

Portage des *Escherichia coli* entérohémorragiques par les ruminants et effet de probiotiques

Evelyne Forano¹, Frédérique Chaucheyras-Durand^{1,2}, Yolande Bertin¹ et Christine Martin¹

¹ INRA, UR 454 Microbiologie, Centre de Recherches de Clermont-Ferrand/Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France

² Lallemand Animal Nutrition, 19 rue des Briquetiers, 31702 Blagnac, France

Auteur correspondant : Evelyne Forano, evelyne.forano@clermont.inra.fr

Reçu le 2 septembre 2013

Résumé – Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont à l'origine de toxico-infections alimentaires qui peuvent conduire à des séquelles graves, notamment chez les jeunes enfants. Le réservoir principal des EHEC est le tube digestif des ruminants. Le contenu digestif et/ou la matière fécale des bovins sont à l'origine de la contamination de la viande et du lait, ou des fruits et légumes. Des épidémies importantes sont survenues ces dernières années en France. Au Brésil, bien que le portage des STEC (*Shiga-Toxin-producing E. coli*) soit élevé chez les ruminants, les infections humaines dues aux souches EHEC sont rares. En vue de limiter le portage sain par les ruminants, l'effet de différents probiotiques est testé *in vitro* sur la croissance et la survie des EHEC, et *in vivo* sur le portage animal de ces souches. Différents auteurs ont ainsi montré que des bactéries lactiques ou des souches d'*E. coli* non pathogènes pouvaient limiter l'excrétion fécale de souches EHEC. Par ailleurs, dans le cadre de l'étude de la physiologie des EHEC dans leur réservoir naturel, nous avons découvert que, dans l'intestin des bovins, les EHEC O157:H7 ont la capacité d'utiliser respectivement l'éthanolamine et les sucres dérivés du mucus comme sources d'azote et de carbone. Ainsi, ces substrats représentent une niche écologique pour les EHEC, et leur utilisation leur confère un avantage nutritionnel compétitif qui participe à leur persistance dans l'intestin. L'étude du métabolisme des EHEC dans le tractus gastro-intestinal bovin permettra à terme de proposer des souches probiotiques compétitrices des EHEC pour l'utilisation des nutriments, afin de limiter la survie des EHEC dans leur réservoir naturel, et ainsi réduire le risque sanitaire.

Mots clés : EHEC / *Escherichia coli* / ruminant / portage de pathogènes / probiotiques

Abstract – EHEC carriage in ruminants and probiotic effects.

Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) are *Shiga-Toxin producing E. coli* (STEC) that cause human outbreaks which can lead to a severe illness such as haemolytic-uraemic syndrome (HUS), particularly in young children. The gastrointestinal tract of cattle and other ruminants is the principal reservoir of EHEC strains and outbreaks have been associated with direct contact with the farm environment, and with the consumption of meat, dairy products, water and fruit or vegetable contaminated with ruminant manure. Several outbreaks occurred these last years in France. In Brazil, although STEC carriage in ruminants is important, human cases due to EHEC are fairly rare. In order to reduce EHEC survival in the ruminant gastrointestinal tract and thus limit contamination of food products, it is necessary to determine the mechanisms underlying EHEC persistence in this ecosystem with the aim of developing nutritional or ecological strategies. The effect of probiotics has been tested *in vitro* on the growth and survival of EHEC strains and *in vivo* on the animal carriage of these strains. Various studies have then shown that lactic bacteria or non-pathogenic *E. coli* strains were able to limit EHEC fecal shedding. In addition,

understanding EHEC physiology in the ruminant gut is also critical for limiting EHEC shedding. We found that EHEC O157:H7 is able to use ethanolamine and mucus-derived sugars as nitrogen and carbon sources, respectively. Thus, these substrates represent an ecological niche for EHEC and their utilization confers a competitive growth advantage to these pathogens as they use them more rapidly than the bacteria belonging to the resident intestinal microbiota. Understanding EHEC metabolism and ecology in the bovine intestinal tract will allow proposing probiotic strains to compete with EHEC for nutrients and thus decrease the sanitary risk.

