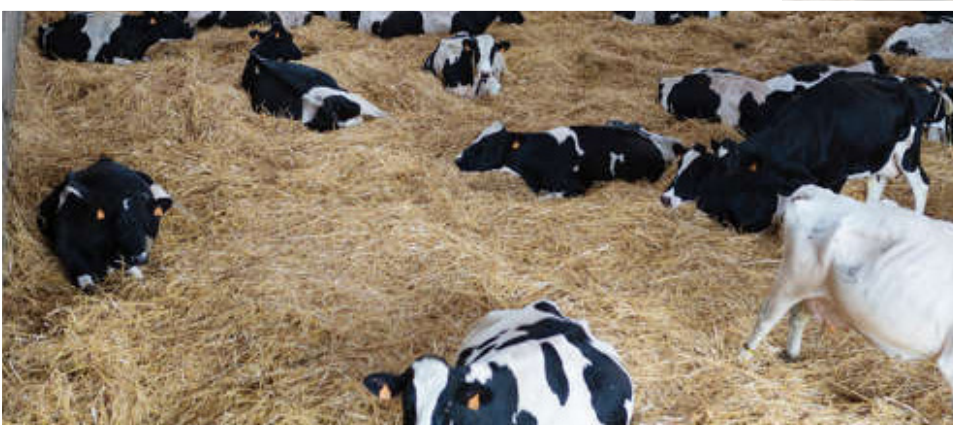




Projet STECAMONT

Maîtrise des STEC dans les élevages dont le lait est contaminé

Acquisition de connaissances et test de l'efficacité de mesures de maîtrise



Depuis la fin des années 1990, les entreprises laitières sont confrontées à des pathogènes encore difficiles à maîtriser aujourd'hui : les *Escherichia coli* productrices de shiga-toxines, ou STEC. D'origine fécale, excrétées dans les déjections des animaux, elles peuvent se trouver accidentellement dans le lait et les produits laitiers non pasteurisés. Potentiellement pathogènes pour l'Homme, la maîtrise des STEC à la ferme se heurte au manque de connaissances concernant leur écologie au sein des élevages laitiers, notamment caprins et ovins. Le projet STECAMONT aura visé à combler ces lacunes et à tester l'efficacité de mesures de maîtrise des STEC à la ferme pour stopper la contamination du lait.

STEC : de quoi parle-t-on ?

Les souches STEC hautement pathogènes (STECHP), encore appelées *Escherichia coli* entérohémorragiques ou EHEC (pour Enterohemorrhagic *Escherichia coli*), prises en compte dans l'étude du projet STECAMONT, appartiennent aux 5 sérotypes les plus fréquemment impliqués dans les infections humaines et possèdent les facteurs de virulence *stx* et *eae* (avis de l'Anses du 18/05/2017). Sont aussi considérées dans cette étude les souches *E. coli* « attachantes et effaçantes » AEEC ou EPEC (pour EnteroPathogenic *E. coli*) appartenant à ces 5 sérotypes, souches *eae* positives mais *stx* négatives, isolées dans un bouillon d'enrichissement dans lequel un gène *stx* a été détecté.

