombre de jours passés par les nouveaux animaux jusqu'à la date de prélèvement. Dans chaque enclos on s'assure que tous les animaux proviennent du même état. Si les animaux proviennent de différents états, cela est noté.

### 2.3.2. Les informations relatives à la génétique et à l'alimentation

#### 2.3.2.1. La race

Les animaux sont regroupés dans chaque enclos par race, par tranche d'âge, par poids, par taille et par sexe. La race des animaux est relevée.

#### 2.3.2.2. L'aliment

Tous les animaux retenus sont à moins d'un mois de la date d'abattoir et prennent l'aliment de finition. Le taux de matière sèche de l'aliment est relevé. La période de temps en jours pendant laquelle cette ration est prise est notée.

#### 2.3.2.3. Le poids

Le poids moyen des animaux de chaque enclos sélectionné est relevé. C'est le poids moyen des animaux lorsqu'ils sont embarqués sur les camions pour être envoyés à l'abattoir.

#### 2.3.3. Les informations liées à la climatologie

Les informations concernent la température ambiante, l'humidité ambiante, le temps (ensoleillé ou nuageux) et la pluie si elle est tombée ou non. Si la pluie est tombée, on note la hauteur de pluie et le nombre de jour depuis la dernière pluie.

Les coordonnées géographiques des parcs ont été relevées. Il s'agit du ZIP (Zone Improvement Plan), l'équivalent états-unien du code postal canadien.

#### 2.4. Protocole microbiologique : les analyses de laboratoire

Chaque échantillon a été enregistré et les analyses ont été effectuées suivant les techniques de laboratoire appropriées que ce soit pour les échantillons de selles

ou pour les échantillons d'eau ou de sédiments. Le but étant de savoir si l'échantillon est positif ou négatif à *E. coli* O157:H7.

#### 2.4.1. Analyse des prélèvements de selles

Chaque échantillon a été identifié et numéroté avant d'être malaxé. Un gramme de fèces prélevé de chaque échantillon est placé dans 9mL d'une solution gram négative contenant 0,05µg/mL de cefixime, 10µg/mL de cefsulodin et 8µg/mL de vancomycin. La solution obtenue est incubée à 37°C pendant 6 heures. Suite à l'incubation, 1mL de la précédente suspension bien mélangée (vortexée) est prélevée pour la micro centrifugation dans des tubes contenant 20µl de Dynabeads (Dynal, Lake Success, NY). On procède ensuite à la séparation immunomagnétique (IMS), selon les recommandations du fabricant. Environ 50µl du produit séparé est répandu sur une gélose Sorbitol-MacConkey supplémenté à la céfixime et au téllurite de sodium (CT-SMAC) et incubé à 37°C pendant 18 heures. Après l'incubation, jusqu'à 6 colonies ne fermentant pas le sorbitol et de morphologie typique (gris blanc avec un centre noir) sont transférées sur gélose enrichie au sang et incubées à 37°C pendant 18-24 heures. Des tests à l'indole sont effectués après cette incubation et les colonies indole positives sont testées à l'antigène O157 par agglutination (Oxoid, Basingstoke Hampshire, UK). Des colonies positives au test d'agglutination sont confirmées comme étant *E. coli* par un test API (Bio-Mérieux, Hazelwood, MO). Les colonies identifiées *E. coli* O157 seront inoculées dans des tubes Protect Bead (Key Scientific, Round rock, Tx) et surgelées à -80°C pour une conservation à long terme selon les recommandations du fabricant (Sargeant et al. 2003).

#### 2.4.2. Analyse des prélèvements d'eau et de sédiments

Après un mélange au vortex, 5ml d'eau ou de sédiment sont mélangés à 5ml d'un bouillon doublement concentré en Tryptic Soy (Difco, Detroit, MI) et incubé 24 heures à 44°C. Ensuite, 1ml du liquide est transféré dans les tubes à micro centrifugation contenant 20µl de Dynabeads (Dyna, Lake Success, NY) pour une séparation immunomagnétique (IMS). Après l'IMS, la procédure culturale suit le même cheminement que dans le cas précédent (Sargeant et al. 2003).

#### 2.5. Le protocole de typage

Le typage par PFGE n'a été effectué que sur les isolats du Kansas en vue de les regrouper en pulsetypes et en sous-pulsetypes. Le coefficient de Dice a été utilisé à cet effet. Selon les informations reçues, le seuil fixé par les auteurs pour que deux isolats soient de même pulsetype est de 95% et plus. Pour être de même sous-pulsetypes, deux isolats doivent avoir un coefficient de 99 % et plus

#### 2.6. Le protocole statistique

Trois analyses statistiques seront conduites dans la présente étude :

- une analyse spatiale,
- une analyse descriptive des cas positifs d'*E. coli* O157 et
- une analyse des facteurs de risque

### 2.6.1. L'analyse spatiale

L'analyse spatiale n'a pris en compte que les parcs car eux seuls sont identifiés géographiquement par leur ZIP. La situation particulière d'un enclos ne pouvant être dissociée de celle des autres enclos du même parc. La détection des agrégats (clusters) dans l'espace est effectuée par *ClusterSeer 2* (TerraSeer 2002). La méthode d'analyse adoptée est celle de «*Cuzick and Edwards*», compatible avec nos données.

Pour que cette méthode fonctionne, il est indispensable de définir les cas (présence de l'infection) et les contrôles (absence de l'infection). Dans notre étude, tous les parcs étant positifs, nous avons alors considéré les parcs ayant un seul échantillon positif comme des contrôles et ceux qui ont plus d'un échantillon positif comme les cas. Les cas sont représentés par le chiffre 1 et les contrôles par le chiffre 0. Le nombre de simulations effectuées est 999 et le seuil de signification  $\alpha$  choisi est 0,05.

Le test de «*Cuzick and Edwards*» compare les coordonnées spatiales des cas et celles des contrôles. Les contrôles sont supposés être tirés de la même population que les cas (Michel et al. 2000A). Ce test est donc approprié pour détecter les agrégats dans une population hétérogène, c'est-à-dire une population au sein de laquelle la distribution de base est aléatoire.

### 2.6.2. Analyse des échantillons positifs

L'analyse des échantillons positifs est effectuée par le logiciel *NCSS 2001* (Kaysville, Utah USA 2001)

### 2.6.3. L'analyse des facteurs de risque

L'analyse des facteurs de risque est effectuée par la régression binomiale négative. Cette méthode d'analyse est compatible avec nos données en terme de distribution (distribution Poisson) mais aussi de la variance (nos données sont plus dispersées et la variance différente de la moyenne). Elle a été effectuée par le logiciel SAS 8.2 TS2MO (SAS Institute, Cary, NC, USA 1999).

L'analyse est la même pour les cas positifs que pour les pulsetypes et les sous-pulsetypes et procède en 2 étapes :

- La première étape est une régression univariée où chaque facteur de risque (variables dépendantes) est testé par rapport à la variable indépendante (explicative) en vue de sélectionner les facteurs significatifs à  $p < 0,25$
- La deuxième étape est une régression multiple qui a pris en compte tous les facteurs retenus dans l'analyse précédente. La méthodologie rétrograde (backward) a permis de ne retenir que les facteurs significatifs à  $p < 0,05$ .

La régression binomiale négative est une équation de la forme

$$\ln(\lambda) = \beta_0 + \beta_1 X$$

Où  $\ln(\lambda)$  est le logarithme népérien de la valeur attendue de la variable prédictive (Dohoo et al. 2003).



### 2.6.3.1. Les variables dépendantes

Trois variables dépendantes ont été étudiées :

- le nombre de cas positifs en rapport avec le nombre d'échantillons prélevés dans chaque enclos ( $p = \text{nombre de cas positifs} / \text{nombre d'échantillons prélevés} * 100$ ),
- le nombre de pulsetypes différents et
- le nombre de sous-pulsetypes différents dans chaque enclos.

### 2.6.3.2. Les facteurs de risque

Les facteurs de risques testés ont été codifiés et consignés dans le tableau I.

Les variables catégoriques qui présentaient de nombreuses catégories ont été regroupées selon des critères objectifs en un nombre restreint de catégories.

C'est ainsi que le mois d'arrivée dans le parc (monthin) qui présentait 9 catégories (les animaux sont rentrés dans les parcs tous les mois sauf les mois de juin, juillet et août) est réduit en deux catégories à savoir la catégorie hiver-printemps pour les animaux qui sont arrivés entre janvier et mai soit avant l'été et la catégorie automne pour ceux qui sont arrivés entre septembre et décembre soit après l'été. L'état du sol (étatsol) qui présentait 3 catégories avec seulement un seul représentant dans la 3<sup>e</sup> catégorie (presque sèche) est réduit en deux catégories, sèche (dry) et humide (below), le seul représentant de la catégorie presque sèche a été ajouté à la catégorie sèche.

Tableau I : Liste des variables indépendantes, leur nature et leur signification

Variables	Nature	Signification
Inpen	Num	Nombre d'animaux dans l'enclos le jour du prélèvement
Density	Num	Surface disponible (nombre de pieds carrés par animal)
Daysinpen	Num	Nombre de jours passés dans l'enclos
Tank	Num	Nombre de jours depuis le dernier lavage de l'abreuvoir
Fumier	Num	Nombre de jours depuis le dernier enlèvement du fumier
New	Cat	De nouveaux animaux ont-ils été ajoutés aux anciens? Oui-non
Montrin	Cat	Mois depuis lequel l'animal a été introduit dans l'enclos
Race	Cat	Race de l'animal
Poids	Num	Poids moyen en kg de l'animal
Food	Num	Quantité de matière sèche en % dans l'aliment distribué
From	Cat	L'état dans lequel l'animal a été acheté
Etatsol	Cat	L'état du sol au moment du prélèvement
Daysnew	Num	Le nombre de jours effectués pas les éventuels nouveaux animaux le jour du prélèvement
Heat*	Num	Température ambiante en degré Celsius le jour du prélèvement
Weather*	Cat	Le temps qu'il fait le jour du prélèvement : nuageux – ensoleillé - pluvieux
Humidity*	Num	Humidité relative en % le jour du prélèvement
Rain*	Num	Hauteur de pluie en pouces
Timerain*	Num	Nombre de jour après la dernière pluie

\* variables liées aux parcs, similaires pour tous les enclos d'un même parc.

Num = variable numérique Cat = variable catégorique

La race qui présentait 4 catégories (Continental, Britannique, Low Brahmane et High Brahmane) est réduite en deux (Brahmane et autres). La prévalence des Brahmanes est très faible (autour de 15%) alors que celle des autres races est supérieure à 50%.

Le lieu de provenance des animaux qui présentait 6 catégories (Kansas, Midwest, SE, SW, W, Other) est aussi réduit en deux catégories, les animaux provenant du Kansas et ceux provenant de l'extérieur du Kansas (abroad) vu que les animaux en provenance du Kansas représentaient 42 % à eux tous seuls.

#### 2.6.3.3. Le niveau de signification des tests en binomiale négative

En analyse univariée, le niveau de signification des tests est fixé à  $p < 0,25$ . C'est à ce niveau que les variables indépendantes (prédictives) sont sélectionnées pour être introduites dans l'analyse multivariée. Pour être significatif en analyse multivariée, une variable doit avoir un niveau de signification  $p < 0,05$ .

## Chapitre Troisième : Présentation des résultats

### 3.1. Description statistique des données

#### 3.1.1. Les échantillons positifs pour *E. coli* O157 dans les parcs et les enclos

Le nombre total d'échantillons était de 5999 soit 4499 selles, 900 eaux et 600 sédiments répartis en 30 parcs et 300 enclos. Les échantillons positifs étaient de 436 soit 381 selles, 28 eaux et 27 sédiments. Le pourcentage total est donc de 7,27% (Tableau II).

Tableau II: Distribution des prélèvements positifs pour *E. coli* O157

	Prélèvements effectués	Nombre de positifs pour <i>E. coli</i> O157	% prélevements positifs
Selles	4499	381	8,47
Eaux	900	28	3,11
Sédiments	600	27	4,50
<b>Totaux</b>	<b>5999</b>	<b>436</b>	<b>7,27</b>

**Dans les parcs**, le nombre de prélèvements positifs varie de 1 à 83 (sur les 200 prélèvements effectués par parc) soit 0,5% à 41,5 %. La moyenne des échantillons positifs par parc est de 14,53. Les échantillons de selles positifs varient de 1 à 77 (sur 150 prélèvements de selles effectués par parc), les échantillons d'eaux de 0 à 6 (sur 30 prélèvements d'eau effectués par parc) et les échantillons de sédiments de 0 à 5 (sur 20 prélèvements de sédiment effectués par parc). Un parc est dit positif si un des échantillons quel qu'il soit est positif à *E. coli* O157. Tous les parcs sont positifs mais dans 19 parcs, le nombre d'échantillons positifs à *E. coli* O157

est inférieur à 10. Quand on considère les enclos dans les parcs, on constate que la majorité, soit 152 sur les 300 enclos est totalement négative de toute trace d'*E. coli* O157.

