

commission du codex alimentarius



ORGANISATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 10 (b) de l'ordre du jour

CX/FH 04/10 - Add. 2

Février 2004

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITE DU CODEX SUR L'HYGIÈNE ALIMENTAIRE

Trente-sixième session

Washington DC, États-Unis d'Amérique, 29 mars – 3 avril 2004

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LE PROFIL DE RISQUE POUR L'*E. COLI* ENTÉROHÉMORRAGIQUE Y COMPRIS L'IDENTIFICATION DES PRODUITS CONCERNES, NOTAMMENT LES GERMES, LE BŒUF HACHÉ ET LE PORC

(Préparé par les États-Unis, en collaboration avec l'Australie, l'Autriche, le Canada, la Chine, la France, l'Allemagne, le Japon, les Pays-bas et l'Union Européenne)

HISTORIQUE

Au cours de la trente-quatrième session, le Comité a confirmé que l'*Escherichia coli* entérohémorragique demeurait une activité prioritaire pour le Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire (CCFH). Par conséquent le Comité est convenu que les États-Unis dresseraient en collaboration avec l'Australie, l'Autriche, le Canada, la Chine, la France, l'Allemagne, le Japon et la Commission européenne, le profil du risque présenté par l'*Escherichia coli* entérohémorragique y compris l'identification des produits concernés, notamment le bœuf haché, les germes et le porc.

Lors de sa 35^{ème} session, le Comité est convenu de solliciter les commentaires par lettre circulaire sur les cinq principaux sérotypes d'isolats EHEC humains, les cinq principaux produits concernés et le champ d'application des pratiques rurales animalières qui devraient être incluses dans le profil de risque. Le Comité a également demandé aux États-Unis ainsi qu'à ses partenaires de rédaction d'actualiser le profil de risque au vu des commentaires reçus. Ce document a été révisé à la lumière de la discussion qui s'est tenue lors de la 35^{ème} session, des réponses à la lettre circulaire et des commentaires des membres du groupe de rédaction.

CHAMP D'APPLICATION

Ce Document de travail fournira un aperçu (1) de l'ensemble du profil de risque qui peut se consulter dans son intégralité à l'Annexe A, (2) des directives internationales existantes et des codes d'usages qui sont susceptibles de réduire le nombre de cas d'infection humaine par l'*Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) et (3) des activités de gestion des risques proposées à considérer par le CCFH. Il convient de remarquer que ce document de travail a été largement rédigé à partir du profil de risque annexé.

APERÇU DU PROFIL DE RISQUE POUR L'*ESCHERICHIA COLI* DANS PLUSIEURS PRODUITS CONCERNES

1. Combinaison(s) pathogène/produit inquiétante(s)

1.1 Agents pathogènes inquiétants

L'*Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) a été identifié pour la première fois en tant qu'agent pathogène humain en 1982, lorsque des souches d'*E. coli* d'un sérotype jusque là inconnu, le O157:H7, furent impliquées dans deux séries de cas de colite hémorragique (diarrhée sanglante) aux États-Unis(E.U.). (Riley et al. 1983 ; Wells et al. 1983). Depuis lors, les épidémies provoquées par ce nouvel agent pathogène sont devenues un problème de santé publique sérieux dans plusieurs régions du monde. (Schlundt 2001; Clarke et al. 2002). Tandis que des souches d'*E. coli* O157 :H7 sont les causes principales d'infection EHEC aux États-Unis et en Grande-Bretagne, il est important de souligner que les souches d'EHEC d'autres sérogroupes, tels que O26, O103 et O111 ont été de plus en plus souvent associées à des cas de maladies humaines. Ceci est illustré par les données de surveillance du Japon (Tableau 1) et a été mentionné dans un rapport de l'OMS (OMS 1998). En outre, dans des pays tels que l'Australie, l'*E. coli* O157 :H7 n'a pas eu de répercussion majeure, les souches de sérotype O26 et O111 :H- étant des sujets de préoccupations plus importants. Néanmoins, malgré ces données, la majorité des données disponibles suggère que les souches d'*E. coli* du sérotype O157 doivent encore être considérées comme étant le problème principal d'infection EHEC.

La plupart des laboratoires cliniques ne dépistent pas systématiquement les souches EHEC non-O157, en raison du manque de marqueurs biochimiques (Mead et Griffin 1998). Tandis que les *E. coli* O157:H7 sont facilement différenciés d'un point de vue biochimique des autres *E. coli* entériques (car ils fermentent lentement le sorbitol), les méthodes de diagnostic pour l'identification des souches EHEC non-O157 ne sont pas couramment disponibles dans la plupart des laboratoires et par conséquent les infections causées par ces agents pathogènes ne sont pas souvent confirmées. Récemment, de nouvelles méthodes de détection des sérogroupes O103, O111, O26 et O145 ont été développées et ces progrès pourront faciliter la collecte de données supplémentaires relatives à la prédominance et à l'importance de ces sérotypes en ce qui concerne les intoxications alimentaires (Cudjoe 2001). Mead et al. (1999) ont estimé que l'incidence des sérotypes non-O157 EHEC représente entre 20% et 50% des infections dues à l'*E. coli* O157:H7.

1.1.1 Principales caractéristiques du pathogène telles que sa stabilité thermique, sa résistance à l'acide et sa virulence.

Un certain nombre de facteurs influence la survie et la multiplication de l'EHEC dans les aliments tels que la température, le pH, la concentration en sel et l'activité de l'eau (Meng et Doyle 1998). Des études sur la sensibilité thermique de l'*E. coli* O157 :H7 dans la viande de bœuf hachée suggèrent que les EHEC ne présentent aucune résistance inhabituelle à la chaleur et que le fait de chauffer suffisamment la viande de bœuf pour tuer les souches typiques de *Salmonella* spp. suffit également à tuer les EHEC. La température idéale pour la prolifération de l'*E. coli* O157:H7 se situe à 37°C (98.6°F) environ et l'organisme semble ne pas se développer à des températures inférieures à 8°C et 10°C (46°F à 50°F) ou supérieures à 44°C – 45°C (Doyle et Schoeni 1984; Buchanan et Doyle 1997). L'*E. coli* O157:H7 survit à la congélation, présentant néanmoins un certain déclin en concentration (Ansay et al. 1999). L'*E. coli* O157:H7 a été présenté comme étant plus résistant à l'acide que les autres souches d'*E. coli*. La résistance à l'acide augmente les chances de survie de l'*E. coli* O157:H7 dans les aliments modérément acides et peut expliquer sa capacité à survivre lors de son passage dans l'estomac et à causer des infections à faibles doses.

Tableau 1 : Sérotypes d'isolats d'EHEC humains entre 1999 et 2000 au Japon*

Sérotype	Cas en 1999 (% du total)	Cas en 2000 (% du total)
O157	1394 (72,1)	1158 (69,9)
O26	346 (17,9)	377 (22,8)

O111	81 (4,2)	42 (2,5)
Tous les autres	112 (5,8)	79 (4,8)

** <http://idsc.nih.gov/jp/iasr/22/256/graph/t2563.gif>

Veillez vous référer à l'annexe A pour les caractéristiques de virulence associées à l'EHEC.

1.2 Description de l'aliment ou du produit alimentaire et/ou de la condition d'utilisation auquel/à laquelle ont été associés les problèmes de santé d'origine alimentaire provoqués par ce pathogène.

Afin de choisir le produit le plus approprié à présenter dans ce profil de risque, nous avons considéré la fréquence avec laquelle les divers produits étaient impliqués dans une infection d'EHEC. Des études existantes sur des cas isolés d'infections à l'*E. coli* O157:H7 et des rapports d'enquête sur des épidémies ont été examinés. Les produits les plus souvent incriminés sont les viandes d'origine bovine crues ou mal cuites, en particulier le bœuf haché pas assez cuit et le lait non pasteurisé. Cependant, un nombre croissant d'épidémies est associé à la consommation de fruits et légumes crus ou très peu traités. Par conséquent, en raison de leur importance dans les cas d'infection humaine par l'EHEC, la viande de bœuf hachée et les légumes verts à feuilles sont les produits principaux de ce profil de risque. Les produits alimentaires dignes de considération future sont les produits à base de lait cru, le cidre non pasteurisé, les fruits fraîchement coupés et les graines germées.

1.2.1 Aliments d'origine bovine

Le bœuf a été cité comme étant la source de 46% des épidémies d'intoxication alimentaire causées par l'EHEC ayant eu lieu aux États-Unis entre 1993 et 1999 avec un agent de transmission connu. D'autres produits d'origine bovine ont été impliqués dans un certain nombre d'épidémies d'EHEC tels que le lait de vache cru et non pasteurisé, comme l'atteste l'épidémie d'*E. coli* O104:H21 provoquée par un lait contaminé (Feng et al. 2001). Une pasteurisation efficace élimine l'EHEC du lait, y compris l'*E. coli* O157:H7.

1.2.2 Aliments d'origine non bovine

Les fruits et légumes contaminés par l'EHEC sont responsables d'un nombre croissant d'épidémies reconnues (Tableau 2). Les pommes de terre (Morgan et al. 1988), la laitue (Ackers et al. 1998, Mermin et al. 1997, Hilborn et al. 1999), le radis (Michino et al. 1999), les germes de luzerne (Breuer et al. 2001, MMWR 1997a) et le melon cantaloup (Del Rosario et Beuchat 1995) ont été associés aux infections à l'EHEC. Les légumes verts à feuilles ont été cités comme étant à l'origine de 26% des cas d'intoxication alimentaire due à une infection de l'EHEC survenus aux E.U. entre 1998 et 1999 avec un agent pathogène connu. La contamination des produits peut avoir lieu de plusieurs manières, parmi lesquelles l'usage d'engrais ou d'eau contaminés par des matières fécales (Solomon et al. 2002a ; Wachtel et al. 2002a ; Solomon et al. 2002b) et par la manipulation par un personnel en mauvaise santé et présentant une hygiène insuffisante. Dans un certain nombre de cas, les déjections animales de pâtures voisines étaient suspectées être à l'origine de l'EHEC (Ackers et al. 1998 ; Hilborn et al. 1999). De telles contaminations peuvent se disperser par les eaux de ruissellement et/ou le vent. Lors d'un déversement accidentel d'eaux usées qui n'avaient pas été traitées avec du chlore, des choux semblaient présenter des souches d'*E. coli* (ne contenant pas les gènes *stx1*, *stx2* ou *eae*) dans les racines des plantes alors que les champs de contrôle n'en présentaient pas (Wachtel et al. 2002a). La contamination croisée dans l'environnement de vente au détail ou dans la cuisine du consommateur lorsque les produits sont mis en contact avec des viandes contaminées peut également avoir lieu.

Les données actuelles basées tant sur les flambées épidémiques que sur les infections sporadiques indiquent que la consommation de viande hachée demeure la source la plus importante des cas d'intoxication alimentaire à l'EHEC ; cependant, les légumes verts à feuilles constituent la deuxième cause la plus importante de cas d'intoxication puisqu'ils sont sujets à la contamination sur le terrain et dans l'environnement d'emballage et consommés crus.

Tableau 2 : Aliments impliqués dans les épidémies de *E. coli* O157:H7, aux E.U., 1998-2001^a

Agent de transmission	1998	1999	2000	2001	Total
Viande hachée / hamburger	10	9	4	4	27
Roast-beef	0	2	0	1	3
Légumes verts à feuilles combinés	4	7	1	1	13
Salade	1	1	1	1	4
Chou vert	2	1	0	0	3
Laitue	1	3	0	0	4
Lait	2	0	0	0	2
Autre	5	5	6	2	18
Nbr total de cas d'épidémies ^a	21	21	11	8	63

^aCas d'épidémies pour lesquels les agents de transmission alimentaire sont connus ; les cas d'épidémies pour lesquels les agents de transmission ne sont pas connus ne sont pas compris.

^bIl faut remarquer que parce que les "légumes verts à feuilles combinés" sont à leur tour subdivisés en trois sous-catégories, les valeurs numériques du "Nbr total de cas" sont la somme des nombres dans leurs colonnes respectives.

Sources : CDC 1999b ; CDC 2001c.

2. Description du problème de santé publique

2.1 Caractéristiques de la maladie

Après ingestion de l'EHEC, la réponse humaine est variable, pouvant aller de l'infection asymptomatique jusqu'au décès. La période d'incubation jusqu'aux premiers symptômes est de un à huit jours. Traditionnellement, les premiers symptômes de la maladie sont des crampes abdominales et une diarrhée non accompagnée de saignements pouvant, mais pas nécessairement, progresser et devenir sanglante dans les deux à trois jours (Griffin 1995, Mead et Griffin 1998). Soixante-dix pour cent voire plus des patients symptomatiques développent une diarrhée sanglante (Ostroff 1989 ; Bell 1994). Parmi les autres manifestations de l'infection EHEC, citons la colite hémorragique (en quelque sorte une diarrhée sanglante), le syndrome d'urémie hémolytique (HUS)¹ et parfois le purpura thrombocytopénique thrombotique (TTP).

