



**ENSP**  
ÉCOLE NATIONALE DE  
LA SANTÉ PUBLIQUE  
**RENNES**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
Formation des ingénieurs du génie  
sanitaire  
2001-2002

***Escherichia coli O157:H7 :***  
**Éléments pour une évaluation**  
**du risque d'infection par voie hydrique**  
**Propositions de gestion**

**Présenté par :**

**Hélène Tillaut**

Ingénieur I NSA Rennes  
Génie Civil et urbanisme

**Lieu de stage :**

DDASS de Loire Atlantique

**Accompagnant professionnel :**

François Mansotte

**Référent pédagogique :**

Monique Etienne

---

# Remerciements

---

Pour leur aide à tous au cours de la réalisation de ce travail, je tiens à remercier :

Très sincèrement, M. François Mansotte, ingénieur sanitaire de la DDASS de Loire-Atlantique, accompagnant professionnel pour ce mémoire, dont les conseils et la disponibilité furent décisifs pour l'aboutissement de ce mémoire et pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail,

Mme Monique Etienne, professeur à l'ENSP, référente pédagogique,

Mmes Suzanne Bastian, Dires des Pays de Loire, Christine Vernozy-Rozand, Ecole Vétérinaire de Lyon, Emmanuelle Espié, Institut de Veille Sanitaire, Stéphanie Meyer-Broseta, Ministère de l'Agriculture, Mme Marie-Annick Prat, médecin inspecteur de santé publique DDASS de Loire-Atlantique et tout particulièrement M. Pascal Beaudeau, Institut de Veille Sanitaire, pour leur grande disponibilité, leur nombreux conseils avisés et leur aide bibliographique,

M. Pascal Michel, M. Michael Brown et Mme Anna Lammerding pour leur aide bibliographique,

L'ensemble du service santé-environnement de la DDASS de Loire-Atlantique pour son accueil chaleureux.

---

# Résumé

---

*Escherichia coli* O157:H7 est une bactérie pathogène pour l'homme, provoquant des colites hémorragiques et pouvant entraîner le développement d'un syndrome hémolytique et urémique chez les enfants et les personnes âgées. *E. coli* O157:H7 représente un problème de santé publique sérieux en Amérique du Nord et en Europe. La plupart des cas d'infection sont dus à la consommation d'aliments contaminés mais des épidémies ayant pour origine la consommation d'eau sont recensées.

*E. coli* O157:H7 est portée par les ruminants (principalement les bovins). Le processus de contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7 est complexe : il convient d'appréhender la survie et le comportement de la bactérie dans les stockages de déjections animales, dans le sol après un épandage, puis dans les différentes ressources en eau. Quelques modèles permettent de représenter la contamination microbiologique des ressources en eau par ruissellement vers les eaux de surface ou infiltration dans les aquifères, ces travaux se basent sur une décroissance exponentielle des bactéries dans l'environnement, le coefficient de décroissance dépend de nombreux paramètres.

L'exposition des populations dépend aussi de la capacité des usines de production d'eau potable à fournir une eau exempte de microorganismes pathogènes. La désinfection est l'étape déterminante pour l'élimination d'*E. coli* O157:H7 à condition qu'elle soit précédée d'une clarification et d'une filtration efficaces.

La réalisation d'une grille recensant, pour chaque captage d'eau destinée à la consommation humaine, les données relatives à la production animale et les activités connexes sur le bassin d'alimentation du captage et évaluant la performance du traitement appliqué à l'eau devrait permettre de parvenir, à terme, pour chaque captage, à une évaluation du risque d'infection par voie hydrique par *E. coli* O157:H7.

La survenue d'une contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7 est à craindre lors d'événements accidentels : déversement de déjections animales dans une ressource, fortes précipitations et inondations, déficience dans la filière de traitement de l'eau...

A l'heure actuelle, le risque de contamination microbiologique des ressources en eau est pris en compte dans la définition des périmètres de protection des captages d'eau destinée à la consommation humaine, cependant d'autres programmes de protection des ressources en eau, contre les pollutions d'origine agricole azotées notamment, participent à la réduction du risque de contamination des ressources en eau par des microorganismes entéropathogènes liés à la production animale, dont fait partie *E. coli* O157:H7.

Il n'est pas nécessaire de mettre en place des actions destinées à réduire spécifiquement le risque d'infection par voie hydrique par *E. coli* O157:H7, il convient cependant de veiller à ce que les actions déjà intentées soient efficaces et correctement mises en œuvre et il serait intéressant d'obtenir de plus amples connaissances sur le risque de contamination des ressources en eau par des microorganismes entéropathogènes liés à la production animale.

---

# Abstract

---

## ***Escherichia coli* O157:H7 :** **Elements for a risk assessment for water-related infection** **Propositions for risk management**

*Escherichia coli* O157:H7 is a pathogenic bacterium for humans, which causes haemolytic and uremic syndrome especially for young children and the elderly. Most of the known *E. coli* O157:H7 outbreaks are due to contaminated food's consumption but some of them have their origins in ingestion of contaminated water.

Ruminants (especially bovine) carry this bacterium. The assessment of population's exposure requires the knowledge of survival and behaviour of *E. coli* O157:H7 in manure, soil, water and across drinking water production steps. The process of water resources contamination can be mathematically modelled.

A contamination of water resources may happen due to particular conditions: manure spill in resources, run-off on manure spread surfaces during important rainfall, drinking water treatment plant deficiency...

No specific action needs to be taken in order to reduce the risk of infection of drinking water by *E. coli* O157:H7. Definition of protective areas in drinking water production already takes into account this microbial risk. Other programs, linked to animal production and created to reduce the nitrogenous pollution of agricultural origin, may also help to prevent from contaminating water resources. However, it could be interesting to create specific programs based on microbial risk assessments to fight against animal production linked to microbial risk.

---

# Sommaire

---

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE I : Evaluation du risque</b>	<b>3</b>
<b>I. Analyse du danger</b>	<b>3</b>
I. Taxonomie et physiologie	3
I.1 Les <i>Escherichia coli</i> pathogènes	3
I.2 Les <i>Escherichia coli</i> producteurs de toxines	4
I.3 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	4
II. Les facteurs de virulence et les effets pathogènes induits	5
II.1 Facteurs de virulence	5
II.2 Les effets pathogènes	5
III. Epidémiologie des infections à <i>Escherichia coli</i> O157:H7	7
III.1 Incidence des infections	7
III.2 Modes de transmission	9
III.3 Les populations sensibles	11
III.4 Facteurs de risque et de gravité	11
<b>II. Identification des fonctions dose-réponse</b>	<b>12</b>
I. Dose minimale infectante	12
II. Approche par d'autres germes pathogènes	12
II.1 Les <i>Escherichia coli</i> entéropathogènes (EPEC)	13
II.2 Shigella	13
I.1 Les fonctions dose-réponse	13
III. Extrapolation de données animales	15
IV. Utilisation de données épidémiologiques	16
V. Comparaison des modèles	17
<b>III. Estimation de l'exposition</b>	<b>19</b>
I. Le réservoir de la bactérie	20
I.1 Le réservoir animal	20
I.2 Le réservoir humain	22
II. Survie de <i>E. coli</i> O157:H7 après excrétion	23
II.1 Survie dans les déjections des animaux	23
II.2 Survie dans les stockages de déjections	24
III. Survie dans le sol	25
IV. Diffusion d' <i>Escherichia coli</i> O157:H7 dans les eaux	27
IV.1 Déplacement horizontal	28
IV.2 Déplacement vertical	28
V. Evaluation de la contamination des ressources en eau	30
VI. Survie dans l'eau	31

VII.	Survie aux traitements utilisés pour la production d'eau potable	33
VII.1	Désinfection par le chlore	33
VII.2	Désinfection par les Ultra-Violets	34
VIII.	Evaluation de la concentration en <i>E. coli</i> O157:H7 dans l'eau de consommation	34
IX.	Estimation de la consommation d'eau de la population	35
<b>IV.</b>	<b>Qualification du risque</b>	<b>36</b>
I.	Définition de différents scénarii de contamination des ressources en eau	37
II.	Les limites de l'évaluation des risques	37
II.1	L'analyse du danger	37
II.2	L'identification d'une fonction dose-réponse	38
II.3	L'estimation de l'exposition de la population	38
<b>PARTIE II :</b>	<b>Gestion du risque</b>	<b>40</b>
<b>II.</b>	<b>Nécessité d'une gestion du risque</b>	<b>40</b>
I.	Vulnérabilité de la ressource et pression bovine	40
I.1	La vulnérabilité de la ressource	40
I.2	Pression animale	41
II.	Populations sensibles et gravité des effets	41
III.	Coûts occasionnés	41
<b>III.</b>	<b>Prévention des infections à <i>Escherichia coli</i> O157:H7</b>	<b>42</b>
I.	Action sur le réservoir animal	42
I.1	Hygiène de l'alimentation et de l'eau fournies aux animaux	42
I.2	Compétition bactérienne	43
I.3	Vaccination	43
II.	Actions concernant la contamination de l'eau	43
I.4	La contamination des eaux brutes	43
I.5	La contamination des eaux traitées	45
VI.	Quelles améliorations pour la prévention de la contamination des ressources en eau ?	46
<b>IV.</b>	<b>Gestion des épisodes de crise</b>	<b>47</b>
I.	Mise en évidence d'un épisode de crise sanitaire	47
I.1	L'alerte environnementale	47
I.2	L'alerte sanitaire	47
II.	Détermination de la cause de l'incident	49
VII.	Quelles améliorations pour le système de gestion des crises sanitaires vis-à-vis du risque <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ?	49
I.3	L'alerte environnementale	49
I.4	L'alerte sanitaire	49
<b>Conclusion</b>		<b>51</b>
<b>Annexes</b>		<b>53</b>
<b>Bibliographie</b>		<b>86</b>

---

## Liste des sigles utilisés

---

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments  
CDC : Centers for Disease Control and Prevention  
CEE : Communauté Economique Européenne  
CREDOC : Centre de recherche pour l'étude et l'observation des conditions de vie  
CT : concentration \* temps de contact  
DAEC : *Escherichia coli* à adhésion diffuse  
DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales  
DGAL : Direction Générale  
DGS : Direction Générale de la Santé  
DRASS : Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales  
DSV : Direction des Services Vétérinaires  
EaggEC : Enteroaggregative *Escherichia coli*  
EHEC : Enterohemorrhagic *Escherichia coli*  
EIEC : Enteroinvasive *Escherichia coli*  
EPA : Environment Protection Agency  
EPEC : Enteropathogenic *Escherichia coli*  
ETEC : Enterotoxigenic *Escherichia coli*  
ICPE : Installation Classée pour la Protection de l'Environnement  
INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques  
InVS : Institut national de Veille Sanitaire  
LEE : Locus of Enterocytes Effacement  
MMWR : *Morbidity and Mortality Weekly Report*  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PMPOA : Programme de Maîtrise des Pollutions d'Origine Agricole  
PPT : Purpura thrombotique Thrombocytopénique  
RNSP : Réseau National de Santé Publique  
SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique  
STEC : Shiga toxin-producing *Escherichia coli*  
THM : Trihalométhane  
UFC : Unité Formant Colonies  
UV : ultra-violet  
VTEC : verotoxin-producing *Escherichia coli*

# INTRODUCTION

En février-mars et mai-juin 1982, deux épidémies de diarrhées sanglantes sont rapportées dans les états de l'Oregon et du Michigan (Etats-Unis). Aucun des germes pathogènes habituellement mis en cause dans une épidémie n'est isolé, cependant, un sérotype rare d'*Escherichia coli* non invasif et non entérotoxigène (*E. coli* O157:H7) est mis en évidence dans les selles des malades. L'enquête épidémiologique montre que la consommation de hamburgers d'une chaîne de restauration rapide est statistiquement associée à la maladie (Riley *et al.*, 1983). Depuis le milieu des années 1970, des équipes de microbiologistes et de médecins surveillent les *E. coli* pathogènes et ont identifié ce sérotype, dont le mécanisme d'action était inconnu (Day *et al.*, 1983 ; Johnson *et al.*, 1982). D'ailleurs, les scientifiques avaient coutume d'affirmer que, jusqu'à cette époque, *E. coli* O157:H7 n'était pas à l'origine d'une importante cause d'épidémies ou de cas sporadiques de diarrhées (Day *et al.*, 1983).

A la suite de ces deux épidémies dues à *E. coli* O157:H7, une troisième survient à Ottawa (Canada) en novembre 1982 dans un centre de soins pour personnes âgées, dont l'origine alimentaire supposée n'a cependant pas été démontrée (MMWR, 1983).

Les symptômes rapportés sont des diarrhées aqueuses et sanglantes. Par la suite, Karmali *et al.* (1983) découvrent que cette bactérie est responsable d'une pathologie grave : le syndrome hémolytique et urémique.

Au cours des années 1980 et 1990, le nombre d'épidémies et de cas sporadiques dus à *E. coli* O157:H7 dans les pays industrialisés vont augmenter. On découvre aussi que les ruminants, et particulièrement les bovins, sont le réservoir principal de la bactérie. Bien que le nombre absolu d'infections à *Escherichia coli* O157:H7 soit faible comparé à celui provoqué par *Salmonella* ou *Campylobacter* (Coia, 1998), *E. coli* O157:H7 est maintenant reconnu comme provoquant de très sévères effets pathogènes pour l'homme (voire létaux). Les plus importantes épidémies ont lieu aux Etats-Unis en 1993 (700 cas à la suite de la consommation de hamburgers provenant d'une chaîne de restauration rapide contaminés et insuffisamment cuits, Tuttle *et al.*, 1999) et au Japon en 1996 (6000 cas à la suite de la consommation de pousses de radis dans une cantine, Iijima *et al.*, 1998). D'autres sérotypes d'*E. coli* responsables des mêmes symptômes vont également faire leur apparition pendant cette période.

En France, l'incidence du syndrome hémolytique et urémique atteint 0,76 cas/100 000 enfants de moins de 15 ans par an (Haeghebaert *et al.*, 2002).

Dans la majorité des cas, ces épidémies ont une origine alimentaire (en particulier liée à la consommation de viande bovine insuffisamment cuite) ; cependant des épidémies ayant pour origine la consommation d'une eau contaminée, une baignade ou même le contact avec des animaux sont également recensées.

Dans le courant du mois de mai 2000, survient, à Walkerton (Canada), une importante épidémie due à la consommation d'eau issue d'une contamination du réseau d'eau potable. Le nombre de victimes est élevé et l'impact sur les esprits est considérable (O'Connor, 2002).

Jusqu'à présent, la communauté scientifique et les professionnels de santé se sont penchés presque exclusivement sur le risque d'intoxication alimentaire par *Escherichia coli* O157:H7, très peu de travaux ont été effectués sur la contamination par voie hydrique. Quelle est la probabilité de survenue d'un événement tel que l'épidémie de Walkerton en France ? Peut-on connaître le niveau de contamination des eaux par *E. coli* O157:H7 en France ? Quelles sont les actions à entreprendre pour appréhender le risque



d'infection hydrique par *E. coli* O157:H7 ? Ces questions seront exposées dans le déroulement du mémoire qui présentera exclusivement le risque de contamination à la suite de la consommation d'eau distribuée par l'intermédiaire d'un réseau d'adduction, le cas des eaux embouteillées ne sera pas traité. Dans une première partie, nous exposerons la démarche d'évaluation du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7 ; la seconde partie de cette étude sera consacrée aux moyens disponibles ou à mettre en œuvre pour gérer ce risque.

# PARTIE I : EVALUATION DU RISQUE

La démarche d'évaluation de risque a pour objectif de caractériser de manière transparente le risque sanitaire encouru par une population à la suite de l'exposition à un danger.

Cette démarche comporte quatre étapes :

- ❑ L'analyse du danger,
- ❑ L'identification d'une fonction dose-réponse,
- ❑ L'estimation de l'exposition de la population,
- ❑ La caractérisation du risque.

Le résultat final s'exprime, lorsque toutes les composantes sont bien identifiées et connues, par la quantification de l'impact de l'exposition à un danger en terme de santé publique.

Cette démarche a été mise au point pour caractériser les risques d'origine chimique. Des réflexions sont en cours (au sein de l'EPA et des CDC entre autres, US EPA, 2001) pour adapter cette démarche au risque microbiologique d'origine hydrique particulièrement. A l'heure actuelle cependant, c'est la démarche décrite précédemment qui prône.

## I. ANALYSE DU DANGER

---

Dans le déroulement de la démarche d'évaluation des risques, l'analyse du danger doit permettre de bien identifier le problème de santé publique posé. Dans notre cas, l'analyse du danger lié à *Escherichia coli* O157:H7 fait référence à la description de la bactérie et des effets pathogènes induits par une infection, à la compréhension des mécanismes d'action qui entraînent la maladie et, enfin, à l'identification des populations sensibles. L'épidémiologie des infections est l'outil principal pour pouvoir apprécier le danger.

### I. TAXONOMIE ET PHYSIOLOGIE

*Escherichia coli* est une entérobactérie présente naturellement dans les intestins des homéothermes (humains et animaux).

Les 5 espèces d'*Escherichia* (dont l'espèce *coli*) appartiennent à la famille Enterobacteriaceae.

Les bactériologistes utilisent une classification basée sur l'identification du sérotype, défini par l'antigène somatique O (actuellement plus de 170 sérotypes sont recensés, Sutra *et al.*, 1998). A l'intérieur des sérotypes, les sérotypes des différentes souches sont définis suite à l'identification des antigènes du flagelle H et de la capsule K.

#### I.1 LES *ESCHERICHIA COLI* PATHOGENES

Certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes pour l'homme. La classification médicale des *Escherichia coli* pathogènes distingue ainsi 6 groupes définis suivant les différents signes cliniques induits par une infection :

- ❑ Les *E. coli* entérohémorragiques (Enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC en anglais),
- ❑ Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC),
- ❑ Les *E. coli* entérotoxigènes (EPEC),
- ❑ Les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC),
- ❑ Les *E. coli* entéroaggrégatifs (EaggEC),
- ❑ Les *E. coli* d'adhésion diffuse (DAEC).

## I.2 LES *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTEURS DE TOXINES

Certaines souches sont productrices de toxines appelées vérotoxines (car elles infectent les cellules du rein du singe Vero) ou toxines de type Shiga (à cause de leur analogie avec les toxines produites par *Shigella dysenteriae*). Est appelée toxine toute substance protéique simple ou complexe, capable, à de très faibles doses, de provoquer la mort d'un organisme vivant ou d'induire in vivo ou in vitro des désordres pathologiques irréversibles ou réversibles au niveau des organes, tissus ou liquides biologiques d'un tel organisme (Vernozy-Rozand et Montet, 2001). Ces souches d'*Escherichia coli* sont nommées VTEC (pour Verotoxin-producing *E. coli*) ou STEC (pour Shiga toxin-producing *E. coli*). L'emploi du terme STEC étant préconisé, nous l'utiliserons dans la suite du texte. En 1995, 60 sérotypes étaient recensés comme produisant effectivement des toxines (Feng, 1995), ce nombre est maintenant passé à 100 (Coia, 1998 ; Law, 2000).

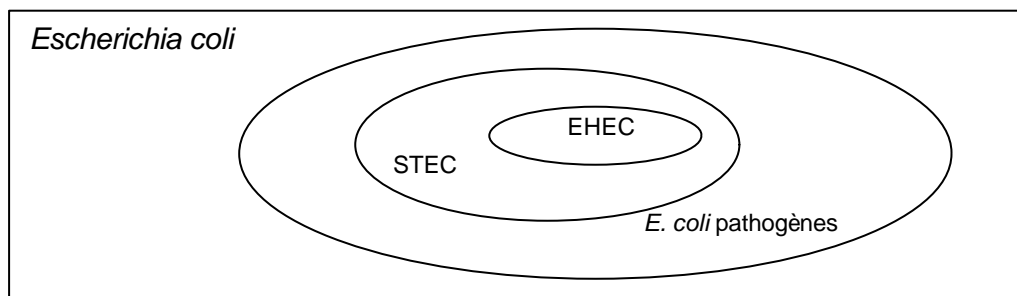
Certains STEC sont pathogènes pour l'homme. On recense actuellement 50 sérotypes responsables de colites hémorragiques ou du syndrome hémolytique et urémique (Sutra *et al.*, 1998). Les EHEC sont tous des STEC.

Tous les STEC sont des bacilles fins de 0,5 µm de diamètre et de 2 à 3 µm de long. Ce sont des entérobactéries dont la coloration de Gram est négative et qui ne sporulent pas.

## I.3 *ESCHERICHIA COLI* O157:H7

*Escherichia coli* O157:H7 produit des toxines de type Shiga et est classé dans les *E. coli* entérohémorragiques. La figure 1 présente la place des *E. coli* entérohémorragiques et donc d'*E. coli* O157:H7 parmi l'ensemble des *Escherichia coli*.

Figure 1 – Hiérarchisation des *Escherichia coli* entérohémorragiques



Ce sérotype fut le premier à être identifié comme responsable de diarrhées hémorragiques et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'homme au début des années 1980. Depuis, de nombreuses autres souches d'*E. coli* (toutes vérotoxino-gènes) ont été reconnues comme induisant les mêmes effets, mais *E. coli* O157:H7 reste la bactérie la plus étudiée et la mieux connue, étant le sérotype le plus souvent isolé lors de cas d'infections.

### 1) Caractères phénotypiques

Deux caractéristiques fondamentales différencient le sérotype O157:H7 des autres souches d'*E. coli* :

- ❑ *Escherichia coli* O157:H7 ne fermente pas le sorbitol en 24h à l'inverse des autres souches,
- ❑ Chez *Escherichia coli* O157:H7, l'enzyme β-glucuronidase n'est pas active.

Ces deux caractéristiques ont été utilisées pour mettre en place des techniques de détection d'*E. coli* O157:H7. Cependant, des souches mutantes d'*E. coli* O157:H7 fermentant le sorbitol ont été isolées (Feng, 1995).

*E. coli* O157:H7 semble génétiquement très proche du sérotype O55:H7 responsable de diarrhées infantiles (Mead et Griffin, 1998 ; Vernozy-Rozand et Montet, 2001). Par des transferts de gènes, *E. coli* O55:H7 aurait progressivement acquis les gènes *stx2* et *stx1* de production des toxines STX2 et STX1 et perdu la capacité à fermenter le sorbitol et l'activité de l'enzyme  $\beta$ -glucuronidase à la suite de l'infection par des bactériophages (Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

## 2) Caractéristiques écologiques

La croissance d'*E. coli* O157:H7 s'effectue entre 30 et 42°C, la température optimale étant de 37°C. A des températures de 43-45°C, la croissance est très faible voire nulle (Sutra *et al.*, 1998). La bactérie présente une bonne résistance au froid (elle survit 10 à 31 jours à 8°C dans du cidre, Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

*Escherichia coli* O157:H7 se développe dans la zone allant de 4 à 9 unités pH (Vernozy-Rozand et Montet, 2001 ; Sutra *et al.*, 1998) mais peut résister à très bas pH (2 unités pH, Vernozy-Rozand et Montet, 2001). Plusieurs mécanismes permettent la résistance d'*E. coli* aux pH acides, fournissant, à pH=2, une protection plus grande aux EHEC qu'aux souches *E. coli* commensales et permettant la survie à pH<2,5 pendant plus de 2 heures (Law, 2000). Un stress induit par un passage aux hautes températures entraîne une résistance plus grande aux pH acides pour le sérotype O157 (Law, 2000), de plus, les bactéries en phase stationnaire sont 1000 fois plus résistantes aux acides que les bactéries en phase de croissance exponentielle (Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

## II. LES FACTEURS DE VIRULENCE ET LES EFFETS PATHOGENES INDUITS

### II.1 FACTEURS DE VIRULENCE

Le pouvoir pathogène des EHEC s'exprime selon trois modes (décrits plus précisément en [Annexe 1](#) p. 54) :

- ❑ La capacité d'adhérer aux cellules intestinales par le mécanisme d'attachement-effacement, codé par le gène *eae*
- ❑ La production de toxines de type Shiga, codée par les gènes *stx*
- ❑ La production d'une hémolysine.

### II.2 LES EFFETS PATHOGENES

Une infection par *E. coli* O157:H7 se traduit, pour les cas bénins, par une diarrhée non-sanglante, accompagnée parfois de vomissements et de fièvre, bien que des infections asymptomatiques puissent aussi se produire. Des manifestations cliniques plus sérieuses, comme des colites hémorragiques peuvent apparaître, et, plus grave encore, les malades peuvent développer un syndrome hémolytique et urémique (SHU). Dans les cas extrêmes, la mort survient à la suite d'un dérèglement du système nerveux central.

### 1) Le portage asymptomatique

Les études visant à caractériser le portage asymptomatique humain sont rares. Les chiffres avancés sont assez disparates. Par exemple, Chalmers *et al.* (1999) rapportent un portage asymptomatique d'*E. coli* O157:H7 important, en particulier chez les adultes : 14,9% en population générale et jusqu'à 40% chez les 25-34 ans, voire 70% chez les 30-49 ans (Terajima *et al.*, 1999). D'autre part, il semblerait que les travailleurs agricoles et de l'industrie agroalimentaires présentent un portage asymptomatique pour les STEC qui s'élève à quelques pourcents (Stephan *et al.*, 2000 ; Vernozy-Rozand, 2002). Rahn *et al.* (1997) rapportent un portage asymptomatique des STEC de 4,9% en population générale.

### 2) Les colites

Des cas de diarrhées non sanglantes sont susceptibles d'apparaître mais il semble que ce nombre de cas soit faible devant le nombre de cas de diarrhées sanglantes (Su et Brandt, 1995).

La durée d'incubation de la maladie est en moyenne de 4 jours et varie de 1 à 15 jours (Su et Brandt, 1995).

Les diarrhées se poursuivent pendant 6 jours (Mc Donald *et al.*, 1996 ; Chalmers *et al.*, 1999) et durent plus longtemps chez les enfants (en moyenne 10 jours) que chez les adultes (en moyenne 6 jours) et plus longtemps chez les personnes présentant des diarrhées sanglantes (moyenne 12 jours) que chez les personnes n'en présentant pas (en moyenne 7 jours) (Su et Brandt, 1995).

Une hospitalisation serait nécessaire pour environ 30% des personnes infectées (Mc Donald *et al.*, 1996). Les malades sont traités par dialyse susceptible d'être accompagnée d'une transfusion sanguine. Les traitements antibiotiques sont très controversés, leur efficacité n'est pas mise en évidence (Loirat, 1999).

### 3) Les formes graves

L'évolution vers les formes graves (SHU notamment) survient pour 4 à 10% des cas de maladie pour les cas sporadiques (Chalmers *et al.*, 1999 ; Coia, 1998 ; Mc Donald *et al.*, 1996). En cas d'épidémie, ce taux peut être considérablement plus élevé (jusqu'à 36%, Willshaw *et al.*, 1997). Le risque de développer un SHU après une infection à *E. coli* O157:H7 est évalué à 8% en population générale, ce risque passe à 13% chez les enfants de moins de 5 ans et 7% chez les enfants entre 5 et 10 ans (Rowe *et al.*, 1998). Environ 90% des cas de SHU surviennent chez les enfants en bas âge (Moake, 1994).

Le SHU présente une incidence qui varie avec les saisons, les cas sont surtout recensés pendant les mois d'été (Loirat, 1999).

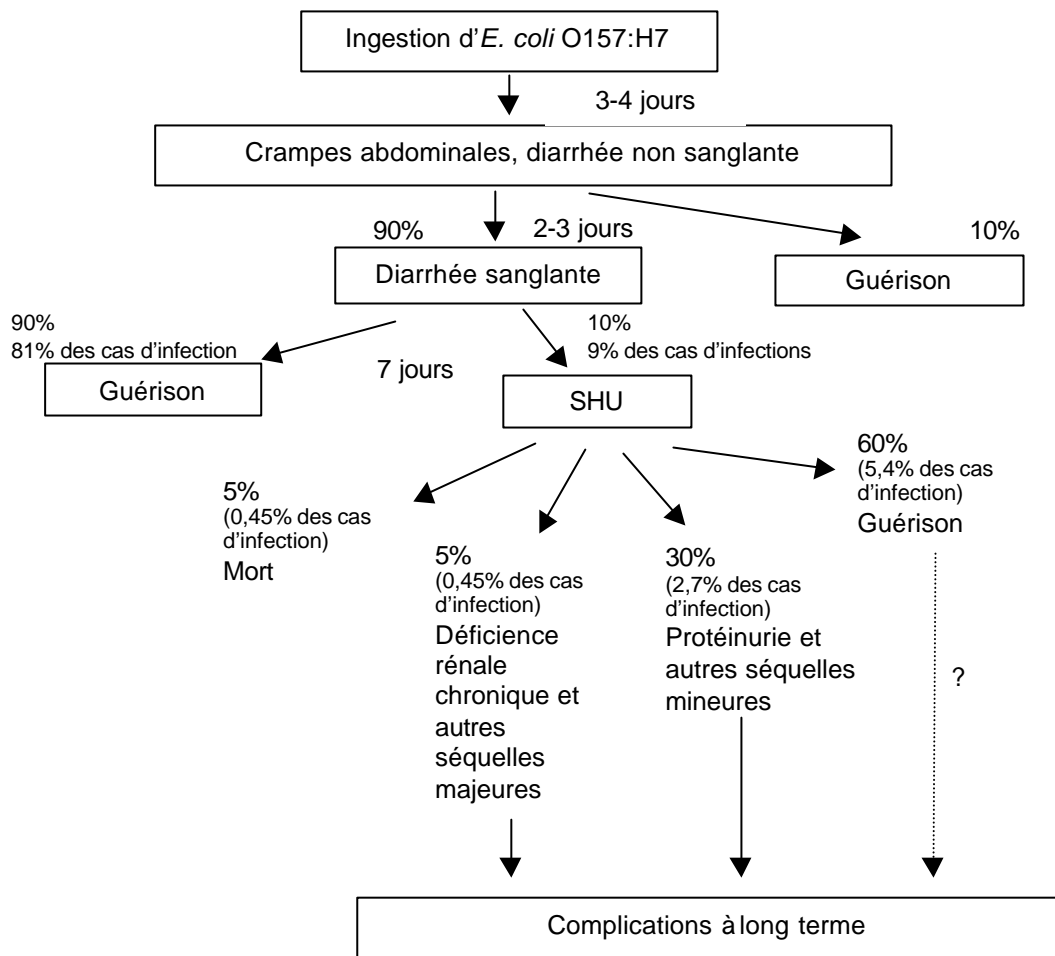
Le SHU apparaît 5 à 9 jours (de quelques jours à 1 à 2 semaines, Loirat, 1999) après le début des syndromes gastriques. Parmi les cas de SHU, 5 à 10 % vont développer des séquelles rénales majeures (nécessitant une dialyse chronique avec une transplantation rénale). A court terme, (10 ans) 60% des cas ne présentent pas de séquelles mais, à plus long terme, ce taux diminue et 20 à 40% des cas développent de graves syndromes rénaux (Loirat, 1999). Le taux de mortalité est de 5%, la létalité étant favorisée par l'âge (Mc Donald *et al.*, 1996 ; Willshaw *et al.*, 1997 ; Coia, 1998).

La définition clinique d'un SHU en France est décrite en [Annexe 9](#) p. 83.

Plus rarement, une infection à *E. coli* O157:H7 peut évoluer vers un purpura thrombotique thrombocytopénique (PPT). Le premier cas de PTT dû à une infection à *E. coli* O157:H7 fut recensé en 1986 (MMWR, 1986). Tous les cas documentés à l'heure actuelle se sont produits chez des adultes (Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

La figure 1 récapitule l'évolution des différentes formes d'une infection par *E. coli* O157:H7.

Figure 2 – Evolution clinique de l'entérocolite hémorragique due à *Escherichia coli* O157:H7



(Duffy et al., 2000)

### III. EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS A *ESCHERICHIA COLIO157:H7*

La description de l'épidémiologie des infections par *Escherichia coli* O157:H7 doit nous permettre d'identifier les populations sensibles et les modes de transmission de la maladie.

#### III.1 INCIDENCE DES INFECTIONS

##### 1) Caractéristiques géographiques

###### 1 En Europe

Chalmers *et al.*, 1999, rapportent une incidence moyenne de 1,6 infection à *E. coli* O157 pour 100 000 personnes.années au Pays de Galles entre 1990 et 1998, cette incidence étant relativement stable d'une année sur l'autre.

En Ecosse, l'incidence des infections à *E. coli* O157 est de 0,8/100 000 personnes.années en 1988 et de 3,2/100 000 personnes années en 1990 (Mc Donald *et al.*, 1996).

En France, il n'existe pas de données concernant l'incidence des infections à STEC. En effet, contrairement aux pays du nord de l'Europe et aux pays anglo-saxons, aucune recherche systématique des STEC n'est effectuée dans les selles sanglantes, les seules données existantes concernent l'incidence du

syndrome hémolytique et urémique surveillée depuis 1996 (cf. partie II. IV. I.2). Depuis 1993, l'incidence du SHU chez les enfants de moins de 15 est stable et pour la période 1993-2000, cette incidence s'élève à 0,76/10<sup>5</sup> enfants<15ans.années (Haeghebaert *et al.*, 2002). Des disparités régionales existent, la Franche-Comté et la Bretagne présentent des taux d'incidence de 1,7 et 1,9/10<sup>5</sup> enfants<15ans.années respectivement et le sérotype O157 est prédominant dans les cas de SHU (53%) (Haeghebaert *et al.*, 2002).

L'Italie s'est dotée d'un réseau de surveillance du SHU depuis 1988, les données recueillies montrent une incidence de 0,2 cas pour 100 000 personnes.années (Bonardi *et al.*, 1999). Les infections à STEC représentent 72% de ces cas de SHU, *E. coli* O157 étant le sérotype le plus commun (Bonardi *et al.*, 1999).

## 2 En Amérique

Aux Etats-Unis, les infections à *E. coli* O157 recensées représentent 20 000 cas par an et font environ 250 morts par an et l'incidence du SHU chez les enfants de moins de 5 ans est de 3/100 000 personnes.années (Mahon *et al.*, 1997).

Au Canada, la majorité des cas d'infection à STEC (95%) sont dus à *E. coli* O157:H7 (Michel *et al.*, 1999) et l'incidence des infections est sensiblement plus élevée dans les zones agricoles que dans les zones industrielles et urbaines, il existe une association statistique significative entre la densité d'élevage bovin et l'incidence des infections à STEC (Michel *et al.*, 1999 ; Valcour *et al.*, 2002). Une étude de surveillance de 2 ans réalisée au Canada a mis en évidence que 0,7% des échantillons de selles étaient infectés par des STEC autres qu'*E. coli* O157:H7, les sérotypes les plus courants étant O26:H11 et O103:H2 (Su et Brandt, 1995). De nombreuses autres études sont nécessaires pour définir le rôle des STEC autres que le sérotype O157:H7 dans les pathologies humaines (Su et Brandt, 1995).

En Colombie, entre mars 1996 et 1997, la prévalence des infections à *E. coli* O157:H7 parmi les enfants de 0 à 5 ans atteints de diarrhées était de 7,2% (Mattar et Vásquez, 1998).

*E. coli* O157:H7 est l'une des causes majeures de SHU en Amérique du Nord, cependant des études en Argentine chez les enfants atteints de SHU (très forte incidence) n'ont mis en évidence *Escherichia coli* O157:H7 que dans 2% des cas alors que 48% des cas montrent une évidente infection par d'autres STEC (Su et Brandt, 1995).

## 3 Comparaison

Les systèmes de surveillance et de recueil des cas d'infections par des STEC ou de surveillance du syndrome hémolytique et urémique sont très disparates d'un pays à l'autre, les définitions cliniques des cas ne sont pas identiques. Pour toutes ces raisons, il n'est pas possible de comparer les incidences entre les différents pays.

### 2) Caractéristiques temporelles

#### 1 Variations saisonnières

La distribution saisonnière des infections par les STEC est marquée par une recrudescence des cas pendant les mois chauds : printemps, été et début de l'automne (Mc Donald *et al.*, 1996 ; Chalmers *et al.*, 1999 ; Michel *et al.*, 1999).

## 2 Variations au cours des années

Il est encore difficile d'observer une quelconque tendance des infections par *Escherichia coli* O157:H7. En effet, la mise en place des réseaux de surveillance des infections à STEC s'est faite progressivement depuis environ 10 ans et n'est pas encore effective en France par exemple (ou le réseau de surveillance en place recense uniquement les cas de SHU). Aux Etats-Unis, une recommandation est émise par les instances gouvernementales en juin 1993 auprès des laboratoires d'analyses médicales pour que ceux-ci recherchent *E. coli* O157:H7 dans les selles sanglantes (MMWR, 1994). En 1995, aux Etats-Unis, le pourcentage de laboratoires d'analyses médicales réalisant systématiquement cette recherche dans les selles diarrhéiques était estimé à 29% (MMWR, 1995).