Tableau III: Distribution des enclos positifs pour *E. coli* O157 dans les parcs et les échantillons positifs pour *E. coli* O157 en rapport avec le nombre total d'échantillons prélevés dans chaque catégorie d'échantillons (10 enclos maximum)

Nombre d'enclos positifs à <i>E. coli</i> O157 par parc	Nombre de parcs	Échant Selles positifs à <i>E. coli</i>	Échant. Eaux positifs à <i>E. coli</i>	Échant. Sédiments positifs à <i>E. coli</i>	Prélèvements / nbre enclos positifs à <i>E. coli</i> O157
1	4	4 / 600	1 / 120	0 / 80	5
2	2	5 / 300	0 / 60	0 / 40	5
3	6	22 / 900	3 / 180	1 / 120	26
4	1	4 / 150	0 / 30	2 / 20	6
5	3	34 / 450	1 / 90	2 / 60	37
6	6	66 / 900	7 / 180	8 / 120	81
7	0	0	0	0	0
8	6	161 / 900	11 / 180	10 / 120	182
9	1	29 / 150	4 / 30	4 / 20	37
10	1	56 / 150	1 / 30	0 / 20	57
<b>Totaux</b>	<b>30</b>	<b>381/4500</b>	<b>28/ 900</b>	<b>27 / 600</b>	<b>436</b>

**Dans les enclos**, le nombre d'échantillons positifs à *E. coli* O157 varie de 1 à 15 (sur les 20 prélèvements effectués dans chaque enclos). La moyenne d'échantillons positifs à *E. coli* O157 par enclos est de 1,45. Le nombre d'échantillons de selles positifs à *E. coli* O157 varie de 1 à 14 (sur les 15

prélèvements de selles effectués dans chaque enclos) avec une moyenne d'échantillons de selle positifs à *E. coli* O157 par enclos de 1,27. Les échantillons d'eau positifs à *E. coli* O157 dans les enclos varient de 0 à 3 (sur les 3 prélèvements d'eau effectués dans chaque enclos) et les échantillons de sédiments positifs à *E. coli* O157 de 0 à 2 (sur les 2 prélèvements effectués dans chaque enclos).

Tableau IV : Les enclos et des échantillons positifs pour *E. coli* O157 vs nombre d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 par enclos (maximum 15 échantillons)

Échantillons positifs à <i>E. coli</i> /enclos	Nombre d'enclos	Échant selles positifs à <i>E. coli</i> O157	Échant Eaux positifs à <i>E. coli</i> O157	Échant Sédiments positifs à <i>E. coli</i> O157	Total échant positifs <i>E. coli</i> O157
0	152	0	0	0	0
1	70	67	2	1	70
2	27	43	4	7	54
3	12	30	1	5	36
4	11	38	4	2	44
5	6	25	4	1	30
6	5	22	4	4	30
7	2	12	1	1	14
8	3	19	3	2	24
9	2	18	0	0	18
10	4	35	5	0	40
11	2	21	0	1	22
12	1	12	0	0	12
13	1	11	0	2	13
14	1	14	0	0	14
15	1	14	0	1	15
<b>Total</b>	<b>300</b>	<b>381</b>	<b>28</b>	<b>27</b>	<b>436</b>

### 3.1.2. Les pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les parcs et les enclos

**Au total**, 87 pulsetypes différents d'*E. coli* O157 ont été identifiés dans tous les parcs. Le nombre de pulsetypes varie de 1 à 14 par parc. La moyenne de pulsetypes par parc est de 5,4. Le nombre de pulsetypes par parc dans les selles varie de 1 à 14, dans l'eau de 0 à 4 et dans les sédiments de 0 à 5. En tout 29 pulsetypes (soit 33%) sont présents une seule fois, 15 pulsetypes présents 2 fois, 10 pulsetypes présents 3 fois et 10 autres pulsetypes présents 4 fois. Les 23 autres pulsetypes sont présents plus de 4 fois avec un maximum de 28 présences (Tableau V).

Sur les 87 pulsetypes d'*E. coli* O157 identifiés dans tous les parcs, 46 pulsetypes (soit 53%) ont un seul sous-pulsetype, 23 pulsetypes ont 2 sous-pulsetypes et les 18 autres pulsetypes ont plus de 2 sous-pulsetypes avec un maximum de 7 sous-pulsetypes par pulsetype. La majorité des pulsetypes, soit 55 pulsetypes (plus de 63%) ne sont présents que dans un seul parc, 17 pulsetypes sont présents dans 2 parcs et les 15 autres pulsetypes sont présents dans 3 parcs ou plus avec un maximum de présence dans 7 parcs. Si on ne considère que les 46 pulsetypes qui n'ont qu'un seul sous-pulsetype, on constate que l'immense majorité soit 41 pulsetypes (89%) ne sont présents que dans un seul parc. Aussi, si on considère les 55 pulsetypes qui ne sont présents que dans un seul parc, on constate que la majorité de ces pulsetypes soit 41 (74,5%) n'ont qu'un seul sous-pulsetype.

Dans tous les parcs où il y a plus d'un pulsetype, on a constaté qu'un pulsetype est plus fréquent que les autres. Ce pulsetype dit «dominant» ou «majoritaire» représente entre 15,38 et 71,42% de l'ensemble des échantillons positifs à *E. coli* O157. En moyenne le pulsetype dit dominant représente 47,57% des échantillons positifs à *E. coli* O157 du parc.



Figure 2 : Les pulsetypes d'*E. coli* O157 en fonction de la nature du prélèvement dans les parcs

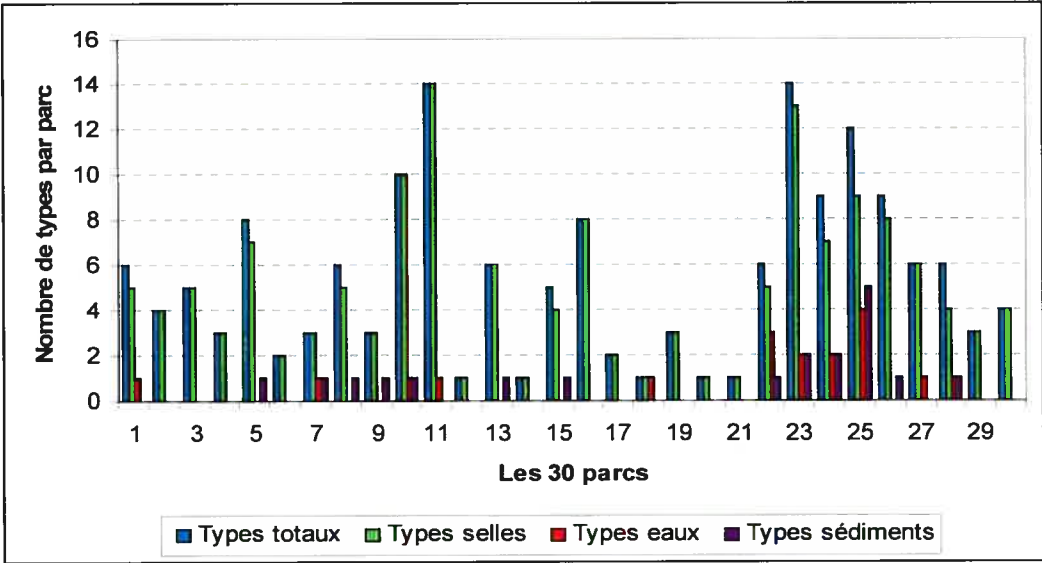
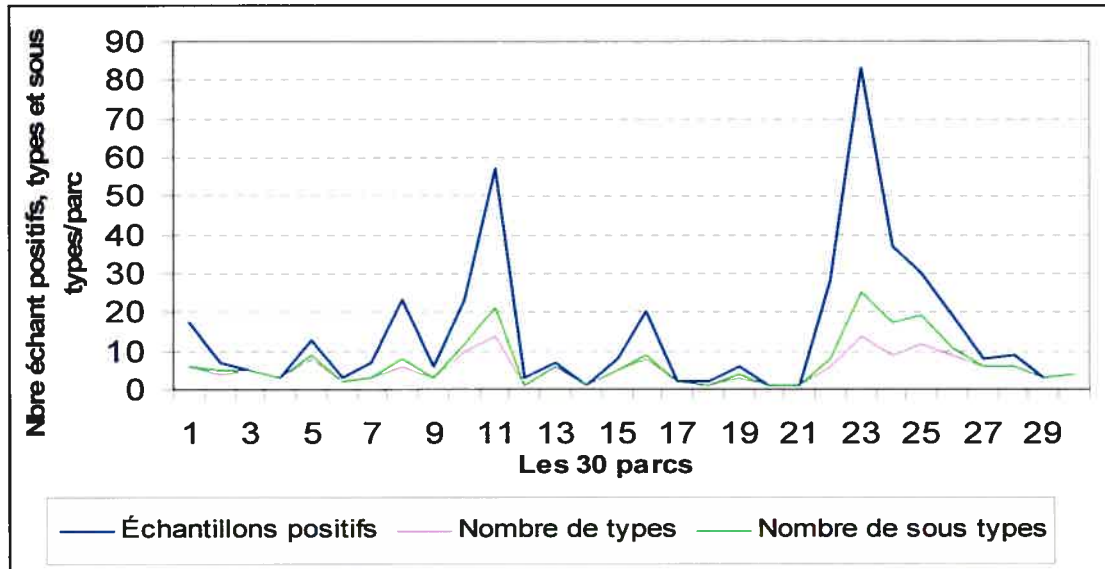


Tableau V: Distribution des pulsetypes d'*E. coli* O157 en fonction du nombre de pulsetypes par parc (maximum de 28 présences par parc)

Nombre pulsetype par parc	d'un donné	Nombre pulsetypes correspondants	de sous- pulsetypes correspondants	de sous-pulsetype par pulsetype	Nbre moyen de	Nombre de concernés	total parcs
1		29	29	1		29	
2		15	24	1,6		21	
3		10	18	1,8		21	
4		10	18	1,8		15	
5		4	9	2,25		12	
6		2	5	2,5		6	
7		1	3	3		1	
8		3	5	1,6		4	
10		2	7	3,5		8	
11		1	3	3		6	
12		1	2	2		1	
13		2	5	2,5		2	
14		1	4	4		4	
22		1	5	5		4	
23		1	7	7		2	
24		1	6	6		7	
25		1	6	6		7	
27		1	5	5		6	
28		1	4	4		2	

Figure 3 : Nombre d'échantillons positifs pour *E. coli* O157, de pulsetypes et de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 par parc\*



\*Corrélations : Échantillons positifs à *E. coli* O157 vs pulsetype d'*E. coli* O157 ( $R_t=0,795$ ) et Échantillons positifs à *E. coli* O157 vs sous-pulsetype d'*E. coli* O157 ( $R_{st}=0,866$ )

**Dans les enclos**, le nombre de pulsetype d'*E. coli* O157 varie de 0 à 5. La moyenne de pulsetype par enclos est de 0,77. Si on ne considère que les enclos positifs pour *E. coli* O157, cette moyenne passe à 1,56. Le nombre de pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les selles varie de 0 à 5, dans l'eau de 0 à 2 et dans les sédiments de 0 à 1. Nous avons 152 enclos négatifs pour *E. coli* O157 et 148 enclos positifs pour *E. coli* O157. Parmi les enclos positifs pour *E. coli* O157, 95 n'ont qu'un seul pulsetype d'*E. coli* O157 et 33 deux pulsetypes d'*E. coli* O157. Les 20 autres enclos comptent plus de 2 pulsetypes d'*E. coli* O157 avec un maximum de 5 pulsetypes d'*E. coli* O157 par enclos (Tableau VI).

Tableau VI : Nombre d'enclos en fonction du nombre de pulsetypes d'*E. coli* O157 par enclos (maximum 5 pulsetypes par enclos)

Nombre de pulsetypes par enclos	Nombre d'enclos	Pourcentage des enclos
0	152	50,67
1	95	31,67
2	33	11
3	13	4,33
4	4	1,33
5	3	1
<b>Total</b>	<b>300</b>	<b>100</b>

### 3.1.3. Les sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les parcs et les enclos

**Au total**, 165 différents sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 ont été identifiés dans les parcs. Le nombre de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 varie de 1 à 25 par parc. La moyenne de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 par parc est de 6,9. Le nombre de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les selles varie de 1 à 25 et dans l'eau comme dans les sédiments de 0 à 5. En tout 91 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 (plus de 55%) sont présents une seule fois, 30 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents 2 fois, 12 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents 3 fois et 9 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents 4 fois. Les 23 autres sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents plus de 4 fois avec un maximum de 17 présences (Tableau VII). De plus, 138 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 (83,6%) ne sont présents que dans un seul parc, 20 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans 2 parcs et seulement 7 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157

sont présents dans plus de 2 parcs avec une présence dans un maximum de 5 parcs.