2.1.1 Populations sensibles

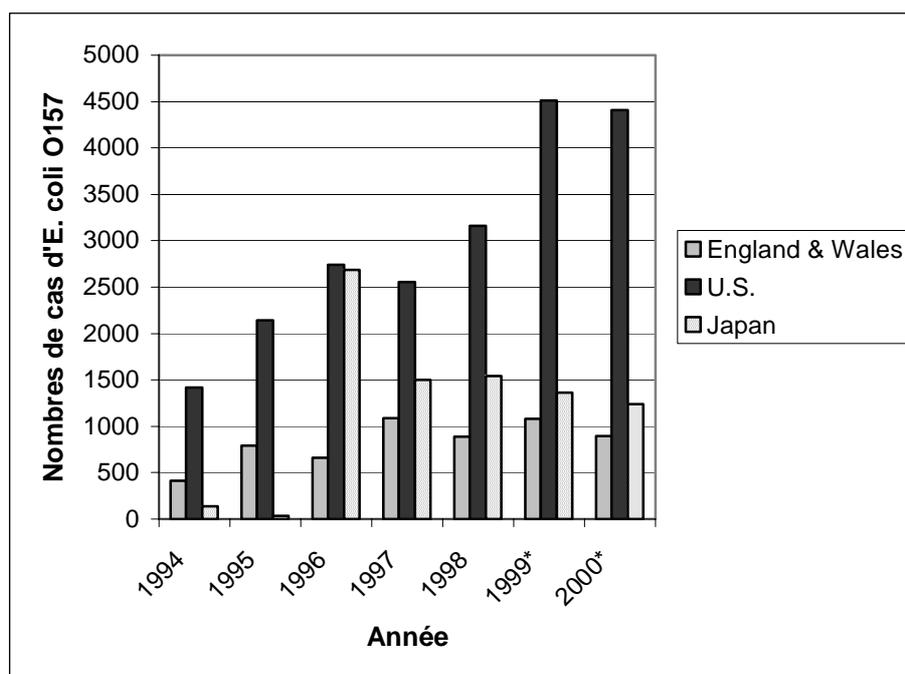
L'incidence de l'infection EHEC varie selon le groupe d'âge, les cas les plus fréquents se présentant chez les enfants. En outre, les personnes âgées sont connues pour être sensibles à l'infection EHEC. Néanmoins, des personnes de tous âges peuvent souffrir d'une infection à l'EHEC.

2.1.2 Taux d'incidence annuel chez les êtres humains y compris les variantes régionales et saisonnières de l'incidence ou de la sévérité de la maladie

Entre 1994 et 2000, le nombre de cas d'infection déclarés d'*E. coli* O157:H7 aux États-Unis a plus que doublé, passant de 1.420 (0,8/100.000 personnes) en 1994 à 4.410 (environ 1,6/100.000 personnes) en 2000 (CDC 1999, CDC 2001) (Figure 1).

Figure 1. Nombre de cas déclarés d'infections *E. coli* O157:H7, aux E.U. (1994-2000),^a en Angleterre et Pays de Galles (1994-2000)^b et au Japon (1996-2000);^c *données provisoires présentées pour les États-Unis entre 1999 et 2000.

¹ Une combinaison d'insuffisance rénale, un faible nombre de plaquettes et une anémie hémolytique



- CDC, NNDSS; les cas englobent les isolats humains suspects et confirmés.
- Laboratoire PHLS de pathogènes entériques; les cas englobent uniquement les isolats obtenus des échantillons de selles soumis à PHLS par les laboratoires en Angleterre et aux pays de Galles. Le sérotype, le typage de phage et le typage VT sont déterminés chez PHLS.
- Ministère de la santé et du bien-être, National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases; les cas se limitent à ceux confirmés par culture dans les échantillons de selles et englobent tous les sérotypes O157.

En Belgique, 97% des cas de syndrome d'urémie hémolytique de l'année 2000 étaient liés à l'infection par l'*E. coli* O157:H7 (Pierard 1997). Sieglar (1994) a découvert que le HUS cause des séquelles rénales chroniques, généralement légères, chez 51% des survivants en Belgique (48% de tous les cas). Cependant, Elliot (2001) a observé des statistiques d'insuffisance rénale bien inférieures en Australie.

Entre 1997 et 1999, dans les établissements FoodNet situés aux E.U., l'incidence totale du HUS chez les enfants âgés de moins de 15 ans était de 0,7 pour 100.000; soit une fréquence similaire à celle d'autres pays tels que l'Autriche (0,65 pour 100.000) et l'Australie (0,64 pour 100.000) (Elliot 2001). Pour les enfants âgés de moins de 5 ans, l'incidence était de 1,4 et 1,35 pour 100.000 aux États-Unis et en Australie, respectivement (CDC 2000b). Dans une étude nationale portant sur 83 patients présentant le HUS aux E.U., 46 (55,4%) étaient âgés de moins de 5 ans et 27 (32,5%) avaient entre 5 et 17 ans (Banatvala et al. 2001). De même, des analyses sur l'incidence du HUS en Belgique ont démontré que la majorité (35/46) des cas de HUS touchait des enfants (Pierard et al. 1997). Les résultats suggèrent que l'incidence du HUS est comparable en Australie et en Europe. En outre, l'importance de l'association entre les cas de HUS et d'infection EHEC semble être identique dans plusieurs parties du monde.

Il est intéressant de constater que la sévérité de l'infection EHEC semble varier entre les cas sporadiques et les épidémies. Ainsi, par exemple, entre 3 et 7% des cas sporadiques de l'infection par l'*E. coli* O157:H7 progressent vers le HUS tandis que 20% ou plus des cas d'épidémies progressent vers le HUS (Mead et Griffin 1998). Les raisons de ces observations ne sont pas claires et comme telles, méritent de plus amples recherches.

3. Production, traitement, distribution et consommation d'aliments

3.1 Source de contamination

Des souches EHEC ont été isolées du tractus gastro-intestinal et des matières fécales de toute une série d'espèces animales domestiques ou sauvages, parmi lesquelles des bovins, des moutons, des chevaux, des cochons, des dindes, des chiens, des mouettes et des rats (Kudva 1996 ; Rice et Hancock 1995 ; Hancock et al. 1998b ; Heuvelink 1999), ainsi que des manipulateurs d'aliments malades et des

eaux usées humaines non traitées. Les aliments associés directement ou indirectement à ces animaux (viande ou produits laitiers) ou avec les déjections de ces animaux (par exemple des fertilisants) sont fréquemment impliqués dans la transmission de l'infection EHEC. Des données d'études épidémiologiques suggèrent que les engrais bovins constituent une source importante d'infections EHEC. En fait, l'*E. coli* O157:H7 a été décrit comme étant "omniprésent" dans les produits laitiers et la viande bovine et présente du moins occasionnellement dans la plupart des fermes ou pâtures (Hancock et al. 1998a ; Hancock et al. 2001).

La plupart des facteurs de risque qui semblent influencer la prévalence et le niveau d'EHEC chez les bovins s'applique à l'ensemble du troupeau plutôt qu'à un bovin en particulier. Par conséquent, les stratégies de prévention de l'EHEC dans les environnements agricoles ciblent traditionnellement les facteurs de risque au niveau du troupeau. Le type de troupeau semble avoir une influence sur la prévalence de l'EHEC : les troupeaux d'animaux de boucherie (bœufs et génisses) sont davantage susceptibles d'être infectés par l'EHEC que les troupeaux d'élevage (vaches et taureaux). De plus, lorsqu'un troupeau de boucherie est contrôlé positif, il est susceptible de comporter plus d'animaux colonisés que les troupeaux de reproduction (USDA, 2001). Des preuves limitées suggèrent que les produits laitiers et les troupeaux de vaches/veaux présentent des résultats similaires eu égard à la prévalence de l'EHEC (Lagreid et al. 1999 ; Sargeant et al. 2000). Une augmentation de l'incidence saisonnière des infections par l'EHEC chez les populations bovines et humaines a été démontrée lors des mois les plus chauds (Hancock et al. 1997a, 1997b ; Griffin 1998 ; Van Donkersgoed et al. 1997, Heuvelink 1998). Le rôle que joue l'eau effluente pour irriguer la nourriture des animaux et les récoltes, l'âge de l'animal à qui est donné cette nourriture et la nourriture elle-même dans la colonisation des troupeaux, peut s'avérer décisif dans les stratégies de gestion des fermes et devraient faire l'objet de recherches plus approfondies (Anderson et al. 2001, Hancock et al. 2001, LeJeune et al. 2001). De la même façon, la relation entre l'importance relative de la santé et de l'hygiène du personnel du secteur alimentaire et la contamination par EHEC doit être plus amplement élucidée.

3.2 Caractéristiques des produits alimentaires

3.2.1 Légumes verts à feuilles

Les légumes verts à feuilles qui poussent bas dans le sol sont reconnus comme étant une des causes des épidémies d'EHEC. La contamination des légumes peut survenir de plusieurs manières, y compris par l'utilisation d'engrais ou d'eau contaminés par des matières fécales (Solomon et al. 2002a ; Wachtel et al. 2002a ; Solomon et al. 2002b). Le fait que beaucoup de produits soient très peu traités et consommés crus augmente la probabilité d'une infection par EHEC. L'usage des bonnes pratiques agricoles (BPA), parmi lesquelles celles visant à assurer une qualité d'eau, la dératisation et des conditions sanitaires adéquates, est la pierre angulaire pour réduire les risques alimentaires à partir d'EHEC dans les légumes et les fruits frais.

3.2.2 Bœuf

La viande est contaminée par l'EHEC lorsque les carcasses sont mises en contact avec des matières fécales et/ou des dépouilles contaminées durant le processus d'abattage (Elder et al. 2000). Par conséquent, la détermination de l'association quantitative entre le statut entrant des bovins et le statut sortant de la viande, en terme de contamination EHEC, est indispensable dans une évaluation de l'exposition au risque d'infection par EHEC. Une telle corrélation quantitative entre la contamination avant et après traitement de la viande est sans doute mieux prévue en utilisant les données de prévalence d'*E. coli* O157:H7 fécales (Elder et al. 2000).

3.3 Comportement des détaillants et du consommateur

L'industrie de préparation des aliments ainsi que les choix et comportements des consommateurs ont une grande influence sur la probabilité de contracter une infection par l'EHEC. Plus précisément, la viande de bœuf mal cuite (en particulier la viande hachée), possède un lien direct avec l'infection, comme nous l'avons mentionné précédemment. (Bien que la cuisson de ces produits à une température interne =68 °C s'est avérée être une précaution efficace, les consommateurs continuent à choisir des produits insuffisamment cuits.)² De la même manière, une prise de conscience ainsi que quelques précautions relatives à la contamination croisée entre la viande crue et les aliments cuits ou

² <http://www.fsis.usda.gov/oa/news/1998/colorpr.htm>

les légumes crus, limiteraient la probabilité d'une infection³. Le comportement des consommateurs pouvant réduire l'incidence de la maladie due à des légumes contaminés à l'EHEC à la ferme se limite à laver soigneusement les aliments, en particulier les produits destinés à être consommés crus ; cependant, cette pratique ne garantit pas d'éliminer de la surface la contamination à l'EHEC. En outre, une recherche récente a démontré que les graines germées et certains fruits et légumes peuvent héberger l'EHEC (Solomon et al. 2002a). Dans pareils cas, un nettoyage en surface peut s'avérer insuffisant pour prévenir la maladie.

3.4 Interventions

Une récente évaluation des risques canadienne prévoyait une réduction de la prévalence de la maladie grâce à la mise en œuvre de divers scénarios de prévention pour le bœuf haché (Tableau 3) (Cassin et al. 1998). Parmi ces mesures préventives citons, un contrôle de la température maximale durant le stockage, un dépistage des matières fécales bovines avant l'abattage et une cuisson à des températures appropriées. En se basant sur l'approche de Cassin, une évaluation des risques australienne a également proposé des scénarios de prévention des risques tels que la décontamination à l'eau chaude des carcasses, l'irradiation des boîtes de congélation de bœuf, la réduction des concentrations fécales avant l'abattage, le contrôle de la température chez les détaillants et la sensibilisation du consommateur aux bonnes pratiques de cuisson (Lammerding et al. 1999 ; P Vanderlinde, communication personnelle).

En raison de l'impact que peut avoir la colonisation du bétail à la ferme sur d'autres produits tels que les légumes verts à feuilles, des interventions qui contrôlent la présence de l'EHEC sur les animaux vivants sont dignes d'intérêt en termes de réduction de l'infection à l'EHEC. Les interventions potentielles englobent l'usage de flore bactérienne probiotique chez les bovins (Zhao et al. 1998), la mise en œuvre de divers régimes alimentaires (Cray et al. 1998) et l'utilisation de différents protocoles de compostage et d'irrigation (Lung et al. 2001).

DOCUMENTS CODEX EXISTANTS RELATIFS AU CONTROLE DE L'EHEC DANS PLUSIEURS PRODUITS CONCERNES

Les stratégies de gestion des risques visant à réduire les maladies provoquées par l'EHEC associées à la consommation de légumes verts à feuilles et de bœuf sont décrites ci-dessous

1. Légumes verts à feuilles

La contamination des aliments liée à des produits crus (par exemple les germes et la laitue préparée) peut être due à différents facteurs, y compris, par exemple : (1) de mauvaises pratiques d'irrigation, (2) un lavage inadéquat, (3) un lavage avec de l'eau contaminée, (4) de travailleurs agricoles manquant d'hygiène, (5) des animaux sauvages et/ou domestiques, (6) le transport par le vent de pathogènes, et (7) l'utilisation d'engrais comme fertilisants. Les directives internationales existantes relatives à la production de ces produits (Code d'usages en matière d'hygiène pour les fruits et légumes frais, ALINORM 03/30, Appendice II) peuvent réduire et régler la majorité des problèmes cités ci-dessus, pour autant que le code CHPPFFV soit correctement appliqué et géré. Cependant, il est important de souligner qu'une telle directive n'aborde pas suffisamment les méthodes spécifiques visant à réduire les problèmes de santé liés à l'EHEC dus à une contamination provenant d'environnements agricoles. En outre, les efforts pédagogiques sont sans doute plus efficaces dans la réduction des problèmes de santé liés à l'EHEC dus à une contamination croisée pendant la préparation des aliments.

