

Maîtrise des *Escherichia coli* productrices de shiga-toxines (STEC) en élevage ovin lait

Projet CASTEC 2018-2020 :

Approche des facteurs de risque de contamination du lait et des élevages ovins par cas-témoin et cartographie

Les filières laitières bovine, ovine et caprine travaillent ensemble depuis plusieurs années à la maîtrise des *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines potentiellement hautement pathogènes (STECHP) en ferme, avec des experts scientifiques ainsi que l'Institut de l'Élevage, et pour ce projet, le soutien financier de FranceAgriMer, de l'ANICAP et de la Confédération de Roquefort.



ZOOM



Le projet STECAMONT (2015-2018) a permis de confirmer le schéma de circulation des STECHP dans l'élevage conduisant à une contamination accidentelle d'origine fécale du lait (Collectif, 2019). Le projet CASTEC (2018-2020) a eu pour objectif la recherche de facteurs de risque de présence de STECHP potentiellement hautement pathogènes (STECHP) et AEEC¹ dans le lait livré par des élevages de petits ruminants (brebis et chèvre).

CE QUE RÉVÈLE L'ENQUÊTE CAS-TÉMOIN MENÉE DANS 65 FERMES CAS ET 41 FERMES TÉMOINS

Soixante-cinq fermes cas (dans le lait desquelles une souche STECHP (ou AEEC¹) a été isolée au moins une fois) et 41 fermes témoins (aucun STECHP dans le lait sur les deux dernières années) ont été enquêtées en détails sur leurs caractéristiques et pratiques au cours des années 2017 et 2018. Les élevages cas et témoins étaient enquêtés au même moment, au plus près de la contamination du lait chez le cas et choisis dans la même zone. Les variables évoquées ici sont celles qui ont eu un lien significatif avec le risque d'être élevage cas (figure 2).

Les effectifs sont entre parenthèses car certaines variables ont des données manquantes.

LES ÉLEVAGES CAS SEMBLENT DE TAILLE PLUS IMPORTANTE ET DÉMARRENT LEURS LIVRAISONS PLUS TARD

Le constat est fait que les élevages cas ont **plus de brebis** (403 brebis en moyenne) que les témoins (362 brebis en moyenne), pour un litrage total livré équivalent (91 163 L et 89 379 L) : ils produisent donc un peu moins de lait par brebis (226 L/brebis contre 245 L/brebis).

Ils ont une **plus grande SAU** : les cas utilisent en moyenne 79 ha (40 données) contre 62 ha pour les témoins (31 données).

A la traite chez les cas, ce sont plus souvent, pour 47 % d'entre eux (24/51), **deux trayeurs ou plus** qui officient, alors que cette situation ne se présente que chez 29 % des témoins (8/28). Ils ont moins de brebis par trayeur : 277 pour les cas (41 données) contre 309 pour les témoins (28 données). Les cas ont aussi, pour 49 % d'entre eux (17/35), une **grande salle de traite (plus de 24 postes)** ou une installation de type « roto », qui ne sont présentes que chez 29 % des témoins (6/21).

Autre caractéristique : plus de cas que de témoins **débutent leurs livraisons de lait plus tardivement** (après le 15 décembre pour 37 % des cas (22/59) contre 23 % des témoins (9/39)).

Enfin la présence de **cervidés, sangliers... sur les pâtures** est observée chez 28 % des cas (13/47) contre 10 % des témoins (3/29). Nous avons aussi mis en évidence la présence d'autres ateliers de ruminants plus fréquente pour les élevages cas (engraissement d'agneaux, bovins ou ovins viande...) (pas de test statistique).

L'augmentation du risque d'être cas quand la taille augmente peut être le fait de la recherche initiale des STECHP au niveau des citernes de ramassage de lait. Un élevage livrant plus de lait sera donc plus facilement repéré en cas de contamination de son lait en considérant que la concentration initiale est similaire pour tous les laits contaminés.

¹ Attaching and Effacing *Escherichia coli* – au début du projet CASTEC en 2018, ces souches de certains sérotypes devaient faire l'objet de mesures de gestion en cas de présence dans les produits (anses). Ce n'est plus le cas aujourd'hui, sauf en cas de maladies humaines.