### III.2 MODES DE TRANSMISSION

Trois modes de transmission des infections à *E. coli* O157:H7 sont actuellement recensés : l'ingestion d'aliments solides ou d'eau (eau de boisson ou eau de baignade) contaminés, la transmission de personne à personne et le contact avec des animaux infectés. Ces modes de transmission n'interviennent pas dans les mêmes proportions (cf. tableau 1).

Tableau 1 – Part des modes de transmission dans les épidémies à *E. coli* O157:H7 (USA, 95 00)

Origine	Part (%)
Alimentaire	66
Interhumaine	20
Eau de boisson	8
Baignades	4
Contacts avec des bovins	2

(Vernozy-Rozand et Montet, 2001)

#### 1) Transmission par ingestion

Le mode de transmission majoritaire reste l'ingestion d'aliments contaminés et, notamment, la consommation de viande bovine insuffisamment cuite. On peut cependant citer des épidémies ayant pour origine un aliment autre que la viande de bœuf : pousses de radis, cidre frais non pasteurisé... Dans ces cas d'épidémies, les produits incriminés sont supposés avoir été souillés par des déjections bovines, mais l'eau utilisée pour le lavage des aliments ne peut-elle être un vecteur possible de la contamination de ces aliments ?

On recense actuellement dans la littérature 10 épidémies liées à des infections à *E. coli* O157:H7 dont l'origine hydrique est certaine. Toutes ces épidémies sont décrites précisément en [Annexe 2](#) p. 55. Le tableau 2 récapitule les données propres à chacune de ces épidémies.



Tableau 2 – Les épidémies à *Escherichia coli* O157:H7 liées à la consommation d'eau potable

Lieu	Type de ressource en eau	Type de traitement de l'eau	Origine de la contamination	Nb de cas	Taux d'attaques %					Référence
					Malades	Colite hémorragique	Hosp.	SHU	Mort. SHU	
Cabool (USA) 1989	?	?	Infiltration d'eaux usées dans le réseau après traitement	243	6,7	37	13	0,8	1,6	Swerdlow <i>et al.</i> , 1992
Tarves (UK) 1990	Source	?	Contamination par du lisier de bovins	4	-	-	-	-	-	Dev <i>et al.</i> , 1991
Lubombo (Swaziland) 1992	Surface	? (a priori aucun)	Contamination par des déjections de bovins	2800	-	-	-	-	-	Effler <i>et al.</i> , 2001
Ontario (Canada) 1995	Puits privé	Aucun	Infiltration eaux de surface contaminées	1	-	-	-	-	-	Jackson <i>et al.</i> , 1998
USA 1997	Puits	Désinfection	Déficiences dans le traitement de l'eau	4	-	-	-	-	-	Barwick <i>et al.</i> , 2000
USA 1998	Souterraine	Aucun	Contamination par des déjections de bovins	3	-	-	-	-	-	Barwick <i>et al.</i> , 2000
Alpine (USA) 1998	Souterraine	Aucun	Infiltration d'eau de surface contaminée par des déjections d'animaux sauvages	157	23 / 50	-	-	2,5	-	Olsen <i>et al.</i> , 2002
Applecross (Ecosse) 1999	Source privée en zone de pâture pour moutons et cerfs	Aucun	Contamination par des déjections de ruminants	6	-	-	-	-	-	Licence <i>et al.</i> , 2001
New York (USA) 1999	Puits peu profond	Aucun	-	15921	-	-	-	0,07	0,012	MMWR, 1999
Walkerton (Canada) 2000	Puits sous l'influence d'eau de surface	Chloration	Infiltration d'eau de surface contaminée par des déjections de bovins lors d'intempéries et déficience de la chloration	2300	50	-	-	0,01	0,3	O'Connor, 2002

Bien que le nombre de données soit insuffisant pour dégager une tendance, on peut remarquer que le taux d'évolution vers un SHU et le taux de mortalité semblent plus faibles que lors de cas sporadiques ou d'épidémies d'origine alimentaire.

## 2) Transmission de personne à personne

La transmission de personne à personne s'effectue par voie oro-fécale, les épidémies faisant intervenir une transmission de personne à personne sont confinées dans les établissements de soins aux jeunes enfants, aux personnes âgées et aux personnes présentant des déficiences physiques ou mentales à cause des pratiques d'hygiène individuelle moins développées qu'en population générale (Parry et Salmon, 1998). La très faible dose infectante peut faire craindre un fort taux de transmission de personne à personne parmi les cas sporadiques. Parry et Salmon (1998) ont montré que 8 à 15% des personnes en contact (vivant dans le même logement) avec des cas d'infection à *E. coli* O157 étaient positifs à *E. coli* O157. La même étude conclut sur un rapport du nombre de cas secondaires sur le nombre de cas primaires de 4%.

## 3) Transmission par contact avec des animaux porteurs

Trois études anglaises sur les facteurs de risque des infections sporadiques par *E. coli* O157:H7 ont mis en évidence une association statistique significative entre la probabilité d'infection et le fait de travailler dans une ferme, visiter une ferme ou avoir un membre de la famille travaillant au contact d'animaux de ferme (Parry *et al.*, 1998 ; O'Brien *et al.*, 2001 ; Locking *et al.*, 2001).

Aux Etats-Unis, en Pennsylvanie à l'automne 2000, 51 personnes furent infectées par *E. coli* O157:H7 après avoir visité une ferme ; les visiteurs avaient la possibilité de toucher les animaux et de manger pendant la visite, les lavabos des sanitaires ne disposaient pas de savon, étaient hors de portée des enfants, peu nombreux et non surveillés (MMWR, 2001).

### III.3 LES POPULATIONS SENSIBLES

Tous les âges sont touchés par les infections par des STEC (de 3 mois à 89 ans, Chalmers *et al.*, 1999). Mais les jeunes enfants et les personnes âgées sont des populations plus sensibles, chez les enfants de moins de 5 ans, l'incidence des infections à *E. coli* O157 est 8,8/100 000 personnes.années pour 1,6/100 000 personnes.années en population générale (Chalmers *et al.*, 1999).

Lors des cas survenus par transmission de personne à personne, le comportement des jeunes enfants qui ont l'habitude de tout porter à leur bouche (phénomène de pica), et le niveau d'hygiène plus faible des personnes âgées sont des facteurs de risques.

### III.4 FACTEURS DE RISQUE ET DE GRAVITE

Certaines caractéristiques liées à l'hôte influent sur le développement des formes graves de la maladie (SHU). On peut citer notamment :

- ❑ L'âge : chez les très jeunes enfants, une infection à *E. coli* O157:H7 est plus susceptible d'évoluer vers un SHU, le taux de complications plus important chez les enfants de moins de 5 ans et chez les personnes âgées suggère que l'état immunitaire des personnes infectées joue un rôle dans l'évolution des infections (Boyce *et al.*, 1995).
- ❑ Le sexe : une étude montre que les femmes présentent un risque significativement plus grand que les hommes de développer un SHU (Vernozy-Rozand et Montet, 2001),
- ❑ L'état de santé du malade (Vernozy-Rozand et Montet, 2001),
- ❑ Le nombre de récepteurs Gb3 (globotriosylcéramide) à la surface des érythrocytes (Vernozy-Rozand et Montet, 2001) : une étude de Newburg *et al.* (1993) a montré que le nombre de récepteurs Gb3 présents à la surface des globules rouges des enfants atteints de SHU est moins élevé que celui des enfants présentant une simple diarrhée. L'hypothèse que l'adsorption des toxines sur les globules rouges est un facteur de protection réduisant la quantité de toxines susceptible d'atteindre les principales cellules cibles que sont les cellules endothéliales vasculaires a alors été émise.

*Escherichia coli* O157:H7, producteur de toxines de type Shiga, est le chef de file des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC). Ce sérotype est le mieux connu, le plus étudié car le plus souvent isolé dans les cas d'infections à STEC jusqu'à présent et le plus facile à mettre en évidence en raison de ses caractéristiques phénotypiques particulières (non fermentation du sorbitol en 24h et absence d'activité de l'enzyme  $\beta$ -glucuronidase).

L'incidence des infections par *E. coli* O157:H7 semble être inférieure à 5 cas /100 000 personnes.années dans les pays industrialisés. Ces infections sont caractérisées par une recrudescence des cas dans les mois d'été.

Un cas d'infection par *E. coli* O157:H7 se caractérise par des colites hémorragiques évoluant vers un SHU dans 10% des cas. Parmi ces cas de SHU, 5% seront fatals, 35% présenteront des séquelles

rénales à court terme plus ou moins graves. Des complications à long terme sont attendues pour une part non négligeable des cas de SHU.

Le mode de transmission des infections reste majoritairement lié à la consommation d'aliments solides bien que 8% des cas soient reconnus comme étant liés à la consommation d'eau de boisson aux Etats-Unis (10 épidémies d'origine hydrique sont actuellement recensées à travers le monde depuis 1989).

## II. IDENTIFICATION DES FONCTIONS DOSE-REPONSE

La seconde étape de la démarche d'évaluation des risques a pour objectif d'identifier la relation existant entre la dose ingérée par un individu et la probabilité d'infection ou de maladie due à un organisme pathogène.

La gravité des symptômes induits par une infection à *E. coli* O157 interdit toute expérimentation humaine. Les fonctions dose-réponse sont alors identifiées par analogie avec des pathogènes ayant les mêmes modes d'action et/ou les mêmes facteurs de virulence ou encore des doses minimales infectantes similaires. Ces pathogènes sont mieux connus ou peuvent faire l'objet d'expérimentations sur des humains. L'expérimentation animale est une autre source de données sur les fonctions dose-réponse mais présente des limites concernant l'extrapolation de l'homme à l'animal et des fortes doses aux faibles doses. Les données épidémiologiques recueillies sont autant de sources d'information supplémentaire pour l'identification d'une fonction dose-réponse.

### I. DOSE MINIMALE INFECTANTE

La première indication sur l'infectiosité et la virulence d'un organisme pathogène est donnée par la dose minimale infectante qui correspond à la plus petite dose ingérée susceptible de causer l'infection.

Lors d'une épidémie aux Etats-Unis (1993), les analyses réalisées sur les hamburgers mis en cause ont révélé une concentration en *E. coli* O157:H7 de 1,5 organismes/g (de 0,3 à 15) soit 67,5 organismes par hamburger (Tuttle *et al.*, 1999). Les auteurs concluent que la dose infectante d'*E. coli* O157:H7 peut être inférieure à 700 microorganismes.

La dose minimale infectante pour *E. coli* O157:H7 est estimée comme étant inférieure à 100 bactéries voire même inférieure à 10 bactéries (Meyer-Broseta, 2002).

### II. APPROCHE PAR D'AUTRES GERMES PATHOGENES

La sélection d'un germe pathogène, susceptible d'être utilisé pour modéliser une fonction dose-réponse pour *E. coli* O157:H7, s'appuie sur plusieurs critères de similitudes (Coleman *et al.*, 1998) :

- ❑ Au niveau génétique, avec une attention particulière pour les facteurs de virulence pouvant inclure les îlots de pathogénicité et les gènes de toxines,
- ❑ Au niveau des mécanismes de pathogénie (attachement-effacement, invasion des cellules, tissus et fluides hôtes, cf. [Annexe 1](#) p. 54),
- ❑ Au niveau du mode de transmission de la maladie.

Plusieurs bactéries pathogènes, remplissant partiellement les trois critères précités, furent identifiées :

- ❑ Quelques souches *E. coli* responsables de diarrhées infantiles (EPEC types 55 B5 et 111 B4 (locus H non spécifié) et B171-8 (O111:NM)),

- Deux espèces du genre *Shigella* (*Shigella dysenteriae* type I, souches M131 et A-1 et *Shigella flexneri*, souche 2457T).

## II.1 LES *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATHOGENES (EPEC)

*Escherichia coli* O157:H7 est génétiquement proche des sérogroupes O55 et O111. Ces souches possèdent l'îlot de pathogénicité LEE (incluant le gène *eae* codant pour le mécanisme d'attachement et d'effacement).

Les similitudes dans le mécanisme d'attachement et d'effacement entre les EPEC et *E. coli* O157:H7 suggèrent que les données connues pour les EPEC sont utilisables pour les adultes exposés à de fortes doses ( $10^{7-10}$  UFC).

Les EPEC sont la cause de diarrhées infantiles endémiques dans les pays en voie de développement et de quelques cas sporadiques dans les pays industrialisés, mais sont très rarement responsables de maladies chez les adultes car l'immunité est atteinte avec l'âge.

## II.2 SHIGELLA

Les mécanismes de pathogénicité d'*E. coli* O157:H7 et *Shigella* spp. diffèrent. *Escherichia coli* O157:H7 n'utilise pas le mécanisme d'invasion ni ne cause d'inflammation, caractéristiques typiques des shigelloses. Cependant, *E. coli* O157:H7 et *Shigella* spp. peuvent causer des symptômes similaires de dysenteries.

D'autre part, bien que *Shigella flexneri* ne produise pas de toxines, *Shigella dysenteriae* et *E. coli* O157:H7 ont cette caractéristique en commun de posséder les gènes de production de toxines.

Les infections à *E. coli* O157:H7 ou *Shigella flexneri* et *dysenteriae* peuvent être transmises de personne à personne ce qui suppose que l'ingestion de très faibles doses soit suffisante pour entraîner la maladie. Cependant, le réservoir pour *Shigella* est presque exclusivement humain, l'épidémiologie des maladies dues à *Shigella* est typique d'une transmission de personne à personne ou d'une transmission hydrique, la dissémination de la maladie est donc due à une dose infectante extrêmement faible. A l'inverse, le réservoir pour *E. coli* O157:H7 est très varié, principalement bovin, et la dissémination de la bactérie plaide alors pour une dose infectante plus importante que celle de *Shigella* (Powell *et al.*, 2000).

## I.1 LES FONCTIONS DOSE-REPONSE

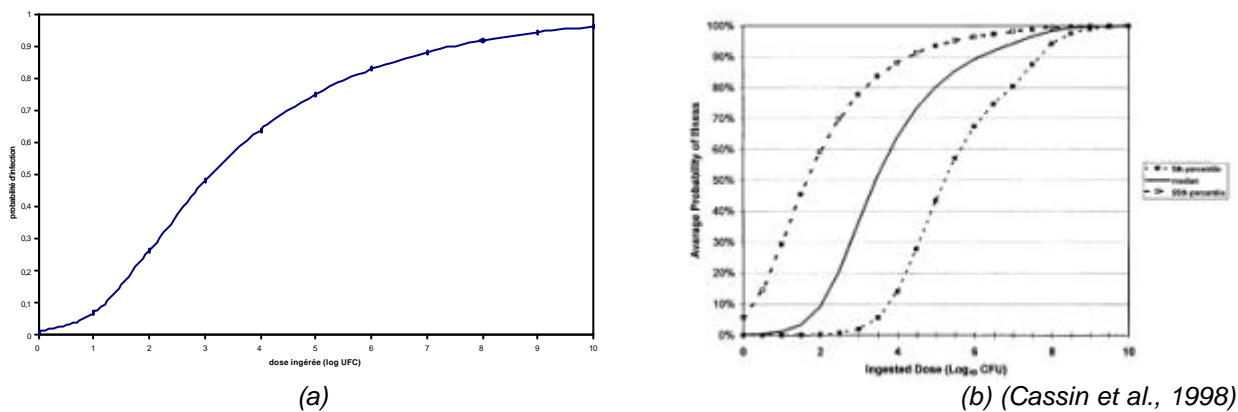
Quelques auteurs ont construit des fonctions dose-réponse pour *E. coli* O157:H7 à partir des données recueillies lors d'expérimentations réalisées sur des humains par ingestion de *Shigella* ou d'EPEC.

Le modèle Beta-Poisson établi pour *Shigella dysenteriae* par Crockett *et al.* (1996), à partir d'expérimentations sur des humains (13 expérimentations à des doses différentes avec un nombre de volontaires masculins et adultes allant de 4 à 87) a été modifié par Cassin *et al.* (1998) pour établir un modèle Beta-Binominal pour *E. coli* O157:H7. Ce modèle a ensuite été utilisé dans des évaluations quantitatives de risques (Cassin *et al.*, 1998 ; Strachan *et al.*, 2002). Le tableau 3 et la figure 3 présentent les modèles mathématiques construits pour *Shigella* et étudiés pour identifier une fonction dose-réponse pour *Escherichia coli* O157:H7.

Tableau 3 – Modèles mathématiques construits pour *Shigella* et utilisés pour *E. coli* O157:H7

Modèle	Equation	Paramètres	Référence :	Validation
Beta-Poisson	$P_i = 1 - \left[ 1 + \frac{d}{DI_{50}} (2^{1/a} - 1) \right]^{-a}$	$\alpha=0,16$ $DI_{50}=1,3.10^3$	Crockett <i>et al.</i> , 1996 Strachan <i>et al.</i> , 2001	Validée pour les données d'une épidémie liée à l'ingestion de sol
Beta-Binomial	$P_i = 1 - (1 - P_i(1))^D$	$P_i(1)^b$ suit une loi Bêta ( $\alpha, \beta$ ) où $\alpha=0,267$ et $\ln\beta$ suit une loi normale $N(5,435 ; 2,47)$	Cassin <i>et al.</i> , 1998 Strachan <i>et al.</i> , 2002	Utilisé pour des évaluations quantitatives de risques associées à la consommation de bœuf haché et à l'ingestion de sol contaminé

Figure 3 – Modèles (a) Beta-Poisson et (b) Beta-Binomial pour la fonction dose-réponse d'*E. coli* O157:H7



Le mécanisme d'invasion qui caractérise la virulence de *Shigella* peut être considéré comme étant à l'origine d'un plus grand pouvoir pathogène qu'une même dose d'*E. coli* O157:H7 non invasif. Powell *et al.* (2000) utilisent alors les courbes dose-réponse des EPEC et *Shigella* pour délimiter une enveloppe dans laquelle s'inscrit la courbe dose-réponse pour *E. coli* O157:H7. Au vu des mécanismes d'action et des pouvoirs pathogènes respectifs de ces bactéries, la courbe dose-réponse de *Shigella* est alors la borne supérieure de l'enveloppe, l'hypothèse la plus conservatrice et la courbe dose-réponse des EPEC représente alors la borne inférieure de l'enveloppe (Powell *et al.*, 2000).

Le tableau 4 fournit les paramètres des modèles Beta-Poisson des relations dose-réponse de *Shigella dysenteriae* et des EPEC. Contrairement aux modèles développés précédemment, qui fournissent, par l'intermédiaire de la relation dose-réponse, une probabilité d'infection, assimilée à une probabilité de maladie, en fonction de la dose ingérée, le modèle de Powell *et al.* (2000) fournit directement une probabilité de maladie (seules les données de maladie symptomatique des expérimentations humaines d'infection par *Shigella* et EPEC ont été utilisées pour la définition des modèles : 14 expérimentations avec un nombre de volontaires variant de 2 à 10).

Tableau 4 – Paramètres des modèles Beta-Poisson pour les fonctions dose-réponse de *Shigella* et EPEC

Pathogène	Paramètres	
	$\alpha$	$DM_{50}^a$
<i>S. dysenteriae</i>	0,157	742
EPEC	0,221	$68,5.10^6$

<sup>a</sup>  $DM_{50}$  est la dose nécessaire pour rendre malade 50% de la population.

(Powell *et al.*, 2000)

Powell *et al.* (2000) ont aussi testé les modèles exponentiels et Weibull-Gamma pour *Shigella dysenteriae* et EPEC. Cependant les modèles exponentiels ne correspondaient pas aux données

expérimentales, contrairement aux modèles Beta-Poisson et Weibull-Gamma qui correspondent de manière significative aux données expérimentales de maladie sur des humains, Powell *et al.* (2000) ont choisi de ne conserver, pour établir leur enveloppe de courbe dose-réponse, que les résultats obtenus pour les modèles Beta-Poisson qui nécessitent moins de paramètres.

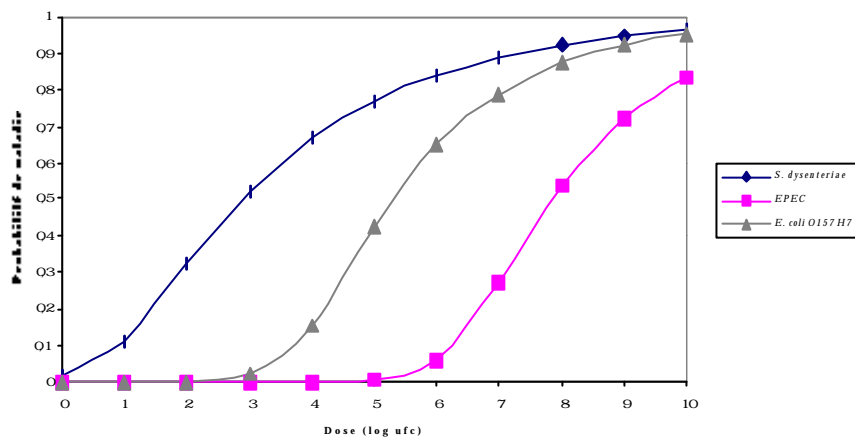
A l'intérieur de cette enveloppe (cf. figure 4), Powell *et al.* (2000) ont établi une fonction dose-réponse la plus probable à partir des données épidémiologiques de la surveillance annuelle des maladies dues à *E. coli* O157:H7 aux Etats-Unis et de l'épidémie survenue en 1992-1993 aux Etats-Unis à la suite de la consommation de hamburgers mal cuits. Les paramètres de cette fonction dose-réponse (fournissant une probabilité de maladie) sont données dans le tableau 5.

Tableau 5 – Paramètres du modèle Beta-Poisson pour *E. coli* O157:H7

Paramètres du modèle Beta-Poisson		
<i>E. coli</i> O157 H7	$\alpha=0,221$	$DM_{50}=1,92.10^5$ UFC

(Powell *et al.*, 2001)

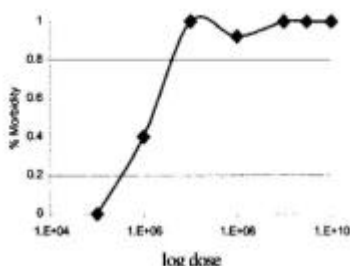
Figure 4 – Enveloppe pour la courbe dose-réponse d'*Escherichia coli* O157 H7 (modèle Beta-Poisson) et courbe dose-réponse la plus probable



### III. EXTRAPOLATION DE DONNEES ANIMALES

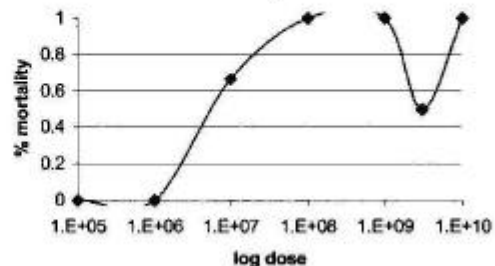
Une seule étude expérimentale concernant la pathogénécité d'*Escherichia coli* O157:H7 chez les animaux a été utilisée pour l'identification d'une fonction dose-réponse chez les humains, il s'agit de l'étude de Pai *et al.* (1986) pour laquelle des jeunes lapins ont reçu des doses croissantes d'*Escherichia coli* O157:H7. Les résultats présentant la morbidité et la mortalité chez les lapins en fonction de la dose inoculée sont réunis dans les figures 5 et 6.

Figure 5 – Relation dose-réponse : morbidité en fonction de la dose ingérée pour des jeunes lapins



(Coleman *et al.*, 1998)

Figure 6 – Relation dose-réponse : mortalité en fonction de la dose ingérée pour des jeunes lapins



(Coleman *et al.*, 1998)

Haas *et al.* (2000) ont testé les modèles exponentiel et Beta-Poisson à partir des données expérimentales de Pai *et al.* (1986) pour modéliser la fonction dose-réponse d'*E. coli* O157:H7 (cf. tableau 6 et figure 7).

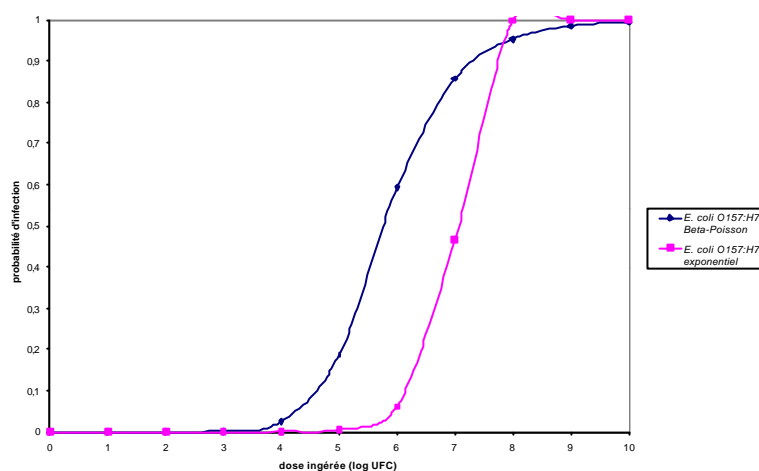
Tableau 6 – Fonctions dose-réponse pour *E. coli* O157:H7 établies à partir d'expérimentations animales (jeunes lapins)

Modèle	Equation de la probabilité d'infection	Paramètres
Exponentiel	$P_i = 1 - e^{-rd^a}$	$r=6,3 \cdot 10^{-8} \text{ UFC}^{-1}$
Beta-Poisson	$P_i = 1 - \left[ 1 + \frac{d}{DI_{50}} (2^{1/a} - 1) \right]^{-a}$	$\alpha=0,49$ $DI_{50} = 5,96 \cdot 10^5 \text{ UFC}$

<sup>a</sup>  $d$  est la dose ingérée et  $1/r$  le nombre d'organismes ingéré pour un survivant qui cause l'infection

(Haas *et al.*, 2000)

Figure 7 – Modèles exponentiel et Beta-Poisson pour la fonction dose-réponse d'*E. coli* O157:H7 obtenus à partir d'expérimentations animales (jeunes lapins)



(Haas *et al.*, 2000)

L'ajustement du modèle Beta-Poisson aux données expérimentales de l'épidémie associée à des baignades dans un lac de l'Illinois (Etats-Unis) en 1995 est statistiquement significatif (Haas *et al.*, 2000).

#### IV. UTILISATION DE DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Nauta *et al.* (2001) ont établi un modèle exponentiel et un modèle hypergéométrique pour la fonction dose-réponse d'*E. coli* O157:H7 (cf. tableau 8) à partir des données recueillies lors d'une épidémie au Japon en septembre 1996 (cf. tableau 7). L'épidémie a eu lieu dans une cantine scolaire à la suite de la consommation d'aliments contaminés par *E. coli* O157:H7. La façon dont ces aliments ont été contaminés n'a pu être identifiée.

Tableau 7 – Données de l'épidémie due à *E. coli* O157:H7 au Japon dans une cantine scolaire

	Nb de personnes exposées au repas contaminé	Nb de personnes présentant des échantillons de selles négatifs à <i>E. coli</i> O157:H7	Dose moyenne ingérée
Enfants	828	620	31 UFC/personne
Adultes	43	36	35 UFC/personne

(Nauta *et al.*, 2001)

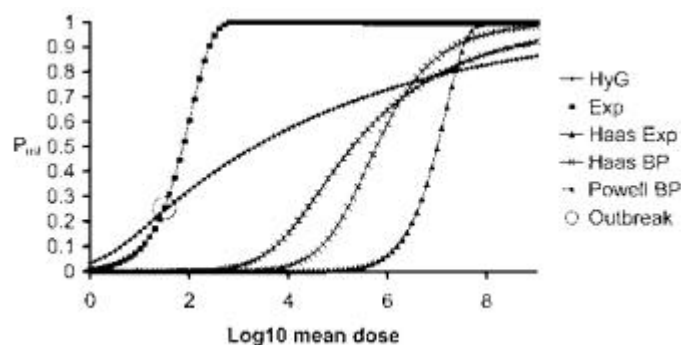
Tableau 8 – Paramètres des modèles exponentiel et hypergéométrique établis pour *E. coli* O157:H7

Hôte	Modèle	Equation de la probabilité d'infection	Paramètres
Enfants Adultes	Exponentiel	$P_i = 1 - e^{-rd}$	$r=9,3 \cdot 10^{-3} \text{ UFC}^{-1}$ $r=5,1 \cdot 10^{-3} \text{ UFC}^{-1}$
Enfants Adultes	Hypergéométrique	$P_i = 1 - F_1(a, a+b, -D) = \int_0^1 e^{-rd} \frac{r^{a-1} (1-r)^{b-1}}{\text{Beta}(a, b)} dr$	$a=0,1$ et $b=2,3$ $a=0,07$ et $b=3,0$

(Nauta et al., 2001)

La figure 8 présente les modèles exponentiel (Exp) et hypergéométrique (HyG) établis pour la fonction dose-réponse d'*E. coli* O157:H7 et compare, de plus, ces modèles à ceux établis par Haas et al. (2000) (Haas Exp et Haas BP) et Powell et al. (2000) (Powell BP) décrits précédemment. Le cercle représente les données de l'épidémie considérée.

Figure 8 – Fonctions dose-réponse pour *E. coli* O157:H7



(Nauta et al., 2001)

## V. COMPARAISON DES MODELES

Le choix d'une fonction dose-réponse dépend de plusieurs facteurs :

- ❑ La plausibilité biologique : un modèle établi à partir de données humaines est plus représentatif qu'un modèle établi à partir d'expérimentations animales,
- ❑ La représentativité des tests : lors des expérimentations sur des humains, les personnes participant aux tests sont volontaires et rémunérées, cette sélection peut entraîner un biais, les données provenant d'épidémies seront plus représentatives des variations existant dans la population générale,
- ❑ Le nombre d'individus exposés : la taille de l'échantillon influence directement la puissance des tests,
- ❑ La transposition d'un germe pathogène à un autre comporte des incertitudes sur la représentativité du germe choisi,
- ❑ La dose ingérée est contrôlée pour les expérimentations et simplement estimée pour les données provenant d'épidémies,
- ❑ La performance du modèle : les modèles Beta-Poisson et hypergéométrique prennent en compte les possibles variations de la sensibilité des personnes vis-à-vis de l'infection.

Le tableau 9 reprend ces différents facteurs et pour chaque fonction dose-réponse étudiée recense les points positifs et négatifs.



Tableau 9 – Comparaison des fonctions dose-réponse

Fonction dose-réponse	Facteurs de comparaison					Total	
	Plausibilité biologique	Représentativité des tests		Transposition de germes pathogènes	Contrôle de la dose ingérée		Performance du modèle
Biais de sélection		Nb d'individus exposés					
Beta-Poisson Shigella	1	0	0	0	1	1	<b>3</b>
Beta-Binomial Shigella	1	0	0	0	1	2	<b>4</b>
Exponentiel <i>E. coli</i> O157:H7 lapins	0	1	0	1	1	0	<b>3</b>
Beta-Poisson <i>E. coli</i> O157:H7 lapins	0	1	0	1	1	1	<b>4</b>
Beta-Poisson <i>E. coli</i> O157:H7	1	1	1	1	0	1	<b>5</b>
Exponentiel enfants <i>E. coli</i> O157:H7	1	1	1	1	0	0	<b>4</b>
Exponentiel adultes <i>E. coli</i> O157:H7	1	1	0	1	0	0	<b>3</b>
Hypergéométrique enfants <i>E. coli</i> O157:H7	1	1	1	1	0	1	<b>5</b>
Hypergéométrique adultes <i>E. coli</i> O157:H7	1	1	0	1	0	1	<b>4</b>

Lorsque le facteur considéré est soit positif soit négatif, les valeurs 1 ou 0 sont attribuées respectivement, lorsque la comparaison des fonctions pour un facteur nécessite une hiérarchisation, la valeur 0 est attribuée à la fonction la plus désavantagée vis-à-vis du facteur de comparaison considéré, la valeur maximale est attribuée à la fonction qui correspond de la meilleure façon au critère. Les facteurs de comparaison n'ont pas été pondéré par un coefficient, ils possèdent tous la même valeur. Le critère correspondant à la matrice dans laquelle sont ingérée les bactéries n'a pas été pris en compte car indisponible pour certaines études.

Le tableau 9 ci-dessus nous permet de sélectionner 2 fonctions dose-réponse susceptibles d'être utilisées pour modéliser la relation dose ingérée-probabilité d'infection ou de maladie : les modèles Beta-Poisson et hypergéométrique pour *E. coli* O157:H7, le modèle hypergéométrique présentant l'avantage supplémentaire de prendre en compte les populations sensibles. Cependant, ces fonctions doivent être validées pour des données provenant d'une épidémie d'origine hydrique.

Les fonctions dose-réponse décrites précédemment sont établies pour des adultes, mis à part les modèles hypergéométriques et exponentiels de Nauta *et al.* (2001) qui ont estimé que la probabilité d'infection des adultes est 2 fois plus faible que pour les enfants. Des études supplémentaires sont nécessaires pour établir des fonctions dose-réponse spécifiques aux populations sensibles.

### III. ESTIMATION DE L'EXPOSITION

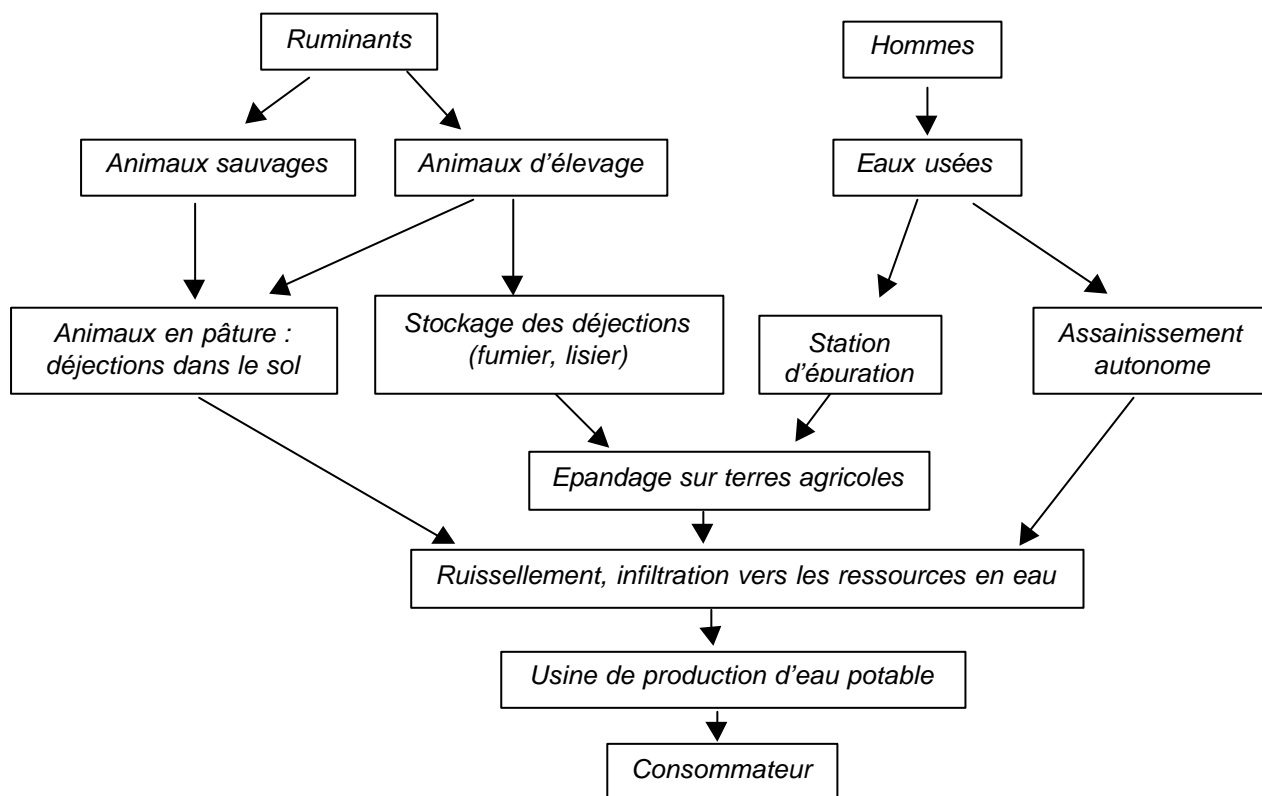
La troisième étape de la démarche d'évaluation des risques a pour objectif de caractériser l'exposition des populations au danger considéré (ici une infection par *Escherichia coli* O157:H7), c'est-à-dire de quantifier la dose d'organismes pathogènes ingérée par les individus exposés. Dans notre cas, nous considérons une infection par consommation d'une eau de boisson contaminée. L'exposition des populations sera alors caractérisée par la densité d'*E. coli* O157:H7 dans l'eau de boisson fournie associée à la quantité d'eau ingérée par les individus.

La présence d'*E. coli* O157:H7 dans l'eau de distribution est le résultat d'un processus de transport des bactéries depuis le réservoir jusqu'à la ressource en eau (cf. figure 9).

Nous allons donc étudier le réservoir de la bactérie, puis sa survie dans les déjections, dans les stockages de déjections, dans le sol. Nous nous interrogerons ensuite sur le passage de la bactérie du sol vers les eaux. Nous étudierons alors la survie d'*Escherichia coli* O157:H7 dans l'eau et enfin sa résistance aux différentes étapes de production d'eau potable.