2. Bœuf

La contamination de la viande de bœuf hachée est généralement une conséquence d'une contamination par des matières fécales qui surviennent ou qui ne sont pas retirées de manière adéquate durant l'abattage. Parmi les directives internationales actuelles relatives à la production d'une viande saine citons l'Avant-projet de principes généraux en matière d'hygiène de la viande⁴ (en cours d'élaboration) et l'Avant-projet de code d'usages en matière d'hygiène de la viande fraîche⁵

³ http://www.fsis.usda.gov/oa/pubs/keep_apart.htm

⁴ Alinorm 03/16 : Annexe II

⁵ Alinorm 03/16 : Annexe III

(également en cours d'élaboration). Ces documents contiennent des approches utiles pour minimiser la contamination du bœuf telles que la mise en place de systèmes d'assurance qualité (HACCP) et de bonnes installations sanitaires. En outre, ils fournissent quelques conseils sur :

- L'alimentation du bétail afin de minimiser la colonisation et l'impact potentiel de l'usage des antibiotiques (note de bas de page 2, paragraphes 24, 25 et 27)
- Le maintien de l'hygiène animale durant le transport. (note de bas de page 2, paragraphes 17, 30 et 40)
- Le développement de systèmes de registres rigoureux tant à la ferme qu'à l'abattoir pour faciliter l'identification et la traçabilité de l'animal. (note de bas de page 2, paragraphes 16, 38 et 46)
- L'assurance que seuls les animaux propres et sains sont présentés à l'abattoir par des inspections ante-mortem et post-mortem et autres moyens jugés utiles par l'établissement. (note de bas de page 2, paragraphes 34, 38 et 40)

En se basant sur les documents Codex existants en matière de gestion des risques, il serait utile que le Comité envisage le développement d'un document séparé sur des méthodes visant à minimiser l'infection EHEC liée à la consommation d'aliments contaminés par l'*E. coli* O157:H7 provenant des matières fécales des bovins. Le Comité devrait déterminer si la rédaction d'un tel document de directive pourra se réaliser plus facilement lorsque le Comité sera mieux informé par une évaluation complète des risques ou si des directives pour réduire les infections par l'EHEC peuvent être rédigées sur base de l'information disponible actuellement.

Besoins et questions devant être pris en compte pour l'évaluation des risques

Si une évaluation des risques de la ferme à la table, pour la viande de bœuf hachée et les légumes verts à feuilles, s'avère nécessaire, le développement d'un module à la ferme qui pourrait être utilisé avec d'autres modules pour l'évaluation des risques de l'infection par l'EHEC liée soit à la viande de bœuf hachée soit aux légumes verts à feuilles devrait être envisagé.

Stratégies de prévention pouvant être étudiées par les évaluateurs pour leur effet éventuel sur la diminution des problèmes de santé chez l'homme :

- L'effet des probiotiques et des bactériophages (<http://www.amif.org/ProbioticsReport042302.pdf>)
- L'effet de certains régimes alimentaires spécifiques visant à minimiser les déjections contenant de l'EHEC (Cray et al. 1998)
- L'effet de certains régimes de compostage d'engrais spécifiques (Lung et al. 2001)
- L'effet de la distance et du traitement des eaux, la distribution et la contamination croisée sur la contamination des récoltes en aval et vent arrière par les matières fécales des bovins

Autres stratégies de prévention (débattues plus en détail dans le profil de risque annexé) qui pourraient être considérées dans l'évaluation des risques:

- Mesures mises en place pour éviter ou contrôler la multiplication d'EHEC dans les aliments pendant le transport et le stockage (température, antimicrobiens, etc.)
- Mesures pour minimiser la contamination des carcasses à l'abattage.
- Mesures pour minimiser l'exposition des consommateurs aux produits contaminés, y compris la viande de bœuf hachée et les légumes verts à feuilles (par ex. les programmes de surveillance, les programmes de sensibilisation du consommateur, etc.)
- Autres mesures conçues pour minimiser la contamination des produits alimentaires (par ex. les codes d'usages recommandés, les directives en matière de gestion des risques, les programmes de certification, etc.)

INFORMATIONS DISPONIBLES

Un certain nombre de pays ont évalué les risques associés aux intoxications alimentaires par l'EHEC. Ces évaluations sont énumérées dans le Tableau 3. Plus particulièrement, le Canada a analysé le risque associé à l'infection par l'*E. coli* O157:H7 découlant de la consommation de hamburgers à la

viande de bœuf hachée (Cassin 1998), de germes (communication personnelle avec Santé Canada, janvier 2002) et de jus de fruits (communication personnelle avec Santé Canada, janvier 2002) chacun de ces produits ayant contribué à l'apparition d'épidémies ou de cas isolés d'intoxications alimentaires dans ce pays. Un groupe académique du Canada a également évalué les facteurs de risque associés à la prévalence de l'*E. coli* O157 chez les bovins à la ferme (Jordan 1999a, 1999b). Les Pays-Bas ont choisi d'étudier le steak tartare en tant qu'agent de transmission dans leur évaluation des risques car : (1) un steak tartare est plus épais qu'un hamburger et par conséquent le risque de cuisson insuffisante du centre du steak est plus grand, (2) les gens ont tendance à accepter un tartare partiellement cru mais n'acceptent pas un hamburger partiellement cru, et (3) le tartare est parfois consommé cru (par exemple les rouleaux de tartare dans les snack bars). Les États-Unis ont développé une évaluation des risques de la ferme à la table pour l'*E. coli* O157:H7 dans la viande de bœuf hachée en plus d'une évaluation des risques comparative pour l'*E. coli* O157:H7 dans les steaks attendris ou non attendris. En raison de la faible contribution des sérotypes d'*E. coli* O157 dans les maladies humaines en Australie, ce pays a développé une évaluation des risques pour l'O157:STEC et une autre pour tous les STEC dans la viande de bœuf hachée et fermentée. Ces évaluations pourront être utiles au FAO/OMS lorsqu'il s'agira de développer une évaluation des risques pour le Codex. Une évaluation plus approfondie pour chacun des sujets est justifiée.

Tableau 3 : Évaluations des risques pour l'*E. coli* O157:H7

Pays	Sujet	Référence
Australie	Viande hachée ¹	Lammerding 1999
Australie	STEC dans la viande hachée ¹	Lammerding 1999
Canada	Hamburgers de viande hachée	Cassin 1998
Canada	Graines/haricots et graines et haricots germés ^{2,3}	Communication personnelle avec Santé Canada
Canada	Jus de fruit non pasteurisés /Cidre ⁴	Communication personnelle avec Santé Canada
Canada	Pratiques rurales avant récolte	Jordan 1999a,b
Irlande	Bœuf/produits à base de viande de bœuf	www.science.ulst.ac.uk/food/E_coli_Risk_Assess.htm
Pays-Bas	Produits fermentés crus	www.research.teagasc.ie/vteceurope/S+Gprog/hoornstrag.html
Pays-Bas	Steak tartare	Rapport RIVM 257851003/2001
E.U.	Viande hachée ⁵	www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/00-023NReport.pdf
E.U.	Steaks attendris et non attendris	Communication personnelle avec USDA

¹Le ANZFA Food Standard Code 1.6.1 définit des limites microbiologiques pour l'*E. coli* générique total dans plusieurs aliments. <http://www.anzfa.gov.au/foodstandardscodecontents/standard16/index.cfm>. En outre, les produits laitiers doivent être fabriqués à partir de lait pasteurisé.

²Autres documents de gestion et de mesures : "Consultation/Policy Document: A Dialogue on Developing a Risk Management Strategy for Sprouted Seeds and Beans".

³Autres documents de gestion et de mesures : "Code of Practice for the Hygienic Production of Sprouted Seeds"

⁴Autres documents de gestion et de mesures : "Code of Practice for the Production and Distribution of Unpasteurized Apple and Other Fruit Juice/Cider in Canada"

⁵Les E.U ont un critère microbiologique qui implique l'absence d'*E. coli* O157:H7 dans la viande de bœuf hachée crue

LACUNES DE DONNEES

Plusieurs lacunes ont été constatées dans les évaluations de risques actuellement disponibles pour l'*E. coli* O157:H7, telles que:

- Des informations décrivant l'impact de l'EHEC sur la santé humaine dans les pays moins développés
- Les produits alimentaires pouvant être associés aux intoxications alimentaires par l'EHEC dans les pays moins développés
- Des données relatives à la dose d'exposition à l'EHEC susceptible de provoquer la maladie chez les populations sensibles
- La fréquence et la sévérité de la maladie EHEC parmi les enfants âgés de 0 à 5 ans, en particulier ceux dont la maladie découle de la consommation de viande de bœuf hachée et de produits crus
- Les pratiques industrielles et des consommateurs en matière de fabrication, de cuisson et de consommation de la viande de bœuf hachée et des légumes crus.
- La survie de l'EHEC dans les produits suite à une contamination par l'eau ou par un engrais organique
- Survie et dispersion de l'EHEC dans l'environnement
- Des informations décrivant les niveaux de contamination critiques des produits à base de viande qui peuvent mener à une contamination croisée des produits non cuits
- Des informations sur l'incidence des légumes frais contaminés par des matières fécales d'origine bovine contenant l'EHEC par rapport aux matières fécales humaines ou d'animaux d'origine sauvage
- Des informations sur la densité maximale des organismes EHEC dans les plats de viande de bœuf hachée et de légumes frais résultant des effets de matrice, de la concurrence de la microflore et d'autres conditions environnementales (par exemple le pH et l'activité de l'eau)
- Des données microbiologiques prévisionnelles sur l'augmentation ou la diminution du nombre de micro-organismes EHEC dans la viande de bœuf hachée en fonction des conditions de préparation et de stockage ainsi que de la fréquence de ces conditions de préparation et de stockage.
- Des données sur la contamination croisée par l'EHEC entre les carcasses pendant le découpage de celles-ci
- Des données sur la température et le temps passé dans les réfrigérateurs des abattoirs
- Des données commerciales sur la proportion de viande hachée à l'abattoir par rapport au détaillant
- Des données sur le stockage chez le détaillant et le consommateur, ainsi que la cuisson et la consommation (fréquence et taille du plat) par type de plat à base de viande de bœuf hachée (par exemple hamburger grillé en juillet par rapport au hachis de bœuf au four en octobre).
- Des données épidémiologiques descriptives sur les cas sporadiques d'intoxications par l'EHEC, y compris le mois auquel débute la maladie, l'âge, le sexe, les hospitalisations, un résumé des manifestations cliniques y compris les manifestations sévères de la maladie et les aliments responsables de l'infection (s'ils sont connus)
- Des études supplémentaires sur les cas sporadiques d'infection par l'EHEC afin de calculer la fraction étiologique imputable à la viande de bœuf hachée
- Des informations sur les stratégies de traitement et de prévention afin de réduire l'EHEC dans la viande et les légumes

Avant-projet de recommandations

- Déterminer si les informations disponibles actuellement sont suffisantes pour la rédaction de directives pour le contrôle de l'EHEC dans les aliments, y compris dans la viande de bœuf hachée et les légumes verts à feuilles.
- Si une évaluation des risques est nécessaire, le Comité devrait envisager l'évaluation d'un module à la ferme qui pourrait être utilisé pour répondre clairement aux questions liées à l'impact de diverses pratiques à la ferme (par ex. les stratégies de contrôle des déjections) sur le nombre de cas de maladies humaines liées à l'EHEC et associées à la consommation de viande de bœuf hachée ou de légumes verts à feuilles
- Après avoir analysé les informations disponibles actuellement et/ou les résultats de l'évaluation de risque susmentionnée, le Comité devrait développer un document séparé sur les méthodes pour réduire l'infection par EHEC associée à la consommation d'aliments contaminés par les matières fécales des bovins.
- Tout en développant le document séparé pour le contrôle de l'EHEC dans les aliments, le Comité devrait réexaminer les codes et les directives alimentaires Codex existants afin de déterminer si ces documents doivent être amendés ou si des annexes doivent être rédigées. Ceci requiert une révision minutieuse de ces documents au vu de l'évaluation des risques, si celle-ci est menée. Citons comme exemples :
 - Les principes généraux en matière d'hygiène de la viande⁶ (en cours d'élaboration)
 - Le code d'usages en matière d'hygiène de la viande fraîche⁷ (également en cours d'élaboration)
- Encourager les efforts de recherche en vue de combler les lacunes de données (mentionnées précédemment), afin de développer des mesures de gestion des risques plus appropriées et mieux informées
- Envisager d'utiliser les évaluations des risques nationales de l'*E. coli* O15:H7 pour examiner les résultats prévus des différentes stratégies de gestion des risques qui pourraient être mises en œuvre pour contrôler ce danger.

⁶ Alinorm 03/16 : Annexe II

⁷ Alinorm 03/16: Annexe III

Annexe A

**INFECTION PAR L' *ESCHERICHIA COLI*
ENTÉROHÉMORRAGIQUE (EHEC)
PROFIL DE RISQUE RÉVISÉ**

JANVIER 2004

1. COMBINAISON(S) PATHOGENE/PRODUIT INQUIETANTE(S)

Escherichia coli

Les souches d'*Escherichia coli* pathogéniques pour les êtres humains et qui sont à l'origine de maladies diarrhéiques peuvent être classées dans des groupes spécifiques en fonction de leur virulence, de leurs mécanismes de pathogénicité et de leurs syndromes cliniques. Parmi ces catégories citons l'*E. coli* entéropathogène (EPEC), l'*E. coli* entérotoxigène (ETEC), l'*E. coli* entéroinvasif (EIEC), l'*E. coli* à adhésion diffuse (DAEC), l'*E. coli* entéroaggrégatif (EaggEC) et l'*E. coli* entérohémorragique (EHEC). Le groupe EHEC comprend un sous-ensemble d'agents pathogènes *E. coli* produisant des toxines Shiga (STEC),⁸ qui englobe des souches d'*E. coli* provoquant une diarrhée aqueuse pouvant devenir sanglante chez plusieurs patients infectés. Les souches d'*E. coli* produisant des toxines Shiga produisent à leur tour soit l'une soit les deux toxines, à savoir la toxine Shiga 1 (Stx1) et la toxine Shiga 2 (Stx2). Cependant, la production de Stx en elle-même semble ne pas être suffisante pour provoquer la maladie. Certaines souches EHEC contiennent également des gènes qui ont la capacité de se fixer et d'endommager les cellules de l'appareil digestif, en provoquant ce que l'on appelle couramment des lésions « d'attachement et effacement ». Pour un exposé détaillé de la pathogénicité de l'EHEC et des autres STEC, veuillez vous référer aux récentes publications par Paton et Paton (1998) et Nataro et Kaper (1998).