LES ÉLEVAGES CAS ONT CERTAINES PRATIQUES À RISQUE, NOTAMMENT À LA TRAITE

Vingt huit pour cent (11/40) des élevages cas avaient **plus souvent de la paille sur les quais de traite** pendant et à la fin de la traite, contre 4 % des témoins (1/27).

Les cas ont pour 72 % (28/39) d'entre eux des pratiques de **biosécurité vis-à-vis des visiteurs**, alors que les témoins en ont plus : ils sont 91 % à en appliquer (20/22).

Seuls 24 % des cas (10/41) ont des diarrhées d'agneaux contre 54 % des témoins (15/28). Ceux des cas qui sont suivis par le contrôle de performance ont par contre **plus souvent des agnelles vides**, en moyenne 13 agnelles vides (40 données), que les témoins : 6 agnelles vides (31 données). Cette moyenne est cependant pénalisée par quelques élevages cas qui ont des résultats de reproduction très dégradés sur les agnelles. En médiane, ce ne sont plus

que 7,5 agnelles vides pour les cas et 6 pour les témoins. Cette situation est peut-être le signe d'autres problèmes sanitaires. S'agissant du contrôle de performance, il concerne 62 % des cas et 73 % des témoins (pas de test statistique réalisé). Dans le même ordre d'idée, les cas **nettoient et désinfectent plus souvent les abreuvoirs**, ce qui pourrait être la conséquence de problèmes sanitaires passés : 60 % des cas nettoient et désinfectent hebdomadairement les abreuvoirs contre 37 % des 41 témoins.

Ils utilisent plus souvent une **eau de ressource privée** pour l'abreuvement des animaux et le nettoyage de la machine à traire (non significatif). Cette eau a un pH un peu plus élevé chez les cas, quelle que soit son origine (figure 1).

DES ANIMAUX ET UN QUAI DE TRAITE DONT LA PROPRETÉ POURRAIT ÊTRE AMÉLIORÉE



FIGURE 1 : ORIGINE DE L'EAU DE NETTOYAGE DES INSTALLATIONS DE TRAITE CHEZ LES CAS (À GAUCHE) ET LES TÉMOINS (À DROITE), ET PH MOYENS ASSOCIÉS

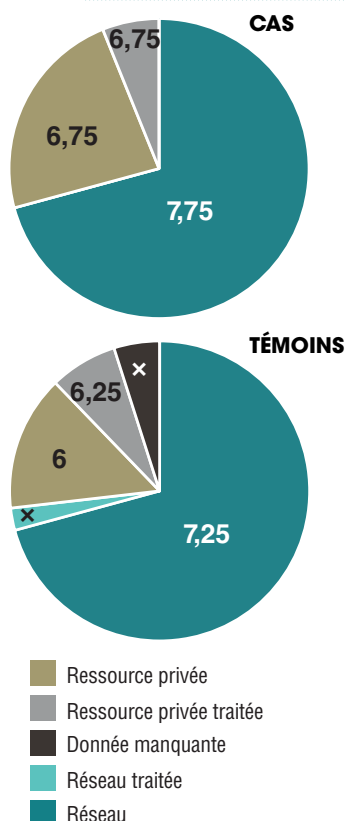


FIGURE 2 : FACTEURS CARACTÉRISANT LES ÉLEVAGES CONFRONTÉS À DES PROBLÈMES DE STEC



L'étude a mis en évidence certains facteurs à un moment et dans une zone donnée.

CE QUE RÉVÈLE L'ANALYSE DES SOUCHES DANS LE LAIT ET L'ENVIRONNEMENT DES FERMES....

Cette partie du projet portait sur l'ensemble des élevages ovins lait de la zone étudiée, pour les années 2017 et 2018. L'ensemble des souches isolées dans le lait ont été analysées en Électrophorèse en Champs Pulsés (PFGE) (ACTALIA et VetAgro Sup) et certaines ont fait l'objet d'un séquençage du génome complet (WGS) (ENVT), ce qui a permis de les comparer. Des souches isolées et caractérisées en PFGE lors du projet STECAMONT en 2015-2016 dans les mêmes zones/ voire mêmes élevages ont aussi été caractérisées en WGS. 77 souches ovines ont été analysées en PFGE et 18 en WGS.