Dans tous les parcs où il y a plus d'un sous-pulsetype d'*E. coli* O157, on a constaté qu'un sous-pulsetype est plus fréquent que les autres. Ce sous-pulsetype dit «dominant» ou «majoritaire» représente entre 12 et 71,42% de l'ensemble des échantillons positifs pour *E. coli* O157. En moyenne, le sous-pulsetype d'*E. coli* O157 dit majoritaire représente 44,52% des échantillons positifs pour *E. coli* O157.

Figure 4 : Les sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 en fonction de la nature du prélèvement dans les parcs

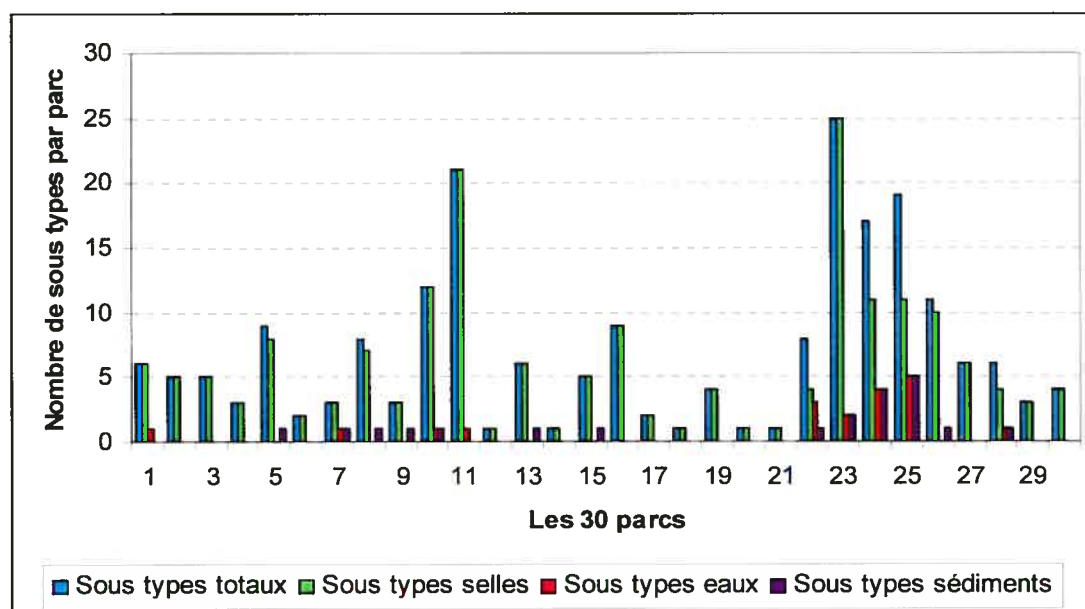


Tableau VII : Distribution des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 en fonction du nombre de présence de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 par parc (maximum de 17 présences par parc)

Nombre de présence d'un sous-pulsetype O157 par parc	Nombre de sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 correspondants	Nombre total d'enclos concernés
1	91	91
2	30	41
3	12	20
4	9	10
5	3	5
6	2	2
7	2	2
8	6	9
9	4	12
10	1	1
11	1	3
12	1	1
13	2	3
17	1	2

**Dans les enclos**, le nombre de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 varie de 1 à 7. La moyenne de sous-pulsetype par enclos est de 0,85. Si on ne considère que les enclos positifs, la moyenne passe à 1,72. Le nombre de sous-pulsetypes dans les selles varie de 0 à 5, dans l'eau et dans les sédiments il varie de 0 à 2. Nous avons 152 enclos négatifs et 148 enclos positifs pour *E. coli* O157. Parmi les enclos positifs pour *E. coli* O157, 93 n'ont qu'un seul sous-pulsetype d'*E. coli* O157

et 25 deux sous-pulsetypes d'*E. coli* O157. Les 30 autres enclos comptent plus de 2 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 avec un maximum de 7 sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 par enclos (Tableau VIII).

Tableau VIII : Distribution des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 par enclos (maximum de 7 sous-pulsetypes par enclos)

Nombre de sous-pulsetypes d' <i>E. coli</i> O157 par enclos	Nombre d'enclos correspondants	Pourcentage par rapport à l'ensemble des enclos
0	152	50,67
1	93	31
2	25	8,33
3	19	6,33
4	5	1,67
5	3	1
6	2	0,67
7	1	0,33
Total	300	100

#### 3.1.4. Situation particulière des abreuvoirs

Outre les prélèvements de selles, 1500 prélèvements (900 eaux et 600 sédiments) ont été effectués dans les abreuvoirs. Dans chaque parc, 30 prélèvements d'eau et 20 prélèvements de sédiments ont été effectués soit 3 prélèvements d'eau et 2 prélèvements de sédiments par enclos. Au total, 55 prélèvements effectués dans les abreuvoirs ont été positifs à *E. coli* O157 et sont répartis dans 31 enclos sur les

300 et dans 17 parcs sur les 30, chaque enclos ne disposant que d'un seul abreuvoir.

**Au niveau des parcs**, le nombre d'échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157 varie de 0 à 11. La moyenne d'échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157 par parc est de 1,83. Si on ne considère que les 17 parcs où les abreuvoirs ont au moins un échantillon positif à *E. coli* O157, la moyenne passe à 3,23. Dans 8 parcs, on n'a qu'un seul échantillon d'abreuvoir positif pour *E. coli* O157, dans 3 parcs on a 2 échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157 et les 6 autres parcs comptent entre 4 et 11 échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157. Il en résulte donc que dans 9 parcs, on a au moins deux échantillons d'abreuvoir positifs pour d'*E. coli* O157. De ces 9 parcs, 4 parcs ont les mêmes pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs et 5 parcs ont des pulsetypes d'*E. coli* O157 différents dans les abreuvoirs. Le nombre de pulsetypes d'*E. coli* O157 différents dans les abreuvoirs varie de 2 à 5 par parc dans les 5 parcs ayant plus d'un pulsetype dans les abreuvoirs. En même temps, dans 3 parcs on a les mêmes sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs et dans 6 parcs on a des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 différents dans les abreuvoirs. Le nombre de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs varie de 2 à 5 par parc dans les 6 parcs ayant plus d'un sous-pulsetype d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs. Sur les 17 parcs ayant un échantillon d'abreuvoir positif pour *E. coli* O157, dans 5 parcs, les pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 retrouvés dans les abreuvoirs sont différents de ceux retrouvés dans les selles et dans 12 parcs (soit 70,59%) les pulsetypes d'*E. coli* O157 sont les mêmes entre les abreuvoirs et les selles.

**Au niveau des enclos**, le nombre d'échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157 varie de 0 à 5. La moyenne d'échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157 par enclos est de 0,18. Si on ne considère que les 31 enclos où les



échantillons d'abreuvoirs sont positifs pour *E. coli* O157, la moyenne passe à 1,77. Dans 17 enclos (soit 55%) on ne compte qu'un seul échantillon d'abreuvoir positif pour *E. coli* O157, dans 9 enclos on compte 2 échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157. Dans les 5 autres enclos on a plus de 2 échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157 avec un maximum de 5 échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157. Donc 14 enclos ont au moins deux échantillons d'abreuvoir positifs pour *E. coli* O157. De ces 14 enclos, 8 enclos ont le même pulsetype d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs et 6 enclos ont des pulsetypes d'*E. coli* O157 différents dans les abreuvoirs. Le nombre de pulsetypes d'*E. coli* O157 différents dans ces abreuvoirs varie de 2 à 3 par enclos dans les 6 enclos ayant plus d'un sous-pulsetype d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs. Dans 7 enclos on a les mêmes sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs et dans 7 autres enclos on a des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 différents dans les abreuvoirs. Le nombre de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans ces abreuvoirs varie de 2 à 3 par enclos pour les enclos ayant plus d'un sous-pulsetype d'*E. coli* O157 dans les abreuvoirs. Sur les 31 enclos ayant au moins un échantillon d'abreuvoir positif pour *E. coli* O157, 24 enclos (soit 77,41%) ont en plus des échantillons de selles positifs pour *E. coli* O157. Dans 10 enclos sur les 24 (soit 41,67%), les pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 des abreuvoirs sont différents de ceux retrouvés dans les selles et dans 14 enclos (soit 58,33%), les pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 retrouvés dans les abreuvoirs sont les mêmes que ceux retrouvés dans les selles.

## 3.2. Les facteurs de risque

### 3.2.1. Les facteurs liés à la présence des échantillons positifs pour *E. coli* O157

Le modèle est restreint aux variables d'enclos. Le modèle de régression binomiale négative univariée, tenant en ligne de compte le nombre d'échantillons prélevés et avec le parc comme facteur aléatoire (pour contrôler la similarité possible des valeurs à l'intérieur d'un même parc), a permis d'identifier les variables suivantes au seuil de 0,25 : poids, race, densité (nombre de pieds carrés par animal) et origine des animaux. L'analyse multiple avec la méthodologie rétrograde (backward) a permis de détecter un effet significatif de la densité ( $p = 0,04$ ), de l'origine ( $p = 0,005$ ) et de la race ( $p < 0,0001$ ). La prévalence augmentait par un facteur de 0,1% si l'espace moyen réservé à l'animal augmentait d'un pied carré. La prévalence augmentait aussi par un facteur de 113,7% lorsque les vaches venaient de l'extérieur (abroad) plutôt que du Kansas et diminuait par un facteur de 79,8% lorsque les vaches étaient de race Brahmane plutôt que d'autres races.

Tableau IX : Analyse des estimés des paramètres GEE\* des facteurs liés à la présence d'échantillons positifs à *E. coli* O157

Paramètres	Estimé	Erreur standard	Limites de confiance à 95%		Z	Pr <  Z
Intercepte	-3.3624	0.2113	-3.7765	-2.9482	-15.91	<0.0001
Densité ( $\rho^2$ par animal)	0.0010	0.0005	0.0000	0.0019	2.04	0.0412
Race Brah	-1.5975	0.1799	-1.9501	-1.2448	- 8.88	<0.0001
Race Other	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
From abroad	0.7596	0.2711	0.2283	1.2909	2.80	0.0051
From Kansas	0.0000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

\* GEE : generalizing estimating equations

### 3.2.2. Étude des facteurs liés à la diversité des pulsetypes d'*E. coli* O157

Le modèle est restreint aux variables d'enclos. Le modèle de régression binomiale négative univariée, tenant en ligne de compte le nombre d'échantillons prélevés et avec le parc comme facteur aléatoire (pour contrôler la similarité possible des valeurs à l'intérieur d'un même parc), a permis d'identifier les variables suivantes au seuil de 0,25 : daysinpen, etatsol, race, poids et monthin. L'analyse multiple avec la méthodologie rétrograde (backward) a permis de détecter un effet significatif de la race ( $p = 0,0004$ ). Le nombre de pulsetype diminuait par un facteur de 69,1% lorsque les vaches étaient de race Brahmane plutôt que d'autres races.

Tableau X : Analyse des estimés des paramètres GEE des facteurs liés à la diversité des pulsetypes d'*E. coli* O157

Paramètres	Estimé	Erreur standard	Limites de confiance à 95 %		Z	Pr <  Z
Intercepte	-3.2237	0.1613	-3.5399	-2.9075	-19.98	<0.0001
Race Brah	-1.1735	0.3319	-1.8239	-0.5230	- 3.54	<0.0004
Race Other	0.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

GEE : generalized estimating equations

### 3.2.3. Étude des facteurs liés à la diversité des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157

Le modèle est restreint aux variables d'enclos. Le modèle de régression binomiale négative univariée, tenant en ligne de compte le nombre d'échantillons prélevés et avec le parc comme facteur aléatoire (pour contrôler la similarité possible des valeurs à l'intérieur d'un même parc), a permis d'identifier les variables suivantes au seuil de 0,25 : monthin, race et etatsol. L'analyse multiple avec la méthodologie rétrograde (backward) a permis de détecter un effet significatif de l'état du sol ( $p = 0,03$ ) et de la race ( $p < 0,0001$ ). Le nombre de sous-pulsetype augmentait par un facteur de 31,3% lorsque le sol était du type 'below' (humide) plutôt que du type 'dry' (sec) et diminuait par un facteur de 82.9% lorsque les vaches étaient de race Brahmane plutôt que d'autres races.

Tableau XI : Analyse des estimés des paramètres GEE\* des facteurs liés à la diversité des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157.

Paramètres	Estimé	Erreur standard	Limites de confiance à 95%		Z	Pr <  Z
Intercepte	-3.1582	0.1884	-3.5195	-2.7969	-17.13	<0.0001
Étatsol	0.2723	0.1281	0.0212	0.5234	2.13	0.0335
below						
Etatsol	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.000	0.0000
Race Brah	- 1.7646	0.0689	- 1.8997	- 1.6296	- 25.61	<0.0001
Race Other	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

\*GEE : generalized estimating equations

Tableau XII : Enclos et échantillons positifs pour *E. coli* O157 reliés aux facteurs de risque

Facteurs significatifs	Nombre d'enclos prélevés	Nombre d'enclos positifs à <i>E. coli</i> O157	Nombre d'échantillons prélevés	Nombre d'échantillons positifs à <i>E. coli</i> O157
Race Brahman	13	3	260	4
Race Other	287	145	5739	432
Origine Kansas	113	59	2259	87
Origine Abroad	187	94	3740	349
Étatsol humide	33	16	660	35
État sol dry	267	132	5339	40

L'espace disponible varie de 12 à 840 pi<sup>2</sup>/animal

### 3.3. Analyse spatiale

L'analyse spatiale par la normale approximation (Méthode de «*Cuzick and Edwards*») n'a permis la détection d'aucun agrégat (cluster) notable ( $p > 0,10$ ) dans les comtés, que ce soit pour les échantillons positifs, les pulsetypes ou les sous-pulsetypes.