1.1 Agents pathogènes inquiétants

L'EHEC a été identifié pour la première fois en tant qu'agent pathogène humain en 1982, lorsque des souches d'un sérotype jusque là inconnu, le O157:H7, furent impliquées dans deux séries de cas de colite hémorragique (diarrhée sanglante) aux États-Unis (E.U.). (Riley et al. 1983 ; Wells et al. 1983). Depuis lors, les épidémies provoquées par cet agent pathogène sont devenues un problème de santé publique sérieux dans plusieurs régions du monde. (Schlundt 2001; Clarke et al. 2002). La fréquence soutenue des grandes épidémies et l'augmentation de l'incidence des cas déclarés laissent supposer que l'*E. coli* O157 :H7 est un agent pathogène émergent prototype (Tauxe 1997 ; Altekruuse et al. 1997). Dans les années 90, outre l'*E. coli* O157:H7, des souches d'EHEC d'autres sérogroupes tels que O26, O103 , O111 et O145 ont été de plus en plus souvent associées à des cas de maladies humaines tel qu'illustré par les données de surveillance du Japon (Tableau 1). L'OMS a récemment identifié les sérogroupes *E. coli* O26, O103, O111 et O145 comme étant les sérogroupes non-O157 les plus importants. Au moins trois épidémies aux États-Unis ont été attribuées à des souches EHEC non-O157 : une épidémie familiale d'*E. coli* O111 avec un cas de syndrome d'urémie hémolytique (HUS), un épisode associé à la consommation de lait d'*E. coli* O104 :H21 affectant 18 individus et une épidémie de gastro-entérite accompagnée de diarrhée sanglante due à l'*E. coli* O111 :H8 chez 56 personnes (CDC 2000). Les sérotypes d'*E. coli* non-O157 tels que O26 :H11, O111 :H8, O103 :H2, O113 :H21 et O104 :H21 ont été responsables d'un nombre limité d'épidémies dans d'autres pays du monde (CDC 1995b ; Goldwater et Bettelheim 1995 ; Paton et al. 1996 ; Robins-Browne et al. 1998). Il est intéressant de constater que dans un groupe de trois cas d'HUS causés par l'O113:H21 en Australie, l'organisme responsable ne présentait aucun gène attachant et effaçant (voir ci-dessus) (Paton et al. 1999). En outre, dans des pays tels que l'Australie l'*E. coli* O157:H7 n'a pas eu de répercussion majeure, les souches de sérotype O26 et O111:H- étant des sujets de préoccupations plus importants. Néanmoins, malgré ces données, le volume de données disponible suggère que les souches d'*E. coli* du sérotype O157 doivent encore être considérés comme étant le problème principal d'infection EHEC.

Tableau 1 : Sérotypes d'isolats d'EHEC humains entre 1999 et 2000 au Japon*

Sérotype	Cas en 1999 (% du total)	Cas en 2000 (% du total)
O157	1394 (72.1)	1158 (69.9)
O26	346 (17.9)	377 (22.8)

⁸ Les STEC sont également appelés VTEC (*Escherichia coli* vérotoxigène) dans certains États membres. Les deux appellations sont fréquemment utilisées dans la littérature scientifique.

O111	81 (4.2)	42 (2.5)
Tous les autres	112 (5.8)	79 (4.8)

** <http://idsc.nih.gov/iasr/22/256/graph/t2563.gif>

Tandis que les *E. coli* O157:H7 sont facilement différenciés d'un point de vue biochimique des autres *E. coli* entériques (car ils fermentent lentement le sorbitol), les méthodes de diagnostic pour l'identification des souches EHEC non-O157 ne sont pas couramment disponibles dans la plupart des laboratoires et par conséquent les infections causées par ces agents pathogènes ne sont pas souvent confirmées. Récemment, de nouvelles méthodes de détection des sérogroupes O26, O103, O111 et O145 ont été développées et ces progrès pourront faciliter la collecte de données supplémentaires relatives à la prédominance et à l'importance de ces sérotypes en ce qui concerne les intoxications alimentaires (Cudjoe 2001). Mead et al. (1999) ont estimé que l'incidence des sérotypes non-O157 EHEC représente entre 20% et 50% des infections dues à l'*E. coli* O157:H7.

1.2 Produits alimentaires concernés

Afin de choisir le produit le plus approprié à présenter dans ce profil de risque, nous avons considéré la fréquence avec laquelle les divers produits ont été impliqués dans une infection d'EHEC. A cette fin, des études existantes sur des cas isolés d'infections à l'*E. coli* O157:H7 et des rapports d'enquête sur des épidémies ont été examinés. Les cas sporadiques constituent la majorité des cas signalés sur une année donnée et sont par conséquent plus représentatifs des personnes ayant une infection par l'EHEC. Par exemple, 75% des cas déclarés dans une région des États-Unis entre 1991 et 1997 et 83% des cas signalés dans une autre région des États-Unis entre 1992 et 1999 étaient sporadiques (OCD 1998, Proctor et Davis 2000). Les produits les plus souvent incriminés sont les viandes d'origine bovine crues ou mal cuites, en particulier des hamburgers mal cuits et du lait non pasteurisé. Néanmoins, un nombre croissant d'épidémies est associé à la consommation de fruits et légumes crus ou très peu traités.

Aliments d'origine bovine

Des études portant sur les cas sporadiques de la maladie ont démontré un lien entre la consommation de bœuf haché (dans la plupart des cas mal cuit) et l'infection par l'EHEC (Tableau 2). Le fait de hacher la viande introduit l'agent pathogène à l'intérieur de la viande ; par conséquent lorsque le bœuf haché n'atteint pas la température interne requise (à savoir >68°C)⁹ ou lorsqu'elle est cuite de manière inégale, l'EHEC peut survenir. En outre, dans la plupart des pays, plusieurs milliers de kilos de viande provenant de plusieurs carcasses sont hachés ensemble et par conséquent, un petit nombre de carcasses contenant l'EHEC peut contaminer une plus grande quantité de bœuf haché. En outre, le bœuf contaminé peut transférer l'EHEC aux hachoirs, ce qui peut contaminer par la suite d'autres lots de viande crue. Les produits à base de bœuf haché constituent donc un danger plus important que les découpes de viande normales. Les viandes fermentées ont également été impliquées dans des flambées épidémiques de l'infection EHEC (Tilden et al. 1996). Une étude de cas a montré une corrélation entre la consommation de deux saucissons, la mortadelle (cuite) et le teewurst (fermenté, contenant du bœuf) et la maladie (Ammon et al. 1999).

Tableau 2 : Études de cas impliquant le bœuf haché dans les infections par l'EHEC

Référence de l'étude	Type d'étude	Conclusion
Slutsker 1998	Étude de cas, maladie sporadique	34% de risque imputable à la consommation de bœuf haché avec un cœur rosé.
Mead et al. 1997	Étude de cas,	45% des personnes malades ont consommé du bœuf haché avec

⁹ Des recommandations entre 68,3 et 71 °C ont été faites. Dans certains cas, elles sont associées à un maintien à la température spécifiée d'une durée de 15 secondes.

	maladie sporadique	un cœur rosé la semaine précédant les faits tandis que seul 33% des personnes contrôlées en avaient fait de même.
Kassenborg 2001	Étude de cas, maladie sporadique	Le bœuf haché avec un cœur rosé constituait un risque statistiquement significatif tandis que la consommation de bœuf haché seule ne l'était pas.
MacDonald 1988	Étude prospective	Le bœuf haché cru était consommé plus souvent par des personnes malades que saines.
Le Saux et al. 1993	Étude de cas, maladie sporadique	Facteur de risque de 17% imputable à la consommation de bœuf haché mal cuit.

Des études épidémiologiques nous ont également permis de mieux comprendre comment l'EHEC se transmet aux humains. Ainsi, le bœuf haché a été identifié comme étant une source de transmission dans 7 épidémies sur 13 (53,9%) qui ont eu lieu entre 1982 et 1993 aux États-Unis (Griffin 1995). Les épidémies ont été attribuées à des intoxications alimentaires, à des intoxications par l'eau et à une transmission entre individus.

Le bœuf a été cité comme étant la source de 46% des épidémies d'intoxication alimentaire ayant eu lieu aux États-Unis entre 1993 et 1999 avec un agent de transmission connu. Sur 21 épidémies associées au bœuf entre 1998 et 1999, le bœuf haché a été mis en cause en tant qu'agent de transmission dans 19 cas (Tableau 3). Cinq (26,3%) des 19 cas associés au bœuf haché/hamburger ont eu lieu dans divers États. Deux épidémies en 1999 ont été attribuées au roast-beef et l'une d'elles était la conséquence d'une contamination environnementale de l'engrais d'un pâturage où un pique-nique avait eu lieu.

Tableau 3 : Aliments impliqués dans les épidémies de *E. coli* O157:H7, aux E.U., 1998-2001^a

Agent de transmission	1998	1999	2000	2001	Total
Viande hachée/hamburger	10	9	4	4	27
Roast-beef	0	2	0	1	3
Légumes verts à feuilles combinés	4	7	1	1	13
Salade	1	1	1	1	4
Chou vert	2	1	0	0	3
Laitue	1	3	0	0	4
Lait	2	0	0	0	2
Autre	5	5	6	2	18
Nbr total de cas d'épidémies ^a	21	21	11	8	63

^aCas d'épidémies pour lesquels les agents de transmission alimentaire sont connus ; les cas d'épidémies pour lesquels les agents de transmission ne sont pas connus ne sont pas compris.

^bIl faut remarquer que parce que les "légumes verts à feuilles combinés" sont à leur tour subdivisés en trois sous catégories, les valeurs numériques du "Nbr total de cas" sont la somme des nombres dans leurs colonnes respectives.

Sources : CDC 1999b ; CDC 2001c.

D'autres produits d'origine bovine ont été impliqués dans un certain nombre d'épidémies d'EHEC tels que le lait de vache cru et non pasteurisé, comme l'atteste l'épidémie de *E. coli* O104:H21 provoquée par un lait contaminé (Feng et al. 2001). Les épidémies dues au lait ont été principalement associées à la consommation de lait cru ou de produits laitiers de fermes locales. Le lait est souvent contaminé par des organismes entériques durant la traite et peut constituer un risque direct pour les consommateurs qui choisissent de boire le lait cru. Il faut souligner, cependant, qu'une pasteurisation efficace élimine les agents pathogènes du lait, y compris l'EHEC.

Aliments d'origine non bovine

Plusieurs aliments peuvent être contaminés par l'EHEC par une contamination croisée avec le bœuf ou d'autres viandes et les surfaces de cuisine contaminées durant la préparation des aliments. Ainsi, la mayonnaise et les sauces à base de mayonnaise ont été identifiées comme étant les aliments les plus susceptibles d'avoir été contaminés dans une série d'épidémies d'*E. coli* O157:H7 aux États-Unis (Jackson et al. 2000). Des études indiquent que la mayonnaise peut servir d'agent de transmission pour les infections EHEC lorsqu'elles sont stockées à des températures de réfrigération, malgré le pH faible de la mayonnaise. Les sandwiches ont été cités comme étant la source probable d'une épidémie de *E. coli* O157:H7 dans une maison de retraite (Carter et al. 1987). En outre, plusieurs épidémies associées à de la viande de gibier ont été signalées (Asakura et al. 1998, Keene et al. 1997).

De plus, les fruits et légumes contaminés par l'EHEC ont été responsables d'un nombre croissant d'épidémies reconnues (Tableau 3). Parmi les légumes, fruits et germes qui ont été impliqués dans les épidémies d'intoxication alimentaires par l'EHEC citons les pommes de terre (Morgan et al. 1988), la laitue (Ackers et al. 1998, Mermin et al. 1997, Hilborn et al. 1999), le radis (Michino et al. 1998), les germes de luzerne (Breuer et al. 2001, MMWR 1997a) et le melon cantaloup (Del Rosario et Beuchat 1995). Dans l'ensemble, les légumes verts à feuilles ont été cités comme étant à l'origine de 26% des cas d'intoxication alimentaire survenus aux États-Unis entre 1998 et 1999 avec un agent pathogène connu. La contamination des légumes peut se produire de plusieurs manières, parmi lesquelles l'usage d'engrais ou d'eau contaminés par des matières fécales (Solomon et al. 2002a ; Wachtel et al. 2002a ; Solomon et al. 2002b) et par la manipulation par un personnel en mauvaise santé et manquant d'hygiène. Dans un certain nombre des cas cités ci-dessus, les déjections animales de pâtures voisines étaient suspectées être à l'origine de l'EHEC (Ackers et al. 1998 ; Hilborn et al. 1999). De la même manière, lors d'un déversement accidentel d'eaux usées qui n'avaient pas été traitées avec du chlore, des choux semblaient présenter des souches d'*E. coli* (ne contenant pas les gènes *stx1*, *stx2* ou *eae*) dans les racines des plantes alors que les champs de contrôle n'en présentaient pas (Wachtel et al. 2002a). Un autre moyen de contamination de ces produits est la contamination croisée lors de la vente au détail ou dans la cuisine du consommateur lorsque les produits sont mis en contact avec des viandes contaminées.

Les jus de fruits ont également été impliqués dans des épidémies d'EHEC (Besser et al. 1993, CDC 1996, CDC 1997, Cody et al. 1999, MMWR 1997b, Steele et al. 1982). Bien que le pH peu élevé des jus de fruits ne favorise généralement pas la survie et la prolifération de la plupart des membres de la famille des Enterobacteriaceae, ils peuvent permettre la survie de l'*E. coli* O157:H7 en raison de sa haute tolérance à l'acide. Les mécanismes de contamination exacts pour ces épidémies n'ayant pas encore été clairement déterminés, les engrais d'origine animale ont été suspectés d'avoir contaminé le fruit.

En résumé, il existe plusieurs voies alimentaires par lesquelles les individus peuvent être exposés à l'EHEC. Parmi les autres facteurs de risque importants d'infection à l'EHEC citons l'exposition aux animaux de la ferme ou à l'environnement agricole, la fréquentation d'un « table service restaurant », l'utilisation de médicaments immunosuppresseurs (pour adultes seulement) et l'obtention de viande de bœuf via un abattoir privé (Kassenborg et al. 2001 ; OCD 1998). Les données actuelles basées tant sur les épidémies que sur les infections sporadiques indiquent que la consommation de bœuf haché constitue toujours la principale source des intoxications alimentaires par l'EHEC. Les légumes verts à feuilles constituent la deuxième cause la plus importante d'intoxications alimentaires chez l'être humain par l'EHEC puisqu'ils sont sujets à la contamination et qu'ils sont consommés crus. Le Tableau 5 dans la section finale de ce document décrit les évaluations de risques nationales et académiques qui ont été effectuées à cette date pour les infections par l'*E. coli* O157:H7.