LE WGS EST PLUS DISCRIMINANT QUE LA PFGE MAIS PAS EN CONTRADICTION

L'analyse de PFGE permet de discriminer des souches, mais n'est pas assez précise pour établir des liens et rechercher des causalités. Certaines souches qui apparaissaient similaires en PFGE, font partie de « clusters de souches » différents en WGS (exemple des élevages C14 et C4 en Figure 3b).

L'ORIGINE DE CONTAMINATION FÉCALE DU LAIT ET LA PERSISTANCE DES SOUCHES DANS LE TEMPS EST CONFIRMÉE PAR LE WGS

Ces résultats confirment ceux de l'étude STECAMONT. En Figure 3c, la même souche est retrouvée à partir d'une pédichiffonnette et d'un filtre à lait (élevage C13 en rouge ou O1 en vert en figure 3c et en orange et vert en figure 4) d'une part, ou bien à partir du lait, d'une chiffonnette mamelle et de fientes d'oiseaux du même élevage (O1 en vert) d'autre part. En figure 3b, le carré noir met en évidence une souche qui a persisté 3 ans dans le même élevage.

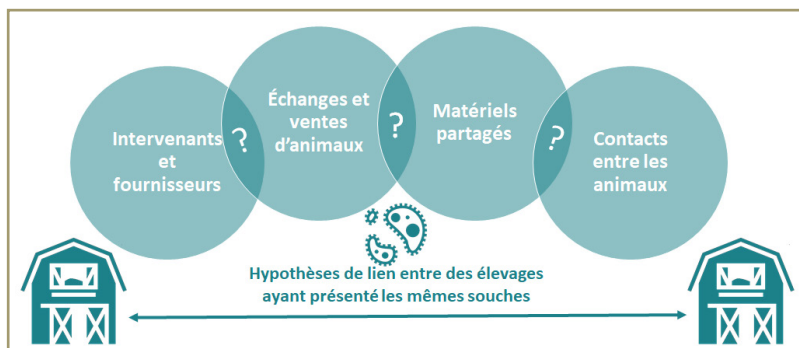
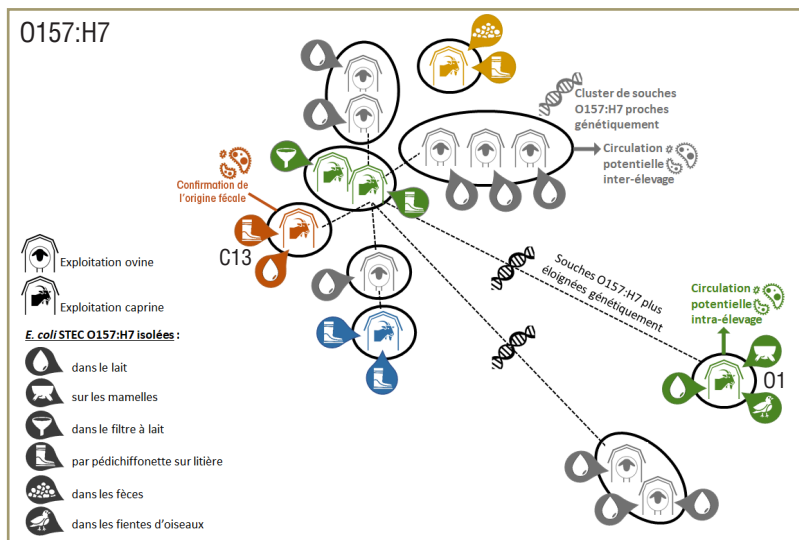
DES « CLUSTERS DE SOUCHES » SONT MIS EN ÉVIDENCE ENTRE DES FERMES GRÂCE AU WGS, ET DES HYPOTHÈSES SONT PROPOSÉES POUR EXPLIQUER LA CIRCULATION DES SOUCHES ENTRE LES ÉLEVAGES

Les fermes dont les souches appartiennent au même cluster en WGS (figures 3c et 4) ont été interrogées sur leurs liens éventuels par les techniciens de la CGR. Sans pouvoir conclure avec certitude sur le rapport de cause à effet, des liens ont pu être mis en évidence : mêmes intervenants techniques ou fournisseurs, matériels en CUMA, vente d'animaux à des voisins ayant des pâtures proches.... (ronds blancs et ovales noirs en Figure 3c, et voir Figure 4).