Key words: EHEC / *Escherichia coli* / ruminant / pathogen carriage / probiotics

Introduction

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables de toxi-infections alimentaires pouvant évoluer vers des pathologies graves telles que le syndrome hémolytique et urémique, principalement chez le jeune enfant. Les EHEC de sérotype O157:H7 sont en général les souches responsables de la plupart des cas de pathologies sévères. Elles produisent dans l'intestin humain des Shiga toxines (Stx) qui ciblent les cellules des reins ou du cerveau et sont responsables des effets cliniques (Gyles, 2007). D'autres sérotypes de *E. coli* produisent des Shiga toxines, ce sont les *Shiga-toxin producing E. coli* ou STEC, qui peuvent être également incriminées dans des cas cliniques sporadiques ou des épidémies (telles que les O26:H11). L'ensemble de ces souches survit dans le tractus gastro-intestinal du ruminant sain, insensible à ces toxines et qui constitue le principal réservoir de ces pathogènes. Les STEC sont ensuite disséminés essentiellement par excrétion dans les matières fécales (Hussein, 2007; Callaway *et al.*, 2009) et contamination consécutive des produits animaux (carcasses, lait). La contamination de divers végétaux est également rapportée (Ferens & Hovde, 2011).

Les STEC semblent relativement bien adaptées à la survie tout au long du tractus digestif de l'animal. Même si la caillette (*abomasum* ou estomac) est un compartiment dans lequel les conditions physico-chimiques peuvent être défavorables à la survie bactérienne (pH très bas après le repas), certaines souches STEC acido-résistantes sont capables de transiter vivantes dans les compartiments postérieurs (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2010) et des STEC ont été retrouvées dans l'intestin grêle, le cæcum, le côlon, et le rectum (Keen *et al.*, 2010). Un bref séjour dans le contenu du rumen, en conditions modérément acides, suffit à l'induction de mécanismes de résistance à l'acidité chez des souches acido-sensibles, ce qui rendrait celles-ci plus aptes à survivre au passage dans la caillette (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2010). Il semble que la partie terminale du tube digestif, en particulier la zone recto-anale, puisse être le site privilégié de

colonisation et de multiplication des O157:H7 chez le bovin (Naylor *et al.*, 2003).

Limiter le portage sain par les ruminants, et donc l'excrétion fécale de ces pathogènes permettrait de limiter leur propagation dans la chaîne alimentaire de l'homme. Une connaissance approfondie de la physiologie et de l'écologie des EHEC dans leur réservoir naturel, le tube digestif des bovins, devrait permettre à terme de proposer des stratégies nutritionnelles visant à limiter le portage. Dans ce cadre, l'utilisation de souches probiotiques capables d'inhiber la survie ou la prolifération des STEC dans le tube digestif animal est une stratégie intéressante que nous testons.

Portage animal des STEC/EHEC

Le taux de portage ainsi que la diversité des souches STEC ou EHEC retrouvées chez les ruminants varient de façon importante selon la zone géographique, mais aussi dans le temps, et en particulier avec les saisons (Gyles, 2007; Callaway *et al.*, 2009). Par exemple, la prévalence de souches potentiellement pathogènes peut varier de 5 % durant l'hiver jusqu'à 80 % dans l'été chez des bovins à l'engraissement type « *feedlot* » (Callaway *et al.*, 2009). Globalement, le portage de STEC est élevé dans de nombreux pays européens et en Amérique du Nord, et aux USA et Canada, la prévalence de O157:H7 est également élevée (Hussein, 2007; Ferens & Hovde, 2011). Aux USA, le CDC (*Center for Disease Control*) rapporte pour l'année 2010 environ 1000 cas d'infections à EHEC avérées, la moitié de ces cas étant due au sérotype O157:H7 (http://www.cdc.gov/foodnet/PDFs/2010_annual-report_508c.pdf).

En France, une recrudescence d'épidémies à EHEC a été observée ces dernières années. Les épidémies les plus récentes ont impliqué la consommation de steaks hachés contaminés par des O157:H7 (Juin 2011 à Lille; Juin 2012 en région Aquitaine), et également un nouveau pathovar produisant des Shiga toxines, O104:H4, à l'été 2011 à Bordeaux, dans le cadre de l'épidémie européenne causée par des graines de fenugrec germées (King *et al.*, 2012).

Un nombre limité de travaux a quantifié le portage des STEC par le cheptel bovin français. Ce portage a été quantifié en 1996–1997 à 70 % sur des fèces de bovins à l'abattoir testés par PCR des gènes *stx*, ou à 34 % sur ces mêmes animaux lorsqu'il est évalué par isolement des souches. Seules 0,5 % de ces souches étaient des O157:H7 (Pradel *et al.*, 2000). En 2003–2004, 35 % des fèces des troupeaux de vaches laitières testés étaient *stx*+ par PCR, et le sérotype O157:H7 concernait 1,7 % des prélèvements (Raynaud *et al.*, 2005). Une étude plus récente (2010–2011) a détecté 67 % de STEC (PCR *stx*+) chez des animaux à l'abattoir, avec 2,3 % d'EHEC potentielles isolées (Bibbal & Cartier, 2012).