En raison de leur importance dans les cas d'infection humaine par l'EHEC, la viande de bœuf hachée et les légumes verts à feuilles sont les produits principaux de ce profil de risque. Les produits alimentaires dignes de considération future sont les produits à base de lait cru, le cidre non pasteurisé, les fruits fraîchement coupés, les viandes crues fermentées et les graines germées.

- Les aliments associés directement ou indirectement aux animaux (viande ou produits laitiers) ou aux produits alimentaires sujets à une contamination par les déjections animales telles que les fertilisants ou les eaux de ruissellement agricoles sont fréquemment pointés du doigt comme étant des agents de transmission de maladies humaines.
- Le bœuf a été cité comme étant la source de 46% des épidémies d'intoxication alimentaire avec un agent de transmission connu, ayant eu lieu aux États-Unis entre 1993 et 1999.

- Les légumes verts à feuilles ont été cités comme étant la source de 26% des épidémies d'intoxication alimentaire ayant eu lieu aux États-Unis entre 1998 et 1999.
- Les produits à base de bœuf haché constituent un plus grand risque que les découpes de viande traditionnelles.
- Pour ces raisons, ce groupe de travail ne se penchera que sur les dangers associés à la viande de bœuf hachée et aux légumes verts à feuilles qui ont été contaminés par les déjections bovines.

2. Description du problème de santé publique

Epidémiologie

Après ingestion de l'EHEC, la réponse humaine est variable, pouvant aller de l'infection asymptomatique jusqu'au décès. Afin de développer la maladie après ingestion, l'EHEC doit survivre aux attaques acides de l'estomac avant de se déplacer aux parties distales du tractus gastro-intestinal. Les maladies dues au EHEC surviennent principalement dans le colon. La période d'incubation à partir de l'ingestion jusqu'aux premiers symptômes est de un à huit jours. On a signalé des porteurs asymptomatiques de l'EHEC (Swerdlow 1997), cependant, la proportion des individus porteurs de l'EHEC mais ne développant aucun signe de la maladie est inconnue. Traditionnellement, les premiers symptômes de la maladie sont des crampes abdominales et une diarrhée non accompagnée de saignements pouvant, mais pas nécessairement, progresser et devenir sanglante dans les deux à trois jours (Griffin 1995, Mead 1998). En général, 70% voire plus des patients symptomatiques développent une diarrhée sanglante (Ostroff et al. 1989, Bell et al. 1994). Parmi les manifestations plus sévères de l'infection EHEC, citons la colite hémorragique (en quelque sorte une diarrhée sanglante), le syndrome d'urémie hémolytique (HUS)¹⁰ et parfois le purpura thrombocytopénique thrombotique (TTP).

Les symptômes de la colite hémorragique se caractérisent par des crampes abdominales sévères suivies de diarrhées sanglantes et d'œdèmes (gonflements) et d'une lésion ou d'une hémorragie de la muqueuse du colon (Su et Brandt 1995). La colite hémorragique peut être la seule manifestation de l'infection par l'EHEC ou elle peut précéder le développement du syndrome d'urémie hémolytique. Les complications de la colite hémorragique associée à l'EHEC sont le saignement de la partie supérieure du tractus gastro-intestinal et une attaque (Su et Brandt 1995). Roberts et al. (1998, citant Boyce et al. 1995a, Ryan et al. 1986) estime le taux de mortalité des patients souffrant de colite hémorragique sans progression vers l'urémie hémolytique à 1%. Environ 30 à 45% des patients sont hospitalisés (Ostroff et al. 1989, Le Saux et al. 1993, Bell et al. 1994, Slutsker et al. 1998). Sur les 631 cas déclarés à FoodNet en 1999, 39% des patients furent hospitalisés (CDC 2000b). Le traitement pour les manifestations cliniques les plus sérieuses de l'infection EHEC est soutenu et l'usage d'agents antimicrobiens a été débattu. (Mead 1998).

L'incidence de l'infection EHEC varie selon le groupe d'âge, les cas les plus fréquents se présentant chez les enfants. Outre les enfants, les personnes âgées sont connues pour être sensibles à l'infection EHEC. Un rapport détaillant une épidémie en Écosse provoquée par du bœuf contaminé et impliquant au moins 292 cas confirmés d'EHEC a débouché sur 151 hospitalisations et 18 décès (tous les décès ayant été constatés chez des patients d'un âge avancé) (Ahiied 1997).

Le nombre de cas d'EHEC déclarés est bien inférieur à la réalité de la maladie. Néanmoins, en se basant sur les données de surveillance et en tenant compte des facteurs contribuant à la sous déclaration, Mead et al. (1999) a estimé que 73.480 cas d'infection par l'*E. coli* O157:H7 ont lieu chaque année aux États-Unis et que 85% (62.456 cas) sont le fait d'intoxications alimentaires. Dès 1994, l'*E. coli* O157:H7 a été désigné par le Council of State and Territorial Epidemiologists comme étant une maladie dont la déclaration aux autorités est obligatoire aux États-Unis. Entre 1994 et 2000, le nombre de cas d'infection déclarés d'*E. coli* O157:H7 aux États-Unis a plus que doublé, passant de 1.420 (0,8/100.000 personnes) en 1994 à 4.410 (environ 1,6/100.000 personnes) en 2000 (CDC 1999, CDC 2001) (Figure 1). Les cas aux États-Unis sont déclarés par le National Notifiable Diseases Surveillance System (NNDSS)¹¹. Il s'agit d'un système de contrôle passif dans lequel le personnel médical signale les cas de maladie à déclaration obligatoire aux départements de santé publique

¹⁰ Une combinaison d'insuffisance rénale, un faible nombre de plaquettes et une anémie hémolytique.

¹¹ <http://www.cste.org/nndss/reportingrequirements.htm>

locaux ou d'État. Parmi les autres systèmes de contrôle national ou régional citons (1) l'Enter-net¹² qui recouvre une zone de 15 États membres de l'Union européenne (UE) ainsi que la Suisse et la Norvège, (2) le Communicable Disease Network Australia – National Notifiable Surveillance System,¹³ (3) le Japan's Statistics on Communicable Diseases in Japan (ancien Ministère de la santé et du bien-être) et le National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) qui publie les rapports "Infectious Agents Surveillance Reports"¹⁴ et (4) le Système de rapport des Zoonoses de l'UE¹⁵. Outre ces systèmes de surveillance, l'UE, le Japon et les États-Unis ont chacun développé une méthode de classification par électrophorèse en champ pulsé pour assister les recherches épidémiologiques sur les maladies provoquées par l'*E. coli* et d'autres bactéries. L'augmentation des cas déclarés de *E. coli* O157:H7 sur les dernières années est probablement dû à une combinaison de facteurs tels que (1) l'amélioration de l'efficacité du système de surveillance, (2) une prise de conscience de l'infection *E. coli* O157:H7 parmi le personnel de santé et le public donnant lieu à une meilleure détection de la maladie et à sa déclaration, (3) une plus grande capacité à détecter la maladie grâce à de meilleurs tests de diagnostic (voir l'encadré), et (4) une augmentation réelle de l'incidence de la maladie. La Figure 1 illustre l'augmentation de l'incidence de l'*E. coli* O157:H7 dans trois différentes régions du monde. Pour plus d'informations sur l'impact mondial de l'EHEC voir le rapport de Consultation de l'OMS (OMS 1997).

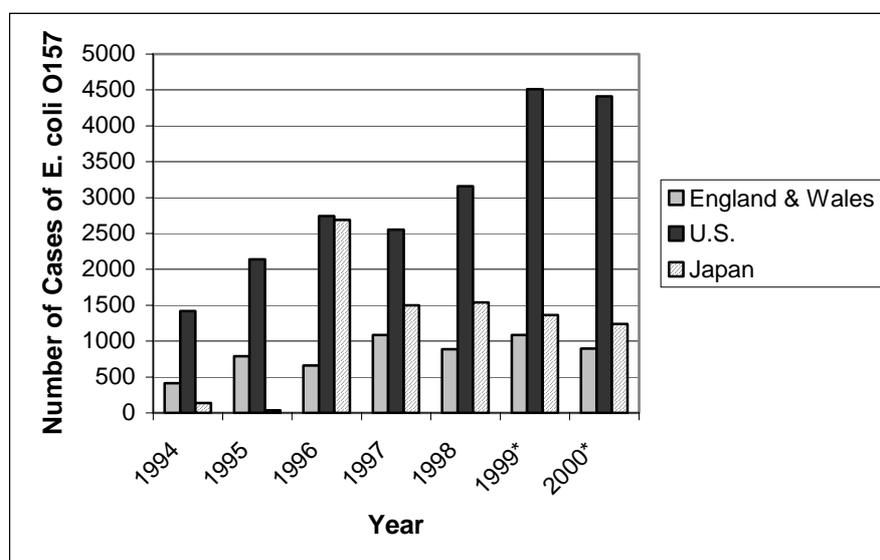
¹² http://www.phls.org.uk/topics_az/ecoli/data.htm

¹³ <http://www.health.gov.au/pubhlth/cdi/nndss/year054.htm>

¹⁴ <http://idsc.nih.gov/jp/iasr/22/256/tpc256.html>; <http://idsc.nih.gov/jp/index.html>; Veuillez noter que dans l'ancien système, connu sous le nom de Ministère de la Santé et du bien-être, les maladies étaient déclarées dans le "Statistics on Communicable Diseases in Japan" et, pendant une période de transition, dans le "Annual Report on National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases". Le nouveau système, connu sous le nom de National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID), publie chaque mois les rapports "Infectious Agents Surveillance Reports" décrivant des isolats pathogènes et donnant d'autres informations ainsi que les rapport annuels "Infectious Disease Surveillance Data" décrivant les cas humains déclarés (les rapports IDSD sont actuellement disponibles sur CD-ROM uniquement).

¹⁵ Directive du Conseil de l'UE 92/117/CE; http://europa.eu.int/eur-lex/en/com/pdf/2001/en_501PC0452_01.pdf

Figure 1. Nombre de cas déclarés d'infections *E. coli* O157:H7, aux E.U. (1994-2000),^a en Angleterre et Pays de Galles (1994-2000)^b et au Japon (1996-2000);^c *données provisoires présentées pour les États-Unis entre 1999 et 2000.



- a) CDC, NNDSS ; les cas englobent les isolats humains suspects et confirmés.
 b) Laboratoire PHLS de pathogènes entériques; les cas englobent uniquement les isolats obtenus des échantillons de selles soumis à PHLS par les laboratoires en Angleterre et aux pays de Galles. Le sérotype, le typage de phage et le typage VT sont déterminés chez PHLS.
 c) Ministère de la santé et du bien-être, National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases; les cas se limitent à ceux confirmés par culture dans les échantillons de selles^c et englobent tous les sérotypes O157.

En 1996, le Foodnet (réseau de surveillance des maladies d'origine alimentaire) a lancé un programme de surveillance actif des laboratoires cliniques pour des maladies d'origine alimentaire spécifiques, notamment l'*E. coli* O157:H7. Cinq États des E.U. ont participé dès le début à ce programme (le Minnesota, l'Oregon, quelques comtés de la Californie, le Connecticut et la Géorgie) (CDC 2001a). A partir de 2000, la zone sous surveillance active s'étendait sur 8 États représentant 29,5 millions de personnes (10,8% de la population américaine en 1999). Le nombre de cas d'*E. coli* O157:H7 déclarés chaque année à FoodNet est passé de 388 en 1996 à 631 en 2000 (Bender et al. 2000, CDC 2000b, CDC 2001a). Étant donné que la population sous surveillance a augmenté, il est plus adéquat de comparer le nombre de cas déclarés pour 100.000 personnes dans une population.

Les données sur la prévalence de l'*E. coli* O157:H7 symptomatique avant la mise en place de FoodNet sont rares et englobent des études qui l'estiment à entre 2 et 10 cas pour 100.000 personnes (Ostroff et al. 1989, MacDonald et al. 1988). Les estimations les plus élevées figurant dans certaines de ces études sont probablement la conséquence d'une méthode active de collecte de données et peuvent fournir une idée plus précise de l'incidence de l'*E. coli* O157:H7 suggérant par conséquent que les programmes de surveillance passive au niveau de l'État sont grevés par la sous-déclaration des cas.

Le syndrome d'urémie hémolytique (HUS) constitue la cause la plus courante d'insuffisance rénale aiguë chez les jeunes enfants et entraîne également des complications à long terme. En Belgique, 97% des cas de syndrome d'urémie hémolytique de l'année 2000 étaient liés à l'infection par l'*E. coli* O157:H7 (Pierard 1997). 1997). Siegler et al. Siegler (1994) a découvert que le HUS cause des séquelles rénales chroniques, généralement légères, chez 51% des survivants en Belgique (48% de tous les cas). Cependant, Elliot (2001) a observé des statistiques d'insuffisance rénale bien inférieures en Australie. Des complications neurologiques ont lieu chez environ 25% des patients atteints de HUS (Mead et al. 1998). Généralement ces symptômes neurologiques sont légers mais des complications sévères telles que des crises, des attaques et le coma, peuvent survenir (Su et Brandt 1995). Tout comme pour le traitement de l'infection par l'EHEC, seul un traitement symptomatique pour les complications neurologiques est disponible, rendant les manifestations du HUS particulièrement dangereuses et en faisant une cause importante de décès chez les patients atteints de ce syndrome.

Parmi les autres complications du HUS citons la pancréatite, le diabète mellitus et l'épanchement pleural et du péricarde (Mead et al. 1998). Une étude nationale sur les patients atteints de HUS rapporte que 46 (55%) des 83 patients ont requis soit une dialyse péritonéale ou une hémodialyse durant la phase aiguë de leur maladie (Banatvala et al. 2001). Siegler et al. (1994) a découvert que des dégradations rénales et neurologiques sévères (stade final de la maladie rénale ou attaque) avaient eu lieu dans 9 (5,7%) des cas d'*E. coli* O157:H7 HUS sur une période de 20 ans dans l'Utah. Certaines études ont suggéré que le taux de mortalité lié au syndrome d'urémie hémolytique était de 3 à 7% (Martin et al. 1990; Tarr and Hickman 1987; Rowe 1991 et al.; Mahon et al. 1997; Banatvala et al. 2001 ; Siegler et al. 1994).