La figure 4 présente des représentations pédagogiques de ces résultats. Des liens ont été mis en évidence entre élevages par les « clusters de souches » en WGS (Figure 3c) et des enquêtes complémentaires menées par les techniciens.

FIGURE 4 : REPRÉSENTATION PÉDAGOGIQUE

Points communs entre des élevages ayant présenté dans leur lait des souches considérées comme génétiquement proches.



CE QUE RÉVÈLE LA CARTOGRAPHIE

Cette partie du projet portait sur l'ensemble des élevages de la zone étudiée sur la campagne laitière 2017. Des cartes ont été réalisées pour représenter dans l'espace et dans le temps les élevages dont le lait a été contaminé par

des STECHP, par un sérotype donné, par un pulsotype¹ PFGE ou un cluster de WGS donné. Des méthodes d'analyses statistiques ont recherché si des zones avaient des densités de cas supérieures. Une analyse dans le temps et

dans l'espace des températures extérieures mini-maxi-moyenne chaque jour et des densités de différentes espèces d'élevage par commune a été réalisée.

CONSIDÉRER L'ÉLEVAGE DANS SON ENVIRONNEMENT EST IMPORTANT DANS UNE APPROCHE ÉPIDÉMIOLOGIQUE



¹ Pulsotype : caractérisation d'une souche obtenue après réalisation d'une électrophorèse en champs pulsés (PFGE)

LA CONSTITUTION DES FICHIERS NÉCESSAIRES À CES ANALYSES DE CARTOGRAPHIE EST COMPLEXE

Les partenaires de terrain ont dû constituer un fichier des coordonnées GPS de tous les élevages, dans l'idéal coordonnées centrées sur le tank à lait. Il est aussi nécessaire de disposer d'un fichier détaillé des résultats d'analyses de STECHP, sous une forme compatible avec l'analyse statistique, ce qui peut demander beaucoup de travail quand on part des bordereaux papier envoyés par le laboratoire par exemple. Enregistrer aussi sous une forme exploitable le maximum de métadonnées sur ces résultats d'analyse est essentiel : date de prélèvement, type de substrat, présence de gènes détectée par PCR ou souche isolée et caractérisée...

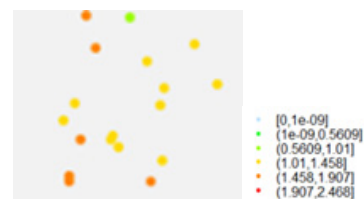
IL EST POSSIBLE DE DÉTERMINER DES ZONES OÙ LE RISQUE D'ÊTRE CAS EST PLUS ÉLEVÉ

Une analyse statistique a permis de déterminer pour chaque ferme un risque d'être contaminé par les STECHP, et certaines zones concentrent des fermes à risque plus élevé (points de couleur Figure 5 - méthode adaptée de Vieira *et al.*, 2002 – logiciel R). Ces zones ne se repéraient pas facilement « à l'œil » sur les cartes. Pour les saisons suivantes elles pourront faire l'objet d'une vigilance particulière.

À noter : la recherche de zones de densité anormale de cas et la comparaison avec des facteurs de risque nécessite d'acquérir des données parfois payantes et une expertise poussée en cartographie et en statistiques.

FIGURE 5 : RISQUE D'ÊTRE CAS POUR CHAQUE FERME

Chaque ferme est repérée par un point dont la couleur dépend de l'augmentation du risque d'être cas dans la zone qui l'entoure (Odd ratio local supérieur à 1 : le risque d'être cas est plus élevé dans la zone entourant la ferme qu'en moyenne).



