

**Épidémie d'infections à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines non O157  
liée à la consommation de camembert au lait cru,  
Nord-Ouest de la France, Octobre-Décembre 2005**

## ORGANISMES AYANT PARTICIPÉ À L'INVESTIGATION

Cellule inter-régionale d'Épidémiologie (CIRE) de Haute-Normandie, Rouen

Cellule inter-régionale d'Épidémiologie de l'Ouest, Rennes

Centre hospitalier universitaire de Caen, Service de réanimation pédiatrique, Caen

Centre national de référence (CNR) des *E. coli* et *Shigella*, Institut Pasteur, Paris

Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass) de l'Eure, Évreux

Direction départementale des affaires sanitaires et sociales de la Manche, Saint Lô

Direction départementale des affaires sanitaires et sociales du Calvados, Caen

Direction départementale des services vétérinaires (DDSV) de la Manche, Saint Lô

Direction générale de l'Alimentation (DGAI), Paris

Direction générale de la Santé (DGS), Paris

École Nationale vétérinaire de Lyon (ENVL), Marcy l'Etoile

Institut de veille sanitaire, Département des maladies infectieuses, Saint Maurice

Laboratoire associé au CNR des *E. coli* et *Shigella*, Hôpital Robert Debré, Paris

## CONTEXTE-ALERTE

En France, la surveillance des infections à *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) est basée sur la surveillance du syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant de moins de 15 ans. Cette surveillance, mise en place en 1996 et coordonnée par l'Institut de veille sanitaire (InVS), repose sur un réseau constant de 31 services hospitaliers de néphrologie pédiatrique volontaires répartis sur tout le territoire métropolitain. Depuis 2002, le Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli et Shigella* et le laboratoire associé au CNR participent aussi à cette surveillance. Celle-ci permet de suivre les tendances spatio-temporelles du SHU chez l'enfant de moins de 15 ans, de connaître les caractéristiques épidémiologiques des cas et de détecter des cas groupés.

Le 25 novembre 2005, le service de réanimation pédiatrique du centre hospitalier universitaire de Caen a signalé à l'Institut de veille sanitaire la survenue en une semaine de 3 cas de syndrome hémolytique et urémique chez des enfants âgés de moins de 15 ans. Le 29 et 30 novembre, deux nouveaux cas étaient signalés. Les cinq enfants (toutes des filles) âgés de 10 mois à 2 ans ont présenté une diarrhée glairo-sanglante ou sanglante entre le 10 et 28 novembre, compliquée par un SHU diagnostiqué entre le 17 et le 30 novembre. Tous ces patients résidaient en Normandie (Eure, Calvados et Manche). Les premières analyses pour recherche d'*E. coli* O157:H7 étaient négatives.

L'identification de 5 cas dans une même région en deux semaines d'une maladie habituellement rare (moins de 100 cas de SHU pédiatriques identifiés en France par an) était en faveur d'une source commune de contamination. Une investigation a immédiatement été mise en œuvre afin d'identifier cette source et de prendre des mesures de contrôle et de prévention adaptées. Elle était coordonnée par l'InVS en collaboration avec le CNR des *E. coli* et *Shigella*, le laboratoire associé au CNR, les Directions départementales des affaires sanitaires et sociales concernées (Ddass), les Cellules inter-régionales d'Épidémiologie (CIRE) concernées, la Direction générale de la santé (DGS), l'École Nationale vétérinaire de Lyon (ENVL), les Directions départementales des services vétérinaires (DDSV) concernées et la Direction générale de l'alimentation (DGAL).

## MATERIEL ET MÉTHODES

### Enquête épidémiologique

- Définition et recherche des cas

Un cas était défini comme tout enfant résidant en France métropolitaine, ayant présenté un SHU depuis le 1<sup>er</sup> octobre 2005 et pour lequel l'infection à STEC était confirmée :

- par l'isolement d'une souche d'*E. coli* O26 ou de STEC de sérotype indéterminé dans les selles,
- ou par la mise en évidence d'anticorps anti-LPS d'*E. coli* O26 dans le sérum.

Les cas ont été recherchés activement auprès des services de pédiatrie de tous les hôpitaux de quatre départements de Haute et Basse Normandie (Eure, Calvados, Manche et Orne). Au niveau national, la recherche a été effectuée auprès de tous les services de néphrologies pédiatriques qui participent au réseau de surveillance du SHU chez l'enfant. Ceci de manière rétrospective et prospective.

- **Enquête alimentaire**

Les parents des cas ainsi identifiés ont été interrogés par téléphone à l'aide d'un questionnaire exploratoire portant sur l'ensemble des expositions à risque pendant les 7 jours précédant l'apparition des symptômes (alimentation et boissons, contact avec des personnes ayant présenté une diarrhée, contact avec des animaux de ferme, voyage, etc.)