Le pourcentage d'infections *E. coli* O157:H7 qui progressent vers le syndrome d'urémie hémolytique varie entre les cas sporadiques et les épidémies. Entre 3% et 7% des cas sporadiques et 20% ou plus des épidémies de *E. coli* O157:H7 déboucheront sur le HUS (Mead et Griffin 1998). La proportion des patients développant le HUS après une infection *E. coli* O157:H7 est influencée par toute une série de facteurs tels que l'âge, la diarrhée sanglante, la fièvre, le nombre élevé de leucocytes et le type de toxines (Griffin 1995). Wong et al. (2000) a découvert que 10 (14,1%) des 71 enfants atteints par l'infection *E. coli* O157:H7 ont développé le HUS. De la même façon, la sévérité du syndrome d'urémie hémolytique peut différer entre les cas sporadiques et ceux associés aux épidémies ; les épidémies ont souvent débouché sur un prodrome diarrhéique plus court, un taux plus élevé de diarrhée sanglante et des colites hémorragiques plus sévères (Elliot et al. 2001).

Entre 1997 et 1999, dans les établissements FoodNet situés aux E.U., l'incidence totale du HUS chez les enfants âgés de moins de 15 ans était de 0,7 pour 100.000 ; soit une fréquence similaire à celle d'autres pays tels que l'Autriche (0,65 pour 100.000) et l'Australie (0,64 pour 100.000) (Elliot 2001). 2001). Pour les enfants âgés de moins de 5 ans, l'incidence était de 1,4 et 1,35 pour 100.000 aux États-Unis et en Australie, respectivement (CDC 2000b). Dans une étude nationale portant sur 83 patients présentant le HUS aux E.U., 46 (55,4%) étaient âgés de moins de 5 ans et 27 (32,5%) avaient entre 5 et 17 ans (Banatvala et al. 2001). En 1999, 35,3% des cas déclarés de HUS aux E.U. concernaient des enfants âgés de 1 à 10 ans, 17,6% des cas entre 10 et 20 ans et 14,1% chez les plus de 60 ans (CDC 2000b). De même, des analyses sur l'incidence du HUS en Belgique ont démontré que la majorité (35/46) des cas de HUS touchait des enfants (Pierard 1997). 1997). L'ensemble des résultats de cette étude a démontré que l'incidence du HUS est comparable en Australie, en Amérique du nord et en Europe. Une étude nationale portant sur le HUS post-diarrhéique aux E.U a estimé que $\leq 20\%$ de cas de HUS étaient dus à l'EHEC non-O157 ; cependant les auteurs ont émis quelques réserves, précisant qu'il est difficile de déterminer la proportion exacte des HUS associés à l'EHEC non-O157 (Banatvala et al. 2001). En Australie, entre juillet 1994 et juin 1998, seuls 8% des cas de HUS associés à l'EHEC étaient le résultat d'une infection *E. coli* O157 (Elliot et al. 2001). Ceci laisse penser que bien que la maladie HUS soit similaire d'un continent à l'autre, le sérotype EHEC prédominant responsable de la maladie peut varier.

Parfois, des patients atteints d'EHEC sont diagnostiqués comme ayant le purpura thrombocytopénique thrombotique (TTP), une maladie semblable au HUS, mais davantage susceptible de toucher les adultes et présentant des conséquences neurologiques plus marquées et moins d'implications rénales. Dans une étude de Banatvala et al. (2001), sur 73 enfants et 10 adultes répondant au tableau clinique du HUS, 8 (11%) enfants et 8 (80%) adultes répondaient également au tableau clinique du TTP. Aucun des 8 enfants ne connût une issue fatale mais 2 (25%) des adultes sont décédés. Ceci étant dit, il convient de noter qu'il existe des causes du TTP autres que l'association avec l'EHEC et qu'avant les années 80, les infections gastro-intestinales n'avaient pas été impliquées aussi fermement dans la pathogenèse du TTP (CDC-1986). En effet, certaines preuves suggèrent que lorsqu'il est associé à une infection par EHEC, le TTP constitue un trouble équivalent au HUS (Mead and Griffin 1998).

Tandis que la maladie HUS est similaire d'un continent à l'autre, les sérotypes EHEC responsables de la maladie peuvent varier. Le sérotype O157:H7 demeure cependant la souche EHEC prototype responsable de la majorité des infections par EHEC, ainsi qu'une des principales causes de HUS dans le monde entier. Il existe un certain nombre de systèmes de surveillance nationaux et régionaux qui enregistrent les cas d'infection par l'*E. coli* O157:H7. Récemment, le CDC des États-Unis a également inclus tous les *E. coli* produisant des toxines Shiga sur la liste de surveillance. Une partie critique de cet effort est la détection et l'amélioration des tests de diagnostic, tels que l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) pour les gènes de toxines Shiga qui ont permis d'augmenter notre capacité à détecter l'EHEC dans des échantillons environnementaux, les aliments et l'eau. Ces

techniques offrent un bon rendement et une meilleure sensibilité, cependant, il est important de garder à l'esprit que la mise en œuvre de nouveaux tests de diagnostic peut donner lieu à d'autres complications (par ex. l'incapacité de comparer des données d'incidence générées par un culture avec celles générées par des méthodes PCR). Par ailleurs, les coûts financiers de l'équipement, des réactifs et de la formation du personnel requis pour mettre en œuvre les nouvelles technologies de diagnostic peuvent constituer un sérieux obstacle à leur utilisation dans les pays en développement.

3. Production, traitement, distribution et consommation d'aliments

1. Continuum de la ferme à la table

Comme nous l'avons mentionné précédemment, des souches EHEC ont été isolées des matières fécales ou du tractus gastro-intestinal des bovins, des moutons, des chevaux, des cochons, des dindes, des chiens et toute une série d'espèces animales (Kudva 1996; Rice and Rice and Hancock 1995; Hancock et al.1998b; Heuvelink et al. 1999) ; par conséquent, les aliments associés directement ou indirectement aux animaux (viande ou produits laitiers) ou aux produits alimentaires sujets à une contamination par les déjections animales (par exemple, les fertilisants) sont fréquemment pointés du doigt comme étant des agents de transmission de maladies humaines. Des études épidémiologiques ont démontré que les engrais bovins constituent la principale source d'infection par l'*E. coli* O157:H7 chez l'homme. En fait, l'*E. coli* O157:H7 a été décrit comme étant "omniprésent" dans les produits laitiers et la viande bovine et présente du moins occasionnellement dans la plupart des fermes ou pâtures (Hancock et al. 1998a ; Hancock et al. 2001). Parmi les facteurs contribuant à la présence de l'*E. coli* O157:H7 chez les bovins citons :

- La capacité de cet agent pathogène à survivre au moins 4 mois dans l'eau grâce aux sédiments (Hancock et al. 1998a) ; et
- La présence de ce pathogène dans certains aliments pour animaux (Hancock et al. 2001)

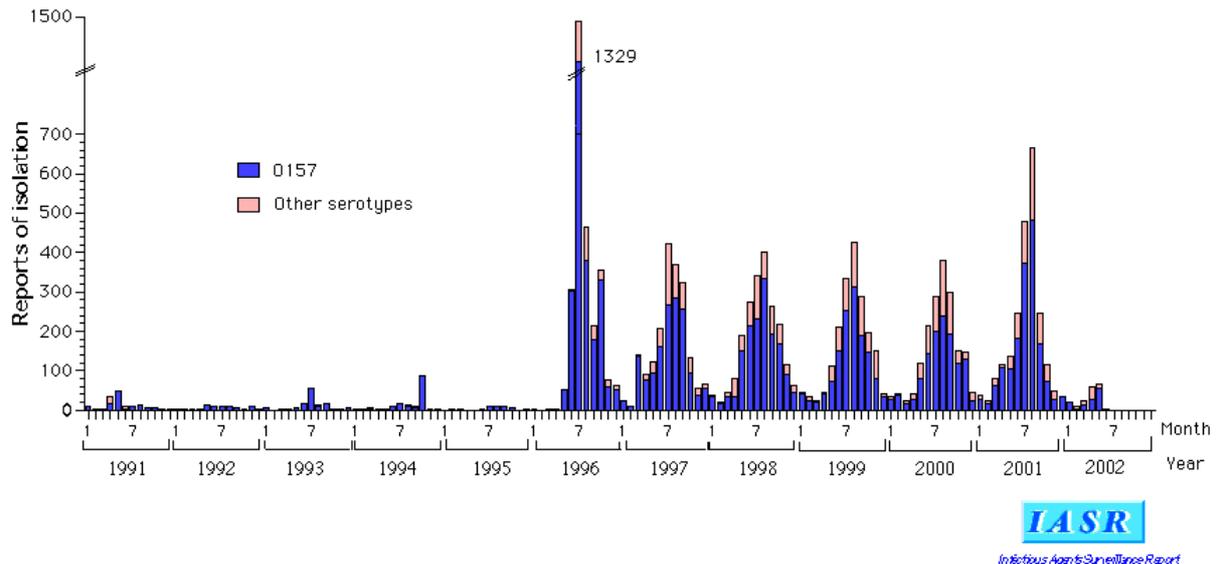
La plupart des facteurs de risque qui semblent influencer la prévalence et le niveau d'EHEC chez les bovins s'applique à l'ensemble du troupeau plutôt qu'à un bovin en particulier. Par conséquent, les stratégies de prévention de l'EHEC ciblent traditionnellement les facteurs de risque au niveau du troupeau. Les rôles que jouent l'eau, y compris l'eau effluente utilisée pour irriguer la nourriture des animaux et les récoltes, l'âge de l'animal à qui est donné cette nourriture et la nourriture elle-même dans la colonisation des troupeaux, peuvent s'avérer décisifs dans les stratégies de gestion des fermes et devraient faire l'objet de recherches plus approfondies (Anderson et al. 2001, Hancock et al. 2001, LeJeune et al. 2001). Les troupeaux d'animaux de boucherie (bœufs et génisses) sont davantage susceptibles d'être infectés que les troupeaux d'élevage (vaches et taureaux). De plus, lorsqu'un troupeau de boucherie est contrôlé positif, il est susceptible de comporter plus d'animaux colonisés que les troupeaux de reproduction (USDA, 2001). Des preuves limitées suggèrent que les vaches laitières et les troupeaux de vaches et veaux présentent des résultats similaires eu égard à la prévalence de l'*E. coli* O157:H7 (Sargeant et al. 2000).

Une augmentation de l'incidence saisonnière des infections par l'*E. coli* O157:H7 chez les populations bovines et humaines a été constatée lors des mois les plus chauds (Hancock et al. 1998a, 1998b; Heuvelink et al. 1998). La même tendance a été observée à partir des données du Japon (Figure 2). Il n'est donc pas surprenant que l'incidence du HUS soit plus courante durant les mois d'été (www.hcsc.gc.ca/hpb/lcdc/bmb/epiic95/95_ii_e.html; Mead et Griffin 1998; CDC 1999a; CDC 2000b, Van de Kar 1996). D'après les rapports de FoodNet, 70% des cas sporadiques déclarés d'infection par *E. coli* O157:H7 chez l'homme ont eu lieu entre juin et septembre pour les années 1996 à 1998 (Bender et al.2000; CDC 1999a).

Figure 2 : Source : IASR Infectious Agents Surveillance Report à l'adresse <http://idsc.nih.gov/jp/prompt/graph/vt9.gif>

Monthly reports of VTEC isolation , January 1991 - June 2002

(Infectious Agents Surveillance Report: Data based on the reports received before June 25, 2002 from public health institutes)



Caractéristiques des produits alimentaires

Les légumes verts à feuilles qui poussent bas dans le sol sont reconnus comme étant une des causes des épidémies d'EHEC. La contamination des légumes peut survenir de plusieurs manières, y compris par l'utilisation d'engrais ou d'eau contaminés par des matières fécales (Solomon et al. 2002a; Wachtel et al. 2002a; Solomon et al. 2002b; Wachtel et al. 2002b). Le fait que beaucoup de produits frais soient très peu traités et consommés crus augmente la probabilité d'une infection par EHEC. L'usage des bonnes pratiques agricoles (BPA), parmi lesquelles celles visant à assurer une qualité d'eau, la dératisation et des conditions sanitaires adéquates, est la pierre angulaire pour réduire les risques alimentaires à partir d'EHEC dans les légumes et les fruits frais.

La viande est contaminée par l'EHEC lorsque les carcasses de bœuf sont mises en contact avec des matières fécales et des dépouilles contaminées durant le processus d'abattage (Elder et al. 2000). La détermination de l'association quantitative entre le statut entrant des bovins et le statut sortant de la viande est donc indispensable dans une évaluation de l'exposition au risque. Cette corrélation quantitative entre la contamination avant et après traitement de la viande est mieux prévue en utilisant les données de prévalence d'*E. coli* O157:H7 dans les matières fécales (Elder et al. 2000).

Certains facteurs influencent la survie et la multiplication de l'EHEC dans les aliments tels que la température, le pH, la concentration en sel et l'activité de l'eau (Meng et Doyle 1998). Des études sur la sensibilité thermique de l'*E. coli* O157:H7 dans la viande de bœuf hachée ont révélé que le pathogène ne présente aucune résistance inhabituelle à la chaleur et que le fait de chauffer suffisamment la viande de bœuf pour tuer les souches typiques de *Salmonella* spp. suffit également à tuer l'*E. coli* O157:H7. La température idéale pour la prolifération de l'*E. coli* O157:H7 se situe à 37°C (98.6°F) environ et l'organisme semble ne pas se développer à des températures inférieures à 8°C et 10°C (46°F à 50°F) ou supérieures à 44°C – 45°C (Doyle et Schoeni 1984; Buchanan et Doyle 1997). L'*E. coli* O157:H7 survit à la congélation, présentant néanmoins un certain déclin en concentration (Ansary et al. 1999).