LA DENSITÉ ANIMALE ET LES TEMPÉRATURES EXTÉRIEURES SONT DIFFÉRENTES CHEZ LES ÉLEVAGES POSITIFS AU MOINS UNE FOIS ET CEUX TOUJOURS NÉGATIFS EN STECHP AU COURS DE LA PÉRIODE ÉTUDIÉE

Densité animale

Un nombre de cas positifs plus élevé dans une commune est lié de façon statistiquement significative à :

- une densité plus élevée d'exploitations ovines, bovines et porcines,

- en tendance seulement : un plus grand nombre de têtes de bovins, un plus grand nombre d'exploitations ovines.

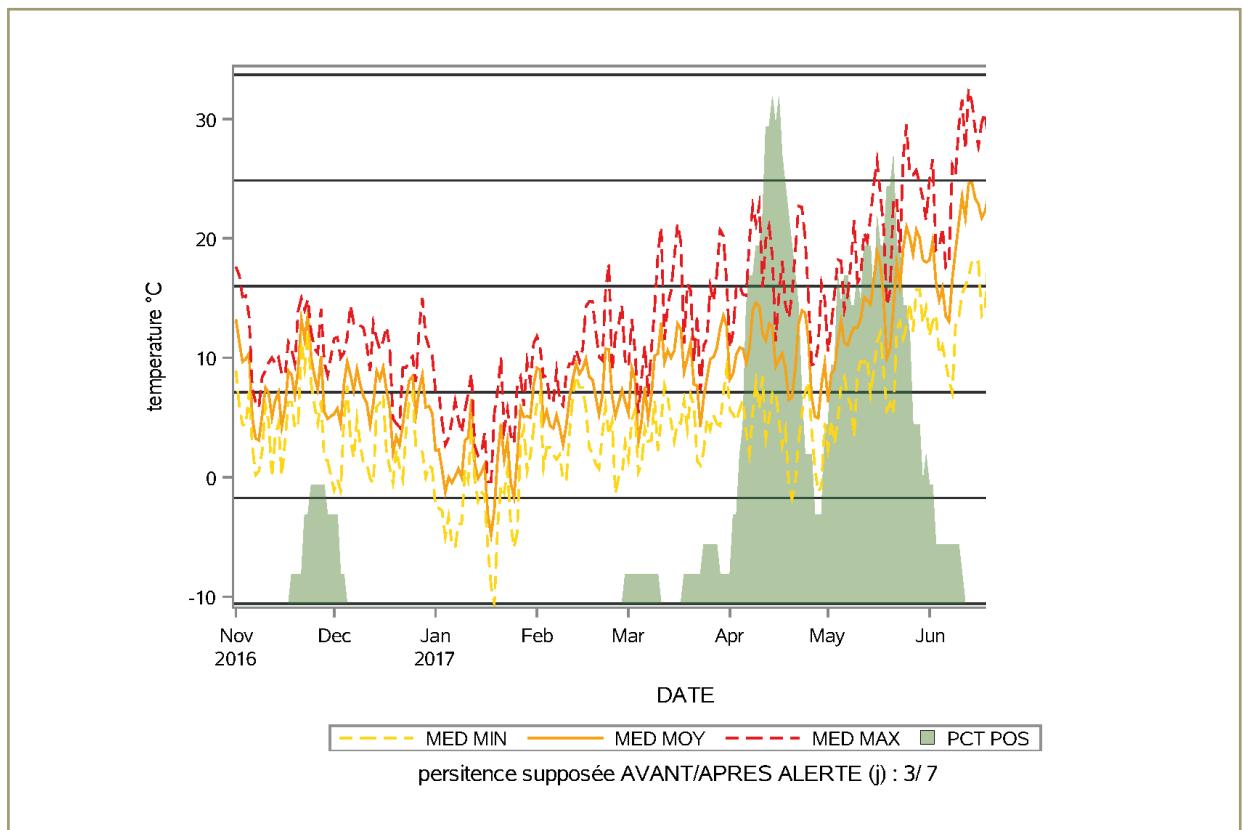
Les ovins et les bovins pouvant être des porteurs sains de STECHP, il n'est pas surprenant que leur plus grande présence soit liée à la contamination du lait. Par contre les porcins ne sont pas connus pour être souvent porteurs de STECHP ; ils ne semblent pas être directement présents sur les exploitations ovines, mais les exploitations ovines et porcines ont peut-être des échanges, de matériel ou des mélanges d'effluents, qui pourraient être responsables de contaminations croisées.