L'estimation de l'exposition des populations passe par la capacité à détecter la bactérie dans l'environnement et à quantifier sa présence, les différentes techniques de détection d'*Escherichia coli* O157:H7 sont décrites en [Annexe 3](#) p. 60.

Figure 9 – Les étapes de la contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7



Sur ce schéma, ne sont représentées ni les pollutions ponctuelles, ni les pollutions accidentelles comme un déversement de fumier ou de lisier dans une ressource en eau ou l'infiltration d'eaux usées dans un réseau de distribution...

## I. LE RESERVOIR DE LA BACTERIE

Le réservoir d'un microorganisme pathogène est constitué par les hôtes susceptibles de l'accueillir, de favoriser sa croissance et de l'excréter en grandes quantités. Pour *E. coli* O157:H7, on distinguera le réservoir animal, composé très majoritairement des ruminants (en particulier les bovins), et le réservoir humain.

### I.1 LE RESERVOIR ANIMAL

Pour mieux comprendre et dans le but de pouvoir réduire les infections humaines à *E. coli* O157:H7, de nombreuses études ont été menées pour caractériser le portage animal des *Escherichia coli* verotoxinogènes et d'*Escherichia coli* O157:H7 en particulier.

Les caractéristiques étudiées sont la prévalence des STEC au niveau des individus ainsi qu'au niveau des troupeaux, la durée et l'importance de l'excrétion des STEC par les animaux.

#### 1) Le portage bovin

Le portage bovin d'*E. coli* O157:H7 est très documenté, les scientifiques ont ainsi caractérisé la prévalence au niveau des individus et des troupeaux et tous les facteurs pouvant influencer ce portage. Nous ne rapportons ici que les conclusions principales de ces publications, une étude bibliographique plus complète est consignée en [Annexe 4](#) p. 65.

##### 1 Prévalence

Les tableaux 10 et 11 rapportent les taux de prévalence d'*E. coli* O157:H7 tout d'abord chez les individus bovins, puis dans les troupeaux. Nous n'avons conservé que les résultats des études européennes, la transposition des résultats des études de prévalence aux Etats-Unis n'étant pas réalisable (Meyer-Brosta *et al.*, 2001).

Tableau 10 – Prévalence d'*Escherichia coli* O157:H7 au niveau des individus bovins

Région	Prévalence	Référence
Province de Lugo, Galice, Nord ouest de l'Espagne	0,3%	Blanco <i>et al.</i> , 1996
Prince Edward Island, UK	0,4%	Schurman <i>et al.</i> , 2000
République tchèque	0,55%	Cizek <i>et al.</i> , 1999
Angleterre et Pays de Galles, UK	0,56%	Richards <i>et al.</i> , 1998
Sheffield, UK	4,2%	Mechie <i>et al.</i> , 1997
UK	13%	Chapman <i>et al.</i> , 1997

Malgré des différences conséquentes entre certaines études, on peut retenir une prévalence de quelques pourcents voire inférieure à 1%.

Tableau 11 – Prévalence d'*Escherichia coli* O157 au niveau des troupeaux

Région	Prévalence	Références
Italie	21,1%	Bonardi <i>et al.</i> , 1999
Pays-Bas	70%	Heuvelink <i>et al.</i> , 1998b

Les études de prévalence à l'échelle des troupeaux montre une diffusion généralisée de la bactérie dans le cheptel bovin.

##### 2 Caractéristiques du portage

- ❑ Les jeunes bovins, notamment les animaux qui viennent d'être sevrés, sont un réservoir plus important pour la bactérie (prévalence plus élevée et excrétion plus importante),
- ❑ Les bovins sont considérés comme étant porteurs sains d'*Escherichia coli* O157:H7,
- ❑ La prévalence est plus élevée pendant les mois chauds (été et début de l'automne),

- ❑ Les souches isolées chez les bovins présentent les mêmes facteurs de virulence que les souches mises en cause dans les cas d'infections humaines,
- ❑ L'excrétion d'*E. coli* O157:H7 par les bovins est caractérisée par des périodes courtes (environ 1 mois) d'excrétion en grandes quantités, séparées par des périodes plus longues pendant lesquelles la bactérie n'est pas détectée dans les déjections,
- ❑ Les bovins excrètent jusqu'à  $10^5$  UFC/g de déjections, les techniques ne permettent pas de déceler un taux d'excrétion inférieur à  $10^2$  UFC/g de selles.

## **2) Autres porteurs sains potentiels**

- ❑ Une prévalence d'*Escherichia coli* O157:H7 de 2 à 4% est mise en évidence chez les moutons (Chapman *et al.*, 1997 ; Heuvelink *et al.*, 1998a), les sérotypes isolés étant biochimiquement identiques aux souches rencontrées chez les hommes et les bovins (Kudva *et al.*, 1996 ; Chapman *et al.*, 1997). Kudva *et al.* (1996) rapportent une prévalence saisonnière plus élevée pendant les mois chauds. A Taiwan, Chiueh *et al.* (2002) ont observé un portage des STEC plus important chez les ovins (16%) que chez les bovins (2%).

Tout comme chez les bovins, les types de régimes alimentaires et surtout les changements brusques de régimes influent sur le taux d'excrétion d'*E. coli* O157:H7 (Kudva *et al.*, 1997).

Une épidémie liée à l'ingestion de sol contaminé par des déjections de moutons a déjà été rapportée (Strachan *et al.*, 2002).

- ❑ Chez les porcs, Chapman *et al.* (1997) ont observé une prévalence 0,4% pour le sérotype O157, les isolats ne possédaient pas les gènes *stx* et *eae*, aucun des isolats ne présentait l'antigène de mobilité H7.
- ❑ Une étude réalisée sur la prévalence du sérotype O157 chez les cerfs a montré que celle-ci atteint 0,4%. Les cerfs pourraient être infectés en fréquentant des pâtures sur lesquelles paissaient des vaches (Rabatsky-Ehr *et al.*, 2002).
- ❑ A proximité d'un élevage bovin, des rats peuvent être infectés par *E. coli* O157. En temps normal, ces animaux sont en contact avec de faibles doses, ils représentent alors un réservoir insignifiant, bien que la bactérie puisse survivre 9 mois dans leurs déjections (Cizek *et al.*, 2000) et que 40 % des échantillons de déjections de rats puissent être positifs à *E. coli* O157 (Cizek *et al.*, 1999).
- ❑ Les pigeons ont été reconnus plus sensibles que les rats à une infection par *E. coli* O157, l'excrétion de la bactérie dans leurs déjections est plus longue. De part leur grande mobilité, ces oiseaux sont considérés comme des facteurs de risques importants pour la dissémination de la bactérie au sein d'un troupeau ou entre troupeaux (Cizek *et al.*, 2000).
- ❑ *Escherichia coli* O157 fut isolé chez des chiens, des chats ou des chevaux (Hancock *et al.*, 1998, Chalmers *et al.*, 1997).

## **3) Sources et vecteurs de contamination et de recontamination dans l'environnement agricole**

La stabilité des sous-types moléculaires d'*E. coli* O157 en dépit de la détection intermittente dans les déjections des bovins, met en évidence l'existence possible de sources ponctuelles de contamination et de recontamination des bovins dans l'environnement des élevages :

- ❑ Il semble que le type d'alimentation fourni aux bovins (grains ou ensilage par exemple) influence la prévalence, peut-être en raison des différences d'acidité dans le tractus gastro-intestinal (Herriot *et al.*, 1998 ; Hovde *et al.*, 1999),
- ❑ L'eau offerte aux bovins est souvent de très médiocre qualité microbiologique, 10% des citernes seraient contaminées par *E. coli* O157 (Faith *et al.*, 1996, Hancock *et al.*, 1998). Les bactéries survivraient longtemps dans les sédiments présents dans les citernes (Lejeune *et al.*, 2001),
- ❑ On l'a vu, les petits animaux (rongeurs, oiseaux,...) plus ou moins mobiles peuvent être porteurs d'*E. coli* O157:H7 et représentent donc ainsi un vecteur de la contamination des animaux d'élevage.
- ❑ L'état des locaux recevant les animaux d'élevage est un facteur pouvant favoriser la prolifération et la dissémination des bactéries à l'intérieur des exploitations (Porter *et al.*, 1997 ; Garber *et al.*, 1999 ; Cizek *et al.*, 1999 ; Smith *et al.*, 2001),
- ❑ La façon dont les veaux sont sevrés, brutalement ou de manière progressive influe sur la prévalence, un sevrage brutal entraîne un changement radical de la flore gastro-intestinale et favoriserait ainsi la colonisation par *E. coli* O157:H7 (Hancock *et al.*, 1997 ; Herriot *et al.*, 1998),
- ❑ Avant le passage à l'abattoir, les animaux peuvent être sujets à un stress susceptible d'augmenter l'excrétion d'*E. coli* O157 (Lahti *et al.*, 2001).

## **I.2 LE RESERVOIR HUMAIN**

Le portage humain d'*Escherichia coli* O157:H7 est mal connu, mais il semble cependant bien réel car Höller *et al.* (1999) ont isolé, par PCR, une souche d'*E. coli* O157:H7 provenant d'un échantillon prélevé sur le flux d'entrée d'une station d'épuration de 55000 équivalents-habitants.

### **1) Portage asymptomatique**

On l'a vu précédemment (cf. partie I. I. II. II.2) le portage asymptomatique peut atteindre quelques pourcents voire plus en cas d'épidémies.

### **2) Caractéristiques de l'excrétion**

Le taux de détection d'*E. coli* O157:H7 dans les échantillons de selles de patients atteints de SHU est de 100% lorsque l'analyse est effectuée 2 jours après la survenue des diarrhées, ce taux s'abaisse à 30% lorsque l'analyse est faite plus d'une semaine après (Karch *et al.*, 1995 ; Swerdlow et Griffin, 1997). La durée d'excrétion de la bactérie semble être d'environ 30 jours (Swerdlow et Griffin, 1997).

La durée moyenne d'excrétion est plus longue chez les jeunes enfants que chez le reste de la population, une étude canadienne rapporte que 53% des enfants de moins de 4 ans présentaient des échantillons de selles positifs à *E. coli* O157:H7 plus de 3 semaines après le début de la maladie alors que ce taux n'était que de 8% chez les enfants plus vieux et les adultes (Swerdlow et Griffin, 1997).

La durée moyenne d'excrétion est significativement plus longue chez les patients développant un SHU (21 jours, de 5 à 124 jours) que chez les patients atteints de diarrhée ou de colites hémorragiques (Karch *et al.*, 1995).

Chez tous les patients excréteurs de longue durée, la concentration en *E. coli* O157:H7 était supérieure à 10<sup>6</sup> UFC/g de selles, et chez quelques patients, l'excrétion était plus importante d'un ordre de grandeur à la fin de la période d'excrétion par rapport au début (Karch *et al.*, 1995).

L'étude de Karch *et al.* (1995) a, de plus, mis en évidence la possibilité d'une excrétion intermittente pour certains patients.

Les études traitant du portage bovin d'*E. coli* O157:H7 abondent (surtout pour les pays anglo-saxons : Etats-Unis, Royaume-Uni, Canada), mais sont difficilement comparables, et *a fortiori* difficilement transposables au cas de la France. En effet, si les conditions d'élevage des bovins pour la production de viande ou de lait sont comparables entre la France, le Royaume-Uni et le Canada (on compte environ 50 vaches laitières par troupeau, Bastian, 2002), il n'en est pas de même pour les USA où l'élevage est très intensif. De plus, le type d'alimentation fournie aux bovins peut être différent d'un pays à l'autre.

Le portage de la bactérie par d'autres ruminants tels les cervidés et les ovins n'est pas anodin et doit être pris en compte. Les données concernant la prévalence du portage pour ces espèces sont encore succinctes.

On pourra retenir, concernant le réservoir bovin (bien mieux connu), une prévalence d'*E. coli* O157:H7 inférieure à 1% chez les bovins, en considérant que 0 à 3% des troupeaux présentent des animaux excréteurs de la bactérie et que parmi ces troupeaux, un ou deux animaux excrètent la bactérie (Meyer-Broseta *et al.*, 2001). Cette prévalence est plus importante pendant les mois chauds. Les bovins sont des porteurs sains et les jeunes animaux représentent un réservoir plus important (prévalence plus élevée et excrétion plus importante) que les bovins adultes. L'excrétion de la bactérie dans les déjections des bovins est intermittente, dure de 20 à 30 jours et atteint des concentrations de  $10^5$  UFC/g de selles.

Les vecteurs de contamination, de recontamination des bovins et de dissémination d'*E. coli* O157:H7 semblent être la nourriture, l'eau, la présence de petits animaux sur les exploitations agricoles, certaines pratiques agricoles et les déplacements des animaux.

Le portage humain reste mal connu, on peut citer une durée d'excrétion de la bactérie d'environ 30 jours après l'infection, cette durée est plus longue chez les jeunes enfants et chez les patients atteints des formes graves de la maladie.

## II. SURVIE DE *E. COLI*O157:H7 APRES EXCRETION

Après excrétion par les animaux ou l'homme, et avant de parvenir sur le sol, *E. coli* O157:H7 doit survivre dans les déjections et dans les stockages de déjections (fumier, lisier ou boues de station d'épuration).

### II.1 SURVIE DANS LES DEJECTIONS DES ANIMAUX

*Escherichia coli* O157:H7 est susceptible de survivre pendant de longues périodes dans les déjections des animaux porteurs puis dans le sol. Bolton *et al.* (1999) ont observé une réduction de 5 log en 50 jours de la concentration en *Escherichia coli* O157:H7 initialement présente dans les déjections de bovins laissées sur le sol à des températures variant entre  $-6,5^{\circ}\text{C}$  et  $19^{\circ}\text{C}$ .

Une autre étude montre qu'*E. coli* O157:H7 peut survivre jusqu'à 11 semaines à  $5^{\circ}\text{C}$  dans les déjections des bovins (Wang *et al.*, 1996). Cette même étude précise qu'il n'existe pas de différence significative entre les taux de survie des différentes souches d'*E. coli* O157:H7.

Les cellules stressées ne forment pas une part significative dans les déjections bovines qui semblent procurer un environnement favorable pour la survie (Bolton *et al.*, 1999).

## II.2 SURVIE DANS LES STOCKAGES DE DEJECTIONS

### 1) Stockage de matières fécales animales

La survie des bactéries dans les stockages de matières fécales solides (fumier) ou liquides (lisier) dépend de nombreux facteurs (cf. tableau 12).

Tableau 12 – Principaux facteurs influençant la survie des populations bactériennes dans les stockages de déjections

Facteur	Direction de l'effet
température des déjections	la survie diminue quand la température augmente (à l'exception des bactéries thermophiles comme <i>Campylobacter jejuni</i> dont l'optimum de survie est environ 45°C)
humidité des déjections	la survie augmente quand les stockages sont plus humides
aération des déjections	l'aération diminue la survie des bactéries entériques, car la majorité d'entre elles n'ont pas ou peu besoin d'oxygène pour se développer
pH des déjections	la survie diminue quand le pH des déjections s'éloigne de la normalité (sauf pour <i>Escherichia coli</i> O157:H7 qui tolère bien les milieux acides)

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

*E. coli* O157:H7 peut survivre pendant plus d'un an dans du fumier non aéré, qui lui procure les conditions adéquates d'humidité et de température (Kudva *et al.*, 1998). Les concentrations en *E. coli* O157:H7 dépassent rarement 10<sup>2</sup> UFC/g mais peuvent atteindre 10<sup>6</sup> UFC/g.

Le tableau 13 présente le temps nécessaire pour que la concentration en *Escherichia coli* O157:H7 ait diminué de 90% dans un stockage de fumier ou de lisier.

Tableau 13 – Temps nécessaire pour réduire de 90% la concentration en *Escherichia coli* O157:H7 dans les stockages de déjections bovines en fonction de la température

Type de stockage	Température (°C)	T90 (jours)
Fumier	4	18,59
	20	13,51
	37	3,58
Lisier récent	4	21,51
	20	14,75
	37	3,18
Lisier ancien	4	38,76
	20	7,67
	37	2,25

(Himathongkham *et al.*, 1999)

La température pour laquelle *E. coli* O157:H7 présente un meilleur taux de survie est à différencier de la température optimale de croissance et de multiplication des bactéries. La survie d'*Escherichia coli* O157:H7 est meilleure à 4°C qu'à des températures plus élevées.

La décroissance bactérienne dans les stockages de déjections a été modélisée mathématiquement par une fonction exponentielle décroissante proposée par Chick en 1908 :

$$C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$$

où  $C_t$  est la population bactérienne à l'instant  $t$ ,  $C_0$  est la population bactérienne initiale et  $k$  est le coefficient de décroissance.

Quelques valeurs ont été déterminées pour le coefficient  $k$  à différentes températures dans un fumier pour *E. coli* vérotoxigène (cf. tableau 14) :

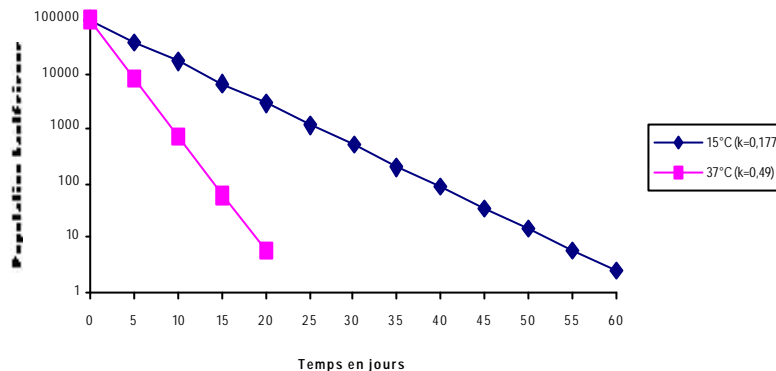
Tableau 14 – Coefficient de décroissance d'*E. coli* vérotoxigène et T90 dans un fumier

Température (°C)	Coefficient de décroissance k	T90 (j)
-20	2,3	0,4
5	0,185	5,4
8	0,055	18,2
15	0,177	5,6
22	0,35	2,9
22	0,37	2,7
37	0,49	2,0

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

La figure 10 représente la décroissance d'*E. coli* O157:H7 dans un fumier à 15°C et 37°C.

Figure 10 – Décroissance d'*E. coli* O157:H7 dans un stockage de fumier à 15°C et à 37°C



Les facteurs physico-chimiques influençant la survie bactérienne dans les fumures sont connus, il existe cependant d'autres facteurs susceptibles d'influencer la décroissance des bactéries : la compétition entre les bactéries, la présence d'antibiotiques dans le fumier... De plus, le modèle mathématique précédemment exposé est basé sur une masse fixe de fumier alors qu'un apport régulier de matières fécales est à prendre en compte (De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000).

Le temps de survie d'*Escherichia coli* O157:H7 dans un fumier peut être très supérieur au temps de stockage avant épandage sur des terres agricoles (Vernozy-Rozand, 2002). Il convient donc de se préoccuper du devenir de la bactérie une fois le fumier épandu sur le sol.

## 2) Stockage de matières fécales humaines

Aucune donnée n'est répertoriée à ce sujet à notre connaissance.

La survie d'*Escherichia coli* O157:H7 dans les stockages de matières fécales animales est appréhendée par une loi de décroissance bactérienne exponentielle avec un coefficient de décroissance dépendant de la température.

## III. SURVIE DANS LE SOL

Les STEC peuvent atteindre le sol de diverses manières : simplement lorsque des ruminants (bovins ou ovins) paissent dans une prairie ou par épandage de fumier, de lisier ou de boues de station d'épuration pour fertiliser les terres agricoles.

De nombreux facteurs influencent la survie des microorganismes dans le sol (cf. tableau 15).



Tableau 15 – Facteurs influençant la survie des microorganismes  
suite à l'épandage des fumures biologiques

Facteur	Direction de l'effet
<b>Caractéristiques physico-chimiques du sol</b>	
pH	la survie est moindre dans les sols acides (pH < 5)
disponibilité d'eau	la survie est meilleure dans les sols humides
texture et distribution de la taille des particules	la survie est meilleure dans les sols fins (ex: argile) car ils favorisent la rétention de l'eau
température	les températures basses favorisent la survie des microorganismes
contenu en matière organique	la survie est meilleure lorsque le sol est riche en matière organique la multiplication bactérienne est même alors possible
disponibilité des nutriments	la survie est meilleure avec davantage de nutriments disponibles pour les microorganismes
capacité d'adsorption	les microorganismes survivent plus lorsqu'ils sont libres dans le sol que lorsqu'ils sont liés à des particules du sol
<b>Caractéristiques biologiques du sol</b>	
relation avec la flore native du sol	la survie est meilleure dans les sols stériles en l'absence de compétition et de prédation
présence d'antibiotique	les antibiotiques présents au niveau du sol inhibent le développement des bactéries sensibles
présence de substances toxiques	les substances toxiques au niveau du sol inhibe le développement des microorganismes sensibles
<b>Conditions atmosphériques et climatiques</b>	
irradiation solaire	pour les microorganismes sensibles à l'irradiation solaire, la survie est plus courte à la surface du sol qu'en profondeur
précipitation et humidité de l'air	les microorganismes survivent plus longtemps dans les milieux humides ou lors des périodes pluvieuses
température	les températures basses favorisent la survie des microorganismes
<b>Influence de la méthode d'épandage</b>	
technique	la survie est moindre en cas d'incorporation au sol en cas d'aérodispersion, la survie est moindre aussi, car la pression utilisée lors de l'épandage détruit une proportion des microorganismes
densité des microorganismes dans les fumures	la survie est moindre en cas de concentrations initiales élevées

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

La survie bactérienne au niveau du sol peut, là encore, être modélisée par la fonction proposée par Chick, le coefficient de décroissance  $k$  varie en fonction des facteurs influençant la survie des bactéries. Ce coefficient a été déterminé pour *E. coli* (cf. tableau 16).

Tableau 16 – Valeurs du coefficient de décroissance exponentielle d'*E. coli* au niveau du sol et T90

Température (°C)	Type de sol	Valeur du coefficient $k$	T90 (j)
Moyenne annuelle		0,23	4,3
4	Limon	0,16	6,25
13	Argile	0,15	6,7
20	Limon	0,25	4
28	Sable fin	0,29 à 0,44 selon l'humidité du sol	3,4 à 2,3
37	Limon	1,24	0,8

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

Le taux de mortalité d'*E. coli* O157 est similaire, voire plus important que celui des autres souches de *E. coli* (non pathogènes). Il semble alors possible de modéliser le comportement de *E. coli* O157 dans le sol par celui d'*E. coli*, dont la détection est plus facile à mettre en œuvre. Cependant, le sérotype O157:H7 est beaucoup plus résistant qu'*E. coli* en milieu acide, la pertinence de l'utilisation d'*E. coli* comme indicateur pour O157:H7 dépend des caractéristiques du sol considéré (Vernozy-Rozand, 2002).

Lorsque les bovins excrètent dans les prairies, la surface quotidienne souillée par bovin adulte est de 0,5 à 1,5m<sup>2</sup> (De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000) et les déjections sont complètement intégrées au sol au bout d'une cinquantaine de jours. *E. coli* O157:H7 est encore isolé dans les échantillons de sol pendant 35 jours voire 50 jours (Bolton *et al.*, 1999).

Strachan *et al.* (2001) ont modélisé la concentration en fonction du temps en *E. coli* O157:H7 au niveau du sol dans un champ où paissent 25 moutons en faisant l'hypothèse que 5 d'entre eux excrètent la bactérie à un taux de 10<sup>4</sup> UFC/g (cf. figure 11(a))

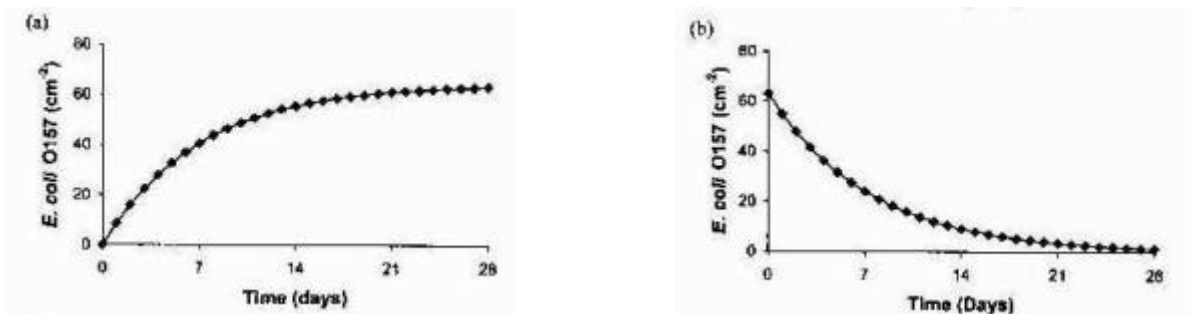
$$N = \sum_{t=0}^{t=d-1} N_0 10^{-t/t_{dr}}$$

puis la réduction du nombre d'organismes dans le sol après le départ des ruminants (cf. figure 11(b)), la distribution des bactéries dans le sol est supposée uniforme sur 1 cm d'épaisseur.

$$N_r = N_0 10^{-d/t_{dr}}$$

où N est le nombre de bactéries dans le sol par unité de surface, N<sub>0</sub> le nombre de bactéries excrétées par jour et par unité de surface, N<sub>r</sub> le nombre de bactéries après le départ des ruminants, d le nombre de jours depuis le départ des ruminants, t<sub>dr</sub> le temps de réduction décimal.

Figure 11 – (a) Croissance d'*E. coli* O157:H7 sur une pâture accueillant un troupeau de 25 animaux dont 5 excrètent la bactérie (10<sup>4</sup> UFC/g de déjections) pendant 4 semaines. (b) Décroissance succédant au départ des animaux de la pâture



(Strachan *et al.*, 2002)

La survie d'*Escherichia coli* O157:H7 au niveau du sol est modélisée par une loi de décroissance exponentielle avec un coefficient de décroissance dépendant de la température, de l'humidité, du type de sol et de nombreux autres facteurs.

#### IV. DIFFUSION D'ESCHERICHIA COLI O157:H7 DANS LES EAUX

Le déplacement des bactéries contenues dans les déjections épandues sur le sol ou dans les déjections excrétées par les animaux à la pâture vers les eaux s'effectuent selon 2 modes :

- ❑ Un déplacement horizontal lié au ruissellement qui entraîne la contamination des eaux de surface,
- ❑ Un déplacement vertical lié à l'infiltration des bactéries dans les couches de sol qui entraîne la contamination des eaux souterraines.

Des études datant des années 1970 assurent que 92 à 95% des bactéries sont retenus dans le premier centimètre de la couche de sol et que 3 à 5% sont retenus dans les 4 cm inférieurs (De Andrade

Lima et Bigras-Poulin, 2000). Cependant, des travaux ultérieurs ont montré que le filtre que constitue le sol n'est pas aussi performant : des concentrations non négligeables en microorganismes issus de déjections animales se retrouvent dans les eaux de surface, tout comme dans les eaux souterraines.

#### IV.1 DEPLACEMENT HORIZONTAL

Le moment auquel surviennent les précipitations, qui provoqueront le ruissellement, après l'épandage ou le pâturage détermine la concentration de bactéries qui seront emportées vers les eaux de surface compte tenu de la décroissance bactérienne au niveau du sol.

Le tableau 17 rapporte quelques résultats de récupération de microorganismes fécaux dans des eaux de ruissellement.

Tableau 17 – Récupération des coliformes fécaux dans les eaux de ruissellement

Texture du sol	Récupération	Observation : temps entre date d'épandage et précipitations
Limon	6,7 %	après la première pluie sur un pâturage en été
Limon	0,061 %	après les pluies suivant la première pluie sur un pâturage en été
Limon argileux	1 %	
--	0,007 %	fumier solide
--	58 à 90 %	pluie le jour même de l'épandage
--	0,1 à 0,22 %	pluie le troisième jour de l'épandage

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

#### IV.2 DEPLACEMENT VERTICAL

De nombreux facteurs influent sur l'infiltration des microorganismes dans les couches de sol, notamment les caractéristiques de l'eau dans le sol et les précipitations (cf. tableau 18).

Tableau 18 – Facteurs influençant la diffusion des microorganismes dans le sol

Facteurs	Effet sur la diffusion des microorganismes
<b>Caractéristiques physiques du sol</b>	
texture (type de sol)	le mouvement des microorganismes est facilité quand le sol est surtout de type argileux ou sableux car les pores sont plus grands
distribution de la taille des particules	les sols compacts ralentissent la diffusion
contenu et type d'argile	l'argile retient davantage les microorganismes, surtout ceux chargés positivement en surface
contenu et type de matières organiques	les sols riches en matières organiques ralentissent la diffusion car ces matières favorisent la filtration
pH	participe à la fixation électrique des anions, aussi aux mécanismes d'adsorption
distribution de taille des pores	favorise la filtration
densité du sol	reliée à la présence plus ou moins grande de pores et fissures
drainage (naturel ou artificiel)	permet des mouvements plus rapides des eaux de pluie et des microorganismes dans le sol
<b>Facteurs chimiques et environnement du sol</b>	
température	les mécanismes de diffusion sont plus actifs quand la température est plus élevée
contenu d'eau du sol	sert de solution de transport
flux d'eau dans le sol	oriente la diffusion dans le sol et le sous-sol
<b>Facteurs chimiques et microbiens</b>	
charge ionique de la solution dans le sol	la composition chimique de la solution interfère dans le mouvement
pH de l'eau infiltrante	

<b>Tableau 18 (suite)</b>	
<b>Facteurs chimiques et microbiens</b>	
nature de la matière organique dans le matériel épandu (concentration et taille)	
<b>Type de micro-organisme</b>	
hydrophobie en superficie du micro-organisme	conditionne les phénomènes d'adsorption
densité et dimensions des micro-organismes	contribue à l'obstruction des pores
<b>Caractéristiques de l'épandage</b>	
choix du moment d'application	une grande humidité du sol ou un sol sec fissuré (avec d'importantes voies préférentielles) favorisent la diffusion
labour du sol avant épandage	brise les voies préférentielles, ce qui limite la diffusion rapide des microorganismes dans le sol,
humidité de la fumure	le lisier est plus favorable à la diffusion dans le sol tandis que le fumier est plus propice au déplacement sur le sol par ruissellement
incorporation des déjections au sol	limite le ruissellement et favorise donc la diffusion dans le sol

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

Quelques études sur l'impact des épandages de déjections animales sur la qualité des eaux souterraines ont été menées. Ainsi, 2 heures après épandage de lisier de bovins, une concentration en *E. coli* s'élevant à  $10^5$  UFC/100mL a été observée dans les eaux de drainage et l'aquifère. Cette concentration a chuté à  $10^2$  UFC/100mL après 4 jours (De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000). Cette contamination s'avère être plus importante après épandage de lisier de porc. Cependant, suite à l'épandage de fumier bovin, aucune contamination n'a été observée avant le 7<sup>ème</sup> jour, quand une pluie de 25mm a provoqué la percolation d'*E. coli* vers l'aquifère ( $10^2$  UFC/100mL le lendemain de la pluie) (De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000). L'étude de Ogden *et al.* (2001) n'a pas mis en évidence la présence d'*E. coli* O157 dans les effluents drainés des échantillons de sol, mais 10% des souches *E. coli* ont été entraînés par drainage en 12 jours. Lors de l'épandage de lisier, le risque de contamination d'une ressource en eau est le plus important juste après l'application du lisier sur les terres, les premiers effluents issus du drainage des terrains, après des événements pluvieux, sont chargés en bactéries (Ogden *et al.*, 2001).

La contamination des eaux souterraines peut être durable, des bactéries pouvant être isolées dans les aquifères quelques mois après épandage (De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000).

Lors de la traversée des couches de sol, les bactéries ne sont pas adsorbées sur les particules lors du lessivage, elles semblent suivre les matières azotées, ou du moins, survivent plus longtemps ou se répliquent plus vite en présence d'azote.

Le déplacement vertical d'*E. coli* dans un sol dépend de l'état de saturation en eau du sol, un sol incomplètement saturé offre des poches d'air résiduel au niveau desquelles les bactéries auront tendance à se fixer, le transport d'*E. coli* sera plus rapide et plus complet à travers un sol saturé (Powelson et Mills, 2001). Le déplacement vertical des *E. coli* O157 peut se poursuivre plus de 2 mois si les microsites du sol ne sont pas saturés (Gagliardi et Karns, 2000).

La diffusion d'*E. coli* O157:H7 vers les ressources en eau s'effectue selon deux processus distincts : un déplacement horizontal lié au ruissellement entraînant la contamination des eaux de surface et un déplacement vertical lié à l'infiltration responsable de la contamination des eaux souterraines. Appréhender ces déplacements est un travail complexe qui a fait l'objet de tentatives de modélisation.

## V. EVALUATION DE LA CONTAMINATION DES RESSOURCES EN EAU

La vulnérabilité d'un captage d'eau, de surface ou souterraine, vis-à-vis du risque microbiologique dépend des activités ayant cours sur le bassin d'alimentation du captage. L'évaluation de la vulnérabilité des captages passe donc, en tout premier lieu, par l'identification du bassin versant du captage et le recensement de toutes les activités à l'intérieur de ce bassin versant susceptibles d'entraîner une pollution microbiologique.

Pour le risque *E. coli* O157:H7, les activités à prendre en compte sont :

- ❑ Les élevages,
- ❑ Les zones de pâturage, de stockage et d'épandage des déjections animales,
- ❑ Les stations d'épuration (d'effluents urbains, industriels),
- ❑ Les zones d'épandage des boues,
- ❑ Les systèmes d'assainissement non collectif,
- ❑ Les industries agroalimentaires (abattoirs, ateliers de transformation des viandes...).

La contamination des eaux par des microorganismes fécaux d'origine animale dépend de nombreux paramètres depuis l'émission par la source (majoritairement l'excrétion par les bovins) jusqu'à la contamination de la ressource. En dehors des intestins, les bactéries entéropathogènes évoluent dans un milieu qui leur est *a priori* défavorable, leur population est maximale lors de l'excrétion puis décroît. Un des paramètres prépondérant dans le processus de contamination des eaux est donc le temps. Les caractéristiques des précipitations, le temps de stockage des déjections et le temps entre l'épandage et la première pluie sont des variables déterminantes.

Divers travaux de modélisation ont été conduits pour appréhender la contamination des ressources en eau par les microorganismes entéropathogènes d'origine fécale. Dans le cas des eaux souterraines, l'agent pathogène modélisé est le virus alors que les coliformes fécaux ont été choisis pour les eaux de surface. Ces modèles ont l'avantage de bien représenter les mécanismes de déplacement de ces organismes. Cependant, ces modèles sont très spécifiques par rapport aux microorganismes et par rapport au mode de déplacement considéré, ils sont complexes et nécessitent la connaissance de nombreuses variables. A titre d'exemple, on peut citer les travaux de Russel Walker et Stedinger (1999) qui ont modélisé les charges de *Cryptosporidium* qui parviennent aux réservoirs d'eau desservant la ville de New York (USA) et provenant de l'excrétion bovine mais aussi humaine (cf. [Annexe 5](#) p. 70).

D'autre part, la définition d'indices agroécologiques permet d'appréhender la contamination des ressources en eau de manière plus simplifiée. Ces indices respectent les connaissances sur la problématique, sans pour autant chercher à représenter les mécanismes biologiques spécifiques. Leur construction, limitée par les données disponibles, a pour objectif de fournir des outils d'aide à la gestion. Une équipe canadienne, de l'université de Montréal, travaille actuellement à la définition d'un indicateur de pression hygiénique animale dont les différents termes reflètent le transport de microorganismes pathogènes depuis l'excrétion par les animaux jusqu'à la contamination de la ressource (De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000). Les attributs de ce modèle sont décrits en [Annexe 5](#) p. 70. L'objectif de la construction de cet indicateur de pression hygiénique animale est de fournir une représentation de la contamination des ressources en eau par les microorganismes entéropathogènes issus de la production animale, qui deviendra par la suite un outil de gestion. Cependant, dans notre cas précis de l'évaluation du risque d'infection par *E. coli* O157:H7 par voie hydrique, cet indicateur ne peut être utilisé tel quel. En effet, d'une part, ne sont prises en compte que les activités liées à l'élevage, il conviendrait d'intégrer les sources éventuelles d' *E. coli*

O157:H7 que sont les stations d'épuration d'eaux usées et les abattoirs. D'autre part, les auteurs ne spécifient pas les zones géographiques sur lesquelles ils appliquent cet indicateur ; dans notre cas, la zone géographique est clairement définie, il s'agit du bassin d'alimentation du captage d'eau destinée à la consommation humaine considéré.

Nous proposons donc d'appliquer les attributs qui composent cet indicateur de pression hygiénique animale à l'échelle du bassin d'alimentation d'un captage d'eau pour quantifier la contamination de la ressource en eau par *E. coli* O157:H7 liée à la production animale. Il serait intéressant de pouvoir construire des attributs similaires pour représenter la contamination par *E. coli* O157:H7 par les rejets et les boues de stations d'épuration d'effluents urbains ou industriels et les systèmes d'assainissement non collectifs, ainsi que la contamination par les rejets des activités agroalimentaires.