- **Recherche des cas de diarrhées sanglantes liées à une infection à STEC**

Afin de rechercher d'autres patients avec une infection à STEC n'ayant pas évolué vers un SHU, il a été demandé aux services de pédiatrie ainsi qu'aux laboratoires d'analyses de biologie médicale des quatre départements de Normandie de signaler à la Ddass ou à la CIRE, les cas de diarrhées sanglantes survenues depuis le 1<sup>er</sup> novembre.

### Enquête vétérinaire et environnementale

Pour les aliments suspectés par l'enquête épidémiologique, une enquête de traçabilité a été conduite par les DDSV concernées, en collaboration avec la DGAL. Une fois le fabricant identifié, une inspection a été menée dans l'entreprise avec vérification du plan de maîtrise sanitaire, et notamment de l'application de la méthode HACCP, des procédures de nettoyage-désinfection, et des auto-contrôles réalisés tout au long de la fabrication. Des prélèvements d'échantillons alimentaires ont été réalisés sur des produits en cours d'affinage, des produits finis et matières premières conservés au sein de l'échantillonnage.

L'enquête de traçabilité a aussi permis d'identifier les producteurs de matières premières (48 élevages laitiers).

Par ailleurs, des prélèvements de restes des aliments consommés par les malades ont été réalisés au domicile des familles des cas.

### Analyses microbiologiques

Pour chaque enfant, des prélèvements systématiques de selles et de sérums ont été réalisés et envoyés au CNR des *E. coli* et *Shigella* et au laboratoire associé au CNR pour confirmation d'infections à STEC :

- par sérologie pour mise en évidence d'anticorps dirigés vers le lipopolysaccharide d'*E. coli* O26, O55, O80, O91, O11, O128, O145 ou O157, en utilisant la méthode du line-blot [Raoult et al 1989]
- par isolement de souches de STEC dans les selles : par PCR *stx* puis mise en culture et PCR *stx1*, *stx2* et *eae* [Read et al 1992, Paton et Paton 1998].

Pour les souches de STEC dont le sérotype n'a pu être déterminé par agglutination avec 22 sérums (O25, O26, O44, O55, O78, O86, O91, O103, O111, O114, O118, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142, O145, O157, O158, O164), un sérotypage moléculaire a été réalisé selon la technique de *rfb*-RFLP [Combria et al 2000].

Les prélèvements d'origine alimentaire et d'origine environnementale ont été envoyés au laboratoire de l'ENVL. Les analyses ont été effectuées sur le bouillon d'enrichissement des échantillons. Dans une 1<sup>ère</sup> étape, des gènes *stx* (codant pour les Shiga-toxines) ont été recherchés par PCR après extraction et purification d'ADN [Read et al 1992]. Parallèlement, les extraits d'ADN des bouillons d'enrichissement ont été testés en PCR avec recherche du gène *rfb* codant l'antigène somatique O26. Le protocole et la séquence des amorces utilisées ont été décrites par D'Souza et al. [D'Souza et al 2002]

Dans une 2<sup>ème</sup> étape, pour les échantillons « PCR *stx* + », les souches de STEC ont été isolées, à partir des bouillons d'enrichissement, après hybridation sur boîte d'isolement grâce à une sonde froide. Une identification biochimique, un sérogroupage (O157, O26, O111, O55 et O103) et une caractérisation de la virulence des souches (recherche des gènes : *stx1*, *stx2* et *eae*) ont été effectués. Les souches d'*E. coli* O26 ont également été recherchées à partir des bouillons (PCR *rfb* O26 positive) après immunoséparation avec des billes DYNAL (Dynabeads) et isolement sur gélose contenant du rhamnose et sans lactose [Hiramatsu et al 2002].

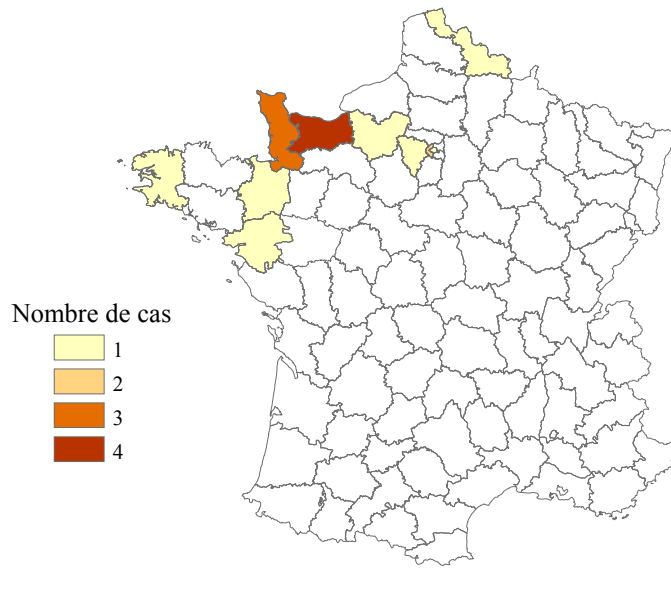
Toutes les souches isolées d'origine humaine et non humaine ont ensuite été caractérisées par une analyse en champ pulsé après macro restriction de l'ADN par l'enzyme de restriction *Xba*I [Swaminathan et al 2001]

## RÉSULTATS

### Enquête épidémiologique

Seize cas de SHU (12 filles et 4 garçons) âgés de 8 mois à 6 ans (médiane = 15 mois) ont été identifiés. Ces enfants résidaient dans le Nord-Ouest de la France, et principalement dans la Manche et le Calvados (figure 1).