## Chapitre quatrième : Discussion générale

### 4.1. Description statistique des échantillons positifs pour *E. coli* O157, des pulsetypes et des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157

L'un des objectifs de cette étude est l'analyse statistique des échantillons positifs pour *E. coli* O157, des pulsetypes et des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157.

Les résultats des échantillons positifs pour *E. coli* O157 sont consignés à trois niveaux :

- Au niveau des parcs, 100% des parcs sont positifs pour *E. coli* O157 (Tableau III),
- Au niveau des enclos, 49% des enclos sont positifs pour *E. coli* O157 (Tableau IV),
- En considérant l'ensemble des échantillons prélevés, 7,27% des échantillons sont positifs pour *E. coli* O157 (Tableau II).

Ces résultats montrent qu'*E. coli* O157 est présent dans tous les parcs échantillonnés au Kansas et dans 49% des enclos. Dans tous les enclos positifs pour *E. coli* O157, au moins un échantillon de selle positif pour *E. coli* O157 est retrouvé. Ceci montre que les bovins excrètent communément *E. coli* O157 dans les parcs, confirmant ainsi son caractère ubiquitaire (Sargeant et al. 2003, Sargeant et al. 2004A, Sanderson et al. 2005, Dewell et al. 2005, Smith et al. 2001, Elder et al. 2000). Au Canada aussi, les études ont montré qu'*E. coli* O157 est très répandu dans les parcs (Renter et al. 2004, Gannon et al. 2002, Van Donkersgoed et al. 2005) de même qu'en Australie et en Europe (Fegan et al. 2004, Rugbjerg et al. 2003).

Par contre, nous notons que le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 dans la plupart des enclos est très faible. En effet, 70 enclos sur les 148 positifs (soit plus de 47%) ne disposent que d'un seul échantillon positif pour *E. coli* O157 (Tableau IV). Cette observation a aussi été rapportée dans d'autres travaux qui ont montré le faible pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 dans les enclos (LeJeune et al. 2006, Galland et al. 2001, Hancock et al. 1994, Hancock et al. 1997, Tilden et al. 1996).

Malgré les similitudes au niveau des résultats, il est difficile d'établir une comparaison avec les autres travaux. En effet, seuls 15 prélèvements de selles ont été effectués dans chacun des enclos et 150 dans chacun des parcs. Cette taille d'échantillon permet de détecter au moins un échantillon positif au cas où le pourcentage d'échantillons positifs est supérieur à 6,67% au niveau des enclos et de 2% au niveau des parcs avec un niveau de confiance de 95%. Les enclos ou les parcs avec un pourcentage plus bas ne seraient donc pas détectés. Sans pour autant perdre son caractère aléatoire, l'échantillonnage s'était intéressé qu'aux animaux en fin d'embouche. Les premiers animaux qui ont déféqué ont été sélectionnés. Aussi, l'excrétion d'*E. coli* O157 se fait de manière transitoire (Besser et al. 2001) et certains animaux qui sont avérés négatifs ne le seraient pas en réalité si les prélèvements avaient par exemple été effectués à plusieurs reprises.

Les animaux qui ont fait partie de l'étude sont ceux qui sont en fin d'embouche, à un mois de la date d'abattage. Or c'est au moment de leur arrivée que les animaux excrètent massivement *E. coli* O157. En effet, les animaux nouvellement arrivés dans les enclos depuis moins de 30 jours sont 6 fois plus susceptibles d'excréter la bactérie que ceux qui y sont depuis plus de 30 jours (Stanford et al. 2005B). Tous ces arguments montrent que le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 que nous avons trouvé a pu être sous-estimé. En revanche, la méthode



d'isolement utilisée, à savoir la séparation immunomagnétique est beaucoup plus sensible que celles basées sur la culture directe voire le PCR (Chapman et al. 1994, McDonough et al. 2000, Scott et al. 2006), mais aussi, la période estivale choisie pour les prélèvements, saison d'excrétion maximale de la bactérie par les animaux (Hancock et al. 1997, Chapman et al. 1997, Van Donkersgoed et al. 1999), a pu faciliter notre résultat.

*E. coli* O157 a aussi été isolé des échantillons prélevés dans les abreuvoirs (eau et sédiments) de 31 enclos sur les 148 positifs (soit 20,95%), répartis dans 17 sur 30 des parcs selon nos résultats. Aussi, dans 70,59% des parcs et 58,33% des enclos, les pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 retrouvés dans les abreuvoirs sont les mêmes que ceux retrouvés dans les selles des animaux vivants dans les mêmes parcs et enclos alors que dans 29,41% des parcs et 41,67% des enclos, les pulsetypes d'*E. coli* O157 retrouvés dans les abreuvoirs étaient différents de ceux retrouvés dans les selles. Les échantillons d'eau et de sédiments positifs à *E. coli* O157 sont plus nombreux dans les parcs où les échantillons de selles positifs à *E. coli* O157 sont les plus fréquents. La présence de la bactérie dans les abreuvoirs peut être expliquée par plusieurs hypothèses. Premièrement, la présence de la bactérie peut être due à une contamination de l'eau d'abreuvement par les déjections des animaux. Plusieurs études ont démontré que l'eau peut être souillée par les déjections des animaux mais aussi par leur bouche (Chapman et al. 1997, Elder et al. 2000, Gannon et al. 2005, LeJeune et al. 2001, Michel et al. 1999, Smith et al. 1997, Valcour et al. 2002). Aussi, selon une étude menée par Sargeant et al. 2004B, il existerait une association positive entre la présence d'*E. coli* O157 dans les enclos et le nombre élevé de bactérie dans l'eau, émettant ainsi l'hypothèse selon laquelle une forte concentration d'*E. coli* O157 et des coliformes dans l'eau serait très probablement due à une contamination fécale (Sargeant et al. 2004B, Smith et al. 1997). Cette

hypothèse peut expliquer la raison pour laquelle dans 70,59% des parcs et 58,33% des enclos, les pulsetypes et sous-pulsetypes retrouvés dans les abreuvoirs sont les mêmes que ceux retrouvés dans les selles.

D'autres travaux s'appuyant sur les analyses génétiques des souches d'*E. coli* O157 dans les fèces de bovins et dans l'eau de boisson ont montré aussi que l'eau peut être contaminée par les déjections des bovins (Van Donkersgoed et al. 2001, Hancock et al. 1997, Smith et al. 2001). De plus, il a été expérimentalement prouvé qu'*E. coli* O157 vit longtemps dans l'eau et les sédiments (LeJeune et al. 2001, Wang et Doyle 1998). En plus, l'eau, l'aliment et l'environnement sont reconnus comme véhicules pour la dissémination d'*E. coli* O157 (Cobbold et Desmarchelier 2001, Dodd et al. 2003, McSweeney et al. 2004, O'Brien et al. 2001, Payne et al. 2003, Renter et Sargeant et Smith 2003, Van Donkersgoed et al. 2001), contribuant ainsi à la contamination des animaux. Mais il est à noter aussi que dans 29,41% des parcs et 41,67% des enclos, les souches dans les abreuvoirs étaient différentes de celles retrouvées dans les fèces. Cette situation pourrait être due aux souches restées longtemps dans les abreuvoirs et ayant possiblement subi des variations génétiques (Barkocy-Gallager et al. 2001, Galland et al. 2001) ou même une sélection par le milieu.

Deuxièmement, l'eau peut aussi être contaminée par des animaux non domestiques comme les oiseaux, mais aussi par la poussière et la litière (Sargent et al. 2003, Sargeant et al. 2004B). Plusieurs auteurs ont mis en cause le rôle de la litière dans la contamination de l'eau (LeJeune et Kauffman 2005, Davis et al. 2005, Yang et al. 2004, Smith et al. 2000). De cette façon, la bactérie peut rester longtemps dans les abreuvoirs avant même l'arrivée des animaux. Une troisième hypothèse pour expliquer la contamination des échantillons des abreuvoirs est qu'*E. coli* O157:H7 a été isolé de la cavité buccale des bovins et parfois plus

fréquemment que dans les selles et il est possible que l'eau soit contaminée par les bactéries de la cavité buccale des animaux. Ce constat est conforme aux travaux effectués par certains auteurs (Keen et Elder. 2002, Aslam et al. 2004). Enfin, l'observation selon laquelle les échantillons d'eau et de sédiments positifs pour *E. coli* O157 sont beaucoup plus nombreux dans les parcs où le nombre d'échantillons de selles positifs pour *E. coli* O157 est plus important, peut être expliquée par le nombre élevé d'animaux excréant la bactérie, les possibilités de contamination des abreuvoirs étant alors multipliées. L'analyse des pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 montre qu'au total, 87 pulsetypes et 165 sous-pulsetypes différents d'*E. coli* O157 ont été identifiés dans les parcs. Ensuite, 29 pulsetypes sur 87 (soit 33% des pulsetypes) (Tableau V) et 91 sous-pulsetypes sur 187 (soit 55% des sous-pulsetypes) (Tableau VII) sont présents en un seul exemplaire alors que 55 pulsetypes (soit 63%) et 138 sous-pulsetypes (soit 83,63%) sont présents dans un seul parc selon nos résultats.

Le nombre important de pulsetypes et sous-pulsetypes retrouvés dans les parcs pourrait être attribué à plusieurs causes. Notons avant tout que le nombre de pulsetypes et de sous-pulsetypes est fonction du pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 comme le montre la figure 4. Et ce pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 est fortement corrélé avec le nombre de pulsetypes ( $R_t=0,795$ ) et avec le nombre de sous-pulsetypes ( $R_{st}=0,866$ ). L'utilisation de l'analyse PFGE avec le coefficient de Dice pour distinguer les souches, pose un certain nombre de problèmes. En effet, le choix du matériel génétique et son état de fraîcheur, le logiciel et l'algorithme choisis sont susceptibles de modifier les résultats. Le seuil du coefficient de Dice fixé dans cette étude, permet de montrer qu'il y a une différence entre deux souches sans pour autant dire à quoi correspond cette différence ni même l'étendue de celle-ci. En effet, la limite fixée pour distinguer deux souches n'est pas inéquivoque car

c'est sur la base de quelques bandes que les isolats sont reliés ou différenciés (Böhm et Karch 1992).

Néanmoins, nos résultats sont conformes à plusieurs travaux qui ont tous mis en évidence un nombre important de souches d'*E. coli* O157 chez les bovins (Laegried et al. 1999, Barkocy-Gallager et al. 2001, Bettelheim et al. 2005, Galland et al. 2001, Akiba et al. 1999, Bono et al. 2004, Blanco et al. 2003, Aslam et al. 2004, Yang et al. 2004). Biologiquement, les bovins sont en mesure de porter de nombreuses souches d'*E. coli* O157 simultanément dans leur organisme (Wallace 1999, Rice et al. 1999). Ces souches peuvent être influencées par le développement anatomique du tractus gastro-intestinal (Aslam et al. 2004, Bettelheim et al. 2005). Certains facteurs tels que le niveau des hormones et le stress, peuvent aussi expliquer la présence de nombreuses souches dans l'organisme de l'animal (Bettelheim et al. 2005). L'alimentation, surtout si elle est riche en céréales a aussi été identifiée comme un facteur qui favorise la présence des souches d'*E. coli* O157 (Bach et al. 2005, Dewell et al. 2005).

Les différents pulsetypes et sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 retrouvés proviendraient surtout des variations génétiques (perte ou gain de matériel génétique). Ce sont des phénomènes très courants chez les *Enterobacteriaceae* (Sanderson et Liu 1998, Wallace 1999, Savageau 1974) et qui se produisent avec le temps (Tenover et al. 1995). Les variations génétiques constituent un élément important dans le processus pathogène de la bactérie (Barkocy-Gallager et al. 2001, Wallace 1999). En effet, les changements génétiques sont des phénomènes qui se produisent selon un processus normal de développement des bactéries. Ces phénomènes sont soit le reflet du vieillissement des colonies, soit des moyens de défense (Wallace 1999). Il a même été démontré que les patrons PFGE générés sont dus pour une large part aux transferts de matériel génétique tels que

les inversions, les translocations, les mutations (Sanderson et Liu 1998). Il serait probable que ces variations soient dues aux variations génétiques ou une sélection naturelle. Une étude prenant en compte la dynamique des bactéries serait nécessaire pour évaluer précisément la nature de ces variations.