## VI. SURVIE DANS L'EAU

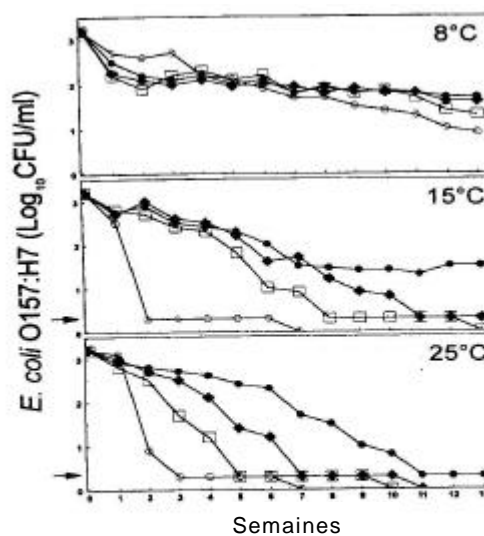
Quelques épidémies dues à *E. coli* O157:H7 d'origine hydrique supposée sont recensées dans la littérature. La bactérie est cependant rarement retrouvée lors des analyses environnementales basées sur la mise en culture. Ces constatations ont conduit les scientifiques à formuler l'hypothèse selon laquelle la bactérie pourrait perdurer dans l'environnement hydrique dans un état viable mais non cultivable (Wang et Doyle, 1998 ; Kurokawa *et al.*, 1999).

La survie ou la disparition des bactéries dans l'eau dépend de plusieurs facteurs :

- ❑ L'absence ou la présence de nutriments (suivie par la quantification des matières organiques),
- ❑ La lumière,
- ❑ La prédation qui sera plus importante dans les biofilms qu'en pleines eaux.

Des études réalisées sur le comportement en milieu hydrique ont montré qu'*E. coli* O157:H7 survit mieux aux basses températures : à 8°C une réduction de 1,5 à 2 log de la concentration en *E. coli* O157:H7 a été observée en 90 jours alors qu'à 15°C, la même réduction est atteinte en 45 jours et à 25°C le déclin d'*E. coli* O157:H7 est encore plus rapide (cf. figure 12).

Figure 12 – Concentration d'*E. coli* O157:H7 dans une eau municipale filtrée et passée à l'autoclave (\*), dans une eau de réservoir (\*\*), dans des eaux de lacs (• et ◐) à 8, 15 et 25°C  
Les flèches indiquent le niveau de détection par procédure d'enrichissement.



(Wang et Doyle, 1998)

Le tableau 19 présente les résultats de 2 études concernant la survie d'*E. coli* O157:H7 dans l'eau en l'absence ou en présence de nutriments.

Tableau 19 – Survie d'*E. coli* O157:H7 en présence et en l'absence de nutriments  
(expérimentations dans des eaux embouteillées inoculées)

Temp. (°C)	Absence de nutriments	Présence de nutriments	Référence :
15	Réduction de la concentration de 3 log en 3 semaines dans une eau minérale stérile (inoculum initial : 10 <sup>3</sup> UFC/mL) Survie pendant 8 mois	Réduction de la concentration de 3 log en 2 mois dans une eau minérale naturelle (inoculum initial : 10 <sup>3</sup> UFC/mL)	Kerr <i>et al.</i> , 1999
22	Réduction de la concentration de 2 à 3 log en 6 mois dans une eau de source ozonée (inoculum « lavé »)	Survie pendant 10 mois dans une eau stérilisée (inoculum non « lavé »)	Warbuton <i>et al.</i> , 1998

Ces différences observées dans les taux de survie peuvent provenir de variations dans les souches d'*E. coli* O157:H7 utilisées pour l'expérimentation ou de la composition de l'eau (Wang et Doyle, 1998 ; Warbuton *et al.*, 1998).

Ces résultats sont obtenus par des techniques de détection faisant appel à la culture directe. En ayant recours à des techniques d'enrichissement, *E. coli* O157:H7 est détectable à 15°C et à 25°C dans des eaux de lacs pendant 4 ou 5 semaines (Wang et Doyle, 1998).

La comparaison des taux de survie d'*E. coli* O157:H7 et de la flore microbienne autochtone montre qu'*E. coli* O157:H7 n'est pas un très bon compétiteur en environnement aquatique (Wang et Doyle, 1998).

Une étude des rivières au Japon (Kurokawa *et al.*, 1999) a mis en évidence, en région commerciale et industrielle hautement polluée, une concentration en *E. coli* O157:H7 supérieure en janvier (4 log UFC/mL) qu'en juillet (<2 log UFC/mL). Cette même étude recense une concentration plus élevée dans des rivières en zone industrielle (3 log UFC/mL) qu'en zone agricole (2 log UFC/mL) ou forestière (<2 log UFC/mL).

Ces résultats semblent étonnants au vu des connaissances acquises sur le portage bovin de la bactérie, l'article de Kurokawa *et al.* ne précise pas le type d'activités pratiquées dans les régions industrielles.

Dans l'eau, *E. coli* O157:H7 semble entrer dans un état viable non cultivable et présente un meilleur taux de survie aux basses températures et en présence de nutriments.

On retiendra que la réduction de la concentration en *E. coli* O157:H7 dans l'eau dépend de la composition de l'eau et de la taille du cours d'eau pour les eaux souterraines. En effet, la présence de nutriments augmente le temps de survie des bactéries et la prédation est plus importante dans le biofilm formé au fond des petits cours d'eau qu'en pleines eaux dans les rivières plus importantes.

On peut considérer, en première approche qu'*E. coli* est un bon indicateur de la contamination des eaux par *E. coli* O157:H7.

## VII. SURVIE AUX TRAITEMENTS UTILISES POUR LA PRODUCTION D'EAU POTABLE

Lors du traitement mis en œuvre pour produire de l'eau potable, la désinfection est l'étape cruciale pour l'élimination des microorganismes pathogènes. Nous nous intéresserons donc uniquement au comportement d'*E. coli* O157:H7 face à une désinfection par le chlore et par les UV.

### VII.1 DESINFECTION PAR LE CHLORE

Une étude sur l'inactivation d'*E. coli* O157:H7 par le chlore a mis en évidence qu'une exposition à 1,1 mg/L de chlore libre pendant une minute à 5°C permet d'atteindre une réduction de 4 log de la concentration (cf. tableau 20). De plus, l'activité biocide du chlore augmentant avec la température, ce taux d'inactivation sera plus important pour des températures plus élevées (Rice *et al.*, 1999).

Zhao *et al.* (2001) obtiennent des résultats de même ordre de grandeur : à 23°C un taux de chlore de 0,25 mg/L permet de réduire de 7 log la concentration de la plupart des souches *E. coli* O157:H7 en 30s (cf. tableau 21).

Le chlore agit sur *E. coli* en endommageant la respiration et les processus de transport de la membrane cellulaire ; ce mode d'action est identique pour *E. coli* O157:H7 (Lisle *et al.*, 1999).

Le taux d'inactivation est le même pour la majorité des souches *E. coli* O157:H7 et pour les autres souches d'*E. coli* (Rice *et al.*, 1999, cf. tableau 20), bien que Zhao *et al.* (2001) observent une souche d'*E. coli* O157:H7 plus résistante que les autres à la chloration et que Lisle *et al.* (1998) aient mis en évidence le développement d'une souche du sérotype O157:H7 résistante à la chloration après survie dans un milieu très pauvre en nutriments ; la question se pose alors de la pertinence d'utiliser *E. coli*, dont la détection est plus facile à mettre en œuvre, comme indicateur de contamination par *E. coli* O157 après désinfection de l'eau.

Tableau 20 – Inactivation par 1,1 mg/L de chlore libre d'*E. coli* O157:H7 et d'une souche d'*E. coli* à 5°C

Souche	Temps d'exposition (s)			Taux d'inactivation (s <sup>-1</sup> )	T90 (s)
	Inoculum initial	30	60		
<i>E. coli</i> O157:H7 moy.	5,69	2,48	1,62	0,74	-2,93
<i>E. coli</i> moyenne	5,63	2,52	1,28	0,89	-2,93

(Rice *et al.*, 1999)

Tableau 21 – Inactivation d'*E. coli* O157:H7 par du chlore à 23°C

Taux de chlore libre (mg/L)	Souche	Temps de contact (s)			
		0	30	60	120
0,25	<i>E. coli</i> O157:H7 résistant	7,5±0,2	4,2±0,6	3,5±0,5	1,7±0,1
	Autre <i>E. coli</i> O157:H7	7,5±0,2	<1,7 <sup>a</sup>	- <sup>b</sup>	-
	<i>E. coli</i> non O157:H7	7,4±0,1	2,4±0,5	-	-
0,5	<i>E. coli</i> O157:H7 résistant	7,5±0,2	3,7±0,6	2,0±0,2	<1,7
	Autre <i>E. coli</i> O157:H7	7,5±0,2	<1,7	-	-
	<i>E. coli</i> non O157:H7	7,4±0,1	-	-	-
1,0	<i>E. coli</i> O157:H7 résistant	7,5±0,2	3,4±0,5	1,7±0,1	<1,7
	Autre <i>E. coli</i> O157:H7	7,5±0,2	-	-	-
	<i>E. coli</i> non O157:H7	7,4±0,1	-	-	-
2,0	<i>E. coli</i> O157:H7 résistant	7,5±0,2	2,9±0,2	<1,7	-
	Autre <i>E. coli</i> O157:H7	7,5±0,2	-	-	-
	<i>E. coli</i> non O157:H7	7,4±0,1	-	-	-

<sup>a</sup> <1,7 log, détectable par culture après une procédure d'enrichissement

<sup>b</sup> -, non détectable par culture et enrichissement

(Zhao *et al.*, 2001)



L'efficacité de la désinfection par le chlore est appréciée par le paramètre CT (concentration de chlore introduite \* temps de contact). Au vu des résultats présentés ci-dessus, l'introduction de 0,5mg/L de chlore libre associée à un temps de contact d'1h abaisse la concentration en *E. coli* O157:H7 de manière drastique à 23°C.

## VII.2 DESINFECTION PAR LES ULTRA-VIOLETS

L'inactivation des bactéries par les UV est basée sur les dommages perpétrés par les rayons UV sur l'acide nucléique. Certaines bactéries possèdent cependant la capacité de synthétiser des enzymes capables de réparer ces dommages :

- ❑ Par réparation dans l'obscurité, une souche d'*E. coli* commensale possède cette capacité,
- ❑ Par photoréactivation : l'enzyme photolyase est activée par l'énergie lumineuse dans les longueurs d'onde proches des UV.

Les différentes souches d'*E. coli* O157:H7 ne présentent pas du tout le même comportement vis-à-vis des UV (Sommer *et al.*, 2000). Des taux d'inactivation très différents sont rapportés : un abaissement de 6 log de la concentration pour une exposition à 12 J/m<sup>2</sup>, ou 5 log pour 75 J/m<sup>2</sup> (Sommer *et al.*, 2000), ou encore 2 log pour 33 J/m<sup>2</sup> (Tosa et Hirata, 1999).

Après photoréactivation, la résistance aux UV se trouve accrue pour une des souches *E. coli* O157:H7 : pour réduire de 6 log sa concentration, il faut appliquer plus de 300J/m<sup>2</sup> pendant 2 heures (Sommer *et al.*, 2000). En revanche, les souches *E. coli* O157:H7 ne présentent aucune capacité de réparation dans l'obscurité.

Les standards autrichiens préconisent pour la désinfection de l'eau une exposition à 400 J/m<sup>2</sup>, ce niveau de traitement est suffisant pour abattre de 6 log la concentration en *E. coli* O157:H7 même après photoréactivation. En revanche, la Suisse et la Norvège par exemple préconisent des expositions à 250 ou 160 J/m<sup>2</sup> respectivement qui ne semblent pas suffisants pour assurer une bonne désinfection de l'eau (Sommer *et al.*, 2000).

Concernant le comportement d'*E. coli* O157:H7 face au traitement utilisé pour la production d'eau potable, on retiendra que la désinfection, telle qu'elle préconisée par chloration actuellement, est l'étape déterminante pour l'élimination d'*E. coli* O157:H7.

On retiendra de plus qu'*E. coli* est un bon indicateur de la présence d'*E. coli* O157:H7 dans l'eau traitée.

## VIII. EVALUATION DE LA CONCENTRATION EN *E. COLI* O157:H7 DANS L'EAU DE CONSOMMATION

L'étude de l'exposition de la population nous a permis d'analyser le trajet de la bactérie depuis l'excrétion par le réservoir animal jusqu'au robinet du consommateur.

Nous allons réaliser d'une grille d'évaluation de la vulnérabilité du captage. Cette grille aura pour objectifs :

- ❑ De recenser toutes les variables nécessaires à la construction des attributs de l'indice de pression hygiénique animale afin d'aboutir à la quantification du nombre de bactéries qui atteindront la

ressource en eau (les données étant rares, voire inexistantes, on s'affranchit des sources de contamination autres que celles liées à la production animale),

- ❑ D'obtenir un coefficient de dilution par la connaissance du débit de la ressource en eau et d'appliquer un taux de décroissance des bactéries dans l'eau afin d'atteindre la concentration des bactéries dans l'eau qui parviendront au point de captage,
- ❑ D'évaluer la performance du traitement appliqué à l'eau brute (essentiellement concernant la désinfection) pour obtenir une concentration en bactéries dans l'eau qui parvient au consommateur.

Les données concernant l'évaluation de la vulnérabilité du captage et de l'usine de production d'eau potable vis-à-vis du risque *E. coli* O157:H7 peuvent être réunies dans un document réalisé sur le modèle établi pour évaluer cette même vulnérabilité vis-à-vis du risque *Cryptosporidium* au Royaume-Uni (Drinking Water Inspectorate, 1999).

Ce document nous a paru intéressant pour la démarche qu'il instaure. Cependant, au Royaume-Uni, cette grille est à remplir par l'exploitant de l'unité de traitement d'eau qui doit lui-même interpréter les données recueillies pour déclarer son installation à risque vis-à-vis de *Cryptosporidium* ou pas, en l'absence d'échelle de valeurs ou de quelconques indications permettant d'apprécier le niveau de risque. La déclaration d'une installation comme étant à risque entraîne la mise en œuvre d'une campagne de mesures visant à rechercher *Cryptosporidium*. On peut s'interroger sur l'efficacité d'une telle évaluation.

Nous nous sommes inspiré de cette démarche pour mettre en place une grille quelque peu similaire (consignée en [Annexe 6](#) p. 76). A terme, l'objectif à atteindre serait que les résultats contenus dans cette grille d'évaluation nous permettent de calculer les 4 attributs de l'indice de pression hygiénique animale et d'atteindre ainsi la concentration en *E. coli* O157:H7 présente dans les eaux de surface et les eaux souterraines, sous réserve que les autres sources de contamination soient négligeables. A cette concentration, on applique alors un coefficient de dilution et une valeur d'abattement en fonction du temps de séjour des bactéries dans l'eau avant leur arrivée à l'unité de production d'eau potable et du type de désinfection mis en œuvre (caractérisé par le paramètre CT). On pourra alors atteindre la densité d' *E. coli* O157:H7 au robinet du consommateur.

## **IX. ESTIMATION DE LA CONSOMMATION D'EAU DE LA POPULATION**

La valeur communément admise et utilisée pour la démarche d'évaluation des risques correspond à une consommation quotidienne d'eau de boisson de 2 litres pour un adulte en climat tempéré. Cette valeur a été établie dans les années 1970 par des études réalisées auprès de la population américaine. L'ensemble du dispositif réglementaire national et international concernant la consommation d'eau s'appuie sur cette valeur de 2L/j par personne de 60kg. D'autres modèles utilisent une distribution log-normale de la consommation d'eau du robinet (Roseberry et Burmaster, 1992).

Une étude plus récente menée auprès de la population française dans certaines communes (Gofti-Laroche *et al.*, 2001) permettent de caractériser plus précisément la consommation d'eau de boisson. D'après les résultats de cette étude, la consommation d'eau du robinet suit une loi normale dont les paramètres varient en fonction de la saison, alors que la consommation d'eau de boisson totale suit une loi log-normale (cf. [Annexe 7](#) p. 80). Ces résultats montrent que la valeur de 2L/j/pers. est en moyenne dépassée par la population adulte au printemps. Toutefois ces recherches portent sur la consommation d'eau totale, et ce seuil n'est pas dépassé pour l'eau du robinet. On aboutit à une sur-estimation du risque lié à la consommation d'eau du robinet si l'on retient la valeur de 2L/j par personne.

De plus, l'estimation de la consommation quotidienne d'eau ne devrait prendre en compte que l'eau non bouillie, car les températures atteintes lors de l'ébullition de l'eau inactivent les pathogènes, cette inactivation dépend cependant du temps pendant lequel l'eau est portée à l'ébullition. Une étude non publiée du Gouvernement Britannique en 1980 estimait à 0,95L/j/personne la consommation d'eau du robinet bouillie, contre 0,12 L/j/personne pour l'eau non bouillie : seulement 11% de l'eau du robinet consommée l'est sous forme non bouillie. Mais, ces données sont-elles transposables à d'autres pays compte tenu que la consommation d'eau bouillie est étroitement liée à celle de thé, qui représente 60% en volume de la consommation d'eau du robinet selon cette même étude ? Il y a, d'autre part, de fortes variations au sein de la population en fonction de l'âge, du sexe, du statut socio-économique...autant d'incertitudes qui peuvent avoir une influence significative dans l'évaluation quantitative du risque.

De nouvelles études, portant sur 3000 personnes, préconisent les valeurs de 270 ou 280 mL d'eau "froide" consommée par jour, sans prendre en compte l'eau chauffée. Cette valeur semble faible par rapport à la valeur communément admise pour l'instant de 2L/j/personne. Une enquête réalisée par l'AFSSA, le CREDOC et l'INSEE (enquête INCA) sur les consommations alimentaires de la population française montre que la consommation moyenne d'eau du robinet crue (i.e. non chauffée) est de 0,4L/j, la consommation d'eau chauffée étant identique (Volatier, 2000). Cette enquête montre aussi qu'un tiers de la population ne consomme pas du tout d'eau du robinet crue.

La valeur de 2 L d'eau consommée par jour et par personne, communément admise jusqu'à présent et utilisée par l'OMS pour établir ses recommandations, semble élevée au vu des nouvelles enquêtes réalisées. L'utilisation de cette valeur entraînerait une surestimation du risque dans le cadre d'une évaluation quantitative. On préférera alors la valeur de 400mL d'eau crue consommée par jour et par personne.

#### **IV. QUALIFICATION DU RISQUE**

---

La dernière étape de la démarche d'évaluation des risques doit permettre de quantifier le risque, c'est à dire de prévoir, pour une population donnée, le nombre de personnes susceptibles d'être infectées par *E. coli* O157:H7 ou le nombre de personnes qui développeront un SHU...

Chacune des étapes constituant l'étude de l'exposition de la population nous a permis d'appréhender le comportement de la bactérie depuis son réservoir jusqu'au robinet du consommateur. Cette démarche a pour but de quantifier la densité de bactéries présentes dans l'eau de distribution. Rapprochée de la consommation d'eau de la population, cette densité nous permettra d'atteindre la dose ingérée par la population.

Les résultats de notre étude ne nous permettent cependant pas de parvenir à un résultat global chiffré quantifiant l'impact en terme de santé publique de la contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7. Cette évaluation est peut être possible à l'échelle d'un bassin versant sous réserve d'avoir accès à toutes les données nécessaires. Nous pouvons cependant décrire les scénarii de contamination des ressources les plus susceptibles de se produire, d'après les résultats obtenus lors du déroulement de la démarche d'évaluation des risques. Le recensement des limites et des manques existants au niveau de chaque étape de la démarche nous permettra de conclure sur les possibilités actuelles et sur les évolutions pour l'évaluation du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7.

## I. DEFINITION DE DIFFERENTS SCENARII DE CONTAMINATION DES RESSOURCES EN EAU

La contamination des ressources destinées à la production d'eau potable peut se faire suivant différents scénarii selon qu'on a à faire à une pollution diffuse, ponctuelle ou accidentelle, d'origine humaine ou animale (ou mixte), à une ressource en eau superficielle ou souterraine et en fonction des intempéries.

Dans notre cas, on parle de pollution diffuse lorsque le trajet de la bactérie vers l'eau passe par le sol, après épandage de déjections animales ou humaines ou pâture des animaux. La contamination des eaux de surface se fait par ruissellement lors de précipitations alors que la contamination des eaux souterraines se fait par infiltration dans le sol. Cette contamination dépend de la durée et de la longueur du trajet de la bactérie depuis l'excrétion jusqu'à l'entrée de la station de production d'eau potable, mais aussi des conditions climatiques, du type de sol traversé et de son état de saturation.

Les pollutions ponctuelles sont les rejets de stations d'épuration, d'industries agroalimentaires et d'assainissement non collectif.

On considère, sous le vocable pollution accidentelle, la contamination massive d'une ressource en eau par *Escherichia coli* O157:H7 :

- ❑ Par la fuite d'un stockage de fumier ou lisier contaminé vers un captage,
- ❑ Par ruissellement juste après épandage de boues vers un captage suite à de fortes précipitations,
- ❑ Par l'intrusion d'eaux usées d'origine humaine au niveau d'un captage,
- ❑ Par la fuite d'un système d'assainissement autonome à proximité d'un captage,
- ❑ Par une déficience dans la désinfection ou l'absence de désinfection au niveau de l'unité de production d'eau potable,
- ❑ Par l'infiltration d'eaux parasites dans le réseau de distribution.

Au vu des épisodes épidémiques dus à la consommation d'une eau contaminée par *E. coli* O157:H7 recensés et des données recueillies sur la survie de la bactérie dans l'environnement, on conçoit bien que les pollutions accidentelles sont les situations à craindre.

## II. LES LIMITES DE L'EVALUATION DES RISQUES

Dans un souci de transparence, sont recensées ci-dessous, pour chaque étape de la démarche d'évaluation du risque, toutes les raisons pour lesquelles il ne nous est pas possible de parvenir à une véritable quantification du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7.

### II.1 L'ANALYSE DU DANGER

Les effets pathogènes d'une infection par *Escherichia coli* O157:H7 sont maintenant bien connus, mais les mécanismes d'action de la bactérie sont encore imparfaitement compris. D'autre part, les scientifiques s'affrontent pour déterminer si le mécanisme de production des toxines est suffisant pour induire seul les infections à *Escherichia coli* O157:H7 ou si ces infections sont le résultat d'une combinaison d'actions (Vernozy-Rozand, 2002).

Les caractéristiques des infections chez les humains sont encore mal connues, on ignore quelle est la durée d'excrétion de la bactérie après infection et quelle est la quantité de bactéries excrétée et surtout quel est le taux de porteurs sains dans la population.

## II.2 L'IDENTIFICATION D'UNE FONCTION DOSE-REPONSE

La relation entre la probabilité d'infection ou de maladie et la dose ingérée a été étudiée et validée pour des épidémies ayant pour origine l'ingestion d'aliments solides ou de sol contaminés, mais pas encore pour des épidémies d'origine hydrique. Peut-on utiliser les résultats obtenus et les transposer au domaine hydrique ? Dans ce cas, doit-on utiliser le modèle le plus conservateur au risque de surestimer de manière inconnue le risque collectif, ou doit-on utiliser la relation dose-réponse validée en milieu environnemental (pour une contamination par l'ingestion de sol) ?

D'autre part, quel que soit le modèle, celui-ci fut établi pour des adultes. La probabilité d'infection ou de maladie est-elle la même quel que soit l'âge ? Des études supplémentaires seront nécessaires pour connaître la relation dose-réponse pour les populations sensibles.

## II.3 L'ESTIMATION DE L'EXPOSITION DE LA POPULATION

De nombreuses questions se posent encore pour parvenir à une quantification du niveau de contamination des ressources en eau par *Escherichia coli* O157:H7.

Les premières interrogations concernent le portage bovin (réservoir principal de la bactérie), encore mal connu en France.

Il convient ensuite de se préoccuper des réservoirs secondaires à savoir les petits ruminants (moutons, chèvres), les porcs, les rongeurs ou les oiseaux susceptibles de transporter la bactérie et même l'homme, dont le portage sain est inconnu.

D'autres questions se posent, concernant la survie de la bactérie dans l'environnement. Des études sur le comportement d'*Escherichia coli* O157:H7 existent mais les résultats sont encore succincts. Peut-on alors choisir un indicateur pour modéliser le trajet d'*Escherichia coli* O157:H7 dans l'environnement : *Escherichia coli* par exemple, malgré les différences de résistance en milieu acide notamment ?

Le transfert des bactéries vers les ressources en eau dépend de nombreux paramètres : type de sol, topographie, type de ressource en eau, profondeur de la nappe, importance des précipitations...qui rendent difficile une éventuelle quantification du nombre de bactéries susceptibles d'atteindre les ressources, des études existent cependant, qui tentent de modéliser ce transport. Le travail de l'équipe canadienne (décrit précédemment) sur la création d'un indicateur de contamination des ressources en eau par les activités d'élevage est complexe et encore à l'état expérimental. Cette étude ne se contente pas des contaminations éventuelles par *E. coli* O157:H7 mais a pour objectif de construire un indicateur global prenant en considération théoriquement tous les entéropathogènes zoonotiques. De nombreuses questions restent posées concernant l'utilisation de ce modèle. La validation des concentrations en bactéries calculées doit se faire par des mesures directes de contamination des eaux de surface et souterraines. D'autre part, des valeurs normales et de référence devront être fixées pour permettre l'interprétation de ces indices et la mise en œuvre éventuelle de moyens de gestion suite aux résultats obtenus. On peut émettre l'hypothèse que ces valeurs soient fixées en fonction d'un risque acceptable défini préalablement suivant les usages en aval (pour la consommation d'eau distribuée après traitement ou l'ingestion d'eau lors de baignades par exemple). Les valeurs normales doivent permettre de déterminer les limites en dehors desquelles l'indice cesse d'être représentatif et devient inutilisable. La pertinence et l'utilité de l'indice seront évaluées par la corrélation entre la valeur de l'indice obtenue et l'incidence des infections par des entéropathogènes d'origine animale.

L'utilisation des attributs de l'indicateur de pression hygiénique animale pour conduire une évaluation des risques de contamination suite à l'ingestion d'eau distribuée après traitement par des enteropathogènes zoonotiques nécessite au préalable une étude de faisabilité pour définir les variables nécessaires, connaître leur accessibilité et appréhender le devenir et l'utilisation d'un tel outil. Le service santé-environnement de la DRASS des Pays-de-Loire doit se pencher sur cette question prochainement.

De nombreuses zones d'ombre et d'incertitude hantent encore le chemin vers une évaluation quantitative du risque d'intoxication hydrique par *Escherichia coli* O157:H7. Néanmoins, il paraît tout de même possible de qualifier ce risque en terme de scénarii les plus probables de se produire, au vu notamment des épidémies survenues dans ce domaine et des données recueillies.

Seules les pollutions accidentelles décrites plus haut peuvent *a priori* être prises en compte. En effet, malgré les inconnues, il semble raisonnable de penser que l'abattement de la concentration en bactéries lors du passage dans le sol est suffisant pour que l'eau distribuée après traitement soit indemne d'*Escherichia coli* O157:H7 (en considérant que le traitement de l'eau fait intervenir une désinfection adéquate). On considère de même qu'en période de précipitations normales, l'épandage de fumier ou boues n'étant pas réalisé à proximité d'un captage, en respect des périmètres de protection, le temps de transport de la bactérie dans l'eau avant de parvenir à un captage est suffisant pour abaisser conséquemment la charge bactérienne.

L'évaluation des risques liés à *Escherichia coli* O157:H7 est un sujet d'actualité, en France comme en Europe ou aux Etats-Unis. Le débat s'élargit maintenant à l'ensemble des *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) et des *Escherichia coli* producteurs de toxines de type Shiga (STEC). Jusqu'à présent, les acteurs de santé publique étaient surtout concernés par les risques alimentaires liés à ces bactéries. En France, depuis novembre 2001, un groupe de travail se réunit sous la direction de Mme Vernozy-Rozand pour faire un état des lieux exhaustif des connaissances sur les STEC, afin de mener par la suite des études pour combler les lacunes. Au niveau européen, existe un réseau de laboratoires de références pour les *E. coli* verotoxinogènes ; chacun de ces laboratoires mène des études et les résultats sont diffusés à l'ensemble des laboratoires. Ce réseau réunit 31 scientifiques (vétérinaires, microbiologistes, médecins...) de 12 pays européens et est piloté par Mme Duffy (National Food Center, Dublin).

Les préoccupations concernant plus particulièrement l'évaluation du niveau de contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7 sont récentes et s'inscrivent dans une perspective plus globale de contamination des ressources en eau par des enteropathogènes zoonotiques liés à la production animale (*Cryptosporidium* ou *Campylobacter* par exemple). Les études en cours permettront d'avoir accès à des outils pratiques pour mener à bien des évaluations de risque.

## PARTIE II : GESTION DU RISQUE

En l'état actuel des connaissances, l'évaluation du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7 ne peut être menée à terme. Cependant, la possibilité de survenue de pollutions accidentelles des captages ou des réseaux d'adduction d'eau potable n'est pas à prendre à la légère et il convient de recenser les actions susceptibles de participer à la prévention de ce genre d'accidents.

La gestion d'un risque peut s'appréhender sous divers angles de vue. Les actions à entreprendre pour réduire le risque peuvent porter sur :

- ❑ Le milieu, la source du danger, dans notre cas, l'action à mettre en œuvre porte sur le réservoir animal et humain, faute de connaissances sur l'ensemble de ce réservoir, on se contentera de prendre en compte le réservoir bovin,
- ❑ Le média, le véhicule du danger, ici, c'est l'eau,
- ❑ Les effets sur la santé des populations (notamment pour les populations sensibles que sont les jeunes enfants et les personnes âgées).

Les deux premiers types d'action seront réunis sous le vocable « prévention », le dernier type d'action sera appréhendé comme la gestion des situations de crise, c'est-à-dire des épidémies dues à *E. coli* O157:H7.

### II. NECESSITE D'UNE GESTION DU RISQUE

---

*Escherichia coli* O157:H7 est porté par les bovins principalement, la nécessité de gérer le risque de contamination hydrique dépend de la vulnérabilité des ressources en eau et de la densité de la population bovine dans les zones alimentant les captages d'eau. Le paragraphe suivant a pour but visualiser de manière globale la situation française dans ces domaines.

Tous les problèmes de santé publique actuels ne sont pas socialement perçus de la même façon. La notion de risque subi entre en jeu ainsi que la gravité des effets pathogènes et les population sensibles.

Enfin, l'impact économique d'un problème de santé publique est une notion à prendre en compte pour parvenir à une bonne gestion du risque.

#### I. VULNERABILITE DE LA RESSOURCE ET PRESSION BOVINE

##### I.1 LA VULNERABILITE DE LA RESSOURCE

###### 1) L'eau potable en France, quelques chiffres

En France, les unités publiques de distribution d'eau sont alimentées par 36581 captages (sans compter les puits appartenant à des particuliers et utilisés pour la boisson), 34852 ouvrages, soit 95%, fonctionnent en exploitant des ressources souterraines et 1529 (5%) exploitent des ressources superficielles (Villey-Desmeserets *et al.*, 2001). La proportion entre ressources souterraines et superficielles varie beaucoup entre les départements, en fonction de l'histoire, du contexte géologique et de la taille de la population desservie. Le nombre de captages varie également beaucoup d'un département à l'autre.

La production d'eau potable représente  $6.10^9$  m<sup>3</sup>/an, dont  $2.10^9$  m<sup>3</sup>/an produits à partir d'eaux de surfaces et  $4.10^9$  m<sup>3</sup>/an à partir d'eaux souterraines ; les eaux de surface étant plus exposées, 1/3 de la ressource est donc particulièrement sensible au risque microbiologique.

Le nombre d'unités de traitement s'élève à 26680, 16580 unités desservent des communes de moins de 500 habitants et 2024 unités desservent des villes de plus de 5000 habitants (i.e. 75% de la population). Les unités de production de petite taille disposent parfois de traitements simples (filtration sans chloration, simple chloration...) voire inexistantes.

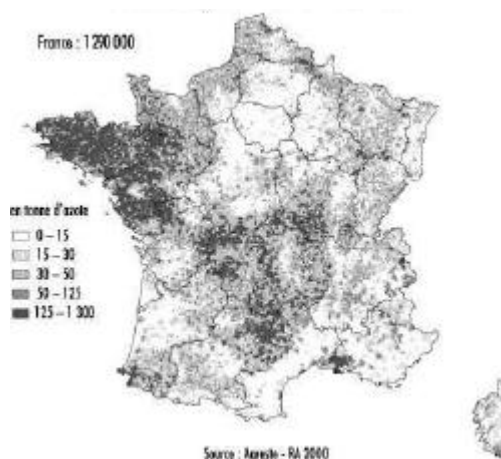
## 2) La qualité microbiologique de l'eau distribuée

Plusieurs rapports publiés font état de dégradation de la qualité microbiologique de l'eau, il n'est pas rare que, ponctuellement, l'eau ne soit pas conforme aux paramètres réglementaires microbiologiques. Sur l'ensemble du territoire en 1998, 8% de la population a été desservie par une eau présentant un taux de non-conformité de plus de 5% pour les paramètres microbiologiques (Villey-Desmeserets *et al.*, 2001).

### I.2 PRESSION ANIMALE

La pression animale n'est pas homogène sur tout le territoire français. Certains départements présentent une très forte densité d'animaux d'élevage (cf. figure 14), certaines zones sont donc plus susceptibles d'être exposées à une contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7.

Figure 14 – Rejets azotés d'origine animale par commune en 2000



## II. POPULATIONS SENSIBLES ET GRAVITE DES EFFETS

Les populations les plus sensibles aux formes les plus graves de la maladie induite par une infection à *E. coli* O157:H7 sont les âges extrêmes de la vie. La gravité du syndrome hémolytique et urémique et le fait que les très jeunes enfants soient les plus à risque d'en subir les effets sont autant d'arguments qui frappent l'esprit des populations. Les personnes les plus menacées par une issue fatale suite à une infection par *E. coli* O157:H7 sont les personnes âgées. L'impact social est important.

## III. COÛTS OCCASIONNES

Quantifier les coûts économiques occasionnés par une maladie permet de prendre conscience des conséquences engendrées pour la société lorsqu'une ou plusieurs personnes sont malades. Les pertes économiques ne se chiffrent pas seulement en termes de dépenses de santé mais aussi en termes de pertes de rendement dues à l'absence des travailleurs.

Dans le cadre de l'enquête réalisée pour analyser l'épidémie de Walkerton en mai 2000 (O'Connor, 2002), une étude fut conduite afin de chiffrer les coûts engendrés par une telle épidémie (Livernois, 2002). Le coût total est estimé à 64,5 millions de dollars canadiens, soit 42 millions d'euros pour une épidémie



ayant touchée 2000 personnes sur une ville de 4000 habitants, ayant entraîné 27 cas de SHU et la mort de 7 personnes, ce coût n'inclut pas d'estimation de la notion de coût de la vie perdue.

Une étude américaine (Elbasha *et al.*, 2000) a quantifié les coûts liés à une infection par *Escherichia coli* O157:H7 en ajoutant aux dépenses précédemment citées la notion de coût de la vie. L'[Annexe 8](#) p. 81 récapitule les coûts occasionnés par les épidémies dues à *E. coli* O157:H7.

Les ressources en eau sont vulnérables et il n'est pas rare que l'eau distribuée présente une contamination d'origine fécale. De plus, la pression animale est très forte dans certaines régions sur le territoire français. La probabilité de contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7 est à prendre en compte, surtout lors d'intempéries de forte intensité.

L'impact social d'une épidémie d'origine hydrique qui fera des victimes chez les personnes âgées et les jeunes enfants, ainsi que les coûts occasionnés (souvent colossaux) justifient le bien fondé de la mise en place de mesures de prévention et de gestion.

### **III. PREVENTION DES INFECTIONS A *ESCHERICHIA COLI* O157:H7**

L'étude réalisée pour parvenir à une évaluation du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7 nous a permis de faire la lumière sur les étapes du processus de contamination qui peuvent faire l'objet d'actions de prévention. Cette étude nous a permis aussi de montrer qu'aucun type d'action spécifique à *E. coli* O157:H7 n'est nécessaire (hormis concernant le portage bovin peut-être). La lutte contre la contamination des ressources en eau par *E. coli* O157:H7 s'inscrit dans un processus beaucoup plus général de lutte contre la contamination par des microorganismes entéropathogènes liés à la production animale.