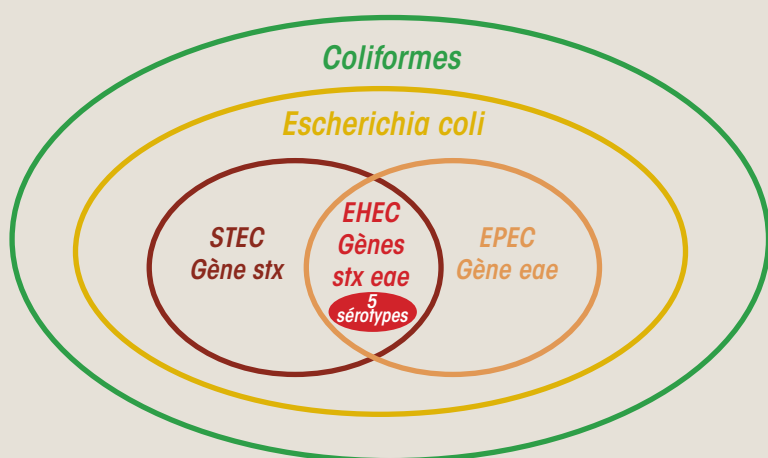


Fig. 1 : Définition d'une souche STECHP, d'après avis ANSES mai 2017

La méthode PFGE

La méthode de référence pour comparer et tracer des souches STEC est l'Electrophorèse en Champs Pulsés (PFGE). Elle consiste à faire migrer des fragments d'ADN bactérien sur un gel en fonction de leur poids moléculaire, après avoir « découpé » l'ADN à des endroits précis grâce à des enzymes de restriction.

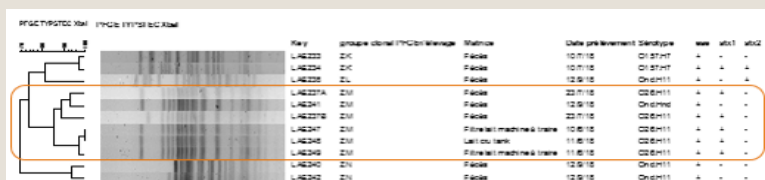


Fig. 2 : Exemple de profil PFGE de 11 souches O26:H11 et O157:H7 issues d'un élevage bovin (Opt 1,5 %, tol 1,5%)

Stratégie expérimentale

Des études de cas ont été conduites dans **13 élevages caprins, 2 élevages ovins et 7 élevages bovins** ayant livré de façon récurrente (au moins deux fois sur la période de livraison) du lait contaminé par des souches d'*Escherichia coli* productrices de shiga-toxines hautement pathogènes ou des AEEC de même sérotype.



ÉTAPE 1 – Prélèvements en fermes

Des prélèvements portant sur le lait et l'environnement ont été répétés durant un suivi d'un an (Tableau 1).

En bâtiment d'élevage	<ul style="list-style-type: none"> Fécès Litière (pédichiffonnettes) Abreuvoirs Si besoin : aliments, eau du robinet, nuisibles et oiseaux.
En salle de traite	<ul style="list-style-type: none"> Chiffonnettes mamelles Fécès Lait UHT ou eau dans la machine à traire
Dans la laiterie	<ul style="list-style-type: none"> Filtre à lait Lait du tank

Tab. 1 : Prélèvements d'échantillons effectués dans les élevages suivis dans le cadre du projet STECAMONT

ÉTAPE 2 – Caractérisation des souches isolées

Les **souches isolées** dans les fermes ont été **caractérisées puis comparées** par PFGE.

ÉTAPE 3 – Test de mesures de maîtrise

Des mesures de maîtrise « classiques » de contamination fécale et un suivi des fermes contaminées ont été mis en place. Lorsque cela a été possible, des **mesures de maîtrise particulières ont été testées en élevages** durant plusieurs semaines.

Ce que révèlent les prélèvements réalisés en fermes

Circulation des souches dans les élevages : un circuit de contamination fécale

La circulation durable d'une souche au sein d'un élevage a été mise en évidence (voir Figure 2). L'origine fécale de la contamination du lait a été confirmée au vu de la similitude des souches isolées des fèces, des litières et de la peau des mamelles (Farrock *et al.*, 2013). Ces éléments ont été consolidés avec l'absence de gènes *stx* et *eae* dans des collections de souches d'*Escherichia coli* issues de mammites cliniques ou sub-cliniques (69 souches ovines et 21 souches bovines) (ce qui conforte aussi les résultats en bovins de Raynaud *et al.*, 2005). Il n'existe pas de collection de ce type pour les caprins, mais des recherches ponctuelles ont pu être menées dans des élevages livrant du lait aux entreprises partenaires de ce programme de recherche et n'ont pas non plus mis en évidence l'excrétion mammaire chez les chèvres.