Nos résultats montrent aussi que 33% des pulsetypes et 55% des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents en un seul exemplaire alors que 63% des pulsetypes et 83,63% des sous-pulsetypes sont présents dans un seul parc. Par conséquent, 67% des pulsetypes et 45% des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents en plus d'un exemplaire et 37% des pulsetypes et 16,37% des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 sont présents dans plus d'un parc à des fréquences variées. La majorité des souches est sur-dispersée et présente une seule fois, montrant que de nombreuses souches seraient introduites dans les parcs par les animaux à leur arrivée. En effet les animaux portent dans leurs fèces, sur leur peau et dans leur cavité buccale des bactéries qu'ils amènent dans leur nouvel environnement. Ce constat est conforme avec les conclusions d'autres travaux (Galland et al. 2001, Bettelheim et al. 2005). Les bactéries, du moins une partie, seraient vraisemblablement arrivées dans les parcs et enclos avec les animaux lors du peuplement des parcs.

Cependant, cette étude étant de type transversale, il ne nous est pas possible de connaître la période d'introduction des bactéries *E. coli* O157 dans les enclos ni leur dynamique. Par contre, quelques souches sont aussi présentes en une fréquence élevée sans pour autant être la même dans les différents parcs et enclos concernés. Ceci accrédirait ainsi l'idée de l'existence de souches propres à certains parcs et enclos qui constitueraient une source commune de contamination pour les animaux comme l'a remarqué aussi d'autres auteurs (Gannon et al. 2002). Enfin, quelques souches sont présentes dans plusieurs

parcs et enclos sans forcément avoir une fréquence élevée, ne nous permettant pas de conclure à l'existence de souches résidentes. Ce constat a aussi été fait par d'autres auteurs. En effet, il n'est pas rare de constater dans les parcs, la cohabitation entre les souches établies et les souches venues avec les animaux (Galland et al. 2001). Les animaux se contaminant par contact entre eux et avec l'environnement.

Sur les 87 pulsetypes d'*E. coli* O157 recensés, 46 sont présents dans un seul parc. De ce nombre, 41 pulsetypes (soit 89%) n'ont qu'un seul sous-pulsetype. Ce qui montre que les pulsetypes circonscrits à un environnement précis, donc sur-dispersés, présentant moins de sous-pulsetypes que les pulsetypes retrouvés dans plusieurs parcs (sous-dispersés). Ce constat pourrait être expliqué par l'existence de niches écologiques ou animales. En effet, la grande diversité génétique observée chez *E. coli* O157, montre simplement une espèce bactérienne avec un grand nombre de souches dans des niches variées. Ce constat a aussi été fait par d'autres auteurs qui montrent en fait que la bactérie s'adapte pour vivre et se multiplier sous diverses conditions (Jarvis et al. 2000, Savageau 1974).

#### 4.2. Les facteurs de risque

Un autre objectif de notre étude était d'analyser les facteurs de risque qui influenceraient les variables dépendantes à savoir le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157, la diversité de pulsetypes et de sous-pulsetypes d'*E. coli* O157. Le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 est positivement

associé au nombre de pieds carrés par animal ( $p=0,04$ ) et à l'origine extérieure des animaux ( $p=0,005$ ) mais négativement associée à la race Brahmane ( $p<0,0001$ ). La diversité des pulsetypes d'*E. coli* O157 est négativement associée à la race Brahmane ( $p=0,0004$ ) et la diversité des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 est positivement associée à l'état humide du sol ( $p=0,03$ ) et négativement associée à la race Brahmane ( $p<0,0001$ ).

L'espace disponible en pieds carrés par animal (pouvant traduire la densité) est positivement associé au pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 et si l'espace disponible augmente d'un pied carré, le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 augmente de 0,1%. Ce constat pourrait être expliqué par le fait que les grandes quantités d'urines émises pourraient stagner et en se fermentant, contribueraient à réduire le pH dans les enclos et empêcher ainsi le développement des bactéries. En effet, *E. coli* O157 a un développement optimal autour d'un pH neutre. Une étude a permis de mettre en évidence le rôle de l'urine de bovins (expérimentalement nourris de foin dans le but d'avoir une urine basique) dans le développement d'*E. coli* O157 sur une litière de copeau de cèdre arrosée d'urine diluée à 10% et conclut que la bactérie s'y développe mieux que sur une litière de même nature arrosée d'eau stérile (Davis et al. 2005). Ici, l'urine a été utilisée spécialement pour augmenter le pH du copeau de cèdre qui en lui-même est déjà acide.

On pourrait aussi penser au fait que les enclos moins densément peuplés seraient moins bien entretenus. En effet, plus le nombre d'animaux dans l'enclos est faible, plus l'espace occupé par chaque animal s'accroît. Ainsi les employés pourraient être hypothétiquement amenés à se concentrer sur les enclos les plus peuplés au détriment des moins peuplés lors des travaux d'entretien. Une autre hypothèse serait que les enclos moins densément peuplés pourraient être constitués d'un

mélange d'animaux malades mis en quarantaine, ou qui ont des problèmes de compétition dans les enclos et mis à l'écart. Plus l'espace disponible est grand, plus les mouvements sont plus fluides et les contacts variés ce qui peut augmenter les contaminations. Mais en tout état de cause, notre résultat semble en contradiction avec de nombreux travaux qui montrent que la densité animale élevée, augmente la promiscuité entre les animaux et est favorable au développement et à la transmission d'*E. coli* O157 (Huston et al. 2002, Laegrid et al. 1999, Gannon et al. 2002, Chapman et al. 1997, Sargeant et al. 2004B, LeJeune et al. 2004, Nielsen et al. 2002).

L'état humide du sol est positivement associé à la diversité des sous-pulsetypes d'*E. coli* O157 dans les enclos selon nos résultats. Si le sol passe d'un état sec à un état humide, le nombre de sous-pulsetype augmente de 31,3%. En effet l'humidité est favorable à la multiplication de la bactérie. Ce constat est conforme avec d'autres travaux qui associent le risque de trouver *E. coli* O157 à l'humidité (Smith et al. 2001, Sargeant et al. 2004A). L'une des études montre même que ce risque s'accroît si on effectue les prélèvements à la suite d'une grande pluie intervenue dans la même semaine alors que ce risque s'amenuise si la pluie est intervenue dans la semaine précédant le prélèvement (Sargeant et al. 2004B). Ce résultat est en adéquation avec la biologie de la bactérie (Mead et Griffin 1998, Bopp et al. 2003A, Renter et al. 2002, Sargeant et Smith 2003, Davis et al. 2005) qui trouve ainsi des conditions favorables pour son développement. Les enclos mouillés présentent les conditions favorables pour le développement de la bactérie et les mouvements des bovins contribueraient à réveiller les bactéries qui vivent dans le sol (Smith et al. 2001). Par contre il a été noté dans l'étude, une association négative entre une précipitation moyenne dans la semaine précédant les prélèvements et la prévalence d'*E. coli* O157 (Van Donkersgoed et al. 2001).



Toutefois dans cette dernière étude, les prélèvements ont duré une année et le sol, même vidé de ses occupants, reste contaminé. Ceci a été démontré par une étude qui a permis d'analyser plusieurs échantillons de sols dans les enclos et à différentes profondeurs. Tous les échantillons de sol recueillis sur une profondeur de 25cm (10 inches) étaient positifs pour *E. coli* O157 (Yang et al.2004).

L'origine extérieure est positivement associée au pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 ( $p=0,005$ ) et chaque fois que les animaux provenaient de l'extérieur plutôt que du Kansas, le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 augmentait de 113,7%. Pour expliquer ce constat, nous pourrions penser à l'origine géographique des animaux dont une étude a déjà mis en évidence le rôle en rapport avec la prévalence d'*E. coli* O157 (Dewell et al. 2005). En effet, les animaux provenant du centre du Nebraska avaient une prévalence 9 fois plus élevée que celle des animaux provenant de l'Est du Colorado. Si le Kansas et le Nebraska présentent une topographie équivalente constituée de hautes plaines, en plus d'être sur les mêmes longitudes, le Colorado est plus à l'Ouest avec de hauts plateaux et un climat plus humide. Malgré, cette similitude au niveau du relief, les résultats entre le Kansas et le Nebraska semblent totalement opposés. En effet, le climat au Kansas est un peu plus sec que celui du Nebraska (Dewell et al. 2005, Sargeant et al. 2004B).

La race Brahmane est négativement associée à toutes les variables dépendantes étudiées à savoir le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 ( $p<0,0001$ ), les pulsetypes ( $p=0,0004$ ) et les sous-pulsetypes ( $p<0,0001$ ) d'*E. coli* O157. Chaque fois que la race Brahmane était concernée plutôt qu'une autre, le pourcentage d'échantillons positifs pour *E. coli* O157 diminuait de 79,8%, le nombre de pulsetypes d'*E. coli* O157 de 69,1% et le nombre de sous-pulsetypes

d'*E. coli* O157 de 82,9%. Ce constat pourrait trouver son explication au niveau de la génétique de l'animal. En effet, une étude menée en Floride, dans un climat totalement différent de celui du Kansas a mis en évidence l'effet de la race sur l'excrétion d'*E. coli* O157 et a conclu que les bovins Romosinuano excrétaient moins la bactérie que les bovins Brahmanes et Angus, ces derniers étant élevés sur pâturages. Ce constat aurait été attribué aux variables confondantes sans pour autant écarter l'effet génétique de la race (Riley et al. 2003). Une autre étude menée en Turquie a permis de noter que les races Holstein et Brunes des Alpes (Suisse) excrétaient beaucoup plus *E. coli* O157 que les autres (Yilmaz et al. 2002). La race a encore été prise en compte dans d'autres travaux au Danemark et au Canada afin de mettre en évidence son effet sur *E. coli* O157 (Nielsen et al. 2002, Bach et al. 2004). Même si aucun effet n'a pu lui être attribué, il apparaît évident, au vue des différentes études citées, que la race pourrait être un éventuel important facteur de risque dans l'excrétion d'*E.coli* O157 surtout au regard de l'aspect génétique ou même clinique. Il serait tout à fait plausible que les caractéristiques génétiques de certaines races bovines puissent leur conférer une résistance à l'égard de certaines bactéries. En effet il a déjà été prouvé et établi que certaines races bovines résistent génétiquement à certains parasites comme les trypanosomes (Pagot 1985).

#### 4.3. La détection des agrégats

Aucun agrégat n'a été détecté dans notre étude ce qui sous-entend que tous les cas positifs pour *E. coli* O157 relevés au Kansas sont isolés les uns des autres et il n'y a aucune possibilité raisonnable de les lier. Cette situation est possiblement due à l'échelle spatiale utilisée. En effet le ZIP est une région géographique plus ou moins étendue et il est arrivé que plusieurs parcs se soient retrouvés sous les

mêmes coordonnées géographiques car appartenant au même comté alors qu'en fait ils sont bien éloignés les uns des autres. Les enclos d'un même parc de même que ceux des parcs qui étaient sur le même territoire n'étaient pas non plus géographiquement distinguables. La détection des agrégats serait alors impossible entre les parcs ou les enclos possédant les mêmes coordonnées géographiques. Les références individuelles des parcs ou des enclos par GPS ou même les adresses postales auraient possiblement permis de mettre une variabilité au niveau des échantillons positifs, ce qui aurait facilité la comparaison. Le choix de cette référence géographique est lié au désir des propriétaires de garder l'anonymat. En effet, il leur avait été garanti que les résultats ne feraient aucune mention explicite à leurs entreprises, du fait que la période de l'étude correspondait à la période de l'épidémie de fièvre aphteuse au Royaume-Uni.

La sélection des parcs ainsi que leur distribution sur le territoire de l'étude a probablement été un facteur limitant dans la recherche des agrégats. Cependant, l'origine des animaux peut être aussi envisagée pour expliquer l'absence d'agrégat. Les animaux arrivent dans leur nouvel environnement souvent avec la bactérie. Les parcs situés dans la même zone ne s'approvisionnent pas nécessairement aux mêmes endroits et ainsi les profils bactériologiques des animaux peuvent être très éloignés malgré la proximité géographique.

Le test de «*Cuzick and Edwards*» utilisé, compare les cas (présence d'échantillons positifs) et les contrôles (absence d'échantillons positifs). Tous nos parcs étant positifs, nous avons donc été obligé de redéfinir les contrôles comme les parcs possédant un seul échantillon positif pour permettre la comparaison par cette méthode.

#### 4.4. Les limites et les perspectives de l'étude

L'une des limites de cette étude reste l'utilisation du coefficient de Dice pour distinguer les pulsetypes et les sous-pulsetypes. En effet, avec ce coefficient, il était difficile de faire une distinction inéquivoque entre deux pulsetypes ou entre deux sous-pulsetypes. Il était aussi difficile de comparer nos souches avec celles des autres études. L'autre limite reste les références spatiales pas assez précises pour permettre de détecter les agrégats. Cependant, était-il possible de faire autrement sachant que la confidentialité des parcs était à la base des revendications des propriétaires? L'étude de type transversal n'a pas permis de déterminer les causes et les effets de la présence de la bactérie. Cette étude est utile pour déterminer les futurs champs d'investigation au lieu de prendre les résultats comme vérité incontournable.