#### **I. ACTION SUR LE RESERVOIR ANIMAL**

La dissémination d'*Escherichia coli* O157:H7 et le fait que cette bactérie ne soit pas spécifique d'un hôte rendent son éradication par une action sur le réservoir animal utopique. Cependant, de nombreux scientifiques se sont penchés sur les possibilités de réduire le portage bovin afin de réduire les infections humaines d'origine alimentaire. Quelques simulations ont prédit que la réduction de la prévalence bovine d'*Escherichia coli* O157:H7 avant l'abattoir résultait en une réduction substantielle de la contamination de la viande de bœuf et conséquemment en une réduction des maladies humaines (Hancock *et al.*, 2001). Une autre raison de s'intéresser à la réduction du portage bovin est la possibilité de réduire par ce biais, non seulement les maladies humaines d'origine alimentaire, mais aussi les infections liées à un contact direct avec les animaux ou l'ingestion d'eau ou de sol contaminés.

Les différents axes de recherches pour parvenir à la réduction du portage portent sur l'hygiène des aliments et de l'eau fournis aux animaux, la compétition bactérienne au niveau de la flore intestinale, la vaccination (Hancock *et al.*, 2001).

##### **I.1 HYGIENE DE L'ALIMENTATION ET DE L'EAU FOURNIES AUX ANIMAUX**

Quelques études ont montré la contamination par *E. coli* (de <10 UFC/g jusqu'à 10<sup>4</sup>UFC/g) de certains aliments dans des exploitations de production laitière aux Etats-Unis. Or une vache productrice de lait ingère en moyenne 35kg de nourriture par jour, ce qui équivaut à l'ingestion de 3,5.10<sup>8</sup> *E. coli*. L'eau

fournie aux bêtes présente aussi des niveaux variables de contamination en *E. coli* (<1 UFC/mL à 100 UFC/mL). Pendant les mois d'été, une augmentation significative du nombre d'*Escherichia coli* a été mise en évidence dans les citernes d'eau des animaux. De plus, *E. coli* O157:H7 a fréquemment été isolé dans les aliments pour bovins (1,8% des échantillons) et dans les citernes à eau (3%).

Il conviendrait donc de s'assurer de la qualité des aliments et de l'eau fournis aux animaux d'élevage.

### **I.2 COMPETITION BACTERIENNE**

Le concept de compétition bactérienne est bien connu et utilisé avec succès pour éviter la colonisation des intestins de poulets par *Salmonella*. Une équipe travaille sur ce sujet et avance des résultats prometteurs. Zhao *et al.* (1998) ont isolé, du tractus gastro-intestinal des bovins, 18 bactéries produisant des métabolites. Les veaux traités avec ces bactéries, ayant été contaminé par *E. coli* O157:H7 ensuite présentent une concentration significativement plus faible en *E. coli* O157:H7 dans leur rumen et dans les déjections que les veaux simplement contaminés par *E. coli* O157:H7. L'administration de bactéries probiotiques, préalablement à la contamination par *E. coli* O157:H7, diminue la durée du portage des ruminants.

### **I.3 VACCINATION**

Quelques équipes de scientifiques travaillent à la création d'un vaccin contre *E. coli* O157:H7, mais ils n'ont obtenu aucun résultat probant. On peut s'interroger sur l'opportunité de vouloir produire un vaccin contre une bactérie répandue non seulement chez les bovins mais aussi chez les moutons et bon nombre d'animaux sauvages.

## **II. ACTIONS CONCERNANT LA CONTAMINATION DE L'EAU**

La prévention des contaminations microbiologiques des eaux peut se faire à deux niveaux : au niveau de l'eau brute et au niveau de l'eau traitée.

### **I.4 LA CONTAMINATION DES EAUX BRUTES**

#### **1) Critères de qualité pour la production d'eau potable**

Le décret 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine hormis les eaux minérales stipule qu'une eau contenant plus de 20 000 *Escherichia coli* et plus de 10 000 entérocoques ne peut être utilisée pour la production d'eau potable.

#### **2) Limitation des activités polluantes et des rejets ponctuels**

Ces actions peuvent être classées en fonction de l'origine des polluants (Villey-Desmeserets *et al.*, 2001) :

- ❑ Systèmes d'assainissement des agglomérations : la directive 91/271/CEE du 21 mai 1991 définit les exigences minimales de traitement pour les agglomérations de plus de 2000 équivalents-habitants et précise comment doit s'effectuer le contrôle de ces rejets. Ces prescriptions sont traduites en droit français par la loi sur l'eau de 1992 (loi 92-3) du 3 janvier 1992 et par le décret 94-469 du 3 juin 1994 relatif à la collecte et au traitement des eaux usées mentionnés aux articles L372-1-1 et L372-3 du code des communes.

- ❑ Systèmes d'assainissement des habitations individuelles : la loi 92-3 du 3 janvier 1992 a imposé aux communes la définition de « zones relevant de l'assainissement non-collectif où elles sont seulement tenues d'assurer le contrôle des dispositifs d'assainissement et, si elles le décident, leur entretien » ; 2 arrêtés du 6 mai 1996 précisent les dispositions techniques applicables à l'assainissement non-collectif et définissent les modalités du contrôle technique exercé par les communes sur ces systèmes d'assainissement, ces prestations de contrôle doivent être assurées par les communes sur l'ensemble du territoire avant le 31 décembre 2005.
- ❑ Activités industrielles et autres installations classées pour la protection de l'environnement : la loi 76-663 du 19 juillet 1976 réglemente les ICPE. En France, on compte environ 500 000 ICPE soumises à déclaration et 62 000 soumises à autorisation dont 19 500 élevages.
- ❑ Autres installations, ouvrages, travaux et aménagements réglementés au titre de la police de l'eau : la loi 92-3 du 3 janvier 1992 a étendu la police de l'eau à l'ensemble des installations (autres que les ICPE), ouvrages, travaux et activités susceptibles de porter atteinte à l'équilibre de la gestion des ressources en eau et des milieux aquatiques, les décrets 93-742 et 93-743 du 29 mars 1993 modifiés définissent les procédures d'autorisation et de déclaration et fixent les nomenclatures.

### 3) Actions contre les pollutions diffuses

L'activité agricole est la principale source de pollution diffuse. Des actions mises en œuvre visent la maîtrise des pollutions liées à l'azote et aux pesticides, très peu de programmes se préoccupent de la pollution phosphorée et la pollution microbiologique n'est jamais citée. Cependant les actions engagées, notamment celles tournées vers la réduction de la pollution azotée, participent à la réduction de cette dernière :

- ❑ Les actions découlant de la directive 91/676/CEE du Conseil des Communautés européennes du 12 décembre 1991, dite directive « nitrates » et concernant la protection des eaux contre la pollution par les nitrates à partir des sources agricoles : cette directive prévoit la mise en place d'un programme de surveillance des concentrations en nitrates dans les eaux douces, l'identification de zones vulnérables et la mise en place de programmes d'actions spécifiques, l'élaboration de codes de bonnes pratiques agricoles.
- ❑ L'opération Ferti-Mieux, lancée en 1991 par le ministère de l'agriculture et l'Association nationale pour le développement agricole appuyés par le ministère de l'environnement, se base sur :
  - Un réseau d'initiatives locales volontaires mobilisant les acteurs de l'agriculture et de l'eau,
  - Le changement progressif de comportement des agriculteurs et de leurs organismes de conseil,
  - L'évaluation des modifications de pratiques de culture et d'élevage et de leur impact sur la réduction des risques de rejets nitrates,
  - Une procédure rigoureuse de labellisation s'appuyant sur un comité scientifique et technique national.
- ❑ Le volet élevage du Programme de Maîtrise des Pollutions d'Origine Agricole (PMPOA) a pour prérogatives la réalisation de travaux pour améliorer les bâtiments d'élevage et la gestion des effluents afin de prévenir les pollutions chroniques et accidentelles des ressources en eau et de parvenir à la mise en conformité des exploitations. Le PMPOA prévoit aussi la délimitation de « zones d'excédent structurel » où la densité d'animaux est trop forte par rapport aux surfaces

disponibles pour l'épandage et la mise en place de programmes d'action pour résorber cet excédent :

- Exportation vers d'autres cantons des déjections à épandre,
- Traitement des déjections,
- Maîtrise des effectifs d'animaux,
- Amélioration des techniques d'élevage,
- Meilleure utilisation des surfaces disponibles.

Malgré ces intentions louables, les résultats de ce programme semblent cependant peu encourageants, notamment en raison de la construction juridique du programme et des dérives financières.

#### **4) Les périmètres de protection**

L'article L.1321-2 du Code de la santé publique stipule que « l'acte portant déclaration publique des travaux de prélèvement d'eau destinée à l'alimentation des collectivités humaines détermine autour du point de prélèvement un périmètre de protection immédiate dont les terrains sont à acquérir en pleine propriété, un périmètre de protection rapprochée à l'intérieur duquel peuvent être interdits ou réglementés toutes activités et tous dépôts ou installations de nature à nuire directement ou indirectement à la qualité des eaux et le cas échéant, un périmètre de protection éloignée à l'intérieur duquel peuvent être réglementés les activités, installations et dépôts ci-dessus mentionnés ».

La mise en place de périmètres de protection immédiate et rapprochée est basée essentiellement sur la notion d'éloignement des sources de pollutions ponctuelles du point de prélèvement. Dans la pratique, les distances à respecter sont définies pour assurer un temps de transfert depuis la zone de pollution jusqu'au point de captage de 10 jours pour les bactéries et de 50 jours pour les virus. Cet éloignement permet les phénomènes de fixation, de dégradation et de dispersion des substances polluantes dans les terrains et dans les eaux entraînant la réduction des concentrations des polluants mesurées au captage jusqu'à des niveaux acceptables pour la santé publique. Dans le cas d'un rejet accidentel de polluant en grande quantité et peu susceptible de se dégrader, l'éloignement assure un temps de transfert suffisamment long pour transmettre l'alerte et prendre des dispositions. Cependant, cette protection basée sur le temps de transfert des polluants vers le captage présente des limites : dans le cas de captages exploitant des nappes peu profondes et sans protection naturelle en zone industrielle et urbanisée ou dans le cas de captages exploitant des ressources superficielles ou karstiques pour lesquelles la vitesse d'écoulement est importante, la surface qui devrait être attribuée au périmètre de protection pour respecter ce temps de transfert est prohibitive (les coûts qui s'ensuivent le deviennent aussi).

De plus, les périmètres de protection n'ont pas pour vocation de protéger toute la zone d'alimentation d'un captage, or pour les pollutions d'origine agricole, la réflexion doit se faire au niveau du bassin versant pour obtenir des résultats significatifs sur la qualité de la ressource.

### **I.5 LA CONTAMINATION DES EAUX TRAITÉES**

#### **1) Limites de qualité**

Le décret 2001-1220 du 20 décembre 2001 fournit les limites de qualité microbiologique que doivent respecter les eaux distribuées après traitement :

- ❑ 0 *Escherichia coli* /100mL,
- ❑ 0 coliformes fécaux /100mL.

## 2) La production d'eau potable

L'étape déterminante pour l'élimination des microorganismes pathogènes est la désinfection. Le paramètre qui permet de gérer cette désinfection de manière efficace est le paramètre CT (concentration en désinfectant introduite \* temps de contact). Cependant, cette désinfection ne peut être efficace que si elle est réalisée sur une eau indemne de composés susceptibles de réagir préférentiellement avec le chlore comme les matières organiques par exemple. L'ajout de chlore doit être maîtrisé, l'ingestion de composés issus de la chloration (THM, chloramines) présente des risques pour la santé. La désinfection doit être précédée d'une clarification et d'une filtration efficaces (Baudin *et al.*, 1998). De plus, il convient de s'assurer que la désinfection s'effectue en continu et donc que l'électricité est fournie en continu pour les pompes d'injection de désinfectant (possibilité de microcoupures).

L'efficacité du traitement peut être appréhendée par l'intermédiaire d'une grille d'évaluation comme celle réalisée pour *Cryptosporidium* par le gouvernement anglais (cf. [Annexe 6](#) p. 76).

## 3) Les réseaux de distribution

Après sortie de l'usine de traitement, l'eau transite par le réseau de distribution et ne doit pas subir une recontamination, les réseaux doivent être en bon état et ne pas être susceptibles de subir des retours d'eau lors d'inversion de pression. Des points de rechloration peuvent être nécessaires sur le réseau.

## VI. QUELLES AMELIORATIONS POUR LA PREVENTION DE LA CONTAMINATION DES RESSOURCES EN EAU ?

La prévention du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7 s'inscrit dans un processus plus global de protection des ressources en eau contre les pollutions microbiologiques liés, pour une large part, à la production animale. La mise en place d'un indicateur de contamination microbiologique des ressources en eau comme celui proposé par De Andrade Lima et Bigras-Poulin et décrit en [Annexe 5](#) p. 70 permettra de jeter les bases d'une gestion spécifique à ce problème. Une campagne de mesures pourra être lancée aux endroits définis comme étant les plus sensibles à une contamination et en période critique pour la contamination (étiage, inondation...) et des actions tournées vers la réduction de la pollution microbiologique pourront être intentées.

La prévention de la contamination des ressources en eau par des microorganismes entéropathogènes liés à la production animale doit se faire à plusieurs niveaux :

- Au niveau de la production animale par l'instauration de bonnes pratiques d'élevages et d'exploitation des terres,
- Au niveau du bassin d'alimentation du captage par une bonne gestion des flux de pollution,
- Au niveau du captage par la définition de périmètres de protection.

Les 2 premiers niveaux de prévention sont tournés vers la gestion des flux de pollution agricole azotée, le risque microbiologique n'est pris en compte que pour la définition des périmètres de protection.

La mise en place d'actions et de programmes similaires spécifiques au risque microbiologique devrait être entreprise. La construction d'un indicateur de contamination microbiologique des ressources en eau représente un premier pas pour avancer vers une gestion spécifique de la pollution des eaux par des microorganismes entéropathogène liés à la production animale.

La prévention de la contamination des eaux traitées se fait au niveau du traitement appliqué à l'eau et notamment au niveau de la désinfection pour le risque microbiologique.

## **IV. GESTION DES EPISODES DE CRISE**

---

Les mesures spécifiques de prévention contre le risque de contamination microbiologique d'origine animale des ressources en eau existent dans la définition des périmètres de protection. Les mesures de prévention et de protection des ressources en eau mises en œuvre pour la gestion de flux de pollution de natures différentes participent à une certaine forme de prévention.

Il convient de prévoir les actions à mettre en œuvre pour le cas où les barrières de protection seraient franchies. On entre alors en situation de crise.

### **I. MISE EN EVIDENCE D'UN EPISODE DE CRISE SANITAIRE**

Une crise sanitaire d'origine environnementale peut se manifester de deux façons, soit l'alerte est donnée par l'observation d'une modification de l'environnement susceptible d'entraîner des effets néfastes sur la santé des populations exposées, soit le problème est directement mis en évidence par l'observation des effets pathogènes dans la population.

Dans notre étude sur la survenue de cas d'intoxication hydrique par *E. coli* O157:H7, l'alerte environnementale correspond à une modification de la qualité microbiologique de l'eau distribuée, observée par des variations des concentrations des germes témoins de contamination fécale (*Escherichia coli*,...). L'alerte sanitaire, quant à elle, est donnée par la survenue de cas de diarrhées sanglantes ou de syndromes hémolytiques et urémiques.

En France, le système de surveillance sanitaire et environnementale repose sur les services de l'inspection de la santé et santé-environnement des Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS).

#### **I.1 L'ALERTE ENVIRONNEMENTALE**

La prise de conscience par le service santé environnement d'une DDASS de modifications de la qualité microbiologique de l'eau distribuée peut prendre différentes formes. L'alerte peut être donnée :

- ❑ Par le distributeur d'eau,
  - qui doit tenir à disposition de la DDASS tous les résultats de ses analyses de la qualité microbiologique de l'eau qu'il produit dans le cadre de l'autosurveillance (cf. décret 2001/1220 du 20 décembre 2001),
  - qui devrait signaler les dysfonctionnements de l'usine de production d'eau potable, et toute inondation ou infiltration d'eaux brutes susceptibles d'entraîner une dégradation importante de la qualité de l'eau brute, voire une altération de l'eau traitée,
- ❑ Par le résultat des analyses du contrôle sanitaire réglementaire de la qualité microbiologique de l'eau (quand la personne qui effectue les prélèvements est un agent du service santé-environnement de la DDASS, le résultat des analyses est complété, à minima, par un contrôle visuel de l'état des installations, voire une inspection des installations).

#### **I.2 L'ALERTE SANITAIRE**

Là encore, plusieurs scénarii sont envisageables :

- ❑ L'information de la survenue d'un cas de SHU accompagné de cas de diarrhées dans son entourage ou la survenue de plusieurs cas de SHU rapprochés dans le temps et dans l'espace sera transmise par l'Institut de Veille Sanitaire (cf. [Annexe 9](#) p. 83),
- ❑ L'alerte peut être donnée par des laboratoires d'analyses médicales ou des médecins prévenant de la survenue d'un nombre inhabituel de cas de diarrhée,
- ❑ Des plaintes concernant une dégradation de l'état de santé peuvent également parvenir à la DDASS.

*E. coli* O157:H7 étant responsable de pathologies graves, il existe une surveillance du syndrome hémolytique et urémique dans la population et on tend vers une recherche systématique dans les selles de patients atteints de diarrhées sanglantes.

### 1) Surveillance du syndrome hémolytique et urémique

Le Réseau National de Santé Publique (devenu depuis l'Institut National de Veille Sanitaire) a conduit entre avril 1995 et mars 1996 une enquête sur l'épidémiologie et les agents responsables du syndrome hémolytique et urémique (Decludt, 1997). Cette étude fut menée en collaboration avec la Société de Néphrologie Pédiatrique, l'Unité des Entérobactéries de l'Institut Pasteur et le Laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Robert Debré à Paris.

Pour cette enquête, l'ensemble des membres de la Société de Néphrologie Pédiatrique travaillant dans un service de néphrologie pédiatrique d'un établissement hospitalier public se sont portés volontaires. Suite à cette étude, un réseau de surveillance formé des personnes ayant participé à l'enquête s'est constitué afin de suivre les tendances spatio-temporelles de la maladie et d'identifier les phénomènes épidémiques. Au total, 31 centres hospitaliers répartis sur l'ensemble de la France métropolitaine participent à ce réseau de surveillance (décrit en [Annexe 9](#) p. 83).

### 2) Surveillance des infections à STEC

La France présente un retard conséquent dans le domaine de la surveillance des infections à STEC. De nombreux pays d'Europe pratiquent la recherche systématique des STEC dans les selles sanglantes (tous les pays nordiques). De plus, en Angleterre, en Ecosse et en Allemagne, les infections à STEC sont des maladies à déclaration obligatoire (Espié, 2002). Aux Etats-Unis, la recherche systématique d'*Escherichia coli* O157:H7 dans les selles sanglantes est préconisée depuis 1993 (MMWR, 1994) et en mars 1995, 33 états ont proposé un cadre réglementaire pour rendre les infections à *Escherichia coli* O157:H7 à déclaration obligatoire (MMWR, 1995).

En France, le groupe de travail sur les STEC se réunissant à l'AFSSA depuis novembre 2001 doit publier ses conclusions à la fin de l'année 2002 et devrait faire des recommandations concernant la recherche systématique des STEC dans les selles sanglantes (Vernozy-Rozand, 2002). Ces recommandations ne pourront pas être appliquées immédiatement ; en effet, peu de laboratoires d'analyses médicales sont équipés pour réaliser la détection des STEC qui n'est pas aisée sauf pour le sérotype O157:H7 pour lequel il existe un milieu de culture bien spécifique. Une étude réalisée par l'Institut de Veille Sanitaire en 1997 auprès des laboratoires hospitaliers participant au contrôle de qualité de bactériologie de l'Agence du Médicament (78% des laboratoires ont répondu à l'enquête) a montré que 34% des laboratoires réalisaient la recherche des EHEC, principalement à la demande du clinicien devant un cas de SHU. Cette recherche est plus fréquente dans les laboratoires travaillant avec des services de pédiatrie et dans les laboratoires de CHU (de Valk et Decludt, 1998). Une des raisons invoquée pour justifier l'absence de

recherche des EHEC dans les échantillons de selles est le coût des analyses. Aux Etats-Unis, le coût de la recherche d'*E. coli* O157:H7 a été évalué à \$1,10 (1,10 euro) par culture ou \$183 (183 euros) pour une culture positive si tous les échantillons de selles sont testés. Pour réduire ce coût à \$40 (40 euros), certains laboratoires ne testent que les diarrhées sanglantes (Boyce *et al.*, 1995).

## **II. DETERMINATION DE LA CAUSE DE L'INCIDENT**

Lors de la survenue de cas de diarrhée dans un département, la DDASS préconise la recherche du pathogène dans les selles des malades auprès des laboratoires et des hôpitaux et peut mettre en place une enquête épidémiologique ayant pour but de découvrir l'origine de l'épidémie.

En cas de suspicion d'origine hydrique, la recherche des germes témoins de contamination fécales (*E. coli*, streptocoques fécaux, coliformes,...) dans l'eau potable est réalisée. Lorsque c'est possible, on peut aussi effectuer la recherche du pathogène responsable de l'infection.

Lors d'une alerte environnementale concernant la qualité microbiologique de l'eau, le service santé-environnement de la DDASS réalise des analyses pour mettre en évidence les germes témoins de contamination fécale et enquête pour déterminer l'origine de la pollution de l'eau. Dans le cas d'une suspicion de contamination par un pathogène particulier, des analyses spécifiques sont réalisées.

## **VII. QUELLES AMELIORATIONS POUR LE SYSTEME DE GESTION DES CRISES SANITAIRES VIS-A-VIS DU RISQUE *ESCHERICHIA COLIO157:H7* ?**

### **I.3 L'ALERTE ENVIRONNEMENTALE**

La procédure n'est pas spécifique au risque *E. coli* O157:H7. Les améliorations possibles concernant l'alerte portent sur une meilleure communication entre les distributeurs d'eau et le service-santé-environnement de la DDASS pour obtenir une plus grande rapidité et une plus grande réactivité dans la réponse aux alertes.

En cas de suspicion d'une contamination par *E. coli* O157:H7, pour pouvoir réaliser des analyses et rechercher la bactérie dans l'eau, il convient de s'assurer, avant la crise, qu'un laboratoire peut effectuer la recherche dans des délais raisonnables et connaît les contraintes de prélèvements, de stockage, de transport ...des échantillons.

La recherche des pathogènes dans l'eau contaminée est importante pour comprendre d'où vient la pollution afin de mettre en œuvre les moyens pour éviter une nouvelle contamination et faire le lien entre les souches isolées dans les selles des malades et celles isolées dans l'eau et dans les selles des bovins.

### **I.4 L'ALERTE SANITAIRE**

L'alerte sanitaire spécifique au problème *E. coli* O157:H7 n'est déclenchée, à l'heure actuelle, que lorsqu'un cas de SHU, accompagné de diarrhées dans l'entourage du malade, est identifié. Or, après une infection à STEC, le SHU se déclare environ une semaine après le début des premiers symptômes. Le processus de déclaration des cas de SHU, décrit plus haut, est relativement lent, les étapes sont nombreuses avant que les services de l'inspection de la santé et santé-environnement d'une DDASS soient informés et décident d'effectuer la recherche du pathogène incriminé. Dans le cas d'une infection par consommation d'eau, le temps entre la recherche d'*E. coli* O157:H7 dans la ressource en eau considérée et



la date présumée de la contamination sera trop long, la recherche des bactéries ne présente alors pas grand intérêt et est peu susceptible de fournir des résultats satisfaisants.

La mise en place d'une recherche d'*E. coli* O157:H7 ou des autres STEC dans les selles sanglantes permettrait de gagner du temps dans la mise en évidence des cas. Une procédure de recherche des pathogènes dans l'environnement pourra être lancée plus tôt et aura plus de chance de fournir des résultats concluants. Découvrir la cause et l'origine des cas d'infections permet d'intenter des actions pour éviter la survenue d'accidents de même nature. Cependant, la recherche systématique d'un pathogène dans les selles présente un coût qu'il conviendrait d'évaluer, il faut de plus décider qui doit financer ce type de recherche.

D'autre part, lors de cas de SHU, une enquête épidémiologique est réalisée pour déterminer la cause de l'épidémie. Le protocole décrit les facteurs de risque à investiguer (origine alimentaire, contact avec des animaux, cas de diarrhées dans l'entourage et baignades), la consommation d'eau potable n'est pas mentionnée. Dans le cas d'une épidémie liée à *E. coli* O157:H7, les enquêteurs sont susceptibles de ne pas prendre en compte la possibilité d'une origine hydrique. Il serait souhaitable d'inscrire dans le protocole décrit par la circulaire DGS n°38 DGAL/SDHA/N95/N°89 du 20 avril 1995 la consommation d'eau potable comme un facteur de risque à investiguer au même titre que les autres.

La gestion du risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7 peut prendre deux directions : la prévention de la contamination des ressources et la gestion des crises épidémiques.

La prévention de la contamination des ressources par *E. coli* O157:H7 doit s'inscrire dans un cadre plus large de protection des ressources en eau vis-à-vis des microorganismes entéropathogènes zoonotiques liés à la production animale. Ce risque n'est pas connu ni même pris en compte, à l'heure actuelle, dans les actions de protection des ressources en eau existantes contre les pollutions d'origine animale (mise à part les périmètres de protection des captages), actions tournées principalement vers les pollutions azotées.

La construction d'un indicateur du niveau de contamination des ressources en eau représenterait un premier pas vers la mise en place de programmes d'action spécifiques tournés vers la réduction du risque microbiologique en général et du risque lié à *Escherichia coli* O157:H7 en particulier.

Le système de surveillance des cas de SHU ne permet pas une réaction rapide face à une crise épidémique. En cas d'origine hydrique soupçonnée, la recherche d'*E. coli* O157:H7 dans l'eau interviendra trop tard et la cause ne sera pas mise en évidence, ce qui pénalise les éventuelles actions à mettre en œuvre pour éviter à un tel accident de se reproduire. Mettre en place la recherche des STEC dans les selles sanglantes au niveau des laboratoires d'analyses médicales permettrait de mettre en évidence une épidémie beaucoup plus tôt et d'agir en conséquence.

## CONCLUSION

*Escherichia coli* O157:H7 est une bactérie pathogène pour l'homme, portée par les ruminants (principalement les bovins) et représente un problème de santé publique sérieux en Amérique du Nord et en Europe. La plupart des cas d'infection sont dus à la consommation d'aliments solides contaminés mais des épidémies ayant pour origine la consommation d'eau sont recensées.

L'étude réalisée avait pour premier objectif de faire le point des connaissances qui permettront de tendre vers une évaluation du risque de contamination hydrique par *Escherichia coli* O157:H7 et d'appréhender les possibilités de survenue, en France, d'accidents tels que celui ayant eut lieu à Walkerton (Ontario, Canada) en mai 2000 : à la suite d'une intrusion de déjections animales contaminées dans le réseau d'adduction d'eau potable non désinfectée, plus de 2000 personnes sont tombées malades, l'épidémie s'est soldée par 27 cas de SHU et 7 morts.

En l'état actuel des connaissances, une évaluation quantitative du risque de contamination hydrique par *Escherichia coli* O157:H7 n'est pas réalisable de manière globale sur l'ensemble des ressources en eau. D'une part, les fonctions dose-réponse existantes ont été construites et validées pour des épidémies d'origine alimentaire, peut-on les appliquer à des épidémies d'origine hydrique ? D'autre part, l'exposition de la population est complexe à appréhender : en France, les connaissances sur le portage animal de la bactéries sont succinctes et le trajet de la bactérie depuis les déjections animales jusqu'à la ressource en eau est difficilement modélisable.

Cependant, les connaissances acquises, notamment par la revue des épidémies d'origine hydrique recensées, permettent de qualifier le risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7 en terme de scenarii les plus probables de se produire. Une contamination par *E. coli* O157:H7 de l'eau potable distribuée au consommateur peut se produire en situation accidentelle : déversements de déjections animales dans la ressource, fortes précipitations entraînant un ruissellement important sur des surfaces épandues, déficience ou absence momentanée du traitement appliquée à l'eau...

Bien qu'une évaluation quantitative de risque ne soit pas à l'ordre du jour, il convient de se préoccuper de la gestion de ce risque de contamination hydrique par *E. coli* O157:H7. Le deuxième objectif de cette étude a donc été de recenser les actions visant la protection des ressources en eau et participant à la réduction du risque microbiologique lié à la production animale. Les politiques d'actions de protection des ressources en eau contre les pollutions agricoles sont actuellement principalement tournées vers la gestion des pollutions azotées. Le risque microbiologique est pris en compte dans le définition des périmètres de protection. La construction d'un indicateur de contamination des eaux par les microorganismes entéropathogènes liés à la production animale pourrait permettre, d'une part, de mettre en œuvre des campagnes de mesures dans des zones définies comme sensibles vis-à-vis de ce risque microbiologique, et d'autre part, de promouvoir des actions pour atteindre des objectifs précis de réduction de la concentration des microorganismes présents dans les eaux, définis par rapport à un niveau de risque acceptable pour la santé de la population. Cet indicateur permettrait de quantifier la présence de microorganismes dans une eau par l'intermédiaire d'une modélisation de leur transfert depuis l'excrétion par les animaux d'élevages jusqu'à la contamination de la ressource en eau. En parallèle, il serait souhaitable de réaliser, en aval, un diagnostic de la filière de production d'eau potable par rapport au risque microbiologique. Il conviendrait, de plus, d'obtenir des connaissances sur les autres sources de contamination.

La surveillance du syndrome hémolytique et urémique, en France, permet d'appréhender l'incidence des infections à *E. coli* O157:H7 et de mettre en évidence les épisodes épidémiques. Cependant, le temps entre la contamination de la ressource en eau par la bactérie et le déclenchement de l'alerte sanitaire est long et ne permet pas, à l'heure actuelle, de rechercher *E. coli* O157:H7 dans l'eau incriminée de façon efficace. La mise en place d'une recherche systématique de la bactérie dans les selles sanglantes permettrait de déclencher l'alerte beaucoup plus tôt et de parvenir à isoler la bactérie dans l'eau voire même chez les bovins ou autres ruminants éventuellement porteurs dans le bassin versant de la ressource considérée. Cette identification permettrait de proposer des actions de prévention pour éviter qu'un nouvel accident ne se produise.

Le risque d'infection par *Escherichia coli* O157:H7 après consommation d'aliments contaminés est bien connu, en France, et des actions visant à sa maîtrise sont mises en place dans l'industrie agro-alimentaire. Cependant, le risque de contamination hydrique commence à être pris en compte, bien que la probabilité d'une infection par voie hydrique soit plus faible que par voie alimentaire. Un groupe de travail se réunit à l'AFSSA depuis novembre 2001 sous la direction de Mme Vernozzy-Rozand de l'Ecole Vétérinaire de Lyon pour faire le point sur les connaissances concernant les STEC et la contamination des ressources en eau est prise en compte dans le cadre de cette étude.

Dans un cadre plus général, le service santé-environnement de la DRASS des Pays de la Loire entame une étude sur l'évaluation de la contamination en microorganismes entéropathogènes (dont fait partie *E. coli* O157:H7) d'une eau en un point d'usage sensible situé en aval d'activités à risque. Cette étude prévoit l'utilisation d'un indicateur de contamination microbiologique des eaux liée à la production animale qui modélise le trajet des microorganismes depuis l'excrétion jusqu'à la contamination des ressources sur la base d'un projet canadien d'un indice agro-écologique en cours de réalisation.

*Escherichia coli* O157:H7 est le sérotype le mieux connu parmi les *Escherichia coli* producteurs de toxines de type Shiga car le plus souvent identifié lors d'infection par ces bactéries, mais aussi parce que ce sérotype est plus facilement identifiable de par ces caractéristiques. Cependant, d'autres sérotypes responsables des mêmes effets pathogènes apparaissent et *E. coli* O157:H7 n'est plus aussi souvent isolé par rapport à ces sérotypes émergents lors d'épidémies ou de cas sporadiques. Il convient donc de relativiser toutes les informations recueillies pour ce sérotype et de les intégrer à une réflexion plus globale qui se doit de prendre en compte l'ensemble des *Escherichia coli* producteurs de toxines.

---

# Annexes

---

I.	Annexe 1 : Les facteurs de virulence d' <i>E. coli</i> O157:H7	54
II.	Annexe 2 : Les épidémies d'origine hydrique	55
III.	Annexe 3 : Les techniques de détection	60
IV.	Annexe 4 : Le portage bovin	65
V.	Annexe 5 : Méthodes de quantification de la contamination des ressources en eau	70
VI.	Annexe 6 : Evaluation de la vulnérabilité des captages	76
VII.	Annexe 7 : Estimation de la consommation d'eau de la population	80
VIII.	Annexe 8 : Les coûts engendrés par une épidémie à <i>E. coli</i> O157:H7	81
IX.	Annexe 9 : Fonctionnement du réseau de surveillance du Syndrome Hémolytique et Urémique	83

## **I. ANNEXE 1 : LES FACTEURS DE VIRULENCE D'E. COLI O157:H7**

---

### **I. LE PHENOMENE D'ADHESION AUX CELLULES ET LA COLONISATION DE L'INTESTIN (VERNOZY-ROZAND ET MONTET, 2001 ET SUTRA ET AL., 1998)**

L'adhésion de la bactérie aux cellules intestinales de l'hôte suit deux mécanismes. Le premier mécanisme dit « d'adhésion fimbriaire » est fréquent chez les *E. coli* pathogènes. Les *fimbriae* sont des appendices filamenteux rigides formés de sous-unités protéiques, de diamètre inférieur à celui des flagelles. Ces *fimbriae*, codés par des gènes portés par les plasmides, sont responsables de l'adhésion des bactéries aux cellules.

Cependant, ce mécanisme n'est pas le seul en cause, d'autres facteurs interviennent, notamment le mécanisme d'attachement et d'effacement, fonctionnant en 2 temps : l'attachement aux entérocytes puis l'effacement des microvillosités.

Le gène *eae* code la synthèse d'une protéine de la membrane externe (l'intimine) qui provoque une accumulation de microfilaments d'actine plus ou moins dépolymérisés, au niveau des zones de contact cellules-bactéries causant des lésions d'attachement-effacement dans la muqueuse intestinale (Zhao *et al.*, 1995). Dans les jours suivants, les microvillosités des cellules intestinales sont détruites. L'accumulation d'actine serait déclenchée par la sécrétion d'une protéine, agissant comme récepteur de l'intimine, dont la synthèse est codée par le gène *tir* (*translocated intimin receptor*). Les gènes *eae* et *tir* sont localisés sur un îlot de pathogénicité LEE (locus of enterocytes effacement) dans le chromosome.

### **II. LA PRODUCTION D'UNE ENTEROHEMOLYSINE ET LA MULTIPLICATION DES BACTERIES (VERNOZY-ROZAND ET MONTET, 2001)**

L'hémoglobine des érythrocytes de l'hôte des bactéries fournit le fer nécessaire à la croissance de ces dernières.

L'entérohémolysine produite par les STEC présente 60% d'analogie avec l'hémolysine  $\alpha$  produite par *E. coli* commensale. Son rôle précis n'est pas encore identifié (Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

### **III. LA PRODUCTION DE TOXINES (VERNOZY-ROZAND ET MONTET, 2001)**

Les toxines produites par les STEC sont des toxines de type Shiga, plusieurs types de toxines existent, les plus fréquemment isolées sont les toxines STX1 et STX2 qui présente quelques variants (STX2c, et STX2e). La majorité des souches d'*E. coli* O157:H7 produit STX2 (83,6%, Chalmers *et al.*, 1999), certaines souches produisent les deux types de toxines et une minorité produit uniquement la toxine STX1. La toxine STX2 est associée aux pathologies les plus graves.

Ces toxines sont composées de 5 sous-unités B et 1 sous-unité A et sont codées sur un bactériophage inséré dans le chromosome de la bactérie (Mead et Griffin, 1998). Les sous-unités B fixent la toxine au niveau d'une protéine glycolipidique de la membrane des cellules cibles (la globotriosylcéramide Gb3, ou globotétrasyllcéramide Gb4 pour certains variants STX2). Les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et les cellules épithéliales du colon et des glomérules du rein sont riches en Gb3 et sont donc des cellules cibles privilégiées pour les toxines (Vernozy-Rozand et Montet, 2001). Après l'endocytose, la sous-unité A bloque la synthèse protéique des cellules hôtes, phénomène pouvant entraîner la mort de la cellule.

## **II. ANNEXE 2 : LES EPIDEMIES D'ORIGINE HYDRIQUE**

---

Dans la plupart des cas, la contamination par *E. coli* O157 H7 est d'origine alimentaire (la consommation de bœuf haché insuffisamment cuit est citée à de nombreuses reprises), mais des études épidémiologiques mettent en avant une contamination par contact direct ou indirect avec des bovins ainsi qu'une possible contamination par les eaux de baignade.

Des incidents mettant en cause la consommation d'eau de boisson ont été recensés aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et au Canada à partir de 1989.