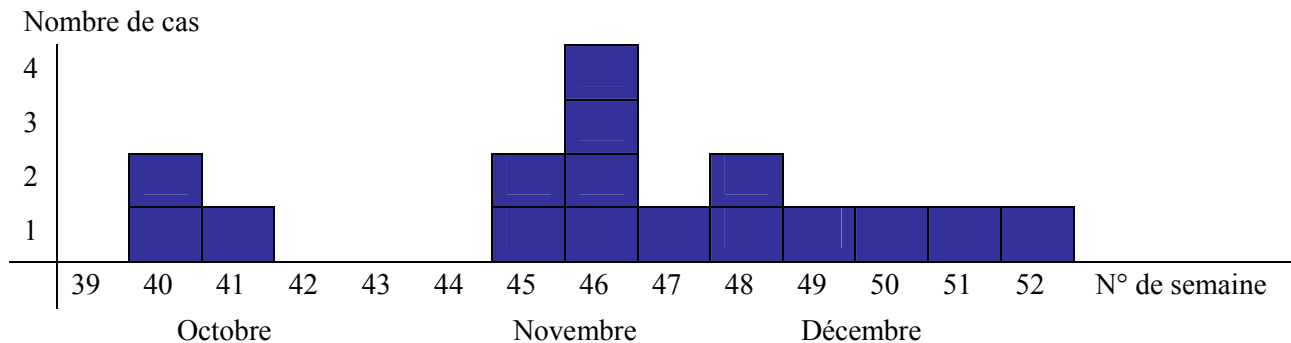
**Figure 1 :** Répartition géographique des cas selon le département de résidence, Épidémie d'infections à STEC, France, 2005



Ces enfants avaient présenté un SHU survenu entre le 14 octobre et 30 décembre 2005 (figure 2). Pour 81% (13/16) d'entre-eux, le SHU était précédé d'une diarrhée sanglante. Tous les cas ont été hospitalisés avec une durée médiane d'hospitalisation de 18 jours (extrêmes : 5-73 jours); une transfusion a été réalisée pour 100% des patients pour lesquels l'information était disponible. Pour 62% des patients pour lesquels l'information était disponible, une dialyse péritonéale a été mise en œuvre. Aucun enfant n'est décédé. Lors de la sortie de l'hôpital, 6 enfants présentaient une hypertension artérielle (modérée à sévère) et un autre, des complications neurologiques graves.

Par ailleurs, l'enquête auprès des services de pédiatrie et des laboratoires d'analyses de biologie médicale des quatre départements n'a pas identifié de cas de diarrhées sanglantes pouvant être liées à une infection à STEC.

**Figure 2 :** Distribution hebdomadaire des cas en fonction de la date de survenue de la diarrhée. Épidémie d'infections à STEC, France, 2005



La consommation de camembert au lait cru a été rapportée par les parents pour 12 des 16 enfants (75%). Parmi les marques de camembert au lait cru rapportées, la marque X avait été citée pour 9 enfants. Du camembert de cette marque avait été consommé, au cours des 7 jours précédant l'apparition des symptômes, de façon certaine pour 4 enfants et possible pour les 5 autres. Aucune autre exposition à risque commune n'avait été mise en évidence.

Aucun cas de diarrhée n'a été rapporté dans les collectivités fréquentées par les cas. Les pères de deux enfants avaient précisé avoir eu des selles liquides dans les jours précédant la survenue de la diarrhée de leur enfant.

Pour 14 des 16 enfants, un prélèvement de selles a été effectué, en moyenne, dans les 8 jours suivant le début de la diarrhée [médiane : 5 jours, extrêmes : 2-27 jours]. Des souches de STEC ont été isolées chez chacun des 14 enfants, dont 2 souches chez 2 enfants. Parmi les 16 souches identifiées, 7 étaient des *E. coli* O26 (dont 4 possédaient les gènes *stx2* et *eae*). Neuf souches étaient des STEC (*stx2+* *eae+*) dont le sérotype n'avait pu être déterminé par agglutination. Le sérotypage moléculaire a ensuite permis de caractériser 6 de ces 9 souches, comme étant des *E. coli* O80:H2 (tableau 1).