L'*E. coli* O157:H7 a été signalé comme étant plus résistant à l'acidité que d'autres *E. coli*. La résistance à l'acidité peut donc accroître les chances de survie de l'EHC dans des aliments légèrement acides et peut donc expliquer leur capacité à survivre lors du passage à travers l'estomac. Cependant, sa résistance à l'acidité varie en fonction des souches EHEC et elle est influencée par les phases de prolifération et autres facteurs environnementaux. Lorsque déclenchée, la résistance à l'acide est maintenue durant de longues périodes pendant la

réfrigération (Meng and Doyle 1998). L'*E. coli* O157:H7 en phase stationnaire est plus résistant à l'acide que les cellules en pleine croissance (Meng and Doyle 1998). La présence d'autres forces environnementales telles que la température ou l'activité de l'eau augmentera le pH minimum pour sa prolifération (Buchanan and Doyle 1997). L'*E. coli* O157:H7 survit dans les aliments tels que le salami sec, le cidre de pomme et la mayonnaise, qui étaient considérés auparavant comme trop acides pour permettre la survie de pathogènes alimentaires. La littérature spécialisée contient des rapports contradictoires concernant l'efficacité du lavage au spray acide des carcasses de bœuf pour réduire la présence d'EHEC. Une étude dirigée par Brachett et al. (1994) a démontré que les sprays acides chauds ne réduisaient pas de manière significative la concentration d'*E. coli* O157:H7 dans les carcasses de bœuf. Cependant, deux études récentes ont démontré que les acides organiques favorisaient la réduction de la présence de l'*E. coli* O157:H7 dans les carcasses de bœuf (Berry et Cutter 2000; Castillo et al. 2001). Ces résultats reflètent peut-être les différences de résistance à l'acidité parmi les différentes souches d'*E. coli* O157:H7 (Berry et Cutter 2000).

L'*E. coli* O157:H7 peut survivre pendant des périodes prolongées dans des conditions d'activité de l'eau réduite pendant la réfrigération ; cependant, l'organisme ne tolère pas une présence élevée de sel (Buchanan et Doyle 1997).

Comportement des détaillants et du consommateur

L'industrie de préparation des aliments ainsi que les choix et comportements des consommateurs ont une grande influence sur la probabilité de contracter une infection par l'EHEC. Plus précisément, la viande de bœuf mal cuite (en particulier la viande hachée), possède un lien direct avec l'infection (voir ci-dessus). Il est intéressant de constater que bien que la cuisson de ces produits à une température interne =68 °C s'est avérée être une précaution efficace contre l'infection par l'EHEC, les consommateurs continuent à choisir des produits insuffisamment cuits¹⁶. En outre, dans certains pays, la consommation de bœuf haché cru (tel que le steak tartare ou l'américain) est chose courante. De plus, une prise de conscience ainsi que quelques précautions relatives à la contamination croisée entre la viande crue et les aliments cuits ou les légumes crus, réduiraient la probabilité d'une infection¹⁷. Le comportement des consommateurs pouvant réduire l'incidence de la maladie due à des légumes contaminés à la ferme se limite à laver soigneusement les aliments, en particulier les produits destinés à être consommés crus. Cependant, dans le cas de graines germées et de certains fruits et légumes qui ont été démontrés comme porteurs de l'EHEC (Solomon et al. 2002a), le lavage pourrait ne pas être suffisant.

Interventions

Une évaluation des risques canadienne prévoyait une réduction de la prévalence de la maladie grâce à la mise en œuvre de divers scénarios de prévention pour le bœuf haché (Tableau 4) (Cassin et al. 1998). Parmi ces mesures préventives citons, un contrôle de la température maximale durant le stockage, un dépistage des matières fécales bovines avant l'abattage et une cuisson à des températures appropriées. En se basant sur l'approche de Cassin, une évaluation des risques australienne a également proposé des scénarios de prévention des risques tels que la décontamination à l'eau chaude des carcasses, l'irradiation des boîtes de congélation de bœuf, la réduction des concentrations fécales avant l'abattage, le contrôle de la température chez les détaillants et la sensibilisation du consommateur aux bonnes pratiques de cuisson (Lammerding et al. 1999). En résumé :

¹⁶ <http://www.fsis.usda.gov/oa/news/1998/colorpr.htm>

¹⁷ http://www.fsis.usda.gov/oa/pubs/keep_apart.htm

- La viande peut être contaminée par l'*E. coli* O157:H7 lorsque les carcasses de bœuf entrent en contact avec les déjections et dépouilles contaminées durant l'abattage.
- Une augmentation de l'incidence saisonnière des infections *E. coli* O157:H7 chez les populations bovine et humaine a été constatée lors des mois les plus chauds de l'année.
- *E. coli* O157:H7 ne présente aucune résistance inhabituelle à la chaleur et le fait de chauffer suffisamment la viande de bœuf pour tuer les souches typiques de *Salmonella*. suffit également à tuer l'*E. coli* O157:H7.
- Les choix et habitudes du consommateur tels que la cuisson insuffisante de la viande de bœuf augmentent le risque de contracter une infection *E. coli* O157:H7.

En raison de l'impact que peut avoir la colonisation du bétail à la ferme sur d'autres produits tels que les légumes verts à feuilles, des interventions qui contrôlent la présence de l'EHEC sur les animaux à la ferme sont dignes d'intérêt. Celles-ci englobent l'impact de l'usage de la flore bactérienne probiotique (Zhao et al. 1998) chez les bovins, l'impact de plusieurs régimes alimentaires (Lung et al. 2001), le résultat de différents protocoles de compostage (Lung et al. 2001) et l'impact de diverses méthodes d'irrigation.

4. Besoins et questions devant être pris en compte pour l'évaluation des risques

Une évaluation des risques microbiologiques est-elle suffisante pour réaliser les ambitions du CCFH ?

Puisque tant les légumes verts à feuilles cultivés bas dans le sol que la viande de bœuf hachée sont souvent associés aux infestions par EHEC, ils devraient être considérés soit ensemble, soit séparément, dans une évaluation des risques. D'autres produits qui ont été associés avec les infections par EHEC tels que les produits laitiers non pasteurisés, les jus de fruits non pasteurisés et les produits à base de viande fermentées non cuites, devraient également être inclus dans une évaluation des risques. Il conviendrait de reconnaître que le Comité dispose d'informations suffisantes pour le développement de directives de gestion des risques sans recourir à une évaluation des risques quantitative.

Le CCFH devrait encourager la mise en œuvre de pratiques qui peuvent être utilisées pour prévenir ou minimiser (1) la colonisation du bétail par l'EHEC, (2) la contamination de la viande hachée par des matières fécales (3) la contamination de l'eau par les matières fécales des bovins et (4) la contamination des récoltes par les matières fécales de bovins. Il est possible que les bénéfices des interventions en aval soient moins importants que ceux des interventions à la ferme essentiellement en raison des multiples voies d'infection (et produits) qui peuvent être minimisés par une gestion efficace des engrais à la ferme. Une évaluation des risques peut être utile pour évaluer les options de gestion des risques dans le contexte du continuum de la ferme à la table, afin que leur importance relative puisse être définitivement établie.

Si une évaluation des risques est entreprise par la FAO/OMS, elle devrait fournir une estimation des risques de développement de la maladie et des décès imputables à l'EHEC dans les pays présentant des données suffisantes. Ce faisant, la maladie devra être clairement définie par le CCFH. Une évaluation des bénéfices potentiels (c'est-à-dire le nombre de cas de maladies et de décès évités) des stratégies de gestion des risques, en ce compris celles actuellement en vigueur ou en cours d'évaluation dans les États membres (mentionnées ci-après) pourrait être utile :

Mesurer les effets du contrôle de l'EHEC au niveau de la ferme en ce qui concerne l'usage agricole des engrais.

- L'impact de l'usage de flore bactérienne probiotique chez les bovins.
- L'impact des divers régimes alimentaires.
- Les résultats des différents protocoles de compostage
- L'impact des différentes méthodes d'irrigation (Solomon et al. 2002a)
- L'impact d'un traitement adéquat et efficace de l'eau et de son application durant la transformation
- L'impact des mesures d'hygiène à la ferme (telles que le nettoyage et la désinfection des locaux)
- La gestion des veaux au sevrage

Mesures pour minimiser l'émission d'EHEC dans les matières fécales chez les animaux présentés à l'abattoir (Belgique, Suède, autres)

- Imposer ou renforcer les contrôles de la qualité de la nourriture animale.
- L'impact de l'usage de flore bactérienne probiotique chez les bovins.
- L'impact des divers régimes alimentaires et le jeûne avant le transport
- La gestion des veaux au sevrage
- Contrôle des maladies humaines avec test obligatoire des fermes liées à une épidémie humaine provoquée par l'EHEC. Des restrictions sur les fermes contrôlées positives seront imposées telles que le contrôle de la vente d'animaux vivants et des restrictions sur la vente des animaux destinés à l'abattage (hygiène et prélèvements à l'abattage).

Mesures visant à minimiser la contamination des carcasses durant l'abattage (Australie, Danemark, Allemagne, Portugal, Suède, Royaume-Uni et E.U.).

- Évaluer le niveau de contamination fécale des animaux entrants avec des actions correctives (par exemple un abattage logistique) lorsque les résultats dépassent un niveau prédéterminé (politique des bovins propres).
- Fermer et attacher l'œsophage et emballer et fermer le rectum.
- Habillage et éviscération hygiéniques.
- Tests aléatoires pour détecter l'*E. coli* O157:H7 dans les carcasses de bœuf à l'abattoir. Un test positif doit donner lieu à des tests dans la ferme d'origine. Des tests positifs à la ferme doivent déboucher sur des mesures sanitaires accrues à la ferme.
- Tests aléatoires des carcasses pour la contamination (générique) par l'*E. coli* et mesures pour améliorer les conditions sanitaires lorsque des niveaux déterminés ont été dépassés.
- Tests aléatoires des carcasses pour les enterobacteriaceae.
- Inspections visuelles des carcasses.
- Utilisation des systèmes HACCP à l'abattage et pendant le traitement.
- Différentes procédures de décontamination.

Mesures pour minimiser l'exposition des consommateurs aux produits contaminés (Australie, Royaume-Uni, États-Unis)

- Tests aléatoires pour détecter l'*E. coli* O157:H7 dans le bœuf (haché) et dans les produits.
- Tests aléatoires pour détecter l'*E. coli* (générique) ou les enterobacteriaceae dans le bœuf (haché) et dans les produits.
- Destruction ou transformation des produits de viande contrôlés positifs à l'*E. coli* en produits cuits.
- Irradiation ou pasteurisation.
- Directives spécifiques sur la chaîne du froid.
- Encourager des pratiques hygiéniques durant la découpe, le désossement et autres étapes entre l'abattage et la vente au détail.
- Exigences en matières de cuisson dans les restaurants.
- HACCP dans la production d'aliments et le secteur des services

Codes des détaillants / Éducation du consommateur.

Cuire le bœuf haché à une température interne spécifique tel qu'indiqué par l'utilisation d'un thermomètre à viande (Canada, Allemagne, E. U.)

Mesures pour minimiser la contamination des produits alimentaires dans le commerce international (considération spéciale du CCFH)

Un programme de certification ou d'équivalence visant à assurer que les produits exportés répondent au niveau de protection requis par le pays importateur.

Une Consultation de l'OMS débattait sur l'impact mondial des EHEC et des stratégies de contrôle et de prévention déployées par certains pays (OMS 1997). Des directives européennes et des stratégies de prévention sont exposées dans un rapport de la Direction Générale Santé et Protection des consommateurs de la Commission européenne SANCO/4320/2001¹⁸. Le Canada a fourni (1) des directives provisoires pour le contrôle du STEC, y compris l'*E. coli* O157:H7 dans les saucissons fermentés prêts à être consommés contenant du bœuf ou un produit d'origine bovine en tant qu'ingrédient¹⁹, (2) des mesures concernant les produits crus d'origine animale²⁰, et (3) des mesures

¹⁸ http://europa.eu.int/comm/food/fs/inspections/special_reports/sr_rep_4320-2001_en.pdf

¹⁹ http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/organization/microbial_hazards/guideline_for_fermented_sausages.html

²⁰ http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/organization/microbial_hazards/pdf/rfao_sept21.pdf

pour le bœuf haché contenant l'*E. coli* O157:H7²¹. L'Australie a élaboré des normes microbiologiques et des directives consultatives pour la production hygiénique de produits à base de viande non cuite fermentée basées sur l'*E. coli* générique et incluant tous les sérotypes STEC²².

Le Comité devra établir un ordre de priorité entre ces domaines et des questions explicites à l'intention des évaluateurs de risques devront être formulées afin de déterminer s'il convient que le Comité procède à une évaluation quantitative des risques pour évaluer ces mesures.

5. Informations disponibles

Un certain nombre de pays ont évalué les risques associés aux intoxications alimentaires par l'EHEC (Tableau 4). Plus particulièrement, le Canada a analysé le risque associé à l'infection par l'*E. coli* O157:H7 découlant de la consommation de hamburgers à la viande de bœuf hachée (Cassin et al. 1998), de germes (communication personnelle avec Santé Canada, janvier 2002) et de jus de fruits (communication personnelle avec Santé Canada, janvier 2002) chacun de ces produits ayant contribué à l'apparition d'épidémies ou de cas isolés d'intoxications alimentaires dans ce pays. Un groupe académique du Canada a également évalué les facteurs de risque associés à la prévalence de l'*E. coli* O157:H7 chez les bovins à la ferme (Jordan et al. 1999a, 1999b). Les Pays-Bas ont choisi d'étudier le steak tartare en tant qu'agent de transmission dans leur évaluation des risques car: (1) un steak tartare est plus épais qu'un hamburger et par conséquent le risque de cuisson insuffisante du centre du steak est plus grand, (2) les gens ont tendance à accepter un tartare partiellement cru mais n'acceptent pas un hamburger partiellement cru, et (3) le tartare est parfois consommé cru (par exemple les rouleaux de tartare dans les snack bars). Les États-Unis ont développé une évaluation des risques de la ferme à la table pour l'*E. coli* O157:H7 dans la viande de bœuf hachée en plus d'une évaluation des risques comparative pour l'*E. coli* O157:H7 dans les steaks attendris ou non attendris. En raison du faible rôle des sérotypes d'*E. coli* O157 dans les maladies humaines en Australie, ce pays a développé une évaluation des risques pour l'O157:STEC et une autre pour tous les STEC dans la viande de bœuf hachée et fermentée.