### **I. DECEMBRE 1989, CABOOL, ETAT DU MISSOURI, USA (SWERDLOW ET AL., 1992)**

Le remplacement d'une conduite du réseau d'adduction d'eau potable sans désinfection et des ruptures dans les canalisations semblent avoir été à l'origine de la contamination de l'eau potable par des eaux usées. La contamination a affecté 243 personnes, dont 3 étaient des cas secondaires de contamination inter humaine. Trente deux personnes durent être hospitalisées et 2 cas ont évolué vers un SHU : une fillette de 3 ans et une femme de 79 ans pour laquelle l'issue de la maladie fut fatale. Outre cette femme, cette épidémie a causé la mort de 3 autres femmes âgées de plus de 79 ans, décédées des suites de colites hémorragiques.

Les taux d'attaque de l'infection par O157 sont différents d'une classe d'âge à l'autre et plus élevés dans les classe extrêmes (7,3% chez les moins de 5 ans et 8,2% chez les plus de 65 ans, 6% pour la classe d'âge 5 ans 64 ans), le taux d'attaque en population générale, dans la commune de Cabool, est de 6,7%.

Le taux d'attaque des diarrhées sanglantes était de 3,3% dans la population de Cabool. Des disparités existent, là encore, entre les classes d'âge : chez les personnes âgées de plus de 64 ans, le taux de personnes infectées présentant une diarrhée sanglante s'élève à 79% alors que ce taux atteint 37% en population générale.

L'étude menée pour déterminer le véhicule de l'infection a débuté par la recherche d'une origine alimentaire, puis les enquêteurs se sont tournés vers l'eau potable comme possible vecteur de l'épidémie. Les échantillons d'eau prélevés pour analyse lors de l'épidémie (relativement tard) contenaient 1 à 2 coliformes / L (les auteurs précisent que ces valeurs peuvent être sous – estimées).

Des essais sur le réseau d'adduction d'eau potable, postérieurs à l'épisode épidémique, ont montré que l'introduction de  $10^9$  bactéries aux endroits de ruptures des canalisations entraîne la contamination de l'eau au robinet de 85% des cas testés par 10 à 100 bactéries / L.

### **II. ETÉ 1990, TARVES, GRAMPIAN, UK (DEV ET AL., 1991)**

Quatre cas d'infections à O157:H7 ont été recensés (3 garçons de 4, 8, et 9 ans et une femme de 20 ans) dans le village de Tarves pendant l'été 1990. L'examen des selles des patients a mis en évidence le même type de phage pour les 4 patients, une origine commune de contamination a alors été recherchée. L'enquête s'est tout d'abord tournée vers la recherche d'un vecteur alimentaire puis des analyses d'eau potable ont montré une forte contamination par *E. coli* (le sérotype O157 n'a cependant pas été isolé). Pendant l'été, à cause de la demande en eau plus élevée, la commune utilise une ressource supplémentaire susceptible d'avoir été souillée par du lisier de bovin.

### **III. NOVEMBRE – DECEMBRE 1992, DISTRICT DE LUBOMBO, SWAZILAND (EFFLER ET AL., 2001)**

Après une longue période de sécheresse, de fortes pluies se sont abattues sur une région du Swaziland. Quelques jours après ces pluies, des cas de diarrhées sont apparus dans une plantation de sucre. Au total, en novembre, 2868 personnes furent traitées médicalement contre la diarrhée, 68% pendant les 2 premières semaines de l'épidémie.

Les analyses de selles ont montré la présence d'*Escherichia coli* O157 : NM et de *Vibrio cholerae*, cependant les symptômes des malades (diarrhées sanglantes) font d'*E. coli* O157 le pathogène principal de cet épisode épidémique.

L'enquête environnementale a permis d'isoler *E. coli* O157 de nombreux échantillons d'eau alimentant la population de la plantation, d'échantillons provenant de viande de bœuf achetée pour la consommation par les habitants de la plantation et des eaux usées de la zone considérée. Les souches possédaient les mêmes caractéristiques, ce qui plaide en faveur d'une origine commune.

Les analyses statistiques ont mis en évidence plusieurs facteurs de risques : consommation de bœuf ou d'eau non traitée et être de sexe féminin.

La sécheresse qui sévissait dans cette région poussait les bovins vers les ressources en eau où subsistait quelque végétation. Les animaux se baignaient et déféquaient dans l'eau. Les fortes pluies qui survinrent alors ont favorisé le déplacement de la contamination vers les zones de captage pour les résidents de la plantation.

### **IV. JUIN 1995, ONTARIO, CANADA (JACKSON ET AL., 1998)**

Le 4 juin 1995, une fillette de 16 mois est hospitalisée pour une infection à O157:H7, l'enquête montre qu'elle n'a pas consommé de lait cru ni de viande de bœuf et qu'elle n'a eu aucun contact avec du bétail ou avec des locaux abritant du bétail. Elle était souvent en contact avec un agneau apprivoisé, cependant les analyses de selles de cet agneau se sont révélées négatives pour O157:H7. Le bétail présent sur l'exploitation agricole des parents de la fillette fut testé positif à O157:H7. Les analyses réalisées sur l'eau du puits privé utilisé par la famille ont montré la présence d'O157:H7. Les souches isolées chez la fillette, chez les bovins et dans l'eau du puits sont identiques. La ressource en eau de la famille, puisée très superficiellement a vraisemblablement été contaminée par des déjections bovines.

### **V. SEPTEMBRE 1997, ETAT DE WASHINGTON, USA (BARWICK ET AL., 2000)**

En septembre 1997, dans l'état de Washington, apparaît une épidémie due à *E. coli* O157 H7 liée à la consommation d'eau de boisson, la ressource mise en cause est un puits alimentant en eau désinfectée par chloration un campement de caravanes (4 cas). La cause de la contamination semble être une déficience dans le traitement de l'eau.

### **VI. MAI 1998, ETAT DE L'ILLINOIS, USA (BARWICK ET AL., 2000)**

En mai 1998, dans l'état de l'Illinois, 3 cas d'infection à *E. coli* O157 H7 surviennent après la consommation d'eau souterraine non traitée puisée non loin d'une pâture.

### **VII. JUIN 1998, ALPINE, ETAT DU WYOMING, USA (OLSEN ET AL., 2002)**

En juin 1998 (Wyoming), une épidémie d'infections par O157:H7 mettant en cause 157 personnes est recensée dans le village d'Alpine (500 habitants), très visité pendant l'été. L'enquête épidémiologique

menée posait immédiatement la question d'une possible contamination par l'eau potable. Après les analyses de selles des personnes infectées, les investigations environnementales ont porté sur le dénombrement des coliformes fécaux et totaux et des *E. coli* dans l'eau et la recherche d'O157:H7 fut menée dans des échantillons de selles de cerfs et de caribous présents dans les environs de la source.

Les 157 personnes infectées ont été recensées dans 15 états différents, les dates de déclaration de la maladie s'étalent du 22 juin au 30 juillet. Quatre personnes développèrent un syndrome hémolytique et urémique (une fillette de 15 mois, un garçon de 17 mois, un garçon de 4 ans et une femme de 36 ans).

Une réunion de famille avait lieu à Alpine au moment de l'épidémie. Parmi les personnes ayant assisté à la fête, le taux d'attaque fut de 29% (33% chez les hommes, 24% chez les femmes et 50% chez les enfants de moins de 5 ans). L'enquête a montré que seul la consommation de l'eau municipale était significativement associée à la probabilité d'infection, les personnes ayant bu de l'eau de la municipalité étaient 9 fois plus à risque d'être infectée que les personnes n'ayant pas bu de cette eau (IC95%=1,3-63,3). Le taux d'attaque parmi les personnes ayant bu l'eau municipale s'éleva à 50% sans variations entre les différentes classes d'âge.

Dans la population d'Alpine, le taux d'attaque en population générale s'éleva à 19%, cependant ce taux était deux fois plus élevé chez les femmes (25%) que chez les hommes (13%). Parmi les personnes ayant bu l'eau de la municipalité, le taux d'attaque atteignit 23% entre le 25 juin et le 1<sup>er</sup> juillet et 27% entre le 26 et le 28 juin.

La municipalité d'Alpine est alimentée par une source. Une série de drains collecte l'eau et l'achemine vers une citerne en béton souterraine. L'eau est ensuite délivrée à la population sans désinfection. La surveillance sanitaire entre 1992 et 1997 a mis en évidence un risque potentiel de contamination par les déjections d'animaux sauvages vivant aux alentours de la ressource en eau. Bien que l'eau distribuée respecte les critères microbiologiques de qualité, des analyses positives pour les coliformes totaux furent recensées en avril, mai et juin 1998 (juste avant l'épidémie). Après l'épidémie, les enquêteurs ont découvert que la source était contaminée par une eau de surface stagnant au dessus de la zone de collecte de l'eau, qui a pu s'infiltrer vers l'aquifère. Cette eau provenait probablement de la fonte tardive des neiges et de précipitations importantes. Un grand nombre de cerfs et de caribous sont présents dans cette région ; cependant, O157:H7 ne fut pas isolé des échantillons de déjections prélevés. Le 14 juillet, l'eau analysée provenant du réservoir présentait un taux de coliformes totaux de 108 UFC/100mL, mais, là encore, O157:H7 ne fut pas isolé.

Les taux d'attaque significativement différents ( $p < 0,01$ ) entre les résidents d'Alpine (27%) et les visiteurs (50%) plaident en faveur de l'acquisition d'une certaine immunité chez les résidents de la municipalité. De plus, chez les résidents, le taux d'attaque diminue lorsque l'âge des personnes augmente alors qu'il est le même quelque soit la classe d'âge considérée parmi les visiteurs, ce qui renforce encore l'hypothèse d'une immunité acquise et donc met en évidence la consommation d'une eau de médiocre qualité microbiologique pour les résidents d'Alpine et même de précédentes exposition à O157:H7.

#### **VIII. ETE 1999, APPLECROSS, REGION DES HIGHLANDS, ECOSSE (LICENCE ET AL., 2001)**

En 7 semaines, durant l'été 1999, 6 cas d'infections à O157:H7 ont été recensés chez des touristes ayant fréquenté le camping d'Applecross, alimenté en eau non traitée par une source privée surgissant dans une aire de pâture pour moutons et cerfs.



Une semaine avant l'apparition du premier cas, les analyses microbiologiques de la qualité de l'eau ont mis en évidence des taux de coliformes totaux de 11UFC/100mL et d'*E. coli* de 15 UFC/100mL ayant entraîné la publication par les autorités d'un avis préconisant de faire bouillir l'eau. D'autres échantillons prélevés pendant l'épidémie ont montré des quantités d'indicateurs de contamination fécale supérieurs aux limites en vigueur. La recherche d'O157:H7 dans l'eau s'est révélée négative en appliquant les méthodes de routine, cependant les analyses utilisant les techniques de séparation immunomagnétique ont permis l'isolation d'O157:H7. De plus, O157:H7 fut isolé des échantillons de déjections prélevés chez des moutons paissant près de la source. Tous les isolats prélevés dans les selles des différents cas et des moutons ainsi que ceux prélevés dans l'eau appartiennent à la même souche.

#### **IX. SEPTEMBRE 1999, NEW YORK, USA (MMWR, 1999)**

Le 10 septembre 1999, 10 enfants sont hospitalisés avec des diarrhées sanglantes dues à O157:H7. Tous ces enfants ont participé au Washington County Fair du 23 au 29 août 1999. Pour identifier d'autres participants au Washington County Fair présentant une diarrhée, une enquête a été menée : au 15 septembre, 15921 personnes avaient déclaré souffrir de diarrhées, 11 enfants ont développé un syndrome hémolytique et urémique et 2 personnes sont mortes (une fillette de 3 ans est décédée des suites d'un SHU et une femme de 79 ans des suites d'un SHU et d'un purpura thrombotique et thrombocytopénique).

L'enquête environnementale a montré que la plupart des points d'eau potable de la foire étaient alimentés par de l'eau chlorée. Cependant, un puits peu profond fournissait une eau non traitée à plusieurs vendeurs de nourriture qui l'utilisaient pour confectionner des boissons et des glaces. Cette eau s'est avérée présenter un fort taux de coliformes et d'*E. coli*.

L'enquête épidémiologique a mis en évidence que la consommation de boisson ou de glace confectionnée à partir de l'eau non traitée était significativement associée avec la survenue des infections (OR=23,3 ; IC95= [6,3 ; 86,9]).

Le 9 septembre, des analyses par PCR furent réalisées sur l'eau du puits mis en cause et O157:H7 fut isolé, il s'agissait des mêmes souches que celles ayant infectées les malades.

#### **X. MAI 2000, WALKERTON, ONTARIO, CANADA (O'CONNOR, 2002)**

Walkerton (4000 habitants) est situé dans une zone rurale où l'élevage de bétail est très développé. Cette commune a connu depuis des années des problèmes de contamination chronique par des bactéries d'origine fécale. La mauvaise conception des captages et l'absence de protection avaient été signalées depuis le départ sans que les mesures suffisantes pour y remédier aient été adoptées.

Le 12 mai 2000, après plusieurs jours de pluie intense, une violente tempête touche Walkerton. Des eaux de ruissellement s'infiltrèrent au niveau des captages. Le lendemain, les premiers symptômes apparaissent dans la population (syndrome grippal).

Le 15 mai, le distributeur fait réaliser des prélèvements de routine sur le réseau. Le lendemain, les résultats mettent en évidence une contamination importante par *E. coli* (>200UFC/100ml alors que le respect de la norme impose une absence).

Le 17 mai, les symptômes se font plus fréquents dans la population. Les plaintes concernent des diarrhées sanglantes, des vomissements, des crampes d'estomac. L'absentéisme scolaire commence à être ressenti dans 2 écoles de la ville. sans doute pour lutter contre le risque de déshydratation, les médecins de la ville recommandent à la population de boire beaucoup d'eau. Le même jour, de nouveaux résultats

d'analyses d'eau montrent que la contamination a encore augmenté. Elle concerne l'ensemble du réseau de distribution.

Le 18 mai, un pédiatre de la ville soupçonnant une infection par *E. coli* O157:H7 prévient l'autorité sanitaire. Le représentant de l'autorité sanitaire interroge le distributeur sur la qualité de l'eau du réseau. Ce dernier répond qu'il n'y a pas de problème de qualité de l'eau distribuée. La piste initiale d'une infection d'origine alimentaire est alors confirmée.

Le 20 mai, devant l'augmentation du nombre de malades, l'autorité sanitaire reprend contact avec le distributeur, qui confirme l'absence de problème, et lui demande de lui faire parvenir une copie des prochaines analyses qui seront réalisées. Dans le même temps, elle diffuse à la population un message d'information demandant de faire bouillir l'eau avant de l'utiliser et d'adopter des règles d'hygiène strictes (lavage des mains...), et décide de réaliser ses propres prélèvements sur l'eau du réseau.

Le premier décès est survenu le 22 mai. 6 autres suivront.

Le 23 mai, l'autorité sanitaire reçoit des analyses confirmant la contamination massive de l'eau du réseau de distribution.

L'épidémie aura touché 2300 personnes, parmi les 4600 personnes exposées à l'eau contaminée. On dénombre 27 cas de SHU et 7 décès.

La qualité de l'eau du réseau n'a pas été rétablie avant le premier juin. Les investigations ultérieures ont montré que pendant toute la durée de l'épidémie, le traitement de chloration de l'eau du réseau n'avait pas été renforcé bien que le distributeur ait été informé de la contamination.

### III. ANNEXE 3 : LES TECHNIQUES DE DETECTION

L'estimation de l'exposition des populations passe par la capacité à détecter la bactérie dans l'environnement et à quantifier sa présence. Les informations suivantes sont extraites de l'ouvrage de Vernozy-Rozand et Montet (2001).

#### I. ENRICHISSEMENT

La faible dose infectieuse d'*E. coli* O157:H7 a conduit à la mise au point de moyens d'identification de la bactérie très sensibles et au développement de nombreux milieux d'enrichissement pour permettre la multiplication des bactéries jusqu'à des niveaux détectables (cf. tableau A1).

Tableau A1 – Milieux liquides d'enrichissement pour les *E. coli* O157:H7

Désignation	Composition (par litre)
MTSB	Bouillon trypticase soja, 30g Sels biliaires 3, 1,5g Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ), 1,5g Novobiocine
dm TSB-CA	Bouillon trypticase soja, 30g Sels biliaires 3, 1,5g Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ), 1,5g Acide casamine, 10g HCl acriflavine, 10mg
BPW-VCC	Eau peptonée tamponnée (Oxoid) Vancomycine, 8mg Céfixime, 0,05mg Cefsulodine, 10mg
mEC+n	Tryptone, 20g Sels biliaires 3, 1,12g Lactose, 5g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 4g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 1,5g NaCl, 5g Novobiocine, 20mg

(Vernozy-Rozand et Montet, 2001)

#### II. DETECTION

##### II.1 DETECTION PAR CULTURE

Après la phase d'enrichissement, les techniques de détection classique, basée sur la mise en culture des bactéries, utilisent les propriétés d'O157 : non fermentation du sorbitol en 24h et absence d'activité  $\beta$ -glucuronidase. Plusieurs milieux de culture ont ainsi été développés, l'ajout de différents antibiotiques par exemple a permis d'obtenir des milieux très spécifiques (cf. tableau A2).

Tableau A2 – Milieux solides d'isolement d'*E. coli* O157:H7

Désignation	Composition
SMAC	Gélose MacConkey D-Sorbitol, 1%
CR-SMAC	Gélose MacConkey Sorbitol (Oxoid) Rhamnose, 0,5% Céfixime, 0,05mg/L
CT-SMAC	MacConkey Sorbitol (Oxoid) Céfixime, 0,05mg/L Tellurite de potassium, 2,5mg/L
MSA-MUG	Gélose MacConkey Sorbitol MUG <sup>a</sup> , 0,01%
PRS-MUG	Rouge de phénol base D-Sorbitol, 0,5% MUG, 0,005%
MSA-BCIG	Gélose MacConkey Sorbitol (Difco) BCIG <sup>b</sup> Sels de cyclohexylammonium, 0,01%
HC	Tryptone, 20g/L Sels biliaires 3, 1,12g/L Chlorure de sodium (NaCl), 5g/L Sorbitol, 20g/L MUG, 0,01% Poudre de bromocrésol, 0,015g/L

<sup>a</sup> 4-méthylumbelliféryle-β-Dglucuronide

<sup>b</sup> 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-acide glucuronique

(Vernozy-Rozand et Montet, 2001)

Les techniques de détection en culture sont très spécifiques au sérotype O157:H7, mais ne sont d'aucune utilité pour la détection des autres STEC et des souches mutantes qui fermentent le sorbitol en 24h.

## II.2 TECHNIQUES DE DETECTION RAPIDE

Ces techniques de détection sont basées sur la recherche des antigènes et des gènes spécifiques à *E. coli* O157:H7, ainsi que sur la mise en évidence de la production de toxines. Cependant, ces techniques ne peuvent être utilisées seules ; n'indiquant pas directement la présence d'*E. coli* O157:H7, elles doivent être combinées pour une identification sans équivoque.

### 1) Méthodes immunologiques

De nombreux tests sont actuellement présents sur le marché pour la détection des antigènes O157 et éventuellement H7 dans les aliments. Différentes catégories de tests existent (cf. tableau A3) :

- ❑ Les systèmes « 1 étape »,
- ❑ Les tests de type ELISA (Enzyme Linked Immuno Separation Assay) en microplaques,
- ❑ Les tests entièrement automatisés.

Tableau A3 – Tests de détection immunologique

Fabricant	Test	Format	Système de révélation	Antigène cible	Validation
Organon Teknika	EHEK-Tek™	Microplaque	Colorimétrique	O157 et H7	Health Canada Method MRLP-91
Bioentreprise s Pty Ltd	Tecra™E.C. O157 VIA	Microplaque	Colorimétrique	O157	
BioControl Systems Inc.	Assurance™ EHEC EIA	Microplaque	Colorimétrique	O157 et H7	AOAC Official Method 996.10
Celsius-Lumac	PATH-STIK <i>E. coli</i> O157	Dip-stick	Colorimétrique	O157	
BioControl Systems Inc.	VIP™EHEC	1 étape	Colorimétrique	O157 et H7	AOAC Official Method 996.10
Diffchamb	Transia card <i>E. coli</i> O157	1 étape	Colorimétrique	O157	
Neogen	REVEAL™ <i>E. coli</i> O157	1 étape	Colorimétrique	O157 et H7	
Meridian Diagnostics	ImmunoCard Statl <i>E. coli</i> O157:H7	1 étape	Colorimétrique	O157 et H7	AOAC Performance Tested
ANI Biotech OY	Biocard EHEC	1 étape	Colorimétrique	O157	
Merck Ltd	Singlepath™ <i>E. coli</i> O157:H7	1 étape	Colorimétrique	O157 et H7	
BioMérieux	VIDAS <i>E. coli</i> O157	Automatisé	Fluorescence	O157	Validé AFNOR
Foss Electric A/S	EiaFoss <i>E. coli</i> O157	Automatisé	Fluorescence	O157	

(Vernozy-Rozand et Montet, 2001)

Les systèmes « 1 étape » et ELISA donnent des résultats en 15 min et 2h respectivement après une phase d'enrichissement de 24h, ce qui réduit le temps total d'analyse à 1 jour, au lieu de 3 pour les méthodes conventionnelles. Ces kits sont basés pour la majorité sur le principe d'immunochromatographie. La sensibilité moyenne de ces tests est de  $10^5$  *E. coli* O157/mL.

Dans le cas d'une réponse positive, ces test indiquent simplement la présence de l'antigène O157 et éventuellement H7. Il est nécessaire, par la suite, de confirmer la présence de la bactérie et sa pathogénicité. En effet, la présence d'O157 n'indique pas de façon certaine la présence de *E. coli* O157, des réactions croisées peuvent se produire, l'antisérum polyclonal O157 est susceptible de réagir avec d'autres espèces bactériennes. La confirmation peut se faire grâce au test API20E de bioMérieux par exemple.

Les études complémentaires pour vérifier la présence d'*E. coli* O157, pour caractériser l'antigène H7 et la production de vérotoxines durent environ 3 jours.

En France, pour la détection d'*E. coli* O157 dans les aliments l'AFNOR préconise l'utilisation de la séparation immunomagnétique et le système automatisé VIDAS ECO. Si ce test s'avère positif, une immunoconcentration est réalisée avec le système VIDAS ICE et les bactéries sont isolées sur géloses spécifiques, les colonies suspectes étant confirmées.

## 2) Mise en évidence de la production de toxines

L'effet cytopathogène des vérotoxines est mis en évidence par ensemencement sur des cellules Vero. Le seuil nécessaire à la détection des vérotoxines libres dans un milieu est très bas. Cependant, pour les tests de routine, la concentration en toxines contenue dans les bouillons d'enrichissement est suffisante.

Il est possible de détecter la présence de toxines sans parvenir à isoler la bactérie, à l'inverse, aucun STEC ne sera détecté en l'absence de toxines libres.

La production de toxines doit être vérifiée par un test immunologique, il faut s'assurer que l'effet cytopathogène sur les cellules Vero est dû à l'action des toxines. Cette vérification est réalisée par neutralisation des anticorps spécifiques des toxines STX1 et STX2. Un test de thermostabilité des toxines est enfin conduit : les échantillons sont chauffés à 100°C pendant 15 min.

Quelques kits de détection de la présence de toxines dans les matières fécales existent ; on peut citer par exemple le test « Premier EHEC test » (Meridian Diagnostic Inc., USA) utilisé en routine dans de nombreux laboratoires ne disposant pas de matériel de biologie moléculaire.

### 3) Méthodes génétiques

Pour identifier les organismes pathogènes responsables d'une infection, les méthodes génétiques sont basées sur la recherche de gènes spécifiques de cet organisme. Pour *E. coli* O157:H7, les méthodes génétiques utilisées se basent sur la détection :

- ❑ Des gènes *stx* codant pour la synthèse des toxines (soit directement sur le génome total par hybridation des sondes ADN, soit par amplification d'une partie des gènes recherchés PCR),
- ❑ Du gène *uidA* codant la  $\beta$ -glucuronidase, ce gène est différent de celui des autres souches *E. coli* chez le sérovar O157:H7,
- ❑ Du gène *eae* codant l'intimine, qui participe au mécanisme d'attachement / effacement ; ce gène est commun à tous les EHEC,
- ❑ Du gène *fliC* codant la flagelline, protéine constitutive du flagelle,
- ❑ Du gène *rbfE* qui code les enzymes de synthèse de l'antigène O157.

Tous ces gènes peuvent être détectés seuls ou en combinaison par PCR multiplex. On peut citer, de plus, le gène de l'entérohémolysine, très rarement utilisé pour caractériser des souches isolées.

### II.3 TECHNIQUES DE SEPARATION-CONCENTRATION

Afin de réduire les durées d'analyses et d'augmenter la sensibilité des techniques d'analyse rapide, des techniques dites de séparation / concentration ont été développées. Ces techniques s'appuient sur :

- ❑ La centrifugation,
- ❑ La filtration,
- ❑ Des systèmes bioabsorbants à base de lectine,
- ❑ Des systèmes biphasiques aqueux,
- ❑ Les ultrasons,
- ❑ La séparation immunomagnétique.

Le principe de la séparation immunomagnétique repose sur l'ajout, à l'échantillon à analyser, de particules paramagnétiques couvertes d'anti-corps spécifiques de l'organisme cible (ici *E. coli* O157:H7). L'organisme cible est alors capturé à la surface des billes magnétiques et le couple bille magnétique / bactérie est isolé par l'application d'un champ magnétique.

Les cellules cibles isolées sont ensuite diluées dans un volume plus faible que celui de l'échantillon de départ, on obtient alors un effet de concentration qui augmente la sensibilité des techniques de détection.

### III. CONCLUSION – LA DETECTION D'ESCHERICHIA COLI O157:H7 DANS L'EAU

Les techniques de détection sont nombreuses et bien développées pour le sérotype O157:H7 dans le domaine médical (concentration en bactéries importantes dans les selles donc détection plus aisée) et alimentaire (préoccupation ancienne de santé publique).

Pour ce qui est de la recherche d'*Escherichia coli* O157:H7 dans l'environnement, les faibles concentrations et l'état stressé des bactéries, notamment à cause de la pression osmotique basse dans l'eau, rendent la détection plus difficile et nécessitent une phase de pré-enrichissement (Vernozy-Rozand *et al.*, 2002).

Un protocole de détection d'*E. coli* O157:H7 a été établi par le PHLS (Technical Services Division, Public Health Laboratory Service Headquarters, 2002). Les étapes sont les suivantes : concentration sur filtre (l'échantillon d'eau initial est de 1L), incubation dans un bouillon d'enrichissement sélectif (bouillon trypticase soja modifié pendant 5 à 6h ou 22h à 41,5°C), isolement sur milieu sélectif après une double immunoséparation magnétique (billes Dynabeads *E. coli* O157:H7). Les boîtes de CT-SMAC sont incubées à 37°C pendant 22h puis, une confirmation des colonies suspectes est effectuée (Vernozy-Rozand *et al.*, 2002).

A la demande du service santé-environnement de la DDASS de Loire-Atlantique, l'Institut Départemental d'Analyses et de Conseils (IDAC) a réalisé une campagne de recherche d'*E. coli* O157:H7 pour 12 des 15 captages utilisés pour la production d'eau potable dans le département. Le protocole de détection employé a été, après filtration d'un échantillon de 20L d'eau, d'une part, un enrichissement sur milieu TSB-Novobiocine à 41°C pendant 6 ou 7h puis un ensemencement sur milieu sélectif (CT-SMAC) à 37°C pendant 18h. D'autre part, en parallèle, une immuno-séparation magnétique a été réalisée, les billes ont ensuite étéensemencées sur milieu sélectif (CT-SMAC...). Pour la confirmation des colonies, un test au latex et un test API20E ont été utilisés. Ces analyses, réalisées en novembre 2001, n'ont donné aucun résultat positif.

Toutes ces recherches ne concernent actuellement que le sérotype O157, mais d'autres STEC sont pathogènes pour l'homme et responsables de SHU et il n'existe pas de techniques de détection qui permettent d'identifier ces autres pathogènes émergents.

## IV. ANNEXE 4 : LE PORTAGE BOVIN

Un très grand nombre d'études ont été menées pour caractériser le portage bovin d'*E. coli* O157:H7 : quelle est la prévalence, quelles sont les caractéristiques de l'excrétion d'*E. coli* O157:H7 par les bovins, quels sont les facteurs qui influent sur cette excrétion ? Ces études ont pour but de réduire les infections humaines par *E. coli* O157:H7.

### I. PREVALENCE

#### I.1 PREVALENCE AU NIVEAU DES INDIVIDUS :

De très nombreuses études eurent pour but de déterminer la prévalence d'*Escherichia coli* O157 chez les bovins (cf. tableaux A4 et A5). Des disparités existent, dans le temps et dans l'espace, qui peuvent s'expliquer, d'une part, par d'éventuelles différences réelles dans la dissémination de la bactérie sur les continents, mais aussi par les techniques de détection utilisées, différentes d'une étude à l'autre et en constante évolution (généralisation des techniques moléculaires, amélioration des milieux de culture...).

Les résultats des études focalisées sur la recherche du sérotype O157 peuvent être exploités pour l'étude du sérotype O157:H7. En effet, 80% à 95% des isolats O157 comportent l'antigène de mobilité H7 (Chapman *et al.*, 1997 ; Bonardi *et al.*, 1999 ; Lahti *et al.*, 2001).

Tableau A4 – Prévalence d'*Escherichia coli* O157 au niveau des individus

Région	Prévalence	Référence
Angleterre et Pays de Galles, UK	0,83%	Richards <i>et al.</i> , 1998
Nord Ouest des USA	1,0%	Hancock <i>et al.</i> , 1997
USA	1,2%	Garber <i>et al.</i> , 1999
Finlande	1,31%	Lahti <i>et al.</i> , 2001
Colombie	6,5%	Mattar et Vásquez, 1998
Pays-Bas	10%	Heuvelink <i>et al.</i> , 1998
Italie	13,1%	Bonardi <i>et al.</i> , 1999
UK	15,7%	Chapman <i>et al.</i> , 1997
République Tchèque	19,7%	Cizek <i>et al.</i> , 1999

Tableau A5 – Prévalence d'*Escherichia coli* O157:H7 au niveau des individus

Région	Prévalence	Référence
Province de Lugo, Galice, Nord ouest de l'Espagne	0,3%	Blanco <i>et al.</i> , 1996
Prince Edward Island, UK	0,4%	Schurman <i>et al.</i> , 2000
USA	0,5%	Rahn <i>et al.</i> , 1997
République tchèque	0,55%	Cizek <i>et al.</i> , 1999
Angleterre et Pays de Galles, UK	0,56%	Richards <i>et al.</i> , 1998
Hong Kong	0,8%	Leung <i>et al.</i> , 2001
Wisconsin, USA	1,8%	Faith <i>et al.</i> , 1996
Sheffield, UK	4,2%	Mechie <i>et al.</i> , 1997
UK	13%	Chapman <i>et al.</i> , 1997
Midwestern USA	23%	Smith <i>et al.</i> , 2001

D'autres études se sont préoccupées du portage des STEC dans son ensemble. Dans chaque troupeau, Blanco *et al.* (1996) estiment que le pourcentage d'animaux infectés par des STEC varie de 0 à 63%. Thran *et al.* (2001) recensent de 0 à 15% d'animaux positifs aux STEC avec une prévalence maximum en hiver.



Une étude en abattoir fait état de 41,5% des prélèvements de déjections positifs aux STEC (Leung *et al.*, 2001). Ce pourcentage provient de résultats d'analyses en culture cellulaire mettant en évidence la production de toxines (Vero cell assay). Les mêmes échantillons ont été traités par PCR pour la recherche des gènes de production de toxines, le pourcentage d'échantillons positifs s'élève alors à 62,5%. Cette grande différence pourrait être due au fait que le milieu de culture utilisé pour l'essai en cellules Vero inhibe certains STEC.

Les études ayant pour but la recherche et la mise en évidence de *E. coli* O157:H7 auront tendance à sous estimer le nombre de STEC alors que, à l'inverse, les études qui se focalisent sur l'ensemble des STEC sous estiment la prévalence du sérotype O157:H7. Cet inconvénient est lié aux techniques de détection employées qui s'appuient sur les caractéristiques du sérotype O157:H7, à savoir l'absence de fermentation du sorbitol et de production de la  $\beta$ -glucuronidase, que ne présentent pas les autres STEC (Thran *et al.*, 2001).

## I.2 PREVALENCE AU NIVEAU DES TROUPEAUX

Une estimation de la prévalence d'*Escherichia coli* O157:H7 au niveau des individus bovins n'est pas suffisante pour caractériser la dissémination de la bactérie au sein de la population bovine, il faut connaître le pourcentage de troupeaux infectés. Le tableau A6 récapitule les résultats de quelques études de prévalence (la plupart nord – américaines).

Tableau A6 – Prévalence du sérotype O157 ou du sérovar O157:H7 au niveau des troupeaux

Région	Prévalence	Références
Wisconsin, USA	7,1 $\pm$ 4,5% O157:H7	Faith <i>et al.</i> , 1996
Italie	21,1%	Bonardi <i>et al.</i> , 1999
USA	22% O157:H7	Zhao <i>et al.</i> , 1995
USA	24,2% O157	Garber <i>et al.</i> , 1999
Nord Ouest des USA	64% O157	Hancock <i>et al.</i> , 1997
Pays-Bas	70% O157	Heuvelink <i>et al.</i> , 1998
USA	75% O157	Herriot <i>et al.</i> , 1998

A l'intérieur des différents troupeaux étudiés, la prévalence d'*E. coli* O157 varie de 0 à 6% (Herriot *et al.*, 1998 ; Hancock *et al.*, 1998) voire de 0,8 à 55,4% (Heuvelink *et al.*, 1998). Bastian (2002) estime de 1 à 3 le nombre d'animaux infectés par troupeau.

## I.3 CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS

### 4) Influence de l'âge :

Le portage d'*E. coli* O157:H7 paraît plus important chez les jeunes animaux que chez les adultes, en particulier chez les animaux récemment sevrés (cf. tableau A7). De plus, les veaux excrètent un plus grand nombre d'organismes pour une plus longue durée que les adultes (Cray et Moon, 1995).

Tableau A7 – Prévalence du sérovar O157 H7 en fonction de l'âge des bovins

Prévalence chez les jeunes animaux non sevrés	Prévalence chez les jeunes animaux sevrés	Prévalence chez les adultes	Références
1,5%	4,9%		Zhao <i>et al.</i> , 1995
2,9%	5,3%		Zhao <i>et al.</i> , 1995 (été)
9,3%	14,2%	0,9% à 6,3%	Mechie <i>et al.</i> , 1997
1,3%	1,7%	0,4%	Hancock <i>et al.</i> , 1997
6,7%	21,7%	2,2 à 10,7%	Heuvelink <i>et al.</i> , 1998
5,5%	31,2%		Cizek <i>et al.</i> , 1999

Alors que la prévalence d'*E. coli* O157:H7 sur l'ensemble du troupeau est de 0,55%, Cizek *et al.* (1999) mettent en évidence une prévalence de 1,22% chez les veaux. La soudaine augmentation de la prévalence d'*E. coli* O157 au moment du sevrage pourrait s'expliquer par le changement drastique de régime alimentaire. De plus, le passage des bêtes de boxes individuels en « habitat libre », avec d'autres animaux, favorise la transmission d'*E. coli* O157 susceptible alors de se produire entre les animaux et par l'environnement.

#### **5) Influence du type de troupeau :**

Il semble qu'il existe une différence de prévalence entre les types de troupeaux (laitier ou de boucherie) bien qu'aucune théorie n'ait encore été confirmée pour expliquer ces disparités. Chapman *et al.* (1997) rapportent des prévalences de 13,4% pour les vaches à viande et 16,1% pour vaches laitières, alors que Hancock *et al.* (1998) rapportent des prévalences de 3,6% chez les vaches de boucherie et 2,3% chez les vaches laitières. De part les modes d'élevage, les vaches laitières seraient plus à même d'être infectées car plus en contact avec l'environnement extérieur que les vaches à viande qui restent parquées dans les étables (Vernozy-Rozand, 2002).

#### **6) Influence sur l'état de santé des bovins :**

Les bovins sont considérés comme porteurs sains, quel que soit leur âge (Loirat, 1999). Mais le sérotype O157 fut isolé chez 2 veaux atteints de diarrhées en République tchèque (Cizek *et al.*, 1999). L'examen microbiologique des déjections n'a mis en évidence aucun autre pathogène intestinal (tel que *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*). Brown *et al.* (1997) rapportent des cas de diarrhée aqueuse de courte durée chez des veaux ayant reçu, pour expérimentation, des doses d'*E. coli* O157:H7 ( $10^{10}$  UFC). De plus, Dean-Nystrom *et al.* (1997) reconnaissent O157 H7 comme pathogène pour les veaux nouveaux nés.