Au Brésil, il existe relativement peu de travaux concernant le portage des STEC chez les ruminants. Ceci s'explique sans doute par le fait que très peu de cas d'infections humaines à EHEC ont été identifiés dans ce pays. Une étude de prévalence des souches STEC réalisée sur 14 troupeaux de vaches laitières et de bovins à viande, et sur un abattoir dans l'état de Rio de Janeiro en 1996–1997, montre la présence de gènes *stx* dans les fèces de plus de 70 % des animaux (Cerqueira *et al.*, 1999). Une autre étude sur des troupeaux de vaches laitières dans l'état de Sao Paulo détecte ces gènes chez 25 % des animaux (Iriño *et al.*, 2005), alors que dans l'état de Minas Gerais, Oliveira *et al.* (2007) montrent, chez des troupeaux de buffles, un taux de portage très variable selon les fermes. En conclusion de ces travaux, il semble que la prévalence des STEC est très variable selon les troupeaux, de 0 à 85 %, et une grande diversité de sérotypes est retrouvée. La prévalence du sérotype O157:H7 est très faible, de 0,6 à 1,5 %.

La prévalence des souches STEC chez les ruminants au Brésil est finalement assez proche de celle mesurée en France. Néanmoins, peu de cas cliniques ont été identifiés : en 2000–2002, trois cas d'infections à O103:H2 chez des enfants ont été rapportés, et, depuis, quelques cas incriminant des souches O157:H7 ont été notés (Souza *et al.*, 2007). Cependant, la réelle incidence des infections à O157:H7 et non O157 est difficile à évaluer car il n'existe pas d'épidémiologie-surveillance au Brésil, et relativement peu de laboratoires savent rechercher et identifier ces souches. Il semble donc nécessaire d'approfondir les travaux sur le portage et l'incidence des STEC au Brésil et de proposer des mesures préventives, car le risque existe.

L'hétérogénéité de la prévalence mesurée selon les études dans les différents pays provient probablement d'une réelle variabilité individuelle de portage de STEC selon les animaux et la période considérée, mais est également compliquée par le fait que les méthodes d'échantillonnage ainsi que celles utilisées pour détecter ce pathogène potentiel (PCR des gènes *stx*, dénombrement et isolement sur milieux

spécifiques, séparation immunomagnétique...) sont différentes selon les études (Ferens & Hovde, 2011).

Effet de probiotiques sur le portage digestif de STEC chez les ruminants.

Parmi les stratégies de réduction du risque de contamination à l'Homme, limiter la persistance des STEC au sein du tractus digestif du ruminant pourrait constituer une approche intéressante et efficace. Dans ce but, différentes souches microbiennes ont été proposées pour limiter le portage animal et donc l'excrétion des STEC au niveau fécal. Ce sont principalement des bactéries lactiques (*L. acidophilus*, *L. crispatus*), mais d'autres espèces comme *Escherichia coli*, *Propionibacterium freudenreichii*, ou des levures ont été également évaluées. *In vitro*, l'inhibition de la croissance des STEC par certaines souches a pu être mise en évidence (Bach *et al.*, 2003; Brashers *et al.*, 2003; Chaucheyras-Durand *et al.*, 2006). *In vivo*, les souches antagonistes sont évaluées sur la réduction de l'excrétion fécale de souches STEC inoculées expérimentalement ou de souches naturellement présentes, mais celle-ci varie grandement d'un animal à l'autre en fonction du temps, ce qui rend souvent difficile l'interprétation des résultats. Tkalcic *et al.* (2003) et Zhao *et al.* (2003) ont étudié l'effet d'une combinaison de souches d'*E. coli* sur l'excrétion fécale de souches provenant de différents sérotypes de STEC (O157:H7, O26:H11 et O111:NM) inoculées chez des veaux d'une semaine ou chez des veaux sevrés de 8 à 10 semaines. Chez les jeunes veaux, l'excrétion des souches de O26:H11 et de O111:NM a pu être diminuée avec l'apport de la combinaison d'*E. coli*, alors qu'aucun effet n'était observé pour les O157:H7 (Zhao *et al.*, 2003). Chez les veaux sevrés, une réduction substantielle des niveaux de populations des souches O157:H7 et O111:NM a pu être mesurée avec la combinaison d'*E. coli*, mais aucun effet n'a été observé pour les O26:H11 (Tkalcic *et al.*, 2003). Toutes les autres études publiées ont été conduites chez le bovin en engraissement intensif (*feedlot*) et ont ciblé le sérogroupe O157. Younts-Dahl *et al.* (2005) ont administré un cocktail de souches de *L. acidophilus* NP51 et *P. freudenreichii* et ont pu mettre en évidence une baisse significative de la prévalence des *E. coli* O157 au niveau fécal, cette baisse étant dépendante de la dose de *L. acidophilus* administrée (la dose 10⁹/j/animal étant la plus efficace). Une étude récente (Cull *et al.*, 2012) a conclu que le produit actuellement commercialisé incluant ces deux souches mais avec une plus faible dose de *L. acidophilus* (10⁶/j/animal) n'a pas permis de réduire la prévalence de O157. Utilisant une autre souche de *L. acidophilus* (BT-1386 à 10⁹ ufc/j/animal) combinée