En revanche, cette étude offre des perspectives de recherches génétiques, cliniques et épidémiologiques. En effet, la race apparaît de plus en plus comme un facteur de risque et il serait utile de diligenter des études pour préciser l'effet de la race Brahmane ainsi que celle des autres races susceptibles de résister génétiquement ou cliniquement à *E. coli* O157. Sur le plan épidémiologique l'origine géographique des animaux peut être vérifiée à travers une étude comme facteur de risque pour *E. coli* O157 afin de permettre aux éleveurs d'en tenir compte dans la constitution de leurs effectifs. Il serait aussi important d'examiner dans une future étude le rôle que peut jouer l'eau et surtout les sédiments dans les parcs à forte contamination et vice versa.

## Conclusion

Notre projet a permis de confirmer pour le Kansas, les résultats de l'étude de Sargeant et al. 2003 à la hauteur des 4 états du Midwest notamment en ce qui concerne le pourcentage d'échantillons positifs. Elle a aussi permis de montrer comme bien d'autres études, qu'*E. coli* O157 est une bactérie ubiquitaire présentant une variabilité génétique notable. L'état humide du sol a été confirmé comme facteur de risque pour l'apparition d'*E. coli* dans les enclos. La faible densité animale s'est révélée comme un facteur de risque contrairement à la biologie de cette bactérie. Aussi, l'origine des animaux et la race Brahmane apparaissent comme de nouveaux facteurs de risque. Aucun agrégat n'a été détecté dans les parcs. La nature ubiquiste d'*E. coli* O157 dans les parcs d'engraissement illustre bien que le contrôle de cet agent pathogène est un problème pour tous les producteurs en élevage intensif. Un meilleur contrôle des facteurs de risque peut permettre de réduire la prévalence de cette bactérie dans les fermes d'embouche bovine. Mais les facteurs de gestion à eux tous seuls ne peuvent prévenir la présence d'*E. coli* O157 dans les parcs d'engraissement. Il faut donc surveiller toutes les opérations de l'industrie en ayant à l'idée que la maladie humaine ne sera minimisée que si tous les agents pathogènes et tous les points critiques de la chaîne alimentaire sont étroitement surveillés de la ferme à la table.

## BIBLIOGRAPHIE

Ahmed, S; Donaghy, M; (1998): An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in central Scotland. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 59-65.

Akiba, M; Sameshima, T; Nakazawa, M; (1999): The shift of genetic subtypes of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from cattle. *Epidemiology and Infection* 122, 343-346.

Akiba, M; Rice, DH; Davis, MA; Masuda, T; Sameshima, T; Nakazawa, M; and Hancock, DD; (2000): A comparison of *Escherichia coli* O157 isolates from cattle in Japan and the USA by molecular biological methods. *Epidemiology and Infection* 125, 221-224.

Ali, SH; (2004): A socio-ecological autopsy of the *E. coli* O157:H7 outbreak in Walkerton, Ontario, Canada. *Social Science and medicine* 58 (12), 2601-2612

Armstrong, GL; Hollingsworth, J; Morris, JG; (1996): Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiologic Reviews* 18 (1):29-51

Arsenault, J; (2003): revue des méthodes basées sur les distances génétiques dans l'étude des patrons de transmission de *Campylobacter*. *Santé Canada*, 104p.

Aslam, M; Greer, GG; Nattress, FM; Gill, CO; McMullen, LM; (2004): Genetic diversity of *Escherichia coli* recovered from the oral cavity of beef cattle and their relatedness to faecal *E. coli*. Letters in Applied Microbiology 2004; 39(6):523-527.

Bach, SJ; McAllister, TA; Mears, GJ; Schwartzkopf-Genswein, KS; (2004): Long-haul transport and lack of preconditioning increases fecal shedding of *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157:H7 by calves. Journal of Food Protection 67(4):672-678.

Bach, SJ; Stanford, K; McAllister, TA; (2005): Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in feces from corn and barley-fed steers. FEMS Microbiology Letters 1:252 (1):25-33

Barkocy-Gallagher, GA; Arthur, TM; Siragusa, GR; Keen, JE; Elder, RO; Laegreid, WW; Koohmaraie, M; (2001): Genotypic analysis of *Escherichia coli* O157:H7 and O157 nonmotile isolates recovered from beef cattle and carcasses at processing plants in the Midwestern states of the United States. Applied and Environmental Microbiology 67 (9), 3810-3818.

Barrett, TJ; Gerner-Smidt, P; Swaminathan, B; (2006): Interpretation of pulsed-field gel electrophoresis patterns in foodborne disease investigations and surveillance. Foodborne Pathogens and Disease. 3(1):20-31.

Berg, J; McAllister, T; Bach, S; Stilborn, R; Hancock, D; LeJeune, J; (2004): *Escherichia coli* O157:H7 excretion by commercial feedlot cattle fed either barley- or corn-based finishing diets. Journal of Food Protection 67(4):666-671.

Berry, ED; Miller, DN; (2005): Cattle Feedlot Soil Moisture and Manure Content: II. Impact on *Escherichia coli* O157 Journal of Environmental Quality. 34:656-663.

Besser, TE; Richards, BL; Rice, DH; Hancock, DD; (2001): *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. Epidemiology and Infection 127(3):555-560.

Bertschinger, HU; (1999): Postweaning *Escherichia coli* diarrhea and edema disease. In Straw, BE; d'Allaire, S; Mengelling, WL; Taylor, DJ; (Editors), Diseases of swine, 8<sup>th</sup> ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, United States, pp. 441-454.

Bettelheim, KA; Kuzevski A; Gilbert, RA; Krause, DO; McSweeney, CS; (2005): The diversity of *Escherichia coli* serotypes and biotypes in cattle faeces. Journal of applied Microbiology 98 (3), 699-709.

Blanco, J; Blanco, M; Blanco, JE; Mora, A; Gonzalez, EA; Bernardez, MI; Alonso, MP; Coia, A; Rodriguez, A; Rey, J; Alonso, JM; Usera, MA; (2003): Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain: prevalence, serotypes and virulence genes of O157:H7 and non-O157 VTEC in ruminants, raw beef products and humans. Experimental Biology and Medicine. 228 (4): 345-351.

Böhm, H; Karch, H; (1992): DNA fingerprinting of *Escherichia coli* O157:H7 strains by pulsed-field gel electrophoresis. Journal of Clinical Microbiology 30(8): 2169-2172



Bonardi, S; Maggi, E; Bottarelli, A; Pacciarini, ML; Ansuini, A; Vellini, G; Morabito, S; Caprioli, A; (1999): Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Veterinary Microbiology* 67, 203-211.

Bono, JL; Keen, JE; Miller, LC; Fox, JM; Chitko-McKown, CG; Heaton, MP; Laegreid, WW; (2004): Evaluation of a real-time PCR kit for detecting *Escherichia coli* O157 in bovine fecal samples. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (3), 1855-1857.

Bopp, CA; Brenner, FW; Fields, PI, Wells, GJ, Strockbine, NA; (2003A): *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. In Murray, PR; Baron, EJ; Jorgensen, JH; Pfaller, MA; Tenover, FC; Tenover, PC; (Eds): *Manual of clinical Microbiology* 8<sup>th</sup> edition, volume 1, pp.654-671.

Bopp, DJ; Sauders, BD; Waring, AL; Ackelsberg, J; Dumas, N; Braun-Howland, E; Dziewulski, D; Wallace, BJ; Kelly, M; Halse, T; Musser, KA; Smith, PF; Morse, DL; Limberger, RJ; (2003B): Detection, isolation and molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* associated with a large waterborne outbreak. *Journal of Clinical Microbiology* 41 (1) 174-180.

Brashears, MM; Galyean, ML; Loneragan, GH; Mann, JE; Killinger-Mann, K; (2003): Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and performance by beef feedlot cattle direct-fed microbials. *Journal of Food Protection*. 66(5):748-54.

Callaway, TR; Anderson, RC; Edrington, TS; Genovese, KJ; Bischoff, KM; Poole, TL; Jung, YS; Harvey, RB; Nisbet, DJ; (2004A): What are we doing about *Escherichia coli* O157:H7 in cattle? *Journal of Animal Science* 82 E-Suppl: E93-99.

Callaway, TR; Elder, RO; Keen, JE; Anderson, RC; Nisbet, DJ; (2004B) : Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle, a review. *Journal of Dairy Science* 86(3):852-860.

Caprioli, A; Tozzi, AE; (1998): Epidemiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in humans in Continental Europe. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 38-48.

Chalmers, RM; Parry, SM; Salmon, RL; Smith, RMM; Willshaw, GA; Cheasty, T; (1999): The surveillance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in Wales, 1990 to 1998. *Emerging Infectious Diseases*. 5 (4) 566-569.

Chapman, PA; Wright, DJ; Siddons, CA; (1994): A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from bovine faeces. *Journal of Medical Microbiology* 40, 424-427.

Chapman, PA; Siddons, CA; Malo, C; Harkin, MA; (1997): A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, shep, pigs and poultry. *Epidemiology and Infection* 119, 245-250.

Chapman, PA; (1999): *Escherichia coli* O157: 14 years' experience in Sheffield, UK. In Stewart, CS and Flint, HJ (Eds), *Escherichia coli* O157 in farm animals. CABI publishing, Wallingford, Oxon, UK. pp. 99-119

Cobbold, R; Desmarchelier, P; (2001): Characterization and clonal relationships of shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) isolated from Australian dairy cattle. *Veterinary Microbiology* 79, 323-335.

Cobbold, RN; Rice, DH; Szymanski, M; Call, DR; Hancock, DD; (2003) :Comparison of shiga-toxigenic *Escherichia coli* prevalences among dairy, feedlot, and cow-calf herds in Washington State. *Applied and Environmental Microbiology* 70(7):4375-4378.

Coia, JE; (1998A): Nosocomial and laboratory-acquired infection with *Escherichia coli* O157. *The Journal of Hospital Infection* 40 (2), 107-113.

Coia, JE; (1998B): Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. *FEMS immunology and medical microbiology* 20, 1-9.

Crump, JA; Braden, CR; Dey, ME; Hoekstra, RM, Rickelman-Apisa, JM; Baldwin, DA; De Fijter, SJ; Nowicki, SF; Koch, EM; Bannerman, TL; Smith, FW; Sarisky, JP; Hochberg, N; Mead, PS; (2003): Outbreaks of *Escherichia coli* O157 infections at multiple county agricultural fairs: a hazard of mixing cattle, concession stands and children. *Epidemiology and Infection* 131, 1055-1062.

Davis, MA; Cloud-Hansen, KA; Carpenter, J; Hovde, CJ ;( 2005): *Escherichia coli* O157:H7 in environments of culture-positive cattle. *Applied and Environmental Microbiology* 71(11):6816-6822.

Dean-Nystrom, EA; Bosworth, BT; Cray Jr, WC; Moon, HW; (1997): Pathogenicity of *Escherichia coli* O157:H7 in the intestines of neonatal calves. *Infection and Immunity* 65 (5) 1842-1848.

Dewell, GA; Ransom, JR; Dewell, RD; McCurdy, K; Gardner, IA; Hill, AE; Sofos, JN; Belk, KE; Smith, GC; Salman, MD; (2005): Prevalence of and risk factors for *Escherichia coli* O157 in market-ready beef cattle from 12 U.S. feedlots. *Foodborne Pathogens and Disease* 2(1), 70-76

Dodd, CC; Sanderson, MW; Sargeant, JM; Nagaraja, TG; Oberst, RD; Smith, RA; Griffin, DD; (2003): Prevalence of *Escherichia coli* O157 in cattle feeds in Midwestern feedlots. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (9), 5243-5247.

Dohoo, I; Martin, W; Stryhn, H; (2003): veterinary epidemiologic research. AVC inc. Charlottetown, Canada. 706 p.

Dontorou, A; Papadopoulou, C; Filioussis, G; Apostolou, I; Economou, V; Kansouzidou, A; Levidiotou, S; (2004): Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 27, 201-207.

Dunn, JR; Keen, JE; Thompson, RA; (2004A): Prevalence of shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in adult dairy cattle. *Journal of The American Veterinary Medical Association* 224 (7), 1151-1158.

Dunn, JR; Keen, JE; Vecchio, RD; Wittum, TE; Thompson, RA; (2004B): *Escherichia coli* O157:H7 in a cohort of weaned, preconditioned range beef calves. *Journal of Food Protection* 67(11), 2391-2396.

Effler, E; Isaacson, M; Arntzen, L; Heenan, R; Canter, P; Barrett, T; Lee, L; Mambo, C; Levine, W; Zaidi, A; Griffin, PM; (2001): Factors contributing to the emergence of *Escherichia coli* O157 in Africa. : *Emerging Infectious Diseases* 7 (5):812-819.

Elder, RO; Keen, JE; Siragusa, GR; Barkocy-Gallagher, GA; Koochmaraie, M; Laegreid, WW; (2000): Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides and carcasses of beef cattle during processing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (7). 2999-3003.