#### **7) Saisonnalité :**

Le caractère saisonnier de l'infection des bovins par *E. coli* O157:H7 a été rapporté par de nombreuses études. Les prévalences sont maximales durant les mois d'été et de printemps (Chapman *et al.*, 1997 ; Garber *et al.*, 1999 ; Hancock *et al.*, 1997, Zhao *et al.*, 1995). Lahti *et al.*, (2001) rapporte une prévalence maximale de 3,85% en juillet. Le pourcentage d'animaux positifs à *E. coli* O157 varie entre 10 et 30% (moyenne 17,5%) entre les mois d'avril à octobre et passe à 3% entre novembre et décembre (Bonardi *et al.*, 1999).

#### **8) Disparités géographiques :**

L'étude de Garber *et al.*, 1999, réalisée aux USA met en évidence des disparités entre le nord et le sud des USA. Le pourcentage de troupeaux infectés est plus fort dans les états du sud (61,9%) que dans ceux du nord (12,9%). En Finlande, les bovins des zones sud du pays sont de plus grands excréteurs que les bovins des zones nord (Lahti *et al.*, 2001).

#### **9) Souches isolées et facteurs de virulence**

Le typage des souches *E. coli* O157:H7 isolées chez les bovins a pour but de mettre en évidence les facteurs de virulence (présence des gènes *eae* et *stx*, production de toxines et d'hémolysine) et de comparer ces souches à celles isolées lors des cas humains d'infection.

L'étude de Chapman *et al.* (1997) sur les souches du sérotype O157 isolées chez des bovins aux Etats-Unis, a mis en évidence que 76% des souches étaient productrices de toxines STX2, 23% produisaient les toxines STX1 et STX2, 0,5% seulement la toxine STX1 et 0,4% ne produisaient aucune des 2 toxines. D'autre part, 100% des souches isolées arboraient le gène d'attachement et d'effacement (*eae*) et 100% des souches également possédaient un grand plasmide de 92kb (48,8% possédaient le grand plasmide 92kb uniquement et 51,2% possèdent un ou plusieurs plasmides supplémentaires appartenant à 38 profils de plasmides différents). De plus, cette étude a mis en évidence 17 types de phages différents (32% de type 1, 18% de type 4, sans différence saisonnière entre les différents types de phages). Les diverses combinaisons forment un ensemble de 99 sous-types de *E. coli* O157.

Dans l'étude de Cizek *et al.* (1999), l'ensemble des souches isolées présente les gènes du mécanisme d'attachement et d'effacement *eae*, de l'entérohémolysine *ehx*, de la toxine *stx2* (parfois *stx1*), et sont toutes positives pour l'essai des cellules Vero (production de toxines). Les souches isolées par Lahti *et al.* (2001) présentent les gènes *eae* (100%) et *stx* (90%).

Richards *et al.* (1998) recensent 11 types de phages différents pour les souches d'*E. coli* O157 isolées chez les bovins étudiés, le plus courant étant le type 2.

Des analyses réalisées sur les mêmes troupeaux à un an d'intervalle montrent que les souches d'*Escherichia coli* O157:H7 isolées sont différentes d'une année sur l'autre (Rahn *et al.*, 1997).

#### 10) Dose infectante, durée d'excrétion de la bactérie et quantités excrétées

La dissémination d'*E. coli* O157 par les bovins est caractérisée par des périodes d'excrétions courtes à des concentrations fortes séparées par des périodes plus longues pendant lesquelles l'excrétion de la bactérie est réduite voire indétectable (Hancock *et al.*, 1997).

L'exposition de jeunes bovins à de faibles doses d'*E. coli* O157:H7 (250 UFC) entraîne une excrétion en grande quantité pour des périodes prolongées (70 jours). La quantité de bactéries pathogènes excrétées varie de moins de 30 UFC/g à plus de  $10^6$  UFC/g de déjections excrétées (Besser *et al.*, 2001) et les veaux et génisses infectés excrètent en général jusqu'à  $10^5$  UFC/g de déjections (Himathongkham *et al.*, 1999 ; Zhao *et al.*, 1995).

Cette concentration en *E. coli* O157:H7 dans les déjections des bovins doit être rapprochées des quantités de déjections excrétées (cf. tableau A8).

Tableau A8 – Excrétion quotidienne de déjections

Description des catégories animales	Volume de déchets excrété (L / jour)
Vaches et taureaux laitiers	68
Taures laitières (1 an et plus)	28
Veaux laitiers d'abattage (0-2 mois)	8,86
Génisses laitières (< 12 mois)	13
Vaches et taureaux de boucherie	40
Bovins de finition	21,9 (bouillons 1 an et plus)
Génisses de boucherie (6-18 mois)	8,85 (mois d'un an)
Taures de boucherie (18-26 mois)	30
Bovins de semi-finition	--
Veaux d'embouche ou de boucherie (2-6 mois)	--
Veaux lourds de lait (0-4 mois)	10
Veaux lourds de grain (0-6 mois)	16

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

L'étude de Besser *et al.* (2001) précise que  $10^7$  UFC sont suffisant pour infecter tous les bovins adultes alors qu'une dose de  $10^4$  UFC n'infectera pas tous les bovins. La dose infectante pour les bovins est très supérieure à celle des hommes (Porter *et al.*, 1997).

Après infection, la durée moyenne d'excrétion de la bactérie dans les déjections est 20 ou 30 jours (Kudva *et al.*, 1997, Sanderson *et al.*, 1999 ; durée maximale 60 jours Sanderson *et al.*, 1999). Brown *et al.* (1997) rapportent que l'excrétion diminue de manière drastique pendant les 14 premiers jours après infection, au bout de 20 jours la bactérie n'est présente dans les déjections qu'à des concentrations inférieures à 5 UFC/g.

Sanderson *et al.* (1999) présumant qu'*E. coli* O157 :H7 peut persister pour des courtes périodes dans le tractus intestinal des bovins à des niveaux inférieurs au seuil de détection et peut proliférer après un changement de régime alimentaire de l'animal.

Quel est réellement l'état d'infection des animaux testés ? Une culture négative à *E. coli* O157:H7 reflète-t-elle un état de non-infection ? Peut-on envisager des animaux précédemment infectés hébergeant la bactérie à une concentration indétectable par les méthodes d'analyses employées ? Un petit nombre de pathogènes peut persister dans le rumen et se répliquer en grand nombre lors de l'apparition de conditions plus favorables lors d'un changement de régime alimentaire (Rahn *et al.*, 1997).

## V. ANNEXE 5 : METHODES DE QUANTIFICATION DE LA CONTAMINATION DES RESSOURCES EN EAU

### I. L'INDICATEUR DE PRESSION HYGIENIQUE ANIMALE

Afin de modéliser la contamination de l'eau par des agents entéropathogènes excrétés par les animaux d'élevages, une équipe canadienne de l'université de Montréal (Bigras-Poulin et de Andrade Lima, 2000 et Michel *et al.*, 2002) met en place un indicateur de pression hygiénique animale utilisant de nombreuses variables (cf. tableaux A9) depuis l'excrétion jusqu'à la ressource en eau. Cet indicateur a pour objectif d'estimer la contamination des ressources en eau par des agents entéropathogènes zoonotiques liés à la production animale (*Cryptosporidium*, *Campylobacter*,...).

Tableau A9 – Variables sélectionnées pour la construction des indices de pression hygiénique animale

Attributs	Variables
Charge initiale des bactéries entéropathogènes à la ferme	espèce animale nombre d'animaux âge des animaux type d'entreprise (bovins de boucherie, bovins laitiers, naisseur, naisseur-finisser, etc.) prévalence des bactéries entéropathogènes chez les animaux (par espèce) taux d'excrétion des bactéries pathogènes dans les matières fécales volume quotidien de déjections nombre d'animaux sur les pâturages période de séjour sur les pâturages dose épandue par application
Survie durant l'entreposage	type d'entreposage (liquide ou solide) température (saison) durée d'entreposage type de structure et régie (fosse ou amas, avec ou sans brassage, retournement) coefficient de décroissance exponentielle dans les fumures (survie)
Survie au niveau du sol	type de sol surface de pâturage et d'épandage période d'épandage (mois) température (saison) intervalle de temps entre les pluies coefficient de décroissance exponentielle au sol (survie)
Déplacement sur le sol (ruissellement)	type de sol coefficient de ruissellement type d'épandage (arrosage ou incorporation) précipitations (mois d'épandage) charge en microorganismes ayant ruisselé
Diffusion dans le sol (percolation)	type de sol coefficient d'infiltration de l'eau travail du sol (labour) drainage souterrain artificiel charge en microorganismes ayant percolé

(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)

Le tableau A10 présente les hypothèses utilisées pour la construction du modèle.

*Tableau A10 – Attributs et hypothèses de base  
pour la construction des indices de pression hygiénique animale*

Attributs	Hypothèses
Charge initiale des bactéries entéropathogènes à la ferme	est uniforme dans les troupeaux est uniforme dans la province est uniforme au cours de l'année
Survie durant l'entreposage	est uniforme d'octobre à mai dépend surtout de la saison, du type de structure d'entreposage et de l'espèce bactérienne est plus longue en condition d'anaérobiose, d'octobre à mai et dans les cas d'ajout continu de fumure
Survie au niveau du sol	dépend surtout de la saison, du type de sol et de l'espèce bactérienne est plus grande dans des conditions humides et plutôt froides dépend de l'intervalle de temps entre deux pluies
Déplacement sur le sol (ruissellement)	varie avec le volume de pluie qui ruisselle le ruissellement varie selon les caractéristiques du sol est minime quand la fumure est incorporée au sol
Diffusion dans le sol (percolation)	varie selon le volume de pluie qui s'infiltré dans le sol la percolation bactérienne varie selon les caractéristiques du sol les labours et le drainage souterrain éliminent la percolation microbienne est minime pour les fumures solides

*(De Andrade Lima et Bigras-Poulin, 2000)*

L'indicateur de pression hygiénique animale comprend plusieurs termes :

- Le 1<sup>er</sup> terme modélise l'excrétion de l'agent entéropathogène dans l'unité de production animale :

$$\text{Animal}_1 = A \cdot P_r \cdot V \cdot C_{\text{ex}}$$

où  $A$  est le nombre moyen d'animaux dans la catégorie considérée,  $P_r$  est la prévalence du pathogène chez les animaux,  $V$  est la quantité moyenne de fumier produite par animal et par jour et  $C_{\text{ex}}$  est la concentration de l'agent pathogène considéré dans les déjections (UFC/g). Ce terme fournit un nombre de bactéries excrétées par jour.

- Le 2<sup>ème</sup> terme modélise la survie bactérienne dans le fumier durant l'entreposage :

$$\text{Animal}_2 = \int e^{-k_m t} dt$$

où  $t$  est la durée d'entreposage en jours et  $k_m$  le taux de mortalité bactérienne dans le fumier entreposé en jour<sup>-1</sup>.

- Le 3<sup>ème</sup> terme ( $\text{Animal}_3$ ) modélise la survie bactérienne au sol avant la diffusion dans le sol ou le transport en surface. Les termes correspondant à la survie après pâturage des animaux ou après épandage des déjections ont été traité séparément : soit  $\text{Animal}_{3a}$ , le terme correspondant au pâturage et  $\text{Animal}_{3b}$ , le terme correspondant à l'épandage.

Les pâturages ont été considéré comme des surfaces où l'épandage est constant entre la mi-mai et la mi-octobre (150 jours).  $\text{Animal}_{3a}$  s'écrit alors :

$$\text{Animal}_{3a} = \int_{t=0}^{t=\text{ipp}} e^{-k_s t} dt$$

où  $k_s$  est le coefficient de survie au sol, défini selon l'espèce bactérienne, le type de sol et la saison (température et humidité),  $t$  est le temps de séjour au pâturage et  $\text{ipp}$  l'intervalle entre 2 pluies consécutives durant la saison de pâturages (jours).

Dans le cas de l'épandage, le terme s'écrit :

$$\text{Animal}_{3b} = \int_{t=0}^{t=ipe} F_E e^{-k_s t} dt$$

où  $F_E$  est la fraction de fumier épanchée sur la surface donnée,  $k_s$  est le coefficient de survie au sol, défini selon l'espèce bactérienne, le type de sol et la saison (température et humidité) et  $ipe$  l'intervalle entre le moment de l'épandage et la prochaine pluie (jours).

- Le 4<sup>ème</sup> terme (appelé Surface<sub>1a</sub>) modélise la contamination de l'eau de surface par ruissellement. Dans le cas des pâturages, le terme s'écrit :

$$\text{Surface}_{1a} = \frac{M_r}{\frac{S_r}{P_{1s} \cdot C_r}}$$

Dans le cas d'épandage, on aura :

$$\text{Surface}_{1b} = \frac{M_r}{\frac{S_r}{(P_1 \cdot C_r) \cdot \ln}}$$

où  $M_r$  est la proportion des micro-organismes qui pourront atteindre les eaux de surface par ruissellement (%),  $S_r$  est la surface réceptrice de l'épandage ou pâturage (ha),  $P_1$  est la précipitation moyenne régionale dans le mois de l'épandage (mm),  $P_{1s}$  la précipitation moyenne régionale dans la période de pâturage (mm),  $C_r$  est le coefficient de ruissellement selon le type de sol de la surface et  $\ln$  représente la présence ou l'absence d'incorporation du fumier au sol lors de l'épandage.

- Le 5<sup>ème</sup> terme (appelé Surface<sub>2</sub>) modélise la diffusion des bactéries du sol vers les eaux souterraines et s'écrit :

Dans le cas des pâturages :

$$\text{Surface}_{2a} = \left( \frac{M_i}{\frac{S_r}{(P_{1s} \cdot C_i)}} \right) D$$

Dans le cas d'épandage :

$$\text{Surface}_{2b} = \left( \frac{M_i}{\frac{S_r}{(P_1 \cdot C_i)}} \right) D \cdot L$$

où  $C_i$  est le coefficient d'infiltration d'eau selon le type de sol de la surface,  $M_i$  est la proportion des micro-organismes qui pourront atteindre les eaux souterraines,  $D$  représente la présence ou l'absence de drainage souterrain,  $L$  représente la présence ou absence de labour du sol antérieur à l'épandage, les autres paramètres sont identiques à Surface<sub>1</sub>.

Ces termes sont ensuite combinés pour construire un indicateur différent en fonction du scénario de contamination considéré. Par exemple, l'indice de pression hygiénique animale pour une eau de surface contaminée par ruissellement suite au pâturage des animaux s'écrira :

$$\text{IPHA} = \sum_{\text{unitéprod}} \sum_{\text{catégorieanimale}} \log(\text{Animal}_1 \cdot \text{Animal}_3 \cdot \text{Surface}_{1a})$$

Pour la contamination d'une eau de surface suite à un épandage, on aura :

$$IPHA = \sum_{\text{unitéprod}} \sum_{\text{catégoriemanimal}} \log(\text{Animal}_1 . \text{Animal}_2 . \text{Animal}_3 . \text{Surface}_{1b})$$

La contamination d'une eau souterraine par infiltration donnera lieu après pâturage à :

$$IPHA = \sum_{\text{unitéprod}} \sum_{\text{catégoriemanimal}} \log(\text{Animal}_1 . \text{Animal}_3 . \text{Surface}_{2a})$$

Après un épandage, on aura alors :

$$IPHA = \sum_{\text{unitéprod}} \sum_{\text{catégoriemanimal}} \log(\text{Animal}_1 . \text{Animal}_2 . \text{Animal}_3 . \text{Surface}_{2b})$$

où le terme *unité prod.* désigne une unité d'élevage d'animaux et le terme *catégorie animale* désigne la catégorie à laquelle appartient les animaux considérés (bovins, ovins,...). L'unité log est utilisée pour alléger le résultat, mais l'indice calculé fournit bien une quantité d'organismes pathogènes atteignant les ressources en eau.

Cette modélisation est encore à l'état de projet, l'étude doit prendre 3 ans. Un premier exemple a été calculé pour *Campylobacter*, les résultats obtenus montrent qu'il n'existe pas de relation entre la concentration en microorganismes et l'équivalent-azote des animaux utilisé en agriculture.

Cette approche intéressante ne prend cependant pas en compte le portage humain.

## II. LE MODELE CRYPTOSPORIDIUM (RUSSEL WALKER ET STEDINGER, 1999)

Walker et Stedinger (1999) ont modélisé le transport de *Cryptosporidium* depuis l'excrétion par les bovins vers les ressources en eau de la ville de New York (USA), en prenant en compte l'excrétion humaine et les concentrations en parasites isolés dans les rejets de station d'épuration.

Les auteurs ont réuni les informations concernant les élevages bovins présents sur le bassin versant des ressources en eau de la ville de New York.

### II.1 MODELE HYDROLOGIQUE

Le ruissellement provenant des surfaces agricoles fut calculé par le modèle développé par Haith en 1987 et utilise une méthode de conservation du sol.

### II.2 MODELE DE COMPORTEMENT DES STOCKAGES DE DEJECTIONS

Les oocystes *Cryptosporidium* sont supposés suivre les fumures, il faut donc appréhender le comportement du fumier depuis l'excrétion par les bovins jusqu'à l'épandage. Pour prendre en compte l'influence de l'âge du fumier sur l'état de viabilité des parasites, trois classes d'âge de fumier sont créées (nouveau (< 7 jours), intermédiaire (7-13 jours) et ancien (> 14 jours). Le nouveau fumier reste sur les zones de production. Ce type de fumier peut être épandu sur des surfaces proches environ une fois par semaine. La quantité de fumier (en kg/ha)  $M_{k,t+1}$  peut s'écrire, au jour t sur le bassin versant k :

$$M_{k,t+1} = [M_{k,t} (1 - \tau_{k,t}) + s_{k,t} \Delta t] e^{-\beta_{k,t} \Delta t} (1 - \omega_{k,t})$$

où  $M_{k,t}$  est la quantité de fumier présente la veille,  $s_{k,t}$  est l'accumulation en fumures au jour t sur le bassin k (en kg/ha/j),  $\beta_{k,t}$  est le coefficient de décroissance du fumier (en  $j^{-1}$ ) et représente la perte de matière par décroissance organique et incorporation au sol,  $\omega_{k,t}$  est la part de fumier entraîné par ruissellement le jour t, et  $\tau_{k,t}$  est la part de fumier transférée dans une autre classe. Le  $\Delta t$  est pris égal à 1 jour. Pour la classe de fumier nouveau,  $\tau_{k,t}$  représente le taux de nouvelles déjections excrétées par les bovins ; les transferts



depuis la classe nouvelle vers la classe intermédiaire et de la classe intermédiaire vers la classe ancienne définissent les valeurs de  $\tau_{k,t}$  des classes intermédiaires et anciennes.

La perte de fumier par ruissellement augmente lorsque le ruissellement  $Q_{k,t}$  augmente. Il existe un débit minimal en dessous duquel aucun ruissellement en dehors de la zone d'exploitation n'est possible.

$$w_{k,t} = \begin{cases} 1 - e^{-\alpha_{k,t}(Q_{k,t} - Q_0)} & \text{pour } Q_{k,t} > Q_0 \\ 0 & \text{pour } Q_{k,t} \leq Q_0 \end{cases}$$

où  $\alpha_{k,t}$  reflète les pratiques de l'exploitation des fumures : épandage, zones tampons, propriétés spécifiques de la classe d'âge du fumier atteignant la ressource en eau.

Le tableau A11 suivant rapporte les valeurs des coefficients utilisés dans cette étude.

Tableau A11 – Paramètres du modèle de comportement des fumures

Paramètre	Données publiées	Classes de fumier		
		Nouvelle	Intermédiaire	Ancienne
$Q_0$	0,09 cm	0,10 cm	1,30 cm	2,50 cm
$\alpha$	3,62 L/cm	0,40 L/cm	0,04 L/cm	0,004 L/cm
$\beta$	0,27 L/jour	0,27 L/jour	0,027 L/jour	0,0027 L/jour

(Walker et Stedinger, 1999)

### II.3 MODELE DE COMPORTEMENT DES OOCYSTES DE *CRYPTOSPORIDIUM*

Les nombres d'oocystes dans les classes de fumier nouvelle, intermédiaire et ancienne sont respectivement  $Z_{1k,t}$ ,  $Z_{2k,t}$ ,  $Z_{3k,t}$  pour le jour t et le bassin k. Les oocystes sont supposés suivre le déplacement des fumures.

La réduction du nombre d'oocystes dans le fumier s'écrit :

$$Z_{k,t+1} = Z_{k,t} e^{-n(T_{k,t})\Delta t}$$

où  $v(T_{k,t})$  est le coefficient de décroissance dépendant de la température  $T_{k,t}$ . Le taux de survie des oocystes le plus élevé est observé à 4°C, ce taux diminue quand la température augmente. Entre 4°C et 37°C, on aura :

$$n(T) = C \cdot 10^{0,058T}$$

où  $C=10^{-2,68}$  est une constante, la température T s'exprime en °C. Aux températures inférieures à 4°C, le taux de survie des oocystes est supposé constant. La température du fumier est approximée par la température de l'air ambiant.

La classe de fumures anciennes est supposée composée essentiellement de matières sèches, la décroissance journalière des oocystes dans ce type de fumier est estimée à 25%.

Les oocystes sont supposés se déplacer avec le fumier, la fraction d'oocystes délivrée vers les eaux s'écrit alors en fonction de la fraction de fumier qui atteint les ressources en eau :

$$Z_{bovin\ k,t} = \left[ (Z_{1k,t} (1 - t_{1k,t}) + Z_0 s_{1k,t} \Delta t) e^{-n_{k,t} \Delta t} w_{1k,t} \right] + \left[ (Z_{2k,t} (1 - t_{2k,t}) + Z_0 s_{2k,t} \Delta t) e^{-n_{k,t} \Delta t} w_{2k,t} \right] + \left[ (Z_{3k,t} (1 - t_{3k,t}) + Z_0 s_{3k,t} \Delta t) e^{-n_{k,t} \Delta t} w_{3k,t} \right]$$

où  $Z_0$  est la concentration en oocystes dans les déjections équivalant à la moyenne géométrique de la concentration en oocystes dans les déjections des bovins durant les 5 premières semaines d'infections :  $Z_0 = 7 \cdot 10^7$  oocystes/kg de déjections.  $s_1$  est la quantité de déjections excrétées,  $s_1 = 10$  kg/j.

#### **II.4 QUANTITE D'OOCYSTES DANS LES EAUX USEES**

Le nombre d'oocystes provenant des eaux usées par jour s'écrit :

$$NZW_t = 1000 \text{ SVOL}_t ZCW_t$$

où  $\text{SVOL}_t$  représente le volume journalier d'eau usées ( $\text{m}^3/\text{j}$ ) et  $ZCW_t$  représente la concentration en oocystes dans les eaux usées (oocystes/L).

#### **II.5 TRANSPORT DES OOCYSTES DANS L'EAU**

Le nombre total d'oocystes susceptibles d'atteindre les ressources en eau par jour s'écrit :

$$Z_{total_t} = Z_{bovin_t} + NZW_t$$

Les eaux de ruissellement sont supposées atteindre les réservoirs de la ville en quelques jours. Les données de pluviométrie et de ruissellement étant rares, les hydrographes sont modélisés par une fonction de probabilité de densité gamma.

#### **II.6 SEJOUR DANS LES RESERVOIRS**

Un modèle de réservoir a été établi par les auteurs pour appréhender le comportement des oocystes pendant ce séjour dans les réservoirs pouvant atteindre plusieurs mois pour la ville de New-York.

#### **II.7 CONCLUSION**

Le modèle mis en œuvre par Walker et Stedinger donne des résultats proches des mesures de concentration en oocystes de *Cryptosporidium* dans l'eau distribuée à New York, les auteurs l'ont validé.

## VI. ANNEXE 6 : EVALUATION DE LA VULNERABILITE DES CAPTAGES

Tableau A12 – Vulnérabilité des unités de production d'eau potable pour le risque *E. coli* O157:H7 – Eau de surface – Proposition d'une grille d'évaluation

Paramètres	Type d'informations requises	Données
<b>Description du bassin versant</b>		
Superficie	km <sup>2</sup>	
Topographie	qualitatif	
Géologie et pédologie	Types de sols	
Temps de trajet de l'eau jusqu'au captage		
<b>Activités à risque sur le bassin versant</b>		
Elevages bovins	nb d'élevages, nb de bovins, types d'élevage, nb de bovins par élevage	
Stockages de matières fécales animales	Nb, type (fumier ou lisier), volumes, temps d'entreposage)	
Zones d'épandages	Types de déjections épandues (animales ou humaines / fumier ou lisier) Surfaces épandues (km <sup>2</sup> ) Pratiques d'épandage (incorporation ou pas)	
Industries agroalimentaires	Nb et types (abattoirs, ateliers de transformation) Devenir des effluents	
Stations d'épuration	Nb, équivalents-habitants Existence d'un rejet d'eaux usées traitées (si oui, à quelle distance du captage ?)	
Assainissement à la parcelle	Nb, localisation	
Déversoirs d'orage et zones inondables	Nb, distance de la prise d'eau	
<b>Caractéristiques du captage</b>		
Prise au fil de l'eau	Débit de la ressource Débit de pompage et temps de pompage Population desservie	
Présence d'un réservoir	Temps de stockage de l'eau	
Présence de périmètres de protection	Description	
<b>Caractéristiques de l'eau brute</b>		
Variations de l'eau brute	Brutales ou pas Quels paramètres varient ?	
Nb d'échantillons analysés pour coliformes fécaux et <i>E. coli</i> dans les 2 dernières années		
Nb de coliformes fécaux et nb d' <i>E. coli</i> moyens, médians, maximaux pendant les 2 dernières années		
Paramètres moyens de turbidité, COT, ox. KMnO <sub>4</sub>		

---

**Tableau A12 (suite)**

---

**Traitement appliqué pour la production d'eau**

---

Description

---

Première eau sortie des filtres envoyée vers les boues ou en tête de traitement  
Eau de lavages des filtres renvoyée en tête de filière (ou à un autre endroit de la filière, lequel)  
Surnageant des boues renvoyé en tête de filière (ou à un autre endroit de la filière, lequel)

---

Désinfection

---

Désinfectant utilisé  
Quantité introduite  
CT  
Présence d'une pompe doseuse  
Introduction en continu  
Présence d'un groupe électrogène

---

Exploitant

---

Fréquence de passage à l'usine et temps de présence  
Formations suivies

---

**Réseau de distribution**

---

Age

Etat

Temps de séjour de l'eau

---

**Contrôle de la qualité de l'eau**

---

Par l'exploitant

---

Type d'exploitation  
Paramètres mesurés sur l'eau brute (fréquences)  
Paramètres mesurés sur l'eau traitée (fréquences)  
Localisation des points de mesures  
Présence d'alarmes (description des seuils)  
Arrêt de la prise d'eau en cas d'alarme (si oui, quel(s) paramètre(s) et quel(s) seuil(s) ? Arrêt automatique ou manuel

---

Par l'administration

---

Types d'analyses  
Fréquences

---

**Historique d'éventuels incidents**

---

Epidémies d'origine hydrique

---

Nb, dates, durées, pathogènes responsables, causes, nb de cas

---

Défaillances dans la filière de traitement

---

Origine

---

Inondations, fortes précipitations

---

Influence sur la qualité de l'eau brute

---

Tableau A13 – Vulnérabilité des unités de production d'eau potable pour le risque *E. coli* O157:H7 – Eau souterraine – Proposition d'une grille d'évaluation

Paramètres	Type d'informations requises	Données
<b>Description du bassin d'alimentation</b>		
Superficie	km <sup>2</sup>	
Topographie	qualitatif	
Géologie et pédologie	Types de sols Epaisseurs des couches	
Aquifère	Profondeur Epaisseur Type de sol Vitesse d'écoulement Volume Libre ou captif Description de l'alimentation de la nappe Taux de renouvellement	
Temps de trajet de l'eau jusqu'au captage		
<b>Activités à risque sur le bassin versant</b>		
Elevages bovins	nb d'élevages, nb de bovins, types d'élevage, nb de bovins par élevage	
Stockages de matières fécales animales	Nb, type (fumier ou lisier), volumes, temps d'entreposage)	
Zones d'épandages	Types de déjections épandues (animales ou humaines / fumier ou lisier) Surfaces épandues (km <sup>2</sup> ) Pratiques d'épandage (incorporation ou pas)	
Industries agroalimentaires	Nb et types (abattoirs, ateliers de transformation) Devenir des effluents	
Stations d'épuration	Nb, équivalents-habitants Existence d'un rejet d'eaux usées traitées (si oui, à quelle distance du captage ?)	
Assainissement à la parcelle	Nb, localisation	
Déversoirs d'orage et zones inondables	Nb, distance de la prise d'eau	
<b>Caractéristiques du captage</b>		
Puits	Profondeur Débit de pompage et temps de pompage Débit maximum pouvant être pompé Sujet aux inondations Population desservie	
Présence de périmètres de protection	Description	
<b>Caractéristiques de l'eau brute</b>		
Variations de l'eau brute	Brutales ou pas Délai après précipitations Quels paramètres varient ?	
Nb d'échantillons analysés pour coliformes fécaux et <i>E. coli</i> dans les 2 dernières années		
Nb de coliformes fécaux et nb d' <i>E. coli</i> moyens, médians, maximaux pendant les 2 dernières années		
Paramètres moyens de turbidité, COT, ox. KMnO <sub>4</sub>		

---

**Tableau A13 (suite)**

---

**Traitement appliqué pour la production d'eau**

---

Description

---

Première eau sortie des filtres envoyée vers les boues ou en tête de traitement  
Eau de lavages des filtres renvoyée en tête de filière (ou à un autre endroit de la filière, lequel)  
Surnageant des boues renvoyé en tête de filière (ou à un autre endroit de la filière, lequel)

---

Désinfection

---

Désinfectant utilisé  
Quantité introduite  
CT  
Présence d'une pompe doseuse  
Introduction en continu  
Présence d'un groupe électrogène

---

Exploitant

---

Fréquence de passage à l'usine et temps de présence  
Formations suivies

---

**Réseau de distribution**

---

Age

Etat

Temps de séjour de l'eau

---

**Contrôle de la qualité de l'eau**

---

Par l'exploitant

---

Type d'exploitation  
Paramètres mesurés sur l'eau brute (fréquences)  
Paramètres mesurés sur l'eau traitée (fréquences)  
Localisation des points de mesures  
Présence d'alarmes (description des seuils)  
Arrêt de la prise d'eau en cas d'alarme (si oui, quel(s) paramètre(s) et quel(s) seuil(s) ? Arrêt automatique ou manuel

---

Par l'administration

---

Types d'analyses  
Fréquences

---

**Historique d'éventuels incidents**

---

Epidémies d'origine hydrique

---

Nb, dates, durées, pathogènes responsables, causes, nb de cas

---

Défaillances dans la filière de traitement

---

Origine

---

Inondations, fortes précipitations

---

Influence sur la qualité de l'eau brute

---

## VII. ANNEXE 7: ESTIMATION DE LA CONSOMMATION D'EAU DE LA POPULATION

Les tableaux A14, A15 et A16 présentent les résultats de l'enquête de Gofti-laroche *et al.* (2001) sur la consommation d'eau de la population, notamment les paramètres des lois de distribution.

Tableau A14 – Résultats de l'enquête sur la consommation d'eau de boisson en France

	Consommation d'eau du robinet (loi normale)		Consommation totale d'eau de boisson (loi log-normale)	
	Moyenne arithmétique (L/j)	Intervalle de confiance à 95%	Moyenne géométrique (L/j)	Ecart type (L/j)
Enquête hiver	1,55	[0,20 ; 2,90]	1,60	1,73
Enquête printemps	1,78	[0,13 ; 3,43]	1,92	1,70

(Gofti-Laroche *et al.*, 2001)

Ces résultats correspondent à une certaine distribution de la population. La standardisation sur la structure d'âge de la population française donne des résultats sensiblement différents (cf. tableau A22).

Tableau A15 – Consommation d'eau de boisson standardisée sur la population française

		Moyenne L/j	Écart type L/j	Intervalle de confiance à 95% (L/j)
Eau du robinet	Enquête hiver	1,58	0,434	[0,73 ; 2,43]
	Enquête printemps	1,79	0,533	[0,74 ; 2,83]
Eau embouteillée	Enquête hiver	0,84	0,440	[0,0 ; 1,70]
	Enquête printemps	1,08	0,593	[0,0 ; 2,24]
Eau totale	Enquête hiver	1,87	0,589	[0,71 ; 3,02]
	Enquête printemps	2,23	0,787	[0,69 ; 3,77]

(Gofti-Laroche *et al.*, 2001)

De plus, cette étude a permis de caractériser la consommation d'eau de boisson selon les âges et selon la saison (cf. tableau A23).

Tableau A16 – Consommation d'eau de boisson par classes d'âge

		Classe d'âge	Moyenne et écart type L/j	Percentiles L/j (25% - 50% - 95%)
Enquête hiver		0 – 4 ans	0,93 ± 0,60	0,50 – 0,70 – 2,10
		5 – 14 ans	1,42 ± 0,81	0,90 – 1,20 – 3,10
		15 – 59 ans	2,07 ± 0,91	1,50 – 1,90 – 4,10
		> 60 ans	1,78 ± 0,82	1,30 – 1,60 – 3,60
		Population totale	1,83 ± 0,93	1,20 – 1,70 – 3,70
Enquête printemps		0 – 4 ans	1,36 ± 0,87	0,80 – 1,15 – 3,40
		5 – 14 ans	1,71 ± 1,05	1,10 – 1,50 – 3,50
		15 – 59 ans	2,42 ± 1,20	1,70 – 2,20 – 4,80
		>60 ans	2,20 ± 1,25	1,40 – 1,80 – 4,80
		Population totale	2,19 ± 1,20	1,40 – 1,90 – 4,50

(Gofti-Laroche *et al.*, 2001)

## VIII. ANNEXE 8 : LES COÛTS ENGENDRES PAR UNE EPIDEMIE A E. COLI O157:H7

Dans le cadre de l'enquête réalisée pour analyser l'épidémie de Walkerton en mai 2000 (O'Connor, 2002), une étude fut conduite afin de chiffrer les coûts engendrés par une telle épidémie (cf. tableau A17, Livernois, 2002). Le coût total est estimé à 64,5 millions de dollars canadiens, soit 42 millions d'euros, ce coût n'inclut pas d'estimation de la notion de coût de la vie perdue.

Tableau A17 – Coûts économiques engendrés par l'épidémie de Walkerton, mai 2000

Description des dépenses	Coûts (CAN \$)	Coûts (euros) <sup>a</sup>
Dépenses des ménages de Walkerton	6876452	4469694
Dépenses des ménages hors de Walkerton	40497	26323
Perte de valeur immobilière	1106136	718988
Perte due à la baisse d'activité économique de Walkerton	1460139	949090
Perte de productivité	1234296	802292
Coût de l'eau potable embouteillée fournie	4167179	2708666
Séjours à l'hôpital	437872	284617
Visites à l'hôpital	50824	33036
Visites aux médecins	99239	64505
Coût des séquelles à long terme	2497932	1623656
Coûts de l'équipe épidémiologiste	212160	137904
Coût de l'ambulance hélicoptère	159456	103646
Dépenses du ministère de la santé pour l'unité de soins locale	2775000	1803750
Coût de l'assistance au centre de soin local	375000	243750
Coût du rapport du Chief Coroner	509000	330850
Coût de l'étude de santé à Walkerton (non réalisée)	5000000	3250000
Coût des dépenses de laboratoires	645000	419250
Dépenses d'entretien du réseau d'eau	9222215	5994440
Dépenses ultérieures de la municipalité	6548523	4256540
Coût de l'enquête « Walkerton Inquiry »	9000000	5850000
Dépenses administratives	1000000	650000
Coûts d'autres agences	11110184	7221620
<b>Total</b>	<b>64527194</b>	<b>41942676</b>

<sup>a</sup> 1 CAN\$ = 0,65 euros

(Livernois, 2002)

Les dépenses des ménages de Walkerton comprennent :

- Le coût des trajets effectués pour suivre le traitement (à l'hôpital ou chez un médecin),
- L'achat de médicaments,
- Le coût engendré par l'obligation de bouillir l'eau (dépenses d'électricité) et/ou de se fournir en eau (coût du temps passé),
- Le coût des aliments jetés car soupçonnés d'avoir été en contact avec l'eau contaminée,
- Le coût engendré par l'achat d'aliments inhabituels ne nécessitant pas l'utilisation d'eau,
- Le coût des vêtements endommagés par lavage avec l'eau sur-chlorée fournie après l'épidémie,
- Le coût des repas au restaurant ou à emporter pour éviter d'utiliser l'eau,
- Le coût du transport des enfants vers les écoles ou crèches de remplacement pendant la période de fermeture des écoles de Walkerton et du trajet effectué pour éviter d'utiliser les services de Walkerton (douches, laveries,...).

Les dépenses des ménages touchés par l'épidémie mais ne résidant pas à Walkerton se limitent aux trajets effectués pour suivre le traitement et l'achat de médicaments.