Pour 15 des 16 enfants, un prélèvement de sérum a été réalisé. Parmi les 10 sérologies positives, 100% étaient des sérologies *E. coli* O26 (tableau 1).

Les 7 souches d'*E. coli* O26:H11 présentaient un profil A non différentiable en macro-restriction de l'ADN, quelque soit leur profil de virulence (*stx2+* *eae+* ou *stx2+* *eae-* ou *stx2-* *eae+*). Les 6 souches d'*E. coli* O80:H2 présentaient un autre profil B non différentiable en macro-restriction de l'ADN, mais différent de celui d'*E. coli* O26:H11. Les profils des deux souches de STEC de sérotype indéterminé (C et E) et celui de la souche d'*E. coli* O2:H5 (D) étaient différents entre eux et différents de celui des souches d'*E. coli* O80:H2 et d'*E. coli* O26:H11 (tableau 2, figure 3).

**Tableau 1** : Résultats des recherches pour confirmation d'infections à STEC, Épidémie d'infections à STEC, France, 2005

N° du cas	Consommation de camembert au lait cru	Souche de STEC isolée	Sérologie	Profil PFGE <sup>d</sup>
1	non	<i>analyse non réalisée</i>	O26	
2	oui (marque X) <sup>b</sup>	O26:H11 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	O26	A
3	oui (marque X) <sup>b</sup>	<i>analyse non réalisée</i>	O26	
4	non	NT <sup>c</sup> <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	négative	C
5	oui (marque X) <sup>b</sup>	O80:H2 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	négative	B
6	oui (marque X) <sup>a</sup>	O80:H2 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	O26	B
7	oui (marque X) <sup>a</sup>	O26:H11 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	négative	A
		O80:H2 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>		B
8	oui (marque X) <sup>b</sup>	O26: H11 <i>stx2-</i> <i>eae+</i>	O26	A
		O80: H2 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>		B
9	oui (marque X) <sup>b</sup>	O26: H11 <i>stx2-</i> <i>eae+</i>	O26	A
10	non	O26: H11 <i>stx2-</i> <i>eae+</i>	<i>analyse non réalisée</i>	A
11	oui	O80:H2 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	O26	B
12	oui	O26:H11 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	O26	A
13	oui (marque X) <sup>a</sup>	O26:H11 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	O26	A
14	oui (marque X) <sup>a</sup>	O2:H5 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	négative	D
15	oui	O80:H2 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	O26	B
16	non	NT <sup>c</sup> <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	négative	E

<sup>a</sup> Consommation certaine de camembert de marque X au cours des 7 jours précédant les symptômes

<sup>b</sup> Consommation possible de camembert de marque X au cours des 7 jours précédant les symptômes

<sup>c</sup> Sérotype indéterminé

<sup>d</sup> Profils en PFGE désignés par la même lettre diffèrent de 4 bandes au maximum et appartiennent donc à un même sous-groupe clonal

En conclusion, les résultats des analyses microbiologiques suggèrent une épidémie d'infections à STEC avec deux souches *E. coli* O80:H2 et *E. coli* O26:H11. En effet pour deux cas, une souche d'*E. coli* O80:H2 et une souche d'*E. coli* O26:H11 ont été isolées dans un même échantillon. La même souche d'*E. coli* O26:H11 a été retrouvée chez 5 cas et la même souche d'*E. coli* O80:H2 a été retrouvée respectivement chez 4 autres cas. De plus, 3 des 4 cas pour lesquels une seule souche d'*E. coli* O80:H2 a été isolée dans les selles, étaient positifs en sérologie vis-à-vis du sérotype O26.

Par ailleurs, ces résultats ne permettent pas de lier à cette épidémie les trois cas pour lesquels des souches de STEC différentes ont été isolées dans les selles.

### Enquête vétérinaire et environnementale

L'enquête de traçabilité menée par les DDSV a permis d'identifier l'entreprise fabriquant les camemberts au lait cru de marque X, située dans la Manche. Cette entreprise comprenait une laiterie et une fromagerie. Le lait était fourni par 80 producteurs sous contrat avec l'entreprise. Sur la période concernée par l'investigation, 48 élevages de vaches laitières fournissaient du lait pour la fabrication de camemberts au lait cru.

L'inspection de la fromagerie, conduite par la DDSV de la Manche, n'a pas montré de déficiences dans les pratiques d'hygiène au niveau de la fabrication. De plus, les autocontrôles bactériologiques réalisés sur tous les lots de camemberts fabriqués étaient négatifs pour *E. coli* O157:H7.

Dans l'échantillothèque et les caves de l'entreprise, 62 échantillons de fromages, fabriqués entre le 18 octobre et 15 décembre, ont été prélevés. Sur ces 62 fromages, 17 étaient positifs en PCR O26 sur bouillons. A partir de ces bouillons, 12 souches d'*E. coli* O26:H11 présentant des profils de virulence différents (*stx- eae-* / *stx- eae+* / *stx+ eae+*) ont été isolées (tableau 2).