à *P. freudenreichii* (10^9 ufc/j/animal), Tabe *et al.* (2008) ont montré un effet positif de celle-ci sur l'excrétion fécale d'*E. coli* O157:H7.

Les mécanismes d'action des probiotiques sur la réduction de l'excrétion des STEC ne sont encore actuellement que très mal connus. Le phénomène d'exclusion compétitive a été décrit comme potentiellement participant à l'efficacité des probiotiques (McAllister *et al.*, 2011). En effet, les souches O157:H7 utilisent spécifiquement certains nutriments dans le contenu intestinal bovin (Bertin *et al.*, 2011, 2013), ce qui leur permet d'assurer leur survie au sein du tractus digestif. Ainsi, les probiotiques pourraient utiliser ces mêmes nutriments et ainsi limiter la persistance des STEC. Le métabolisme des microorganismes probiotiques pourrait également être impliqué dans les effets observés. En effet, des acides organiques (lactique, acétique, propionique), produits au cours des fermentations, ont été évoqués comme facteurs inhibiteurs possibles dans des études *in vitro* ou en modèle de souris dépourvues de flore digestive (Fukuda *et al.*, 2011). Néanmoins, le milieu digestif, du fait de l'activité fermentaire du microbiote autochtone, renferme souvent déjà ces composés en concentration importante. L'effet de peptides antimicrobiens (bactériocines) sécrétés par les souches probiotiques pourrait être une piste intéressante (McAllister *et al.*, 2011) mais il faudra démontrer leur production *in vivo*. La compétition pour l'adhérence à la paroi intestinale pourrait également participer à l'effet des probiotiques. Il a par exemple été montré que l'adhérence préalable de *L. acidophilus* R0052 et de *L. rhamnosus* R0011 à des cellules intestinales en culture permettait d'inhiber la colonisation d'*E. coli* O157:H7 (Sherman *et al.*, 2005). Il est également possible que la paroi de certains probiotiques puisse interagir avec les *fimbriae* produits à la surface des cellules de STEC et ainsi emprisonner celles-ci, comme cela a été décrit pour la levure *Saccharomyces boulardii* (Gedek, 1999). Les probiotiques pourraient également moduler l'expression de gènes impliqués dans la survie ou la virulence des STEC. Ainsi, des molécules sécrétées par *L. acidophilus* La-5 ont réduit l'expression de gènes impliqués dans la colonisation et le *quorum sensing* chez *E. coli* O157:H7 (Medellin-Pena *et al.*, 2007, 2009). Des surnageants de culture de *L. reuteri* ont réprimé l'expression d'un régulateur clé impliqué dans le phénomène d'attachement et d'effacement des villosités intestinales (Jelcic *et al.*, 2008). Enfin, les probiotiques ont pour intérêt de moduler l'équilibre de la flore digestive autochtone dans un sens favorable à l'animal hôte (Chaucheyras-Durand & Durand, 2010). Dans ce contexte, ils pourraient influencer les interactions entre microbiote commensal, STEC et paroi digestive de l'animal, et ainsi permettre de limiter la persistance des STEC soit en

stimulant l'effet barrière du microbiote, soit en activant la réponse immunitaire au niveau local. Cependant, jusqu'à présent, aucun de ces mécanismes n'a réellement été démontré *in vivo* chez le ruminant.