Les bactéries sont souvent en contact avec la litière

L'étude de cas d'élevages a permis d'acquérir des connaissances sur les matrices ou substrats à partir desquels on retrouve le plus souvent la bactérie (Tableau 2). Notamment, l'utilisation des **pedichiffonnettes en élevage de petits ruminants** s'est ainsi avérée intéressante pour échantillonner la litière. De façon générale, les STECHP sont le plus souvent retrouvées **sur les litières ou en contact avec ces dernières (chiffonnettes mamelles entières)** ; la maîtrise de leurs conditions physico-chimiques (humidité, pH, température) et de leur évolution représente donc un point-clé de la maîtrise des STECHP à la ferme.

Aucun signe de bactéries dans les machines à traire !

Par ailleurs, les souches STEC n'ont jamais été retrouvées dans les machines à traire des cas étudiés, laissant penser que les STEC ne s'y installent pas de façon durable, ce qui est cohérent avec leur aptitude relativement faible à former des biofilms.

La contamination du lait se fait par intermittence

Les analyses de lait réalisées dans les fermes suivies ont permis de confirmer **l'intermittence de la contamination** du lait, comme le montre l'exemple ci-dessous (Figure 3). Les filtres à lait de lactoduc de machine à traire étaient plus souvent positifs que le lait pour des prélèvements réalisés le même jour.

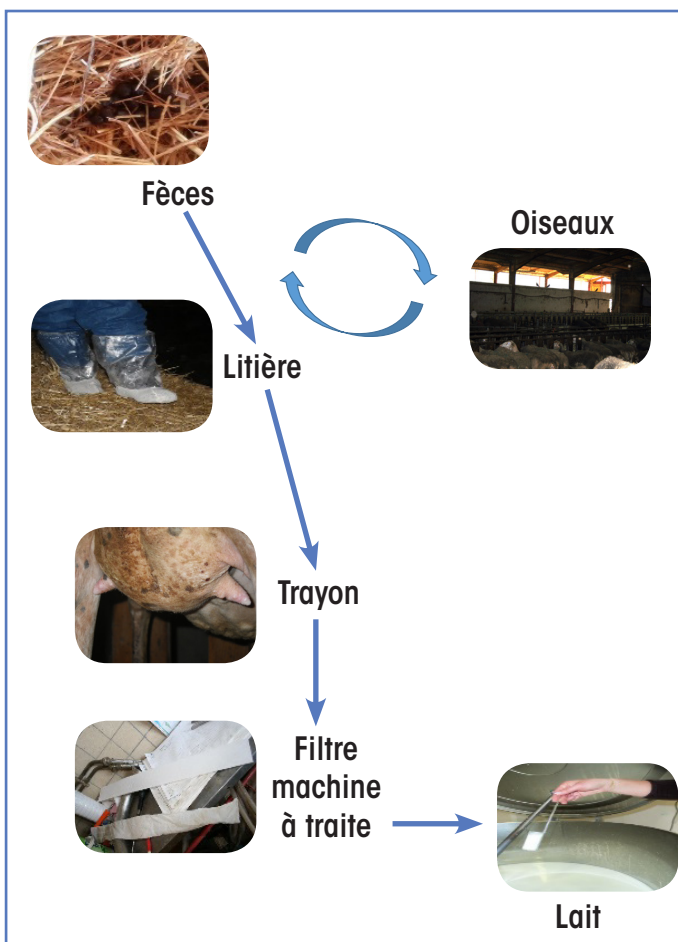


Fig. 3 : Schéma de contamination fécale du lait par une souche STEC HP à partir de l'interprétation des analyses PFGE réalisées dans les élevages