Températures extérieures

Des températures maximales plus élevées en mars, ainsi que des températures maximales plus variables en février sont observées dans les communes ayant un nombre de positifs plus élevé (Figure 6) (les positivités sont survenues le plus souvent en avril et mai dans la zone en 2017).

L'apparition des cas pourrait être liée à une augmentation de la température dans les jours précédant, sans que ce lien apparent n'ait pu être confirmé de façon statistique (Figure 5). Néanmoins cette augmentation ne serait qu'un facteur déclencheur parmi d'autres car les élevages non positifs sont confrontés aux mêmes augmentations de température sans déclencher de positivité.

FIGURE 6 : ÉVOLUTION DES MÉDIANES DES TEMPÉRATURES MINIMUM (JAUNE), MOYENNE (ORANGE) ET MAXIMUM (ROUGE) DE TOUTES LES COMMUNES DE LA ZONE, EN PARALLÈLE DU POURCENTAGE D'ÉLEVAGES POSITIFS EN STECHP (EN VERT)



CE QUE RÉVÈLE L'ANALYSE DES RÉSULTATS QUALITÉ DU LAIT SUR LA ZONE

Cette partie du projet portait sur l'ensemble des élevages de la zone étudiée sur les campagnes laitières 2017 et 2018. Les résultats de qualité du lait des élevages ayant été au moins une fois positifs en STECHP ont été comparés statistiquement aux résultats des élevages jamais positifs : TB, TP, rapport TB/TP, cellules somatiques (en \log_{10}), flore totale (en \log_{10}), coliformes totaux (en classes), butyriques (en classes), staphylocoques à coagulase positive (en classes).

CERTAINS CRITÈRES SONT DIFFÉRENTS CHEZ LES ÉLEVAGES POSITIFS AU MOINS UNE FOIS ET CEUX TOUJOURS NÉGATIFS EN STECHP AU COURS DE LA PÉRIODE

Au début du printemps, voire en avril-mai 2018, le rapport TB/TP est significativement plus élevé chez les « non positifs » que chez les positifs, ce qui tient à des taux plus élevés surtout en matière grasse. Les rapports TB/

TP s'établissent autour de 1,34 en moyenne et les écarts observés ne dépassent pas 0,1. Ce rapport s'inverse en été, hors période de livraison de lait pour transformation en Roquefort.

Entre mars et juillet, les élevages positifs ont des niveaux de flore totale significativement plus élevés que les « non positifs » (écarts faibles en valeur cependant, se situant dans la plage 4,2 / 4,4 \log_{10} d'UFC/ml).

Les niveaux de coliformes totaux ne sont pas significativement différents entre les positifs et les non positifs. Les dénombrements d'*Escherichia coli* n'étaient pas disponibles pour tous les élevages de la zone et n'ont donc pas pu être exploités.

⚠ Mais attention, ce n'est pas parce que qu'un élevage a toujours moins de 10 UFC d'*E. coli* par ml qu'il ne peut pas être concerné par une contamination du lait par des STECHP, ni qu'une élévation du nombre d'*E. coli* par ml va être systématiquement suivie de l'apparition de STECHP dans le lait !

CONCLUSION SUR LA PRÉVENTION DE LA CONTAMINATION DU LAIT PAR LES STECHP

Après l'étude STECAMONT qui portait plutôt sur les interventions curatives en cas de contamination du lait avérée, l'étude CASTEC apporte de premiers éléments sur les mesures de prévention de la contamination du lait par les STECHP : maîtrise des contaminations fécales dans la ferme, mais aussi prise en compte des risques de contamination extérieurs à l'élevage (intervenant dans la ferme, faune, autres ateliers...), d'où la nécessaire mise en place de mesures de biosécurité entre les élevages, particulièrement dans certaines zones de l'appellation où la densité des élevages de ruminants est importante, et où le risque d'être cas semble être plus élevé. Des travaux complémentaires seraient nécessaires pour compléter ces résultats.