Niche écologique des EHEC dans le tractus gastro-intestinal de l'animal

Des stratégies nutritionnelles peuvent être envisagées afin de limiter la persistance des EHEC au sein du tractus digestif du ruminant et ainsi réduire le risque de contamination des aliments. En effet, chez le mammifère, il existe une très forte compétition nutritionnelle parmi les bactéries du microbiote intestinal. Selon la théorie de Freter, chaque espèce bactérienne du tube digestif doit utiliser un ou quelques nutriments plus efficacement que les autres espèces afin de pouvoir se maintenir dans cet écosystème très complexe (Freter *et al.*, 1983). Une diminution du développement bactérien peut ainsi être envisagée en limitant les nutriments favorisant la multiplication des EHEC soit en modifiant la ration alimentaire de l'animal, soit en complétant leur alimentation par des probiotiques ayant une forte affinité pour les nutriments ciblés. Cependant, nous disposons de peu de données nous permettant de connaître les sources de nutriments utilisés et les voies métaboliques privilégiées par les EHEC pour assurer leur survie et éventuellement leur prolifération au cours de leur transit dans l'intestin du ruminant. Des infections expérimentales ont montré que les gènes codant le transport spécifique de la N-acétyl-glucosamine et des dicarboxylates sont impliqués dans la colonisation du tube digestif du bovin adulte (Dziva *et al.*, 2004). Par ailleurs, Snider *et al.* ont montré que le fucose est une source de carbone nécessaire à la colonisation du rectum bovin par les EHEC (Snider *et al.*, 2009). À partir de l'étude du transcriptome d'une souche EHEC dans du contenu intestinal bovin, nous avons identifié des nutriments métabolisés préférentiellement par les souches EHEC dans l'intestin grêle de l'animal. Nous avons pu mettre en évidence que l'éthanolamine est une source d'azote spécifique des EHEC et que les sucres entrant dans la composition du mucus intestinal constituent une importante source de carbone pour les bactéries (Bertin *et al.*, 2011, 2013).

- Utilisation de l'éthanolamine par les souches EHEC

Les souches EHEC O157:H7, incubées dans du jus intestinal de bovin, surexpriment les gènes de l'opéron *eut* (« ethanolamine utilization »), codant les enzymes nécessaires au transport et au métabolisme de l'éthanolamine (Bertin *et al.*, 2011). L'éthanolamine (EA) est une petite molécule présente dans la partie hydrophile du phosphatidyléthanolamine, un des

phospholipides majeurs de la membrane des cellules procaryotes et eucaryotes. Ainsi, ce composé est libéré dans le tractus digestif lors de la lyse des bactéries du microbiote et des cellules végétales provenant de l'alimentation. Le renouvellement de la paroi intestinale de l'animal constitue également une importante source d'éthanolamine endogène. La capacité à utiliser l'EA est requise pour le développement optimal des EHEC dans l'intestin grêle du ruminant. Les bactéries utilisent ce composé comme une source d'azote leur conférant un avantage nutritionnel compétitif (Bertin *et al.*, 2011). La voie d'utilisation de ce composé a été bien caractérisée: l'EA est activement transportée dans le cytoplasme bactérien puis convertie en acétaldéhyde avec libération d'une molécule d'ammoniac, source d'azote pour les bactéries. En revanche, l'analyse des séquences nucléotidiques provenant de 592 génomes bactériens complets et du séquençage du métagénome intestinal bovin indique que les gènes *eut* ne sont pas présents parmi les bactéries du microbiote intestinal du ruminant. En accord avec ces observations, nous avons démontré que les bactéries du microbiote résident, y compris des *E. coli* commensaux, n'utilisent pas l'EA présent dans l'intestin bovin (Bertin *et al.*, 2011).

Les EHEC O157:H7 adhèrent spécifiquement aux molécules de phosphatidyléthanolamine (PE) de la membrane des entérocytes mais sont incapables de se fixer aux deux autres phospholipides membranaires (Barnett Foster *et al.*, 1999). De plus, l'adhésion des EHEC aux molécules de PE participe à une transduction du signal provoquant la mort des cellules intestinales par apoptose (Barnett Foster *et al.*, 2000) et la libération de fragments cellulaires dans la lumière intestinale. L'apoptose des cellules intestinales de l'hôte est généralement induite par des bactéries pathogènes invasives et facilitent l'invasion des tissus par les bactéries. Dans le cas des EHEC, bactéries non invasives, la destruction des membranes des entérocytes a pour effet d'augmenter l'exposition de la couche de phospholipides membranaires, et en particulier de PE. Les souches EHEC mettent ainsi en place une stratégie d'acquisition et d'assimilation accrues d'EA. De plus, contrairement aux EHEC, les souches *E. coli* non pathogènes ne reconnaissent aucun récepteur à la surface des molécules de PE (Barnett Foster *et al.*, 1999). Par conséquent, la croissance des EHEC est favorisée au contact des débris cellulaires par rapport aux *E. coli* commensaux créant une zone d'exclusion pour les souches d'*E. coli* non pathogènes. L'utilisation de l'EA représente ainsi une importante niche écologique pour les souches EHEC au sein du tractus digestif de l'animal.