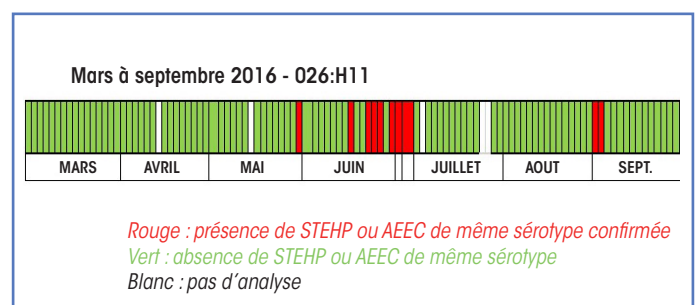


Fig. 4 : Suivi d'un élevage caprin avec recherche de STEC dans le lait de tank de la ferme à chaque collecte

Origine ou nature des prélèvements	Lait de tank	Filte machine à traire	Mélange de fèces	Fèces individuels	Pédichif-fonnettes litière	Chiffonnettes mamelle	Machine à traire (lait UHT)	Eau d'abreuvoir
Nombre de prélèvements	55	63	139	147	134	132	11	12
EHEC des 5 sérotypes	5 %	17 %	12 %	3 %	17 %	10 %	0 %	0 %
AEEC des 5 sérotypes	0 %	5 %	0,7 %	0,6 %	13 %	3 %	0 %	0 %

Tab. 2 : Taux d'échantillons ayant permis la détection de gènes et/ou l'isolement d'une souche de STEC HP ou AEEC de mêmes sérotypes dans les élevages caprins suivis

Comment prévenir la contamination du lait par les STEC ?

Maîtrise des facteurs de risque de contamination du lait préventif

Des études complémentaires restent à conduire sur les facteurs de risque de contamination du lait par les STECHP même si les observations dans les fermes ont mis en évidence les pistes suivantes :

- maîtrise de la **santé des animaux**, en particulier les risques de diarrhées ;
- **propreté des trayons et hygiène de traite** ;
- **propreté du bâtiment** : litières (curage et paillage), auges, abreuvoirs, aire d'attente, salle de traite et laiterie, contrôle des oiseaux, des mouches et des rongeurs ;
- gestion des flux des **déjections et effluents** ;
- **élevage des jeunes** animaux (éviter le contact prolongé avec les adultes, isolement), il faut une séparation physique entre les animaux d'âge différents.

En plus de l'attention à porter à la propreté des trayons, la bonne conception, **l'entretien et le nettoyage de la machine à traire** doivent être pris en compte pour bloquer la contamination du lait, même si la bactérie ne semble pas s'installer dans la machine à traire.

Mesures de maîtrise innovantes testées en fermes

L'origine digestive des souches permet d'envisager l'évaluation de stratégies de réduction du portage animal par l'utilisation de solutions non antibiotiques à base de microorganismes, permettant de limiter la croissance ou la survie des STECHP dans le tractus gastro-intestinal (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2016).

Des premiers résultats obtenus lors de l'étude STECAMONT ont suggéré qu'un **complexe à base de levures vivantes, de fractions spécifiques de levures et d'argile** permettait de limiter la contamination du lait de chèvre pendant la durée de l'administration. Des résultats contradictoires ont été observés dans 2 élevages ovins et des résultats encourageants dans 2 élevages bovins.

Le complexe microbien a volontairement été très dosé, ce qui n'est pas compatible avec une efficacité économique, mais l'objectif était de démontrer l'intérêt de cette solution. Ces travaux, réalisés sur un petit nombre de fermes, méritent d'être élargis à d'autres élevages et à d'autres filières.

Les techniques de préparation des trayons avant traite pour les petits ruminants ont eu un effet favorable sur la maîtrise de la contamination du lait dans 3 élevages caprins. Dans les 3 autres élevages caprins, la contamination du lait est restée intermittente malgré l'application de cette technique, parfois réalisée de façon imparfaite. En effet, cette mesure, qui n'est pas habituelle dans le cas des petits ruminants, allonge et modifie beaucoup le travail de l'éleveur lors de la traite.