CE QU'IL FAUT RETENIR DU PROJET CASTEC

Valorisation des données des filières et des entreprises

- Il est important pour les entreprises et les interprofessions gérant des analyses de lait de réfléchir très attentivement à la constitution de leurs fichiers de résultats d'analyse et aux métadonnées associées pour pouvoir les valoriser (date, type d'échantillon, ferme... toute donnée épidémiologique ou écologique d'intérêt).
- Il est très pertinent de faire mettre en collection toutes les souches isolées dans le lait, les produits ou l'environnement des fermes pour des études futures.



Recherche de pratiques à risque en élevage (approche cas-témoin) liés à la contamination du lait en STECHP

- Des facteurs de risque ont été mis en évidence au sein des élevages. Ils plaident pour des mesures de biosécurité raisonnées et de prévention des contaminations fécales. Nous n'avons pas identifié un ou des profils-type des élevages cas.

Caractéristiques et contexte des élevages associés au risque STECHP (approche par cartographie après caractérisation poussée des souches au laboratoire)

- Le sérotype voire même le pulsotype ne suffisent pas à tracer finement une souche, il faut aller jusqu'au séquençage du génome complet.
- Il est possible d'identifier des clusters de cas par des méthodes statistiques. Ces clusters se situent notamment dans des zones de plus

forte densité d'élevages de ruminants, voire d'élevages porcins.

- Il est également possible d'identifier des « clusters de souches » entre élevages présentant les mêmes souches séquencées. Des enquêtes supplémentaires ont alors permis de faire des hypothèses sur l'origine de ces clusters, à partir des liens identifiés entre les élevages.

Pistes de recherche

- Les STECHP semblent être plus détectés dans les périodes où les températures s'élèvent, une vigilance particulière est donc recommandée lors de ces périodes,
- L'étude a permis de démarrer des recherches qui seraient à consolider sur les facteurs climatiques mais aussi les méthodologies de cartographie et l'utilisation des méthodes de séquençage génomique.

POUR ALLER PLUS LOIN

Document d'aide méthodologique, plate-forme de surveillance de la chaîne alimentaire (disponible sur https://www.plateforme-sca.fr/sites/default/files/2022-02/Guide_Stec_Vf.pdf).

Collectif, 2019. **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. Fiche de la collection Focus R & D de l'Institut de l'Élevage, 6 pages (disponible sur le site www.idele.fr).**

Farrokh C. Michel V., Raynaud S., Miszczycha S., 2017. **Guide interprofessionnel de maîtrise des STEC en filière laitière. Éd. CNIEL (disponible sur demande auprès du CNIEL).**

Collectif, 2022. **Maîtrise des STEC dans les élevages ovins : où en est-on ? Projets CASTEC et STECAMONT. Fiche de 4 pages (disponible sur le site www.idele.fr).**

Réalisation : beta pictoris • Mise en page : Isabelle Guigue (Institut de l'Élevage) • Réf : 0021 404 003 • Mars 2022
Crédits photos : D. Hardy, S. Raynaud, L. Geffroy, J. Diependaele, Institut de l'Élevage, Studio Martin-Millau, J.M. Arranz
Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75012 Paris – www.idele.fr

Collaboration / Rédaction :

S. Raynaud (responsable du projet), B. Denis, M.N. Fouilloux, P. Roussel, C. Laithier et H. Le Chenadec (Institut de l'Élevage), V. Michel (ACTALIA), D. Sergentet, S. Ganet et C. Thollet (VetAgro Sup Lyon), H. Brugère, F. Auvray (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, IRSD), M. Brocart (ANICAP), E. Boullu (FNEC), L. Forray (Laiteries H. Triballat), C. Bailly, T. Gayraud, L. Bullier, P. Anglade, A. Condomines et F. Cambefort (Confédération Générale de Roquefort), K. Le Barillec (CNIEL), V. Salaün (Interprofession Lait de Brebis des Pyrénées-Atlantiques), C. Spelle (CNAOL).

Cette étude a reçu le soutien financier du Ministère de l'Agriculture (FranceAgriMer – CASDAR), de l'ANICAP et de la Confédération Générale de Roquefort.

La responsabilité du Ministère chargé de l'agriculture ne saurait être engagée.

Contact :

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