- Utilisation des sucres du mucus par les EHEC

Bien que représentant une part importante de la ration alimentaire du ruminant, sous forme de

polymère (cellulose, amidon), le monomère glucose n'est retrouvé qu'en très faible quantité dans la lumière intestinale de l'animal (Bertin *et al.*, 2013). Par contre, la couche de mucus recouvrant les entérocytes représente une importante source de carbone disponible pour les microorganismes présents dans l'intestin. Le mucus, composé de longs filaments d'oligosaccharides fixés à des molécules d'acides aminés, forme un réseau tridimensionnel tapissant la paroi intestinale. Au cours du renouvellement cellulaire, 25 % des entérocytes et des structures qui la recouvrent, sont quotidiennement déversés dans la lumière intestinale (Snoeck *et al.*, 2005). Les oligosaccharides constituant la couche mucoale sont ainsi libérés dans le contenu digestif. Bien que les souches *E. coli* ne soient capables de métaboliser que des mono- ou di-saccharides, de nombreuses bactéries anaérobies du microbiote résident possèdent les enzymes nécessaires à l'hydrolyse des chaînes de polysaccharides constitutifs du mucus, libérant des sucres simples dans la lumière intestinale. Le mucus intestinal constitue ainsi une source de nutriments constamment renouvelée et facilement accessible aux bactéries du tube digestif.

Six sucres majeurs (galactose, N-acétyl-glucosamine [GlcNAc], N-acétyl-galactosamine [GalNAc], fucose, mannose et acide N-acétyl neuraminique [Neu5Ac]) constituent la partie glucidique du mucus recouvrant l'épithélium de l'intestin grêle du veau (Montagne *et al.*, 2000). Les six sucres sont retrouvés, sous forme de monosaccharides, dans les contenus d'intestin grêle des bovins, le galactose et le GlcNAc étant les plus abondants (Bertin *et al.*, 2013). Les souches EHEC assimilent rapidement et simultanément les sucres du mucus et chacun des six sucres est consommé plus rapidement par les souches EHEC que par les bactéries du microbiote intestinal de l'animal, y compris les *E. coli* commensaux. Cependant, les souches EHEC utilisent préférentiellement le mannose, le GlcNAc, le Neu5Ac et le galactose pour leur croissance dans l'intestin grêle du bovin. L'efficacité des EHEC à métaboliser ces quatre sucres leur confère un important avantage nutritionnel en compétition (Bertin *et al.*, 2013). De façon similaire, des infections expérimentales ont montré que le mutant d'une souche EHEC n'ayant plus la capacité de métaboliser le galactose présente un important déficit de croissance dans l'intestin du lapin (Ho *et al.*, 2007) alors que l'utilisation du Neu5Ac confère un net avantage de croissance à *Campylobacter jejuni*, un autre pathogène du tube digestif, dans l'intestin de la souris (Murakoa *et al.*, 2011).

Les souches EHEC sont ultra-minoritaires dans le tractus digestif bovin par rapport aux bactéries du microbiote résident. De nombreuses bactéries anaérobies strictes de l'intestin du bovin possèdent

la machinerie enzymatique leur permettant d'hydrolyser les polysaccharides et de les utiliser comme nutriments, certaines de ces bactéries ayant même une affinité plus forte pour les polysaccharides que pour les monosaccharides correspondants (Amaretti *et al.*, 2006). Les souches EHEC semblent s'être spécialisées dans une consommation rapide et efficace des monosaccharides issus du mucus. De façon similaire à l'utilisation de l'EA, l'assimilation du mannose, GlcNAc, Neu5Ac et galactose constitue une niche écologique pour les souches EHEC et favorise la persistance des bactéries dans l'intestin grêle du ruminant.

Conclusion

La connaissance globale du métabolisme des EHEC dans le tractus gastro-intestinal bovin permettra de rechercher des souches probiotiques entrant en compétition avec les EHEC pour l'utilisation de ces nutriments. Ces souches pourraient alors être administrées dans l'alimentation des animaux pour limiter, voire éradiquer, la survie des EHEC dans leur réservoir naturel, et ainsi réduire considérablement le risque sanitaire.