Eriksson, E; Nerbrink, E; Borch, E; Aspan, A; Gunnarsson, A; (2003): Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in the Swedish pig population. *The Veterinary Record* 152, 712-717.

Fairbrother, JM (1999): Neonatal *Escherichia coli* diarrhea. In Straw, BE; d'Allaire, S; Mengelling, WL; Taylor, DJ; (Editors), *Diseases of swine*, 8<sup>th</sup> ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, United States, pp. 433-441.

Fairbrother, JM; Nadeau, E; Gyles, CL; (2005): *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Animal Health Research Reviews* 6(1):17-39.

Fegan, N; Vanderlinde, P; Higgs, G; Desmarchelier, P; (2004): The prevalence and concentration of *Escherichia coli* O157 in faeces of cattle from different production systems at slaughter. *Journal of Applied Microbiology* 97(2):362-370.

Feldman, KA; Mohle-Boetani, JC; Ward, J; Furst, K; Abbott, SL; Ferrero, DV; Olsen, A; Werner, SB; (2002): A cluster of *Escherichia coli* O157: nonmotile infections associated with recreational exposure to lake water. Public Health Report 117, 380-385.

Galland, JC; Hyatt, DR; Crupper, SS; Acheson, DW; (2001): Prevalence, antibiotic susceptibility, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 Isolates from a Longitudinal study of beef cattle feedlots. Applied and Environmental Microbiology 67 (4), 1619-1627.

Gannon, VPJ; Graham, TA; King, R; Michel, P; Read, S; Ziebell, K; Johnson, RP; (2002): *Escherichia coli* O157[ $\frac{1}{10}$ ]H7 infection in cows and calves in a beef cattle herd in Alberta, Canada. Epidemiology and Infection 129, 163-172.

Gannon, VPJ; Duke, GD; Thomas, JE; VanLeeuwen, J; Byrne, J; Johnson, D; Kienzie, SW; Little, J; Graham, T; and Selinger, B; (2005): Use of in-stream reservoirs to reduce bacterial contamination of rural watersheds. The Science of the Total Environment 15; 348(1-3):19-31.

Griffin, PM; (1998): Epidemiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in humans in the United States. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 15-22.

Gupta, A; Hunter, SB; Bidol, SA; Dietrich, S; Kincaid, J; Salehi, E; Nicholson, L; Genese, CA; Todd-Weinstein, S; Marengo, L; Akiko C. Kimura, A; Brooks, JT; (2004):*Escherichia coli* O157 Cluster Evaluation. Emerging Infectious Diseases 10 (10), 1856-1858.

Gyles and Henton (2004): *Escherichia coli* infections. In Coetzer, JAW; Tustin, RC; (Eds), Infectious Diseases of Livestock. Oxford University Press Southern Africa. Cape Town. pp 1560-1577

Hancock, DD; Besser, TE; Kinsel, ML; Tarr, PI; Rice, DH; Paros MG; (1994) :The prevalence of *Escherichia coli* O157.H7 in dairy and beef cattle in Washington State. *Epidemiology and Infection* 113(2):199-207.

Hancock, DD; Rice, DH; Thomas, LA; Dargatz, DA; Besser, TE; (1997): Epidemiology of *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle. *Journal of Food Protection* 60: 462–465.

Huston, CL; Wittum, TE; Love, BC; Keen, JE; (2002): Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* spp in dairy herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220 (5):645-649.

Jarvis, GN; Kizoulis, MG; Diez-Gonzalez, F; Russels, JB; (2000): The genetic diversity of predominant *Escherichia coli* strains isolated from cattle fed various amount of hay and grain. *FEMS Microbiology Ecology* 32, 225-233.

Johnsen, G; Wasteson, Y; Heir, E; Berget, OI; Herikstad, H; (2001): *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *International Journal of Food Microbiology* 65, 193-200.

Karch, H; Janetzki-Mittmann, C; Aleksic, S; Datz, M; (1996): Isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains from patients with hemolytic-uremic syndrome by using immunomagnetic separation, DNA-based methods, and direct culture. *Journal of Clinical Microbiology* 1996 34: 516-519.

Kassenborg, HD; Hedberg, CW; Hoekstra, M; Evans, MC; Chin, AE; Marcus, R; Vugia, DJ; Smith, K; Ahuja, SD; Slutsker, L; Griffin, PM; (2004): Farm visits and undercooked hamburgers as major risk factors for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection: data from a case-control study in 5 foodnet sites. *Clinical Infectious Diseases* 38 (suppl 3) S-271-278.

Keen, JE; Elder, RO: (2002): Isolation of shiga toxigenic *Escherichia coli* O157 from hides' surfaces and the oral cavity of finished beef feedlot cattle. *Journal of American Veterinary Medical Association* 220 (6), 756-763.

Khaisha, ML; Smith, DR; Stoner, JA; Parkhurst, AM; Hinkley, S; Klopfenstein, TJ; Moxley, RA; (2003): Incidence, duration, and prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding by feedlot cattle during the finishing period. *Journal of Food Protection* 66(11):1972-1977.

Laegreid, WW; Elder, RO; Keen, JE; (1999): Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in range beef calves at weaning. *Epidemiology and Infection* 123, 291-298.

Lefebvre, B; Diarra, MS; Giguere, K; Roy, G; Michaud, S; Malouin, F; (2005): Antibiotic resistance and hypermutability of *Escherichia coli* O157 from feedlot cattle treated with growth-promoting agents. *Journal of Food Protection* 68(11):2411-2419.

LeJeune, JT; Besser, TE; Hancock, DD; (2001): Cattle water troughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 3053-3057



LeJeune, JT; Besser, TE; Rice, DH; Berg, JL; R. P. Stilborn, RP; Hancock, DD; (2004): Longitudinal Study of Fecal Shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle: Predominance and Persistence of Specific Clonal Types despite Massive Cattle Population Turnover. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (1) 377-384.

LeJeune, JT; Kauffman, MD; (2005): Effect of sand and sawdust bedding materials on the fecal prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy cows: *Applied and Environmental Microbiology* 71(1):326-330.

LeJeune, JT; Hancock, DD; Besser, TE; (2006): Sensitivity of *Escherichia coli* O157 Detection in Bovine Feces Assessed by Broth Enrichment followed by Immunomagnetic Separation and Direct Plating Methodologies *Journal of Clinical Microbiology* 44(3): 872–875.

Lopez, LE; Contrini, MM; De Rosa, MF; (1998): Epidemiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in South America. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 30-37.

MAPAQ (2000): bulletin zoosanitaire d'épidémiosurveillance animale N°25, du 19 septembre 2000.

McDonough, PL; Rossiter, CA; Rebhun, RB, Stehman, SM, Lein, DH; Shin, SJ; (2000): Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 from cull dairy cows in New York State and comparison of culture methods used during preharvest food safety investigations. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (1), 318-322.

McSweeney, CS; Gilbert, RA; Krause, DO; Padmanabha; J, Denman, SE; (2004) : Effect of diet on *E. coli* populations in the faeces of cattle. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 2004, 13(Suppl):S27.

Mead, PS; Griffin, PM; (1998): *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet*, 352, 1207-1212.

Meng, J; Zhao, S; Doyle, MP; (1998): Microbiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 92-108.

Michel, P; Wilson, JB; Martin, SW; Clarke, RC; McEwen, SA; Gyles, CL; (1999) : Temporal and geographical distributions of reported cases of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Ontario. *Epidemiology and Infection* 122, 193-200.

Michel, P; Ward; Carpenter, TE; (2000A): Techniques for analysis of disease clustering in space and in time in veterinary epidemiology. *Preventive Veterinary Medicine* 45: 257-284

Michel, P; Wilson, JB; Martin, SW; Clarke, RC; McEwen, SA; Gyles, CL; (2000B) : Estimation of the under-reporting rate for the surveillance of *Escherichia coli* O157:H7 cases in Ontario, Canada. *Epidemiology and Infection* 125, 35-45.

Michino, H; Araki, K; Minami, S; Nakayama, T; Ejima, Y; Hiroe, K; Tanaka, H. Fujita, N; Usami, S; Yonekawa, M; Sadamoto, K; Takaya, S; Sakai, N; (1998): Recent outbreaks of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7 in Japan. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-

Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 73-81.

Miller, JJ; Handerek, BP; Beasley, BW; Olson, EC; Yanke, LJ; Larney, FJ; McAllister, TA; Olson, BM; Selinger, LB; Chanasyk, DS; Hasselback, P; (2004) : Quantity and quality of runoff from a beef cattle feedlot in southern Alberta. *Journal of Environmental Quality* 33(3):1088-1097.

NAHMS (2000): Changes in the US feedlot industry: 1994-1996. United States Department of Agriculture Veterinary Service. 36p.

Nielsen, EM; Tegtmeier, C; Andersen, HJ; Gronbaek C; Andersen, JS; (2002): Influence of age, sex and herd characteristics on the occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in Danish dairy farms. *Veterinary Microbiology* 88, 245-257.

Oberst, RD; Hays, MP; Bohra, LK; Phebus, RK; Sargeant, JM; (2003): Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle feces using a polymerase chain reaction-based fluorogenic 5' nuclease (TaqMan®) detection assay after secondary enrichment. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15 (6), 543-552.

O'Brien, SJ; Adak, GK; Gilham, C; (2001): Contact with farming environment as a major risk factor for shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* O157 infection in humans. *Emerging Infectious Diseases*. 7 (6), 1049-1051.

Ogden, ID; MacRae, M; Strachan, NJC; (2004): Is the prevalence and shedding concentrations of *Escherichia coli* O157 in beef cattle in Scotland seasonal? *FEMS Microbiology Letters* 233, 297-300.

Payne, CJI; Petrovic, M; Roberts, RJ; Paul, A; Linnane, E; Walker, M; Kirby, D; Burgess, A; Smith, RMM; Cheasty, T; Willshaw, G; Salmon, RL; (2003): Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 gastroenteritis in farm visitors, North Wales. *Emerging Infectious Diseases* 9 (5), 526-530.

Pagot, J; (1985): L'élevage en pays tropicaux. Édition G-P Maisonneuve et Larose & Agence de coopération culturelle et technique. Paris 6037/1983. 526p.

Paton, AW; Ratcliff, RM; Doyle, RM; Seymour-Murray, J; Davos, D; Lanser, JA; Paton, JC; (1996): Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with shiga toxin producing *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology* 34: 1622-1627

Preston, MA; Johnson, W; Khakhria, R; Borczyk, A; (2000): Epidemiologic subtyping of *Escherichia coli* serogroup O157 strains isolated in Ontario by phage typing and pulse-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (6), 2366-2368.

Quinn, PJ; Carter, ME; Markey, B; Carter, GR (1994): *Clinical veterinary microbiology*. Wolfe Publishing. Spain. 648 p.

Renter, DG, Sargeant, JM; (2002): Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: epidemiology and ecology in bovine production environments. *Animal Health Research Reviews*. 3 (2), 83-94.

Renter, DG; Sargeant, JM; Oberst, RD; Samadpour, M; (2004): Diversity, frequency and persistence of *Escherichia coli* O157 strains from range cattle environments. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (1), 542-547.

Rice, DH; McMenamin, KM; Pritchett, LC; Hancock, DD, Besser, TE; (1999): Genetic subtyping of *Escherichia coli* O157 isolates from 41 Pacific Northwest USA cattle farms. *Epidemiology and Infection* 122, 479-484

Riley, DG; Gray, JT; Loneragan, GH; Barling, KS; Chase, CC; (2003): *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in fecal samples of cattle from a southeastern beef cow-calf herd *Journal of Food Protection* 66 (10):1778-1782.

Robins-Browne, RM; Elliott, E; Desmarchelier, P; (1998): Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Australia. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 66-72.

Rugbjerg, H; Nielsen, EM; Andersen, JS; (2003): Risk factors associated with fecal shedding of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in eight known-infected Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 58, 101-113.

Sanderson, KE; Liu, SL; (1998): Chromosomal arrangements in enteric bacteria. *Electrophoresis* 19, 569-572

Sanderson, MW; Sargeant, JM; Renter. DG; Griffin, DD; Robert A. Smith, RA; (2005): Factors Associated with the Presence of Coliforms in the Feed and Water of Feedlot Cattle. *Applied and Environmental Microbiology* 71(10):6026-6032.

Sargeant, JM; Gillespie, JR; Oberst, RD; Phebus, RK; Hyatt, DR; Bohra, LK; Galland, JC; (2000): Results of a longitudinal study of the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on cow-calf farms. *American Journal of Veterinary Research* 61 (11) 1375-1379.

Sargeant, JM; Sanderson, MW; Smith, RA; Griffin, DD; (2003): *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle feces and water in four major feeder-cattle states in the USA. *Preventive Veterinary Medicine* 61, 127-135.

Sargeant, JM; Smith, DR; (2003): The epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7. Iowa State Press, Ames, USA, 131-141.

Sargeant, JM; Sanderson; MW; Smith, RA; Griffin, DD; (2004A) : Associations between management, climate, and *Escherichia coli* O157 in the faeces of feedlot cattle in the Midwestern USA. *Preventive Veterinary Medicine* 66:175-206.