Chez les 48 producteurs qui avaient fourni du lait cru à la laiterie entre le 22 et 30 novembre, trois échantillons de lait par producteur ont été prélevés dans l'échantillothèque, puis analysés par pool. Sur les 48 pools de lait analysés, 5 ont été retrouvés positifs en PCR O26 sur bouillons. Des souches d'*E. coli* O26:H11 ont été isolées à partir de ces bouillons ; elles ne possédaient pas les gènes codant pour les Shiga-toxines (tableau 2).

Pour les cinq producteurs pour lesquels les échantillons de lait étaient positifs en PCR O26, des prélèvements supplémentaires ont été réalisés : lait (2 échantillons de 75 ml/producteur), ensilage (7 échantillons de fonds du silo), eau du réseau, de puits et d'abreuvoirs (18 échantillons) et aliments pour bétail (tourteaux, orge, minéraux, blé, concentré, poudre de lait pour veaux : 10 échantillons). Par ailleurs, afin d'étayer l'hypothèse d'une origine environnementale de la contamination, 9 mélanges de fientes d'étourneaux ont été réalisés dans 10 élevages différents.

Les résultats de ces investigations complémentaires sont présentés dans le tableau 2.

Parmi les prélèvements avec une PCR O26 positive, une souche d'*E. coli* O26:H11 a été isolée à partir d'un échantillon d'eau d'abreuvoir approvisionné en eau de puits et aucune à partir des fientes d'étourneaux et des échantillons d'ensilage. Pour les autres échantillons de lisiers, d'aliments pour bétail et d'eau d'égout (sur le site de la laiterie), les recherches par PCR étaient négatives.

L'enquête, réalisée chez ces 5 producteurs, a aussi montré :

- pour un élevage, la présence massive d'étourneaux et une alimentation en eau par des forages privés, qui s'est révélée non-conforme, et
- pour deux autres élevages, des pratiques d'élevage des veaux pouvant être considérées comme « à risque » (les veaux souffrant d'une diarrhée étant hébergés dans les mêmes locaux que les adultes ; aucune zone d'isolement des animaux malades).

#### Résultats microbiologiques des camemberts prélevés chez les familles de malades

Les analyses réalisées sur les restes de trois camemberts prélevés chez trois familles ont mis en évidence, pour un seul fromage, la présence d'une souche d'*E. coli* O26:H11. Cette souche ne possédait ni les gènes codant pour les Shiga-toxines ni celui codant pour le facteur d'attachement et d'effacement (*eae*) (tableau 2).



**Tableau 2 :** Caractérisation des souches de STEC d'origine alimentaire et environnementale, Épidémie d'infections à STEC, France, 2005

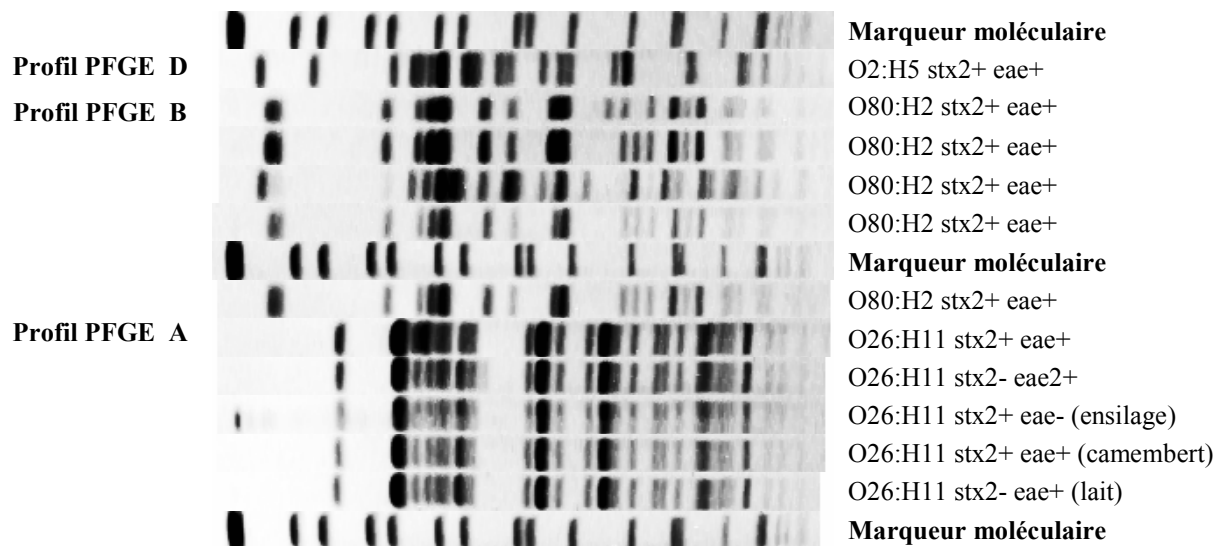
Nature de l'échantillon	Nombre d'échantillons testés	Nombre de PCR O26 positive	Souche de STEC isolée	Profil PFGE <sup>a</sup>
Camembert au lait cru (familles de malades)	3	2	<i>E. coli</i> O26:H11 <i>stx2-</i> <i>eae-</i>	Analyse non réalisée
Camembert au lait cru (échantillothèque)	62	17	<i>E. coli</i> O26:H11 <i>stx2+</i> <i>eae+</i>	A
			<i>E. coli</i> O26:H11 <i>stx2-</i> <i>eae+</i>	A
Lait de mélange (producteurs)	48	5	<i>E. coli</i> O26:H11 <i>stx2-</i> <i>eae+</i>	A
			<i>E. coli</i> O26:H11 <i>stx2-</i> <i>eae-</i>	Analyse non réalisée
Eau d'abreuvoir	18	3	<i>E. coli</i> O26:H11 <i>stx2-</i> <i>eae+</i>	A
Ensilage	7	1	Aucune souche	
Fientes d'étourneaux	9	3	Aucune souche	
Aliments pour bétail	10	0		