Références

- Amaretti A., Tamburini E., Bernardi T., Pompei A., Zanoni S., Vaccari G., Matteuzzi D., Rossi M., Substrate preference of *Bifidobacterium adolescentis* MB 239: compared growth on single and mixed carbohydrates. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, 73, 654–662.
- Bach S.J., McAllister T.A., Veira D.M., Gannon V.P.J., Holley R.A., Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* feed supplement on *Escherichia coli* O157:H7 in ruminant fluid *in vitro*. *Anim Feed Sci Technol*. 2003, 104, 179–189.
- Barnett Foster D.E., Philpott D., Abul-Milh M., Huesca M., Sherman P.M., Lingwood C.A., Phosphatidylethanolamine recognition promotes enteropathogenic and enterohemorrhagic *E. coli* host cell attachment. *Microb Pathog*, 1999, 27, 289–301.
- Barnett Foster D.E., Abul-Milh M., Huesca M., Lingwood C.A., Enterohemorrhagic *Escherichia coli* induces apoptosis which augments bacterial binding and phosphatidylethanolamine exposure on the plasma membrane outer leaflet. *Infect Immun*, 2000, 68, 3108–3115.
- Bertin Y., Girardeau J.P., Chaucheyras-Durand F., Lyan B., Pujos-Guillot E., Harel J., Martin C., Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* gains a competitive advantage by using ethanolamine as a nitrogen source in the bovine intestinal content. *Environ Microbiol*, 2011, 13, 365–377.
- Bertin Y., Chaucheyras-Durand F., Robbe-Masselot C., Durand A., de la Foye A., Harel J., Cohen P.S., Conway T., Forano E., Martin C., Carbohydrate utilization by enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine intestinal content. *Environ Microbiol*, 2013, 15, 610–622.
- Bibbal D., Cartier P., Portage de STEC hautement pathogènes dans le troupeau bovin en France. 2012. 6 journées SteakExpert; http://www.steakexpert.fr/IMG/pdf/SteakExpert_2012_Presentation_Philippe_CARTIER_et_Delphine_BIBBAL.pdf
- Brashears M.M., Galyean M.L., Loneragan G.H., Mann J.E., Killinger-Mann K., Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and performance by beef feedlot cattle given *Lactobacillus* direct-fed microbials. *J Food Prot*, 2003, 66, 748–754.
- Callaway T.R., Carr M.A., Edrington T.S., Anderson R.C., Nisbet D.J., Diet, *Escherichia coli* O157:H7, and cattle: a review after 10 years. *Curr Issues Mol Biol*, 2009, 11, 67–79.
- Cerqueira A.M., Guth B.E., Joaquim R.M., Andrade J.R., High occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle in Rio de Janeiro State, Brazil. *Vet Microbiol*, 1999, 70, 111–121.
- Chaucheyras-Durand F., Durand H., Probiotics in animal nutrition and health. *Benef Microbes*, 2010, 1, 3–9.
- Chaucheyras-Durand F., Madic J., Doudin F., Martin C., Biotic and abiotic factors influencing *in vitro* growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminant digestive contents. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72, 4136–4142.
- Chaucheyras-Durand F., Faquir F., Ameilbonne A., Rozand C., Martin C., Fates of acid-resistant and non-acid-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in ruminant digestive content in the absence and presence of probiotics. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76, 640–647.
- Cull C.A., Paddock Z.D., Nagaraja T.G., Bello N.M., Babcock A.H., Renter D.G., Efficacy of a vaccine and a direct-fed microbial against fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in a randomized pen-level field trial of commercial feedlot cattle. *Vaccine*, 2012, 30, 6210–6215.
- Dziva F., van Diemen P.M., Stevens M.P., Smith A.J., Wallis, T.S., Identification of *Escherichia coli* O157:H7 genes influencing colonization of the bovine gastrointestinal tract using signature-tagged mutagenesis. *Microbiology*, 2004, 150, 3631–3645.
- Ferens W.A., Hovde C.J., *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathog Dis*, 2011, 8, 465–487.
- Freter R., Brickner H., Botney M., Clevon D., Aranki A., Mechanisms that control bacterial populations in continuous-flow culture models of mouse large intestinal flora. *Infect Immun*, 1983, 39, 676–685.
- Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., Yoshimura K., Tobe T., Clarke J.M., Topping D.L., Suzuki T., Taylor T.D., Itoh K., Kikuchi J., Morita H., Hattori M., Ohno H., Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*, 2011, 69, 543–547.