Intervenir en élevage en cas de contamination du lait

Les résultats obtenus dans le cadre de l'étude STECAMONT permettent de proposer une méthode d'évaluation de l'étendue de la contamination dans l'environnement des élevages où une contamination récurrente du lait par des STEC HP est constatée. Les prélèvements d'échantillons à privilégier en première intention afin de déterminer l'origine de la contamination sont les suivants :



FÈCES

Réaliser 3 à 5 pots de prélèvements de fèces frais sur le sol ou au vol (5-10 animaux par pot en première intention, 1 animal par pot ensuite)



LITIÈRE

Réaliser 3 prélèvements par pédichiffonnante sur la litière



LAIT DE TANK

Réaliser un prélèvement de 180 ml de lait de tank (1 pot)



FILTRE À LAIT

Récupérer le filtre jetable de la MAT à la fin de la traite ou installer avant la traite un dispositif de filtrage ou chiffonner le filtre à lait après traite (1 pot)



MAMELLE

Réaliser 9 prélèvements par chiffonnage de la mamelle entière de 9 femelles laitières 9 pots ou sachets qui seront poolés par 3 pour faire 3 analyses au laboratoire

L'objectif de ces prélèvements reste de confirmer les lieux et zones à risque de contamination par les bactéries au sein de l'atelier de production. Des contaminations dans le lait et le filtre à lait sont ainsi révélateurs d'une hygiène de traite améliorable (celle-ci bloque le passage de la mamelle au lait), même si leur absence lors des prélèvements ne signifie pas nécessairement leur absence permanente sur l'exploitation ! En effet on a pu relever une intermittence importante des excréments de STEC HP dans l'environnement et donc dans le lait. Il est donc important de compléter ces prélèvements par des observations et une enquête détaillée menée par le technicien et l'éleveur. Cette enquête permet d'analyser les facteurs de risque et mettre en place des mesures de maîtrise de la contamination fécale, le premier réservoir des STEC étant le tube digestif des ruminants. Le premier objectif de l'intervention sera ainsi d'éviter le passage des bactéries dans le lait au moment de la traite, puis l'on cherchera à réduire la pression bactérienne dans l'élevage et de fait la circulation de la bactérie dans l'élevage.

Les suites engendrées par le projet STECAMONT

Si le projet a permis d'acquérir des connaissances sur la biologie des STEC HP à la ferme, de tester des méthodes innovantes de maîtrise, et de faire des hypothèses sur les facteurs de risque de contamination du lait, ceux-ci doivent encore être confirmés de manière plus précise.

En parallèle à cette étude, les filières ovines et caprines ont renforcé les analyses sur les laits collectés. Ces suivis analytiques renforcés ont permis la réalisation au travers d'un nouveau projet intitulé « CASTEC » d'une étude de type « recherche de facteurs de risques » dans des élevages cas et des élevages témoin.

Ce projet commencé en 2018 se déroulera jusqu'en 2020 et va permettre d'explorer les facteurs de risques relevés par l'étude STECAMONT, mais aussi d'explorer d'autres pistes qui n'avaient pas pu l'être au cours du projet (situation géographique et climatique notamment).

Pour avancer sur la question de la maîtrise des STEC HP, il apparaît aujourd'hui important de compléter et de valoriser cette masse de données pour mettre en évidence des facteurs de risques de la contamination et permettre d'en déduire des moyens de maîtrise à la ferme d'autant plus efficaces.