<sup>a</sup> les profils en PFGE désignés par la même lettre diffèrent de 4 bandes au maximum et appartiennent à un sous-groupe clonal

Comparaison moléculaire des souches d'origine humaine et non humaine

Les souches d'*E. coli* O26:H11 d'origine humaine présentaient un profil non différentiable en macro-restriction de l'ADN de celui des souches d'origine alimentaire et environnementale (figure 3).

**Figure 3 :** Analyse en champ pulsé, après macro restriction de l'ADN par l'enzyme de restriction *Xba*I, des souches d'origine humaine et non humaine, Épidémie d'infections à STEC, France, 2005



Le 17 décembre 2005, le producteur a décidé, en accord avec la DGAL, de retirer et de rappeler tous les produits fabriqués avec du lait cru (beurre et camemberts) et distribués en France, en Europe et dans les pays tiers.

Par ailleurs, la production de l'entreprise a été suspendue durant une semaine, jusqu'à la mise en œuvre d'un protocole sanitaire élaboré par le producteur en collaboration avec l'ENVL et la DGAL. Ce protocole s'appuyait sur des contrôles renforcés des laits et des fromages (dénombrement journalier en *E. coli* et PCR *stx* et *eae*). Suite aux mesures de maîtrise mises en place, consistant essentiellement en une opération de nettoyage et désinfection de la fromagerie et à la mise en place du protocole sanitaire, l'activité de l'entreprise et la commercialisation des fromages ont repris à compter du 12 janvier 2006 sous contrôle de la DDSV.

L'ensemble des producteurs laitiers approvisionnant la fromagerie ont été sensibilisés à nouveau à l'hygiène de la traite et autres facteurs de risque de transmission des STEC. Le groupement de défense sanitaire de la Manche a réalisé des audits lors de la traite chez les producteurs dont les laits étaient positifs en PCR O26.

### Alerte internationale

Les camemberts étant exportés vers l'Europe (Allemagne, Angleterre, Autriche, Belgique, Espagne, Italie, Norvège) et des pays-tiers, une information internationale a été diffusée le 17 décembre, par les systèmes d'alerte de la Commission Européenne : EWRS (Early Warning and Response System) et RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). Une sensibilisation du réseau des attachés agricoles des ambassades françaises dans les pays tiers (Japon, Congo, Gabon, Hong Kong, Afrique du Sud, Bahrein, Suisse) a aussi été mise en place afin qu'ils puissent répondre aux questions. Aucun cas d'infection à STEC non O157, liée à la consommation de ces camemberts, n'a été identifié dans les pays importateurs.

## **DISCUSSION**

Les résultats des investigations ont mis en évidence l'existence d'une épidémie à *E. coli* O26:H11 et O80:H2 liée à la consommation de camemberts au lait cru de marque X.

En effet, une fréquence élevée de consommation de camembert au lait cru de marque X a été rapporté par les parents des cas. De plus, les souches d'*E. coli* O26:H11 isolées chez quatre malades, consommateurs de camemberts de marque X, présentaient les mêmes caractéristiques moléculaires que celles isolées des camemberts de marque X.

Le faible nombre de cas de SHU identifiés malgré une recherche active et l'absence d'infection à STEC dans les familles des malades et dans la population générale suggérait une faible contamination des fromages. Cependant, cette faible contamination a été suffisante pour être responsable d'infections graves chez des enfants, population la plus sensible. La survenue des cas sur une période de 12 semaines était en faveur d'une contamination prolongée dans le temps.