- Gedek B.R., Adherence of *Escherichia coli* serogroup O157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*. *Mycoses*, 1999, 42, 261–264.
- Gyles C.L., Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci*, 2007, 85, 45–62.
- Ho T.D., Davis B.M., Ritchie J.M., Waldor M.K., Type 2 secretion promotes enterohemorrhagic *Escherichia coli* adherence and intestinal colonization. *Infect Immun*, 2008, 76, 1858–1865.
- Hussein H.S., Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beefcattle and their products. *J Anim Sci*, 2007, 85, 63–72.
- Irino K., Kato M.A., Vaz T.M., Ramos I.I., Souza M.A., Cruz A.S., Gomes T.A., Vieira M.A., Guth B.E., Serotypes and virulence markers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in São Paulo State, Brazil. *Vet Microbiol*, 2005, 105, 29–36.
- Jelci a I., H ufner E., Schmidt H., Hertel C., Repression of the locus of the enterocyte effacement-encoded regulator of gene transcription of *Escherichia coli* O157:H7 by *Lactobacillus reuteri* culture supernatants is LuxS and strain dependent. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74, 3310–3314.
- Keen J.E., Laegreid W.W., Chitko-McKown C.G., Durso L.M., Bono J.L., Distribution of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157 in the gastrointestinal tract of naturally O157-shedding cattle at necropsy. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76, 5278–5281.
- King L., Mac e M., Mariani-Kurkdjian P., Vaillant V. et le réseau des néphrologues pédiatres., Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 2011. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire, 2012.
- McAllister T.A., Beauchemin K.A., Alazeh A.Y., Baah J., Teather R.M., Stanford K., Review: The use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. *Can J Anim Sci*, 2011, 91, 193–211.
- Medellin-Peña M.J., Griffiths M.W., Effect of molecules secreted by *Lactobacillus acidophilus* strain La-5 on *Escherichia coli* O157:H7 colonization. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75, 1165–1172.
- Medellin-Peña M.J., Wang H., Johnson R., Anand S., Griffiths M.W., Probiotics affect virulence-related gene expression in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73, 4259–4267.
- Montagne L., Toullec R., Lalles J.P., Calf intestinal mucin: Isolation, partial characterization, and measurement in ileal digesta with an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Dairy Sci*, 2000, 83, 507–517.
- Muraoka W.T., Zhang Q., Phenotypic and genotypic evidence for L-fucose utilization by *Campylobacter jejuni*. *J Bacteriol*, 2011, 193, 1065–1075.
- Naylor S.W., Low J.C., Besser T.E., Mahajan A., Gunn G.J., Pearce M.C., McKendrick I.J., Smith D.G., Gally D.L., Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. *Infect Immun*, 2003, 71, 1505–1512.
- Oliveira M.G., Brito J.R., Carvalho R.R., Guth B.E., Gomes T.A., Vieira M.A., Kato M.A., Ramos I.I., Vaz T.M., Irino K., Water buffaloes (*Bubalus bubalis*) identified as an important reservoir of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Brazil. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73, 5945–5948.
- Pradel N., Livrelli V., De Champs C., Palcoux J.B., Reynaud A., Scheutz F., Sirot J., Joly B., Forestier C., Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. *J Clin Microbiol*, 2000, 38, 1023–1031.
- Raynaud, S., Vernozy-Rozand C., Boscher P., Picant P., Mathieu B., Degand C., Poutrel B., Heuchel V., Chatelin Y.-M., Pr valence, origine, circulation et persistance des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les  levages bovins français. *Renc Rech Ruminants*, 2005, 12, 379–392.
- Sherman P.M., Johnson-Henry K.C., Yeung H.P., Ngo P.S.C., Goulet J., Tompkins T.A., Probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and enteropathogenic *E. coli* O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. *Infect Immun*, 2005, 73, 5183–5188.
- Snider T.A., Fabich A.J., Conway T., Clinkenbeard K.D., *E. coli* O157:H7 catabolism of intestinal mucin-derived carbohydrates and colonization. *Vet Microbiol*, 2009, 136, 150–154.
- Snoeck V., Goddeeris B., Cox E., The role of enterocytes in the intestinal barrier function and antigen uptake. *Microbes Infect*, 2005, 7, 997–1004.
- Souza R.L., Nishimura L.S., Guth B.E.C., Uncommon Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotype O165:HNM as cause of hemolytic uremic syndrome in S o Paulo, Brazil. *Diag Microbiol Infect Dis*, 2007, 59, 223–225.
- Tabe E.S., Oloya J., Doetkott D.K., Bauer M.L., Gibbs P.S., Khaita M.L., Comparative effect of direct-fed microbials on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in naturally infected feedlot cattle. *J Food Prot*, 2008, 71, 539–544.
- Tkalcic S., Zhao T., Harmon B.G., Doyle M.P., Brown C.A., Zhao P., Fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in weaned calves following treatment with probiotic *Escherichia coli*. *J Food Prot*, 2003, 66, 1184–1189.
- Younts-Dahl S.M., Osborn G.D., Galyean M.L., Rivera J.D., Loneragan G.H., Brashears M.M., Reduction of *Escherichia coli* O157 in finishing beef cattle by various doses of *Lactobacillus acidophilus* in direct-fed microbials. *J Food Prot*, 2005, 68, 6–10.
- Zhao T., Tkalcic S., Doyle M.P., Harmon B.G., Brown C.A., Zhao P., Pathogenicity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in neonatal calves and evaluation of fecal shedding by treatment with probiotic *Escherichia coli*. *J Food Prot*, 2003, 66, 924–930.