Sargeant, JM; Sanderson; MW; Griffin, DD; Smith, RA; (2004B): Factors associated with the presence of *Escherichia coli* O157 in feedlot-cattle water and feed in the Midwestern USA. *Preventive Veterinary Medicine* 66: 207-237.

Savageau, MA (1974): Genetic Regulatory Mechanisms and the Ecological Niche of *Escherichia coli*. *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America* 1974 June; 71(6): 2453–2455.

Scott, L; McGee, P; Minihan, D; Sheridan, JJ; Earley, B; Leonard N; (2006): The characterisation of *E. coli* O157:H7 isolates from cattle faeces and feedlot environment using PFGE. *Veterinary Microbiology* on press, available online, January 6th

Shaw, S; (2006) : Identification de *Escherichia coli* O157:H7 et *Escherichia coli* O157:NM Produisant de la Vérotoxine au Moyen du Système de la Réaction en Chaîne de la Polymérase En Temps Réel Warnex<sup>MC</sup> Agence canadienne d'inspection des aliments Ottawa (Ontario), Canada. Disponible sur [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3/mflp-12\\_f.html](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3/mflp-12_f.html)

Smith, RA; Griffin, DD; Dargatz, DA; (1997): The risks and prevention of contamination of beef feedlot cattle: the perspective of the United States of America. *Revue Scientifique et Technique* 16(2):359-368.

Smith, HR; Rowe, B; Adak, GK; Reilly, WJ; (1998): Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* in the United Kingdom. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 49-58.

Smith, D; Milton, T; Moxley, R; Gray, J; Hungerford, L; Bailey, D; Scott, T; Klopfenstein, T; (2000): Cleaning coliform bacteria from feedlot water tanks. Nebraska beef Report 77-79

Smith, D; Blackford, M; Younts, S; Moxley, R; Gray, J; Hungerford, L; Milton, T ; Klopfenstein, T; (2001) : Ecological relationships between the prevalence of cattle shedding *Escherichia coli* O157:H7 and characteristics of the cattle or conditions of the feedlot pen. *Journal of Food Protection* 2001; 64(12):1899-1903.

Spika, JS; Khakhria, R; Michel, P; Milley, D; Wilson, J; Waters, J; (1998): Shiga-toxin producing *Escherichia coli* infections in Canada. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 23-29.

Stanford, K; Croy, D; Bach, SJ; Wallins, GL; Zahiroduddini, H; McAllister, TA;(2005A): Ecology of *Escherichia coli* O157:H7 in commercial dairies in southern. Alberta Journal of Dairy Science 88 (12):4441-4451.

Stanford, K; Bach, SJ; Marx, TH; Jones, S; Hansen, JR; Wallins, GL; Zahiroduddini, H; McAllister, TA; (2005B): Monitoring *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated and naturally colonized feedlot cattle and their environment. Journal of Food Protection 68(1):26-33.

Strockbine, NA; Wells, JG; Bopp, CA; Barrett, TJ; (1998): Overview of detection and subtyping methods. In Kaper, JB; O'Brien, AD (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. American Society for Microbiology Press. Washington, DC 20005. pp. 331-356.

Synge, BA; (1999): Animal studies in Scotland. In Stewart, CS and Flint, HJ (Eds), *Escherichia coli* O157 in farm animals. CABI publishing, Wallingford, Oxon, UK. pp. 91-98.

Tanaka,T; Takahashi, H; Komatsuzaki, M; Matsui, T; Kaku, K; Ohyama, T; Kishimoto, T; Honda, A; Kobayashi, JM; Okabe, N; (2001): Universal questionnaire needed for investigations of diffuse outbreaks of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Japan. Japanese Journal of Infectious Disease 54(5):197-198

Tenover, FC; Arbeit, RD; Goering, RV; Mickelsen, PA; Murray, BE; Persing, DH; Swaminathan, B; (1995): Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. Journal of Clinical Microbiology 1995 (33): 2233-2239



Tilden, J; Young, W; McNamara, A; Custer, C; Boesel, B; Lambert-Fair, M; Majkowsky, J; Vugia, D; Werner, SB; Wollingsworth, J; Morris, JG; (1996): A new route of transmission of *Escherichia coli*: infection from fermented salami. American Journal of Public Health 86: 1142-1145.

Tuttle, J; Gomez, T; Doyle, MP; Wells, JG, Zhao, T; Tauxe, RV; Griffin, PM; (1999): Lessons from a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections: insights into the infectious dose and method of widespread contamination of hamburger patties. Epidemiology and Infection 122, 185-192.

Valcour, JE; Michel, P; McEwen, SA; Wilson, JB; (2002): Associations between indicators of livestock farming intensity and incidence of human shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. Emerging Infectious Diseases 8 (3), 252-257.

Van Donkersgoed, J; Graham, T; Gannon, V; (1999): The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella* in the feces and rumen of cattle at processing. The Canadian Veterinary Journal 40(5):332-338.

Van Donkersgoed, J; Berg, J; Potter, A; Hancock, D; Besser, T; Rice, D; LeJeune, J; Klashinsky S; (2001) :Environmental sources and transmission of *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle. The Canadian Veterinary Journal 42(9):714-720.

Van Donkersgoed, J; Hancock, D; Rogan, D; Potter, AA; (2005): *Escherichia coli* O157:H7 vaccine field trial in 9 feedlots in Alberta and Saskatchewan. The Canadian Veterinary Journal 46(8):724-728.

Wang, G; Doyle, MP; (1998): Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water. Journal of Food Protection 61:662-667.

Wallace, JS; (1999): The Ecological cycle of *Escherichia coli* O157:H7. In Stewart, CS and Flint, HJ (Eds), *Escherichia coli* O157 in farm animals. CABI publishing, Wallingford, Oxon, UK. pp. 195-223.

Watanabe, Y; Ozasa, K; Mermin, JH; Griffin, PM; Masuda, K; Imashuku, S; Sawada, T; (1999): Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan. *Emerging Infectious Diseases* 5 (3), 424-428.

Yang, HH; Vinopal R; Grasso, D; Smet, BF; (2004): High diversity among environmental *Escherichia coli* isolates from a bovine feedlot. *Applied and Environmental Microbiology* 70(3):1528-1536.

Yilmaz, A; Gun, H; Yilmaz, H; (2002): Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish cattle. *Journal of Food Protection* 65(10):1637-1640.

Younts-Dahl, SM; Galyean, ML; Loneragan, GH; Elam, NA; Brashears MM; (2004) : Dietary supplementation with *Lactobacillus*- and *Propionibacterium*-based direct-fed microbials and prevalence of *Escherichia coli* O157 in beef feedlot cattle and on hides at harvest. *Journal of Food Protection* 67(5):889-893.

[www.ers.usda.gov/briefing/FoodborneDisease/features.htm](http://www.ers.usda.gov/briefing/FoodborneDisease/features.htm)

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/fr/>

<http://www.inspection.gc.ca/francais/corpaffr/foodfacts/ecolif.shtml>

<http://www.cdc.gov/pulsenet/whatis.htm>

[www.jsonline.com/news/metro/jul00/coli27g.asp](http://www.jsonline.com/news/metro/jul00/coli27g.asp)

[www.usda.gov/nass/Census/Pull\\_Data\\_Census](http://www.usda.gov/nass/Census/Pull_Data_Census)

## Annexes

### Annexe 1 : Statistiques des variables prédictives (numériques)

Variabiles	count	Missing value	Moyenne	SD	Min	Max	Variance	Médiane	Mode
Inpen	289	11	113	55,61	28	341	3092	101	75
Densité pi <sup>2</sup> /animal	288	12	259,34	119,35	12	840	14245,53	239,39	195,43
Daysinpen	300	0	139,49	45,25	0	258	2047,86	134,5	0
Food%MS	300	0	76,24	4,27	67,50	86,6	18,24	76,9	78
Poids kg	270	30	702,73	132,48	277	970	17550	717	750
Humidité%	300	0	52,88	16,74	24	85	280,17	50,5	48
Heat °C	300	0	27,2	7,15	13,7	40	51,18	29,05	29,1
Tank jrs	300	0	7,42	11,05	1,5	65	122,1	4,5	7
Fumier jrs	300	0	57	77,72	0	365	6040,6	22	0

**Annexe 2 : Estimation annuelle des coûts liés à certains pathogènes responsables d'intoxications alimentaires chez l'homme aux États-Unis en 2000**

**Estimation des coûts annuels induits par certains pathogènes responsables d'intoxications alimentaires en 2000**

Pathogènes	Estimation annuelle des maladies alimentaires (intoxications)			Coûts
	Cas	Hospitalisations	Morts	
		<i>Nombre</i>		<i>Milliard dollars</i>
<i>Campylobacter</i> spp	1.963.141	10.539	99	1.2
<i>Salmonella</i> <sup>5</sup>	1.341.873	15.608	553	2.4
<i>E. coli</i> O157	62.458	1.843	52	0.7
<i>E. coli</i> , non-O157 STEC	31.229	921	26	0.3
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.493	2.298	499	2.3
<b>Total</b>	<b>3.401.194</b>	<b>31.209</b>	<b>1.229</b>	<b>6.9</b>

(Source : [www.ers.usda.gov/briefing/FoodborneDisease/features.htm](http://www.ers.usda.gov/briefing/FoodborneDisease/features.htm))

**Annexe 3: Effectif et rang des productions animales au Kansas**

*(Source: Kansas Farm Facts, Kansas Agricultural Statistics).*

Livestock		Inventory
Rank	Species or Class	(1,000)
2	Bovins à l'engrais	2,370
3	Tous les bovins	6,550
7	Vaches reformées	1,461
10	Porcs	1,430
10	Porcs en reproduction	190
11	Brebis et agneaux	40
13	Moutons	120
16	Brebis 1+	66
29	Vaches laitières	79
34	Poules pondeuses	1,348
35	Poulet (exc. Poulet de chair)	1,851

## Annexe 4 : Temps de survie de divers pathogènes

Temps de survie de divers pathogènes*							
Matière	Température	Giardia	Crypto- sporidium	Salmonella	Campylo- bacter	<i>E. coli</i> 0157:H7	<i>Yersinia</i> enterocolitica
Eau	Gelée	< 7	> 84	> 182	14-56	> 300	> 365
	Froide (5° C)	77	> 84	> 182	8-120	> 91	> 365
	Chaude (30° C)	14	70	45-152	>2	49-84	10
Sol	Gelé	< 7	> 84	> 84	14-56	> 300	> 365
	Froid (5° C)	49	56	63	20	99	> 365
	Chaud (30° C)	7	28	> 45	10	56	10
Fumier du bétail	Gelé	< 7	> 84	> 196	14-56	> 100	> 365
	Froid (5° C)	7	56	84-196	7-21	70	30-100
	Chaud (30° C)	7	28	48	3	49-56	10-30
Lisier liquide de porc	-	365	> 365	13-75	> 112	10-100	12-28
Compost	-	14	28	7-14	7	7	7
Surfaces sèches	-	1	1	1-7	1	1	1

\*Nombre de jours avant que le pathogène ne soit plus détecté (tiré d'un article de M. Olson, University of Calgary, 2001 et Guan & Holley, 2003).

Annexe 5 : Liste des sérotypes de *E. coli* fréquemment rencontrés dans les infections diarrhéiques humaines (Source: [www.ecoli.bham.ac.uk/path/sero.html](http://www.ecoli.bham.ac.uk/path/sero.html))

ETEC	EPEC	EIEC	STEC	
O6:NM	O55:NM	O28 NM	O1:NM	O111:H8
O6:H16	O55:H6	O29 NM	O2:H6	O113:H21
O8:H9	O55:H7	O112:NM	O2 :H7	O118:H2
O15:H11	O86:NM	O124:NM	O5:NM	O118:H12
O20:NM	O86:H34	O124:H7	O9:NM	O118:H16
O25:NM	O111:NM	O124:H30	O14:NM	O121:H19
O27:NM	O111:H2	O136:NM	O22:H5	O128:NM
O27:H7	O111:H12	O143:NM	O22:H8	O128:H2
O27:H20	O111:H21	O144:NM	O26:NM	O128:H45
O49:NM	O114:NM	O152:NM	O26:H11	O137:H41
O63:H12	O114:H2	O164:NM	O45:H2	O145:NM
O78:H11	O119:H 6	O167:NM	O48:H21	O153:H2
O78:H12	O125:H21	ONT:NM	O50:H7	O153:H25
O128:H7	O126:NM		O55:H7	O157:NM
O148:H28	O127:NM		O79:H7	O157:H7
O153:H45	O127:H6		O83 :H1	O163 :H19
O159:NM	O127:H9		O91:NM	O165:NM
O159:H4	O127:H21		O91:H10	O165:H25
O159:H20	O128:H2		O91:H21	O172:NM
O167:H7	O128:H12		O103:H2	Orough:H9
O169:H41	O142:H12		O104:NM	ONT:NM
	O157:H45		O104:H21	O111:NM