La contamination de fromages au lait non pasteurisé par des STEC non O157 a déjà été décrite en France [Vernozy-Rozand et al 2005] et dans d'autres pays [Rey et al 2006]. Même si les sérogroupes de STEC identifiés lors de ces études n'ont pas été décrits comme pathogènes pour l'homme, ces résultats suggèrent bien la possibilité d'une transmission de STEC non O157 par consommation de fromages au lait non pasteurisé, transmission qui est, par ailleurs, bien documentée pour *E. coli* O157:H7 [Allenberger et al 2001, Bielaszewska et al 1997, Anonyme 2002, Liptakova et al 2004, Espié et al 2006].

Si des souches de STEC O26 et O80 n'ont jamais à ce jour été isolées dans des fromages au lait non pasteurisé, des souches de STEC O26 ont déjà été isolées dans du lait cru [Read et al 1992] et des souches de STEC O26 et O80 l'ont été chez des bovins [Cookson et al 2006, Blanco et al 2004]. De plus, en France, une étude a montré la présence de STEC O26:H11 dans des fèces de vaches laitières [Fremaux et al 2006].

Les résultats des investigations complémentaires au sein des élevages étaient en faveur d'une origine environnementale de la contamination avec un rôle possible des étourneaux. Présents en quantité importante en automne 2005, ils auraient pu contaminer l'ensilage, l'aliment pour le bétail ou encore l'eau d'abreuvement. En effet, le portage de STEC chez des oiseaux sauvages (mouette, pigeon, corbeau, étourneau) a déjà été documenté [Wallace et al 1997, Schmidt et al 2000, Fukuyama et al 2003] et leur rôle dans la transmission de STEC a, plusieurs fois, été suspecté chez les bovins [Makino et al 2000, Nielsen et al 2004] et chez l'homme [Ejidokun et al 2006].

De plus, cette investigation soulève la difficulté d'interprétation des résultats de recherches de STEC O26. En effet, les souches d'*E. coli* O26 présentent une grande diversité génétique évolutive. Des études récentes ont montré que la toxinogénicité des souches d'*E. coli* O26, incluant le changement de génotype *stx*, continue d'évoluer principalement par l'acquisition de gènes codant pour les Shiga-toxines de type 2 [Zhang et al 2000]. Ceci n'exclut pas la possibilité qu'à l'inverse des souches d'EPEC ou EHEC soient des STEC O26 qui auraient perdu les gènes *stx* portés par des bactériophages [Leomil et al 2005].

Ainsi du fait de la variabilité génétique considérable des souches de STEC O26, l'utilisation, lors d'investigation d'épidémies, du sous-typage moléculaire à fort pouvoir de discrimination (type PFGE) pourrait contribuer à identifier les sources et modes de transmission des infections à STEC O26 [Zhang et al 2000].

En conclusion, cette première épidémie à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines non O157, liée à la consommation de camemberts au lait cru souligne la nécessité d'une surveillance des STEC, incluant celle des STEC non O157, dans les denrées alimentaires d'origine animale, chez les animaux d'élevage et leur environnement (animaux sauvages inclus : oiseaux, mouches et rongeurs). Après un premier plan de surveillance sur 1039 fromages de vache au lait cru qui avait déjà permis d'isoler 32 souches de STEC non O157 [Vernozy-Rozand et al 2005], la Direction générale de l'alimentation envisage la mise en œuvre, en 2007-2008, d'autres plans de surveillance STEC sur les fromages de vaches à pâte molle au lait cru dans les régions Normandie et Ile de France.

Cette investigation a aussi mis en évidence la nécessité de rappeler, dans le cadre des conseils nutritionnels donnés aux familles des enfants, les mesures d'hygiène simples qui peuvent permettre de prévenir la transmission des STEC. Ainsi, la Direction générale de la santé et le programme national nutrition santé recommandent de ne jamais donner de lait cru à un enfant de moins de trois ans. Cette recommandation vaut également pour les produits à base de lait cru : beurre, crème fraîche et fromages au lait cru.