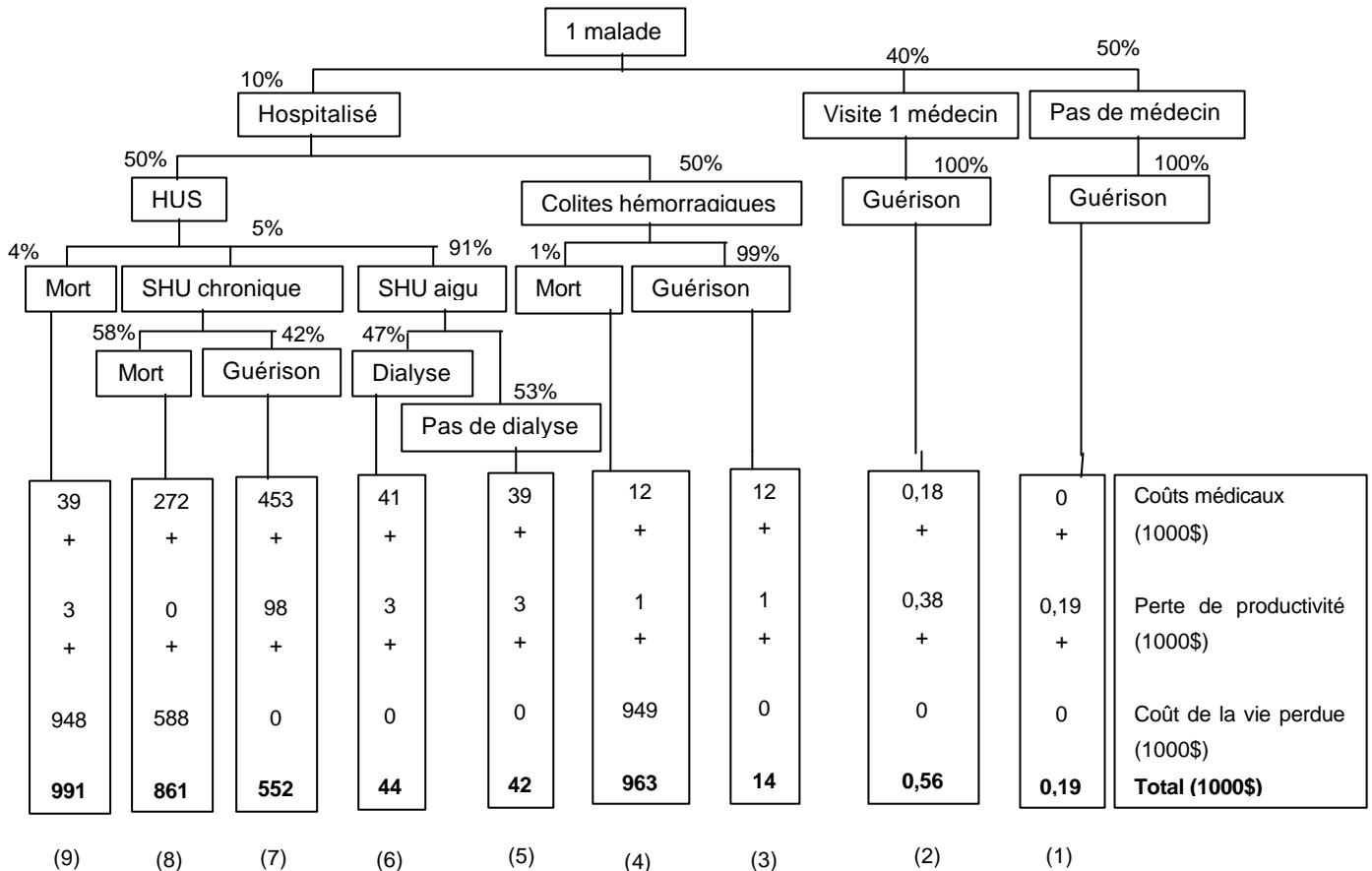
La perte de valeur immobilière est consécutive à la diminution de la demande à venir s'installer dans une ville ayant subi une contamination de son réseau d'eau potable.



Le coût des séquelles à long terme est estimé en considérant qu'un tiers des cas de SHU (27) développeront des séquelles rénales à long terme et que le traitement nécessaire durera 5 ans.

Une étude américaine (Elbasha *et al.*, 2000) a quantifié les coûts liés à une infection par *Escherichia coli* O157:H7 en ajoutant aux dépenses précédemment citées la notion de coût de la vie. Le tableau A18 et la figure A1 récapitulent les coûts occasionnés en fonction de la gravité des symptômes.

Figure A1 – Coûts engendrés par une infection à *E. coli* O157:H7



(Elbasha *et al.*, 2000)

Tableau A18 – Catégories de sévérité de la maladie

Catégorie	Description
(1)	Le patient ne recherche pas de soins médicaux, guérit et manque 2 jours de travail
(2)	Le patient requiert des soins médicaux pour colites hémorragiques, effectue un test en laboratoire, manque 4 jours de travail et guérit
(3)	Le patient est hospitalisé pour colites hémorragiques pendant 6,5 jours, manque 14 jours de travail et guérit
(4)	Le patient est hospitalisé pour colites hémorragiques pendant 6,5 jours, manque 14 jours de travail et meurt dans la première année
(5)	Le patient est hospitalisé pour HUS pendant 5 jours en unité de soins intensifs et 10 jours en chambre normale, manque 32 jours de travail et guérit
(6)	Le patient est hospitalisé pour HUS pendant 5 jours en unité de soins intensifs et 10 jours en chambre normale, nécessite une dialyse pendant 12 jours, manque 32 jours de travail et guérit
(7)	Le patient est hospitalisé pour colites hémorragiques, développe un HUS chronique, peut nécessiter une dialyse, une greffe ou un traitement médicamenteux, ne peut travailler pendant une longue période et guérit
(8)	Le patient est hospitalisé pour colites hémorragiques, développe un HUS chronique, peut nécessiter une dialyse, une greffe ou un traitement médicamenteux, ne peut travailler pendant une longue période et meurt
(9)	Le patient est hospitalisé pour HUS pendant 5 jours en unité de soins intensifs et 10 jours en chambre normale, manque 32 jours de travail et meurt

(Elbasha *et al.*, 2000)

## **IX. ANNEXE 9: FONCTIONNEMENT DU RESEAU DE SURVEILLANCE DU SYNDROME HEMOLYTIQUE ET UREMIQUE**

---

Le syndrome hémolytique et urémique n'est pas caractéristique d'une infection à *Escherichia coli* vérotoxino-gènes (STEC). On rencontre des cas de SHU « atypique », très rare avant l'âge de 2 ans, et de SHU « secondaire » à certains traitements, en particulier suite à des greffes de moelles et/ou à une radiothérapie. Le SHU peut être associé à la grossesse, une chimiothérapie ou une immunodéficience due à infection par un virus humain. Cependant, le SHU « typique » (du à STEC) est de loin le plus fréquent et touche dans 80% des cas des enfants de moins de 3 ans (Loirat, 1999).

Lorsqu'un cas de SHU est identifié dans un des 30 hôpitaux du réseau, un prélèvement de selles et de sérum du malade sont envoyés par courrier rapide à l'hôpital Robert Debré et à l'Unité des entérobactéries de l'Institut Pasteur. Des milieux de transport pour les prélèvements de selles (milieux TGV AER) ont été fournis aux services de néphrologie. De plus, des données cliniques et épidémiologiques sont recueillies par questionnaire (Decludt, 1997).

### **I. RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES**

#### **I.1 DEFINITION D'UN CAS DE SHU ET D'UN CAS D'INFECTION A STEC**

Un cas de SHU a été défini comme toute personne de moins de 15 ans, chez laquelle un diagnostic clinique de SHU (début brutal d'une anémie hémolytique avec insuffisance rénale) a été fait par un néphrologue ou un pédiatre et selon les critères biologiques suivants :

- ❑ Cas certain :
  - Anémie hémolytique et microangiopathique :
    - hémoglobine < 10g/100mL
    - schizocytose  $\geq$  2%
  - Et insuffisance rénale :
    - créatininémie > 60  $\mu$ mol/L si âge < 2 ans, > 70  $\mu$ mol/L si âge  $\geq$  2 ans
    - avec ou sans hématurie > 20000/mL (ou  $\geq$  ++)
    - avec ou sans protéinurie > 1g/L
- ❑ Cas probable
  - Anémie :
    - hémoglobine < 10g/100mL
    - ou plaquettes < 150000/mm<sup>3</sup>
  - Et atteinte rénale :
    - créatininémie > 60  $\mu$ mol/L si âge < 2 ans, > 70  $\mu$ mol/L si âge  $\geq$  2 ans
    - et/ou hématurie > 20000/mL (ou  $\geq$  ++)
    - et/ou protéinurie > 1g/L

Ont été exclus les SHU atypiques, ou secondaires à certains traitements, ou familiaux, ou à rechutes.

Un cas d'infection à STEC a été défini comme toute personne présentant :

- ❑ Un isolement de souches STEC dans les selles

- ❑ Et/ou une détection positive des gènes codant les vérotoxines
- ❑ Et/ou un réponse positive pour les anticorps (IgA, IgM, IgG) dirigée contre un des 26 sérogroupes testés.

## I.2 QUESTIONNAIRE

Pour chaque cas, un questionnaire détaillé est complété par le clinicien et comprend des renseignements ayant trait à : données socio-démographiques, présence d'une diarrhée prodromique, traitements de la diarrhée, dosages biologiques à l'admission, résultats de la coproculture pour les germes recherchés en routine, biopsie rénale, nécessité de transfusions ou dialyse, complications précoces durant l'hospitalisation, situation à la sortie.

## II. RECUEIL DES DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Chaque cas de SHU fait, de plus, l'objet d'une enquête visant à déterminer la cause et le véhicule de l'infection par un STEC (s'il tel est le cas). Le questionnaire recueille les informations suivantes :

- ❑ Fréquentation d'une collectivité et repas à la cantine,
- ❑ Notion d'autres cas de SHU dans l'entourage (famille, crèche, école, village,...) dans les 12 mois précédents,
- ❑ Notion de cas de diarrhée dans l'entourage dans les 30 jours précédant ou suivant le début du SHU,
- ❑ Exposition à des facteurs de risques dans les 15 jours précédant les premiers signes (consommation de lait ou de fromage non pasteurisé, de steak haché et son mode de cuisson, contact avec les animaux de ferme, baignade). L'eau de boisson n'est pas considérée comme un facteur de risque et ne fait pas partie du questionnaire.

## III. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Les prélèvements de selles sont envoyés à l'hôpital Robert Debré pour une recherche du sérotype O157:H7 sur gélose MacConkey-Sorbitol et des autres *E. coli* entéropathogènes classiques par culture. Une recherche directe des gènes codant pour les vérotoxines est réalisée par PCR dans les selles. En cas de recherche PCR positive sur les selles, une PCR identique est réalisée sur les colonies isolées qui sont ensuite identifiées.

A l'Institut Pasteur, une recherche directe par PCR des gènes codant les toxines (STX1, STX2, les variants de STX2, STXe), du gène *eae* codant le mécanisme d'attachement-effacement et du gène *e-hlyA* codant une entérohémolysine (E-Hly) d'*E. coli* est effectuée dans les selles. En cas de positivité de la PCR, la souche productrice de toxine est identifiée par hybridation sur colonies puis un typage par ribotypie des souches identifiées est réalisé.

Les 2 prélèvements de sérum demandés pour chaque malade (à J0, au moment du diagnostic du SHU et entre J15 et J20) sont adressés à l'Institut Pasteur pour une recherche semi-quantitative par « Line-Blot » des anticorps (IgA, IgM, IgG) dirigés contre le lipopolysaccharide (LPS) pour 26 sérogroupes de *E. coli* les plus fréquemment trouvés associés à des SHU : O1, O2, O4, O5, O9, O25, O26, O29, O55, O100, O103, O104, O105, O111, O112, O113, O115, O118, O127, O128, O136, O145, O153, O157, O163, O164.

#### **IV. TRAITEMENTS DES DONNEES**

Les questionnaires sont regroupés et traités par l'Institut de Veille Sanitaire qui publie les résultats tous les ans dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, indiquant ainsi les tendances spatio-temporelles et les STEC le plus souvent isolés.

#### **V. INVESTIGATION DE CAS GROUPES**

Un protocole d'exploration et d'intervention lors de la survenue de cas groupés de SHU a été élaboré par le RNSP (InVS) en concertation avec la Direction Générale de la Santé (DGS) et la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). Une circulaire interministérielle datée du 20 avril 1995, décrivant ce protocole, fut envoyée aux Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) et aux Directions des Services Vétérinaires (DSV).

Ce protocole décrit la marche à suivre lors d'une alerte déclenchée par la survenue de cas de SHU groupés dans le temps et/ou dans l'espace ou si un seul cas de SHU est accompagné d'une épidémie de diarrhée dans l'entourage.

Basée sur le mode d'investigations mises en œuvre lors de maladies d'origine alimentaire, l'enquête doit permettre, dans un premier volet épidémiologique, d'identifier le mode de transmission et la source de l'infection pour orienter, par la suite, les prélèvements alimentaires à réaliser et les études en amont de la chaîne alimentaire.

Si une source de contamination possible est identifiée, une étude cas-témoin est réalisée.

---

# Bibliographie

---

- Barwick R.S., Levy D.A., Craun G.F. *et al.*, 2000, Surveillance for waterborne disease outbreaks – United-States, 1997-1998, *MMWR Surveillance Summaries*, 2000/(SS-4), 1-33
- Bastian, 2002, communication personnelle
- Baudin I., Bernazeau F., Cleret D. *et al.*, Bonnes pratiques en matière de clarification, SPDE Comité scientifique, décembre 1998, 44 p.
- Besser T.E., Richards B.L., Rice D.H., Hancock D.D., 2001, *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission, *Epidemiology and Infection*, 127, 555-560
- Blanco M., Blanco J.E., Blanco J. *et al.*, 1996, Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other verotoxin-producing *E. coli* in healthy cattle, *Epidemiology and Infection*, 117, 251-257
- Bolton D.J., Byrne C.M., Sheridan J.J. *et al.*, 1999, The survival characteristics of a non-toxigenic strain of *Escherichia coli* O157:H7, *Journal of Applied Microbiology*, 86, 407-411
- Bonardi S., Maggi E., Bottarelli A. *et al.*, 1999, Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy, *Veterinary Microbiology*, 67, 203-211
- Boyce T.G., Pemberton A.G., Wells J.G., Griffin P.M., 1995, Screening for *Escherichia coli* O157:H7 – a nationwide survey of clinical laboratories, *Journal of Clinical Microbiology*, 33 (12) 3275-3277
- Brown C.A., Harmon B.G., Zhao T., Doyle P., 1997, Experimental *Escherichia coli* O157:H7 carriage in calves, *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (1) 27-32
- Cassin M.H., Lammerding A.M., Todd E.C.D. *et al.*, 1998, Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* in ground beef hamburgers, *International Journal of Food Microbiology*, 41, 21-44
- Chalmers R.M., Salmon R.L., Willshaw G.A. *et al.*, 1997, Vero-cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in a farmer handling horses, *The Lancet*, 349, 1816
- Chalmers R.M., Parry S.M., Salmon R.L. *et al.*, 1999, The surveillance of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in Wales, 1990 to 1998, *Emerging Infectious Diseases*, 5 (4) 566-569, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no4/chalmers.htm>
- Chapman P.A., Siddons C.A., Cerdan Malo A.T., Harkin M.A., 1997, A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry, *Epidemiology and Infection*, 119, 245-250
- Chiueh L-C., Liu F-M, Yang-Chih Shih D., 2002, Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in feces and raw milk of domestic cattle and sheep, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (1) 39-46
- Cízek A., Alexa P., Literák I. *et al.*, 1999, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle and Norwegian rats from a large-scale farm, *Letters in Applied Microbiology*, 28, 435-439
- Cízek A., Literák I., Scheer P., 2000, Survival of *Escherichia coli* O157 in faeces of experimentally infected rats and domestic pigeons, *Letters in Applied Microbiology*, 31, 349-352
- Coia J., 1998, Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 20, 1-9
- Coleman P., Ebel E., Powell M., Roberts T., Schlosser W., 1998, Preliminary Pathways and Data for a Risk Assessment of *E. coli* O157:H7, <http://www.fsis.usda.gov/ophs/ecolrisk/prelim.htm>

- Cray W.C., Moon H.W., 1995, Experimental infection of calves and adult cattle with *Escherichia coli* O157:H7, *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (4) 1586-1590
- Crockett C.S., Haas C.N., Fazil A., Rose J.B., Gerba C.P., 1996, Prevalence of shigellosis in the U.S.: consistency with dose-response information, *International Journal of Food Microbiology*, 30, 87-99
- Day N.P., Scotland S.M., Cheasty T., Rowe B., 1983, *Escherichia coli* O157:H7 associated with human infections in the United Kingdom, *The Lancet*, 1 (8328) 825
- De Andrade Lima J.R.P., Bigras-Poulin M., Développement d'indices agro-écologiques pour évaluer la pression hygiénique de la production animale dans les régions rurales du Québec, Université de Montréal, 2000, 85 p.
- De Valk H., Decludt B., 1998, Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) – Enquête auprès des laboratoires hospitaliers de bactériologie, <http://www.invs.sante.fr/publications/ehec/index.html>
- Dean-Nystrom E., Bosworth B.T., Cray W.C. Jr, Moon H.W., 1997, Pathogenicity of *Escherichia coli* O157:H7 in the intestines of neonatal calves, *Infection and Immunity*, 65 (5) 1842-1848
- Decludt B., Syndromes hémolytiques et urémiques en France, épidémiologie et agents responsables (avril 1995 – mars 1996), Réseau National de Santé Publique, St Maurice, France, juin 1997, 83 p.
- Dev V.J., Main M., Gould I., 1991, Waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157, *The Lancet*, 337, 1412
- Drinking water inspectorate, 1999, Guidance on assessing the risk from *Cryptosporidium* oocysts in treated water supplies to satisfy the water supply (water quality) (amendment) regulations 1999, 11p., <http://www.dwi.gov.uk/regs/crypto/pdf/risk.pdf>
- Duffy G., Garvey P., Mainil J., Wasteson Y., McDowell D.A., Thomson-Carter F., Sheridan J.J., Coia J., Concerted action CT98-3935 Verocytotoxigenic *E. coli* in Europe, 3. Pathogenicity and virulence of Verocytotoxigenic *E. coli*, Dublin, 2000, <http://www.research.teagasc.ie/STECeurope>
- Effler P., Isaäcson M., Arntzen L. et al., 2001, Factors contributing to the emergence of *Escherichia coli* O157 in Africa, *Emerging Infectious Diseases*, 7 (5) 812-819, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol7no5/effler.htm>
- Elbasha E.H., Fitzsimmons T.D., Meltzer M.I., 2000, Costs and benefits of a subtype-specific surveillance system for identifying *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, *Emerging Infectious Diseases*, 6 (3) 293-297 <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol6no3/elbasha.htm>
- Espié, 2002, communication personnelle
- Faith N.G., Shere J.A., Brosch R. et al., 1996, Prevalence and clonal nature of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farms in Wisconsin, *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (5) 1519-1525
- Feng P., 1995, *Escherichia coli* serotype O157:H7: novel vehicles of infection and emergence of phenotypic variants, *Emerging Infectious Diseases*, 1 (2) <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol1no2/feng.htm>
- Gagliardi J.V., Karns J.S., 2000, Leaching of *Escherichia coli* O157:H7 in diverse soils under various agricultural management practices, *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (3) 877-883
- Garber L., Wells S., Schroeder-Tucker L., Ferris K., 1999, Factors associated with fecal shedding of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on dairy farms, *Journal of Food Protection*, 62 (4) 307-312
- Goffi-Laroche L., Potelon J-L., Da Siva E. et al., 2001, Description de la consommation d'eau de boisson dans certaines communes françaises (étude E.M.I.R.A.), *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*, 49, 411-422

- Haas C.N., Thayyar-Madabusi A., Rose J.B., Gerba C.P., 2000, *International Journal of Food Microbiology*, 1748, 153-159
- Haeghebaert S., Vaillant V., Bouvet P. *et al.*, 2002, Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France , 2000, *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 29, 145-147, [http://www.invs.sante.fr/beh/2002/29/beh\\_29\\_2002.pdf](http://www.invs.sante.fr/beh/2002/29/beh_29_2002.pdf)
- Hancock D.D., Besser T.E., Rice D.H. *et al.*, 1997, A longitudinal study of *Escherichia coli* O157 in fourteen cattle herds, *Epidemiology and Infection*, 118, 193-195
- Hancock D.D., Besser T.E., Rice D.H. *et al.*, 1998, Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feedlots and dairy farms in the Northwestern USA, *Preventive Veterinary Medicine*, 35, 11-19
- Hancock D., Besser T., Lejeune J. *et al.*, 2001, The control of STEC in the animal reservoir, *International Journal of Food Microbiology*, 66, 71-78
- Herriot D.E., Hancock D.D., Ebel E.D. *et al.*, 1998, Association of herd management factors with colonization of dairy cattle by Shiga toxin-positive *Escherichia coli* O157, *Journal of Food Protection*, 61 (7) 802-807
- Heuvelink A.E., van den Biggelaar F.L.A.M., de Boer E. *et al.*, 1998a, Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep, *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (4) 878-882
- Heuvelink A.E., van den Biggelaar F.L.A.M., Zwartkruis-Nahuis J.T.M. *et al.*, 1998b, Occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms, *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (12) 3480-3487
- Himathongkham S., Bahari S., Riemann H., Cliver D., 1999, Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry, *FEMS Microbiology Letters*, 178, 251-257
- Höller C., Koschinsky S., Witthuhn D., 1999, Isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* from municipal sewage, *The Lancet*, 353, 2039
- Hovde C.J., Austin P.R., Cloud K.A. *et al.*, 1999, Effect of cattle diet on *Escherichia coli* O157:H7 acid resistance, *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (7) 3233-3235
- Iijima Y., Matsumoto M., Higuchi K. *et al.*, 1998, Resistance to dryness of *Escherichia coli* O157:H7 strains from outbreak in Sakai City, Japan, 1996, *Emerging Infectious Diseases*, 4 (2) 340-341, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no2/letters.htm#Resistance>
- Jackson S.G., Goodbrand R.B., Johnson R.P. *et al.*, 1998, *Escherichia coli* O157:H7 diarrhoea associated with well water and infected cattle on an Ontario farm, *Epidemiology and Infection*, 120, 17-20
- Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S., 1983, Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada, *The Lancet*, 1 (8314-5) 76
- Karch H., Rüssmann H., Schmidt H. *et al.*, 1995, Long-term shedding and clonal turnover of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in diarrheal diseases, *Journal of Clinical Microbiology*, 33 (6) 1602-1605
- Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C., 1983, Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools, *The Lancet*, 1, 619-620
- Kerr M., Fitzgerald M., Sheridan J.J. *et al.*, 1999, Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in bottled natural mineral water, *Journal of Applied Microbiology*, 87, 833-841

- Kudva I.T., Hatfield P.G., Hovde C.J., 1996, *Escherichia coli* O157:H7 in microbial flora of sheep, *Journal of Clinical Microbiology*, 34 (2) 431-433
- Kudva I.T., Hunt C.W., Williams C.J. *et al.*, 1997, Evaluation of dietary influences on *Escherichia coli* O157:H7 shedding by sheep, *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (10) 3878-3886
- Kudva I.T., Blanch K., Hovde C.J., 1998, Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry, *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (9) 3166-3174
- Kurokawa K., Tani K., Ogawa M., Nasu M., 1999, Abundance and distribution of bacteria carrying *stxII* gene in natural river water, *Letters in Applied Microbiology*, 28, 405-410
- Lahti E., Keskimäki M., Rantala L. *et al.*, 2001, Occurrence of *Escherichia coli* O157 in Finnish cattle, *Veterinary Microbiology*, 79, 239-251
- Law D., 2000, Virulence factors of *Escherichia coli* O157 and other Shigatoxin-producing *E. coli*, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 729-745
- Lejeune J.T., Besser T.E., Hancock D.D., 2001, Cattle water troughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157, *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (7) 3053-3057
- Leung P.H.M., Yam W.C., Ng W.W.S., Peiris J.S.M., 2001, The prevalence and characterization of verotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and pigs in an abattoir in Hong Kong, *Epidemiology and Infection*, 126, 173-179
- Licence K., Oates K.R., Synge B.A., Reid T.M.S., 2001, An outbreak of *E. coli* O157 infection with evidence of spread from animals to man through contamination of a private water supply, *Epidemiology and Infection*, 126, 135-138
- Lisle J.T., Broadway S.C., Prescott A.M. *et al.*, 1998, Effects of starvation on physiological activity and chlorine disinfection resistance in *Escherichia coli* O157:H7, *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (12) 4658-4662
- Lisle J.T., Pyle B.H., McFeters G.A., 1999, The use of multiple indices of physiological activity to assess viability in chlorine disinfected *Escherichia coli* O157:H7, *Letters in Applied Microbiology*, 29, 42-47
- Livernois J., 2002, The economic costs of the Walkerton water crisis, Ministère de l'Attorney Général de l'Ontario, 53 p., <http://www.walkertoninquiry.com/part2info/commissuepapers/13livernois/14-Livernois1.pdf>
- Locking M.E., O'Brien S.J., Reilly W.J. *et al.*, 2001, Risk factors for sporadic cases of *Escherichia coli* O157 infection: the importance of contact with animal excreta, *Epidemiology and Infection*, 127, 215-220
- Loirat C., Bastian S., Andral B., 1999, *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC): quels risques en France ? *Entretiens de Bichat 99 – Thérapeutique*, 250-254/ Tables Rondes
- MacDonald I.A.R., Gould I.M., Curnow J., 1996, Epidemiology of infection due to *Escherichia coli* O157: a 3-year prospective study, *Epidemiology and Infection*, 116, 279-284
- Mahon B.E., Griffin P.M., Mead P.S., Tauxe R.V., 1997, Hemolytic uremic syndrome surveillance to monitor trends in infection with *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli*, *Emerging Infectious Diseases*, 3 (3) 409-412, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/letters.htm#mahon>
- Mattar S., Vásquez E., 1998, *Escherichia coli* O157:H7 Infection in Colombia, *Emerging Infectious Diseases*, 4 (1) 126-127, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no1/letters.htm#mattar>
- Mead P.S., Griffin P.M., 1998, *Escherichia coli* O157:H7, *The Lancet*, 352, 1207-1212
- Mechie S.C., Chapman P.A., Siddons C.A., 1997, A fifteen month study of *Escherichia coli* O157:H7 in a dairy herd, *Epidemiology and Infection*, 118, 17-25



- Meyer-Broseta S., Bastian S.N., Arné P.D. *et al.*, 2001, Review of epidemiological surveys on the prevalence of contamination of healthy cattle with *Escherichia coli* serogroup O157:H7, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203, 347-361
- Meyer-Broseta, 2002, communication personnelle
- Michel P., Wilson J.B., Martin S.W. *et al.*, 1999, Temporal and geographical distributions of reported cases of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Ontario, *Epidemiology and Infection*, 122, 193-200
- Moake J.L., 1994, Haemolytic-uraemic syndrome: basic science, *The Lancet*, 343, 393-397
- Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1983, 32 (10) 133-134, International notes outbreak of hemorrhagic colitis – Ottawa, Canada, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001271.htm>
- Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1986, 35 (34) 549-551, Epidemiologic notes and reports thrombotic thrombocytopenic purpura associated with *Escherichia coli* O157:H7 – Washington, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000787.htm>
- Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1994, 43 (10) 192-194, *Emerging Infectious Diseases* laboratory screening for *Escherichia coli* O157:H7 – Connecticut, 1993, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00025772.htm>
- Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1995, 44 (22) 417-418, Enhanced detection of sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infections – New Jersey, July 1994, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00037182.htm>
- Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1999, 48 (36) 803-804, Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter* among attendees of the Washington County Fair – New York, 1999, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4836a4.htm>
- Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2001, 50 (15) 293-297, Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infections children associated with farm visits – Pennsylvania and Washington, 2000, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5015a5.htm>
- Nauta M.J., Evers E.G., Takumi K., Havelaar A.H., 2001, Risk assessment of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157 in steak tartare in the Netherlands, RIVM report 257851003/2001, <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/257851003.html>
- Newburg D.S., Chaturvedi P., Lopez E.L. *et al.*, 1993, Susceptibility to hemolytic-uremic syndrome relates to erythrocyte glycosphingolipid patterns, *Journal of Infectious Diseases*, 168, 476-479
- O'Brien S.J., Adak G.A., 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, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol7no6/obrien.htm>
- O'Connor D.R., Rapport de la Commission d'enquête sur Walkerton: les événements de mai 2000 et les questions connexes, Ministère du procureur général de l'Ontario, 2002, 36 p., [http://www.walkertoninquiry.com/report1/french/french\\_summary.pdf](http://www.walkertoninquiry.com/report1/french/french_summary.pdf)
- Ogden I.D., Fenlon D.R., Vinten A.J.A., Lewis D., 2001, The fate of *Escherichia coli* O157 in soil and its potential to contaminate drinking water, *International Journal of Food Microbiology*, 66, 111-117
- Olsen S.J., Miller G., Breuer T. *et al.*, 2002, A waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and hemolytic uremic syndrome: implications for rural water systems, *Emerging Infectious Diseases*, 8 (4) 370-375, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol8no4/00-0218.htm>
- Pai C.H., Kelly J.K., Meyers G.L., 1986, Experimental infection of infants rabbits with verotoxin-producing *Escherichia coli*, *Infection and Immunity*, 51 (1) 16-23

- Parry S.M., Salmon R.L., 1998, Sporadic STEC O157 infection: secondary household transmission, *Emerging Infectious Diseases*, 4 (4) 657-661, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no4/parry.htm>
- Parry S.M., Salmon R.L., Willshaw G.A., Cheasty T., 1998, Risks factors for and prevention of sporadic infections with vero cytotoxin (shiga toxin) producing *Escherichia coli* O157, *The Lancet*, 351, 1019-1022
- Porter J., Mobbs K., Hart C.A. *et al.*, 1997, Detection, distribution and probable fate of *Escherichia coli* O157 from asymptomatic cattle on a dairy farm, *Journal of Applied Microbiology*, 83, 297-306
- Powell M.R., Ebel E., Schlosser W., Walderhaug M., Kause J., 2000, Dose-response envelope for *Escherichia coli* O157:H7, *Quantitative Microbiology*, 2, 141-163
- Powelson D.K., Mills A.L., 2001, Transport of *Escherichia coli* in sand columns with constant and changing water contents, *Journal of Environmental Quality*, 30, 238-245
- Rabatsky-Ehr T., Dingman D., Marcus R. *et al.*, 2002, Deer meat as the source for a sporadic case of *Escherichia coli* O157:H7 infection, Connecticut, *Emerging Infectious Diseases*, 8 (5) 525-527, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol8no5/01-0373.htm>
- Rahn K., Renwick S.A., Johnson R.P. *et al.*, 1997, Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy cattle and the dairy farm environment, *Epidemiology and Infection*, 119, 251-259
- Rice E.W., Clark R.M., Johnson C.H., 1999, Chlorine inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Emerging Infectious Diseases*, 5 (3) 461-463, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no3/rice.htm>
- Richards M.S., Corkish J.D., Sayers A.R. *et al.*, 1998, Studies of the presence of verocytotoxic *Escherichia coli* O157 in bovine faeces submitted for diagnostic purposes in England and Wales and on beef carcasses in abattoirs in the United Kingdom, *Epidemiology and Infection*, 120, 187-192
- Riley L.W., Remis R.S., Helgerson S.D. *et al.*, 1983, Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype, *The New England Journal of Medicine*, 308 (12) 681-685
- Roseberry A., Burmaster D.E., 1992, Log-normal distributions for water intake by children and adults, *Risk Analysis*, 12, 99-104
- Rowe P.C., Orrbine E., Lior H. *et al.*, 1998, Risk of hemolytic uremic syndrome after sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection : Results of a Canadian collaborative study, *The Journal of Pediatrics*, 132 (5) 777-782
- Russel Walker Jr F., Stedinger J.R., 1999, Fate and transport model of *Cryptosporidium*, *Journal of Environmental Engineering*, 125 (4) 325-333
- Sanderson M.W., Besser T.E., Gay J.M. *et al.*, 1999, Fecal *Escherichia coli* O157:H7 shedding patterns of orally inoculated calves, *Veterinary Microbiology*, 69, 199-205
- Schurman R.D., Hariharan H., Heany S.B., Rahn K., 2000, Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Beef cattle slaughtered on Prince Edward Island, *Journal of Food Protection*, 63 (11) 1583-1586
- Smith D., Blackford M., Younts S. *et al.*, 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*, 64 (12) 1899-1903
- Sommer R., Lhotsky M., Haider T., Cabaj A., 2000, UV inactivation, liquid-holding recovery, and photoreactivation of *Escherichia coli* O157 and other pathogenic *Escherichia coli* strains in water, *Journal of Food Protection*, 63 (8) 1015-1020

- Stephan R., Ragetti S., Untermann F., 2000, Prevalence and characteristics of verotoxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in stool samples from asymptomatic human carriers working in the meat processing industry in Switzerland, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 335-341
- Strachan N.J.C., Fenlon D.R., Ogden I.D., 2001, Modelling the vector pathway and infection of humans in an environmental outbreak of *Escherichia coli* O157, *FEMS Microbiology Letters*, 203, 69-73
- Strachan N.J.C., Dunn G.M., Ogden I.D., 2002, Quantitative risk assessment of human infection from *Escherichia coli* O157 associated with recreational use of animal pasture, *International Journal of Food Microbiology*, 75, 39-51
- Su C., Brandt L.J., 1995, *Escherichia coli* O157:H7 Infection in humans, *Annals of Internal Medicine*, 123 (9) 698-714
- Sutra L., Federighi M., Jouve J.L., Manuel de bactériologie alimentaire, Polytecnica, Paris, 1998, p 81-105
- Swerdlow D.L., Woodruff B.A., Brady R.C. *et al.*, 1992, A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death, *Annals of Internal Medicine*, 117 (10) 812-819
- Swerdlow D.L., Griffin P.M., 1997, Duration of faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 among children in day-care centres, *The Lancet*, 349, 745-746
- Technical Services Division, PHLS Headquarters, 2002, PHLS Standard operating procedure – Detection of *Escherichia coli* O157, 12 p., <http://www.phls.co.uk/dir/hq/sops/wsops/wsop16i2.pdf>
- Terajima J., Izumiya H., Wada A. *et al.*, 1999, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in Japan, *Emerging Infectious Diseases*, 5 (2) 301-302, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no2/letters.htm#Terajima>
- Thran B.H., Hussein H.S., Hall M.R., Khaiboullina F., 2001, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef heifers grazing an irrigated pasture, *Journal of Food Protection*, 64 (10) 1613-1616
- Tosa K., Hirata T., 1999, Photoreactivation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* following UV disinfection, *Water Research*, 33 (2) 361-366
- Tuttle J., Gomez T., Doyle M.P. *et al.*, 1999, Lessons from a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections: insights into the infectious dose and method of widespread contamination of hamburgers patties, *Epidemiology and Infection*, 122, 185-192
- US EPA, 2001, Discussion draft – Developing strategy for waterborne microbial disease, 15 p., <http://www.epa.gov/ost/criteria/microbialdraft.pdf>
- Valcour J.E., Michel P., McEwen S.A., Wilson J.B., 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, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol8no3/01-0159.htm>
- Vernozy-Rozand C., Montet M-P., *Escherichia coli* O157:H7, Tec et Doc, Paris, 2001, 135 p.
- Vernozy-Rozand C., Montet M.P., Ray-Gueniot S., 2002, Présence d'*E. coli* O157:H7 dans l'eau : un problème en santé publique, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153 (4) 235-242
- Vernozy-Rozand, 2002, communication personnelle
- Villey-Desmeserets F., Ballay D., Henry de Villeneuve C., Tricard D., Le Lourd Ph., La politique de préservation de la ressource en eau destinée à la consommation humaine, La Documentation Française, Paris, 2001, 402 p.
- Volatier J-L., Enquête INCA (enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires, Collection AFSSA), Tec & Doc, Paris, 2000, 158p.

- Wang G., Zhao T., Doyle M.P., 1996, Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces, *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (7) 2567-2570
- Wang G., Doyle M.P., 1998, Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water, *Journal of Food Protection*, 61 (6) 662-667
- Warbuton D.W., Austin J.W., Harrison B.H., Sanders G., 1998, Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated bottled water, *Journal of Food Protection*, 61 (8) 948-952
- Willshaw G., Smith H.R., Cheasty T. *et al.*, 1997, Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 outbreaks in England and Wales, 1995: phenotypic methods and genotypic subtyping, *Emerging Infectious Diseases*, 3 (4) 561-565, <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no4/willshaw.htm>
- Zhao T., Doyle M.P., Shere J., Garber L., 1995, Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds, *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (4) 1290-1293
- Zhao T., Doyle M.P., Harmon B.G. *et al.*, 1998, Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria, *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (3) 641-647
- Zhao T., Doyle M.P., Zhao P. *et al.*, 2001, Chlorine inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in water, *Journal of Food Protection*, 64 (10) 1607-1609