Références pour aller plus loin

Cette étude a fait l'objet d'un article scientifique référencé comme suit :

- **Raynaud S., Ganet S., Michel V., Brugère H., Auvray F., Bergonier D., Forray L., Brasseur F., Bourreau P., Roussel P., Bailly C., Le Barillic K., Chaucheyras-Durand F., Picant P., Sergentet D., 2018.** Connaissance des *Escherichia coli* productrices de Shiga-toxines en élevage de ruminants laitiers. 24^{ème} congrès Rencontres Recherches autour des Ruminants (3R), Paris. Inra – Institut de l'Élevage.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Chaucheyras-Durand F., Dunière L., Forano E., 2016.** Comment garantir la sécurité microbiologique de la viande bovine ? Revue Viande et Produits Carnés, 32 : 4-3.
- **Farrokh C. et al., 2013.** Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. Int. J. Food Microbiol., 162: 190-212.
- **Farrokh C., Michel V., Raynaud S., Miszczycha S., 2014.** Guide interprofessionnel de maîtrise des STEC en filière laitière. Éd. CNIEL.
- **Raynaud S., Vernozy-Rozand C., Boscher P., Picant P., Mathieu B., Degand C., Poutrel B., Heuchel V., Chatelin Y. M., 2005.** Prévalence, origine, circulation et persistance des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les élevages bovins français: 12^{ème} Renc. Rech. Ruminants, INRA-Institut de l'Élevage : 379-382.

Le projet STECAMONT a permis de :

- confirmer le circuit de contamination fécale du lait par les STEC, ainsi que l'extrême rareté voire l'absence de contamination par voie intra-mammaire ;
- mettre en évidence l'intermittence de la contamination du lait dans un élevage donné ;
- cibler les prélèvements à réaliser en intervention en ferme suite à une contamination du lait ;
- identifier des points de vigilance dans les facteurs de risques suspectés ;
- faire les premiers constats empiriques sur l'utilisation d'un mélange levure-fractions de levures-argiles et d'un nettoyage des trayons avant la traite, intéressant dans certains cas en élevage caprin.

ONT COLLABORÉ AU PROJET STECAMONT :

S. Raynaud (responsable du projet), P. Roussel et J. Legarto (Institut de l'Élevage), V. Michel et C. Hoarau (ACTALIA), D. Sergentet, S. Ganet et C. Thollet (VetAgro Sup Lyon), H. Brugère, F. Auvray, M. Kérourédan, M.-M. Um et D. Bergonier (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse UMR IHAP), M. Le Pape, D. Verneau et E. Boullu (FNEC) (ANICAP), L. Forray, P. Bouet, C. Jacquet et M. Cabaret (Laiteries H. Triballat), G. Sanzey, P. Bourreau, F. Brasseur et P. Bourdin (AGRIAL), C. Bailly, P. Anglade, A. Condomines et F. Cambefort (Confédération Générale de Roquefort), K. Le Barillic (CNIEL), C. Spelle (CNAOL), entreprises laitières ou syndicats de produit (CNIEL), F. Durand (Lallemand SAS, équipe de recherche détachée à l'INRA de Theix), E. Forano et M.-C. Montel (INRA), V. Salaün (Interprofession Lait de Brebis des Pyrénées-Atlantiques), P. Picant (GDS du Calvados), J. Delaval, Y. Dureuil et S. Rotily (laboratoire de Touraine), C. Defargues (LIAL Massif Central), A. Lortie et S. Michel (LILANO)

RÉDACTION : S. Raynaud, P. Roussel et B. Denis (Institut de l'Élevage), V. Michel (ACTALIA), D. Sergentet et S. Ganet (VetAgro Sup Lyon), F. Auvray (ENVT)

MISE EN PAGE : M-C. Leclerc, I. Guigue (Institut de l'Élevage)

CRÉDITS PHOTOS : L. Page / Cniel ; 2xSamara / Fotolia ; P. Bourgault / Cniel ; D Hardy / La chèvre ; ANICAP – Studio des 2 prairies
Juin 2019 – 0019 404 006 – Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75012 Paris – www.idele.fr

POUR EN SAVOIR PLUS :



Sabrina RAYNAUD
Institut de l'Élevage
sabrina.raynaud@idele.fr

Cette étude a reçu le soutien financier du Ministère de l'Agriculture (FranceAgriMer – CASDAR), du Cniel, de l'ANICAP et de la Confédération Générale du Roquefort. La responsabilité du Ministère chargé de l'agriculture ne saurait être engagée.