## RÉFÉRENCES

- Allerberger F, Wagner M, Schweiger P, et al. *Escherichia coli* O157 infections and unpasteurised milk. Euro Surveill. 2001;6(10):147-51.
- Anonymous. *Escherichia coli* O157 outbreak associated with the ingestion of unpasteurized goat's milk in British Columbia, 2001. Canada communicable disease report, CCDR. 2002;28(01). Disponible sur : <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/publicat/ccdr-rmtc/02vol28/dr2801eb.html> (Accessible le 19 août 2004).
- Bielaszewska M, Janda J, Blahova K, et al. Human *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with the consumption of unpasteurized goat's milk. Epidemiol Infect. 1997;119(3):299-305.
- Blanco M, Blanco JE, Mora A, Dahbi G, Alonso MP, Gonzalez EA, Bernardez MI, Blanco J. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-xi). J Clin Microbiol. 2004 Feb;42(2):645-51.
- Combria RS, Grimont F, Lenormand P, Burguière P, Beutin L, Grimont PAD. Identification of *Escherichia coli* O-serogroupes by restriction of the amplified O-antigen gene cluster (rfb-RFLP). Res Microbiol 2000;151:639-54
- Cookson AL, Taylor SC, Bennett J, Thomson-Carter F, Attwood GT. Serotypes and analysis of distribution of Shiga toxin producing *Escherichia coli* from cattle and sheep in the lower North Island, New Zealand. N Z Vet J. 2006 Apr;54(2):78-84.
- D'Souza JM, Wang L, Reeves P. Sequence of the *Escherichia coli* O26 O antigen gene cluster and identification of O26 specific genes. Gene. 2002 Sep 4;297(1-2):123-7.
- Ejidokun OO, Walsh A, Barnett J, Hope Y, Ellis S, Sharp MW, Paiba GA, Logan M, Willshaw GA, Cheasty T. Human Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) O157 infection linked to birds. Epidemiol Infect. 2006 Apr;134(2):421-3.
- Espié E, Vaillant V, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, Martin-Schaller R, De Valk H, Vernozy-Rozand C. *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurised goats' cheese. Epidemiol Infect. 2006; 134: 143-146
- Fremaux B, Raynaud S, Beutin L, Rozand CV. Dissemination and persistence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains on French dairy farms. Vet Microbiol. 2006 Oct 31;117(2-4):180-91.
- Fukuyama M, Furuhashi K, Oonaka K, Sakata S, Hara M, Kakuno Y, Itoh T, Kai A, Obata H, Watanabe T. [Isolation and serotypes of Vero toxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) from pigeons and crows] Kansenshogaku Zasshi. 2003 Jan;77(1):5-9. Japanese.
- Hiramatsu R, Matsumoto M, Miwa Y, Suzuki Y, Saito M, Miyazaki Y. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26 strains and establishment of selective isolation media for these strains. J Clin Microbiol. 2002 Mar;40(3):922-5.
- Leomil L, Pestana de Castro AF, Krause G, Schmidt H, Beutin L. Characterization of two major groups of diarrheagenic *Escherichia coli* O26 strains which are globally spread in human patients and domestic animals of different species. FEMS Microbiol Lett. 2005 Aug 15;249(2):335-42.
- Liptakova A, Siegfried L, Rosocha J, Podracka L, Bogyiova E, Kotulova D. A family outbreak of haemolytic uraemic syndrome and haemorrhagic colitis caused by verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 from unpasteurised cow's milk in Slovakia. Clin Microbiol Infect. 2004;10(6):576-8.
- Makino S, Kobori H, Asakura H, Watarai M, Shirahata T, Ikeda T, Takeshi K, Tsukamoto T. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from seagulls. Epidemiol Infect. 2000 Aug;125(1):55-61.

- Nielsen EM, Skov MN, Madsen JJ, Lodal J, Jespersen JB, Baggesen DL. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in wild birds and rodents in close proximity to farms. *Appl Environ Microbiol*. 2004 Nov;70(11):6944-7.
- Paton AW, Paton JC. Detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx*<sub>1</sub>, *stx*<sub>2</sub>, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfb*<sub>O111</sub>, and *rfb*<sub>O157</sub>. *J Clin Microbiol* 1998;36:598-602.
- Raoult D, Dasch GA. The line blot: an immunoassay for monoclonal and other antibodies. *J Immunol Meth*. 1989;125:57-65
- Read SC, Clarke RC, Martin A, De Grandis SA, Hii J, McEwen S, Gyles CL. Polymerase chain reaction for detection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from animals and food sources. *Mol Cell Probes*. 1992;6:153-161.
- Rey J, Sanchez S, Blanco JE, Hermoso de Mendoza J, Hermoso de Mendoza M, Garcia A, Gil C, Tejero N, Rubio R, Alonso JM. Prevalence, serotypes and virulence genes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ovine and caprine milk and other dairy products in Spain. *Int J Food Microbiol*. 2006 Mar 15;107(2):212-7.
- Schmidt H, Scheef J, Morabito S, Caprioli A, Wieler LH, Karch H. A New Shiga toxin 2 variant (Stx2f) from *Escherichia coli* isolated from Pigeons. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66:1205-1208
- Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV. Pulse Net: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance. United States. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:382-9
- Vernozy-Rozand C, Montet MP, Berardin M, Bavai C, Beutin L. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from raw milk cheeses in France. *Lett Appl Microbiol*. 2005;41(3):235-41.
- Zhang WL, Bielaszewska M, Liesegang A, Tschape H, Schmidt H, Bitzan M, Karch H. Molecular characteristics and epidemiological significance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26 strains. *J Clin Microbiol*. 2000 Jun;38(6):2134-40.