- Ces évaluations pourront être utiles au FAO/OMS lorsqu'il s'agira de développer une évaluation des risques pour le Codex. Une évaluation plus approfondie pour chacun des sujets est nécessaire.

Tableau 4 : Évaluations des risques pour l'*E. coli* O157:H7

Pays	Sujet	Référence
Australie	Viande hachée ¹	Lammerding et al. 1999
Australie	STEC dans la viande hachée ¹	Lammerding et al. 1999
Canada	Hamburgers de viande hachée	Cassin et al. 1998
Canada	Graines/haricots et graines et haricots germés ^{2,3}	Communication personnelle avec Santé Canada
Canada	Jus de fruit non pasteurisés /Cidre ⁴	Communication personnelle avec Santé Canada
Canada	Pratiques rurales avant récolte	Jordan et al 1999a, 1999b
Irlande	Bœuf/produits à base de viande de bœuf	www.science.ulst.ac.uk/food/E_coli_Risk_Assess.htm
Pays-Bas	Produits fermentés crus	www.research.teagasc.ie/vteceurope/S+Gprog/hoornstrasg.html

²¹http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/organization/microbial_hazards/guidelines_for_raw_ground_beef.html

²²

<http://www.anzfa.gov.au/foodstandards/oldfoodstandardscodecontents/partmeatcannedmeatandproductsthereof/c1meatgamemeatandrel686.cfm>

Pays-Bas	Steak tartare	Rapport RIVM 257851003/2001
E.U.	Viande hachée ⁵	www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/00-023NReport.pdf
E.U.	Steaks attendris et non attendris	Communication personnelle avec USDA

¹Le ANZFA Food Standard Code 1.6.1 définit des limites microbiologiques pour l'E. coli générique total dans plusieurs aliments. <http://www.anzfa.gov.au/foodstandardscodecontents/standard16/index.cfm>. En outre, les produits laitiers doivent être fabriqués à partir de lait pasteurisé.

²Autres documents de gestion et de mesures : "Consultation/Policy Document: A Dialogue on Developing a Risk Management Strategy for Sprouted Seeds and Beans".

³Autres documents de gestion et de mesures : "Code of Practice for the Hygienic Production of Sprouted Seeds"

⁴Autres documents de gestion et de mesures : "Code of Practice for the Production and Distribution of Unpasteurized Apple and Other Fruit Juice/Cider in Canada"

⁵Les E.U ont un critère microbiologique qui implique l'absence d'*E. coli* O157:H7 dans la viande de bœuf hachée crue

6. Lacunes de données

Plusieurs lacunes ont été constatées dans les évaluations de risques actuellement disponibles pour l'EHEC, telles que :

- Des informations décrivant l'impact de l'EHEC sur la santé humaine dans les pays moins développés
- Les produits alimentaires pouvant être associés aux intoxications alimentaires par l'EHEC dans les pays moins développés
- Des données relatives à la dose d'exposition à l'EHEC susceptible de provoquer la maladie chez les populations sensibles
- La fréquence et la sévérité de la maladie EHEC parmi les enfants âgés de 0 à 5 ans, en particulier ceux dont la maladie découle de la consommation de viande de bœuf hachée et de produits crus
- Les pratiques industrielles et des consommateurs en matière de fabrication, de cuisson et de consommation de la viande de bœuf hachée et des légumes crus.
- La survie de l'EHEC dans les produits suite à une contamination par l'eau ou par un engrais organique
- Des informations décrivant les niveaux de contamination critiques des produits à base de viande qui peuvent mener à une contamination croisée des produits non cuits.
- Des informations sur le pourcentage de légumes frais contaminés par des matières fécales d'origine bovine contenant l'EHEC
- Des informations sur la densité maximale des organismes EHEC dans les plats de viande de bœuf hachée et de légumes frais en ce qui concerne les effets de matrice, la concurrence de la microflore et les conditions environnementales (par exemple le pH et l'activité de l'eau).
- Des données microbiologiques prévisionnelles sur l'augmentation ou la diminution du nombre de micro-organismes EHEC dans la viande de bœuf hachée en fonction des conditions de préparation et de stockage ainsi que de la fréquence de ces conditions de préparation et de stockage.
- Des données sur la contamination croisée par l'EHEC entre les carcasses pendant le découpage de celles-ci
- Des données sur la température et le temps passé dans les réfrigérateurs des abattoirs.
- Des données commerciales sur la proportion de viande hachée à l'abattoir par rapport au détaillant.

- Des données sur le stockage chez le détaillant et le consommateur, ainsi que la cuisson et la consommation (fréquence et taille du plat) par type de plat à base de viande de bœuf hachée (par exemple hamburger grillé en juillet et le hachis de bœuf au four en octobre).
- Des données épidémiologiques descriptives sur les cas sporadiques d'intoxications par l'EHEC, y compris le mois auquel débute la maladie, l'âge, le sexe, les hospitalisations, un résumé des manifestations cliniques y compris les manifestations sévères de la maladie et les aliments responsables de l'infection (s'ils sont connus).
- Des études supplémentaires sur les cas sporadiques d'EHEC afin de calculer la fraction étiologique imputable à la viande de bœuf hachée
- Des informations sur les stratégies de traitement et de prévention afin de réduire l'EHEC dans la viande et les légumes

Références

- Ackers ML, Mahon BE, Leahy E, Goode B, Damrow T, Hayes PS, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J Infect Dis* 1998; 177:1588-1593.
- Ahiiid S.; Cowdeii, J. "An outbreak of *E.coli* O157 in central Scotland" présenté au 3ème Symposium international et atelier sur la toxine Shiga (Vérotxinogène) – Producing *Escherichia coli* (STEC) Infections 22 au 26 juin 1997.
- Altekruse S. F., Cohen M. L., Swerdlow, D. L. (1997) Emerging Foodborne Diseases. *Emerging Infect. Dis.* 3(3).
- Ammon A; Petersen LR; Karch, HA (1999) A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain of *Escherichia coli* O157:H-. *J. Infect. Dis.* 179: 1274-1277.
- Anderson RJ, House JK, Smith BP, Kinde H, Walker RL, VandeSteege BJ, Breitmeyer RE (2001) Epidemiologic and biological characteristics of salmonellosis in three dairy herds. *JAVMA* 219(3):310-321.
- Ansary SE, Darling KA, Kaspar CW (1999) Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in ground-beef patties during storage at 2, -2, 15 and then -2 degrees C, and -20 degrees C. *J Food Prot* 62(11):1243-7.
- Asakura H, Makino S, Shirahata T, Tsukamoto T, Kurazono H, Ikeda T, et al. (1998) Detection and genetical characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from wild deer. *Microbiol Immunol.* 42:815-822.
- Banatvala N, Griffin PM, Greene KD, et al. (2001). The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings. *J Infect Dis* 183:1063-1070.
- Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, et al. (1994). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the Washington experience. *JAMA* 272:1349-1353.
- Bender J, Smith K, McNees A, et al. (2000). Surveillance for *E. coli* O157:H7 infections in FoodNet sites, 1996-1998: No decline in incidence and marked regional variation. 2ème Conférence internationale sur les maladies infectieuses émergentes, Atlanta, Géorgie, juillet.
- Berry ED, Cutter CN (2000) Effects of acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 on efficacy of acetic acid spray washes to decontaminate beef carcass tissue. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1493-1498.
- Besser RE, Lett SM, Weber JT, Doyle MP, Barrett TJ, Wells JG, Griffin PM (1993). An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA* 267(17):2217-2220.
- Boyce TG, Swerdlow DL, Griffin PM (1995a). *Escherichia coli* O157:H7 and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 333:364-8.
- Boyce TG, Pemberton AG, Wells JG, et al. (1995b). Screening for *Escherichia coli* O157:H7—a nationwide survey of clinical laboratories. *J Clin Microbiol* 33: 3275-3277.
- Breuer T, Benkel DH, Shapiro RL, Hall WN, Winnett MM, Linn MJ, Neimann J, Barrett TJ, Dietrich S, Downes FP, Toney DM, Pearson JL, Rolka H, Slutsker L, Griffin PM; Investigation Team. (2001) A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *Emerg Infect Dis* 7:977-82.
- Buchanan RL, Doyle MP (1997). Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technology* 51(10): 69-76.
- Carter AO, Borczyk AA, Carlson JA, Harvey B, Hockin JC, Karmali MA, et al. (1987) A severe outbreak of *Escherichia coli* O157:H7--associated hemorrhagic colitis in a nursing home. *N Engl J Med* 317:1496-1500.
- Cassin M. H.; Lammerding, A. M.; Todd, E. C. D.; Ross, W.; McColl, R. S. (1998) Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. *Int. J. Food Microb.* 21-44.
- Castillo A, Lucia LM, Mercado I, Acuff GR (2001) In-plant evaluation of a lactic acid treatment for reduction of bacteria on chilled beef carcasses. *J Food Prot.* 64:738-740.
- CDC (1986). Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with *Escherichia coli* O157: H7 – Washington. *MMWR* 35(34): 549-551.
- CDC (1995a). Outbreak of acute gastroenteritis attributable to *Escherichia coli* Serotype O104:H21 --Helena, Montana, 1994. *MMWR* 44(27):501-503.
- CDC (1995b) Community outbreak of hemolytic uremic syndrome attributable to *Escherichia coli* O111:NM - South Australia, 1995. *MMWR Morbidity and Mortality weekly Report* 44, 550-558.
- CDC (1996). Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with drinking unpasteurized commercial apple juice--British Columbia, California, Colorado, and Washington, October 1996. *MMWR* 45(44):975.

- CDC (1997). Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection and cryptosporidiosis associated with drinking unpasteurized apple cider--Connecticut and New York, October 1996. *MMWR* 46(1):4-8.
- CDC (1999). Summary of notifiable diseases, United States, 1998. *MMWR* 47(53):1-94.
- CDC (1999b). Surveillance for outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection. Summary of 1998 data. Report from the National Center for Infectious Diseases, Division of Bacterial and Mycotic Diseases to CSTE. March 8, 1999.
- CDC (2000). *Escherichia coli* O111:H8 outbreak among teenage campers - Texas, 1999. *MMWR* 49(15):321-324.
- CDC (2000a). Surveillance for foodborne-disease outbreaks – Etats-Unis, 1993-1997. *MMWR* 49(SS-1):1-62.
- CDC (2000b). FoodNet surveillance report for 1999 (final report). Novembre.
- CDC (2000c). Surveillance for waterborne-disease outbreaks – Etats-Unis, 1997-1998. *MMWR* 49(SS-4):1-35.
- CDC (2001). Provisional cases of selected notifiable diseases, United States, weeks ending December 30, 2000 and January 1, 2000. *MMWR* 49(51 and 52):1168.
- CDC (2001a). Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses - selected sites, United States, 2000. *MMWR* 50(13):241-246.
- CDC (2001b). Surveillance for outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection. Summary of 1999 data. Report from the National Center for Infectious Diseases, Division of Bacterial and Mycotic Diseases to CSTE. June 15, 2000.
- Clarke SC, Haigh RD, Freestone PP, Williams PH (2002) Enteropathogenic *Escherichia coli* infection: history and clinical aspects. *Br. J. Biomed. Sci* 59(2):123-127.
- Cody SH, Glynn MK, Farrar JA, Cairns KL, Griffin PM, Kobayashi J, Fyfe M, Hoffman R, King AS, Lewis JH, Swaminathan B, Bryant RG, Vugia DJ (1999). An outbreak *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Ann Intern Med* 130(3):202-9.
- Cray WC Jr., Casey TA, Bosworth BT, Rasmussen MA (1998). Effect of dietary stress on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(5):1975-1979.
- Cudjoe, K. (2001) Personal communication with United States Department of Agriculture/FSIS staff scientists.
- CX/FH 02/X “Document de discussion sur les procédures proposées pour permettre au Comité sur l’hygiène alimentaire d’entreprendre des activités spécifiques en matière d’évaluation et de gestion des risques microbiologiques”
- Del Rosario BA, Beuchat LR. Survival and growth of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cantaloupe and watermelon. *J Food Prot* 1995; 58:105-107.
- Doyle MP, Schoeni JL (1984). Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol* 48(4):855-856.
- Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, *et al.* (2000). Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc Natl Acad Sci* 97(7):2999-3003.
- Elliott EJ, Robins-Browne RM, O’Loughlin EV, Bennett-Wood V, Bourke J, Henning P, Hogg GG, Knight J, Powell H, Redmond D (2001) Nationwide study of Haemolytic uraemic syndrome: clinical, microbiological, and epidemiological features *Arch Dis. Child.* 85(2):125-31.
- FDA (Food and Drug Administration) (1998). Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables. octobre 1998.
- Feng P, Weagant SD, Monday SR (2001) Genetic analysis for virulence factors in *Escherichia coli* O104:H21 that was implicated in an outbreak of hemorrhagic colitis. 39(1):24.
- Goldwater P.N. and Bettelheim, K.A. (1995) The role of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* serotypes other than O157:H7 as causes of disease in Australia. *Communicable Diseases Intelligence* 19, 2-4.
- Griffin PM (1995). *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL, eds. *Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press, Ltd., pp 739-761.
- Hancock DD, Besser TE, Rice DG, *et al.* (1998a) Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feedlots and dairy farms in the Northwestern USA. *Prev Vet Med* 35:11-19.
- Hancock DD, Besser TE, Rice DH (1998b). Ecology of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle and impact of management practices. In: *E. coli* O157:H7 and other shiga toxin-producing *E. coli* strains. Kaper JB, O’Brien AD, eds. *Am Soc for Microbiol*, Washington DC, pp 85-91.
- Hancock D, Besser T, Lejeune J, *et al.* (2001) The control of VTEC in the animal reservoir. *Internatl J Food Microbiol* 66:71-8.

- Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JT, van den Biggelaar FL, *et al.* (1999) Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int J Food Microbiol* 52(1-2):67-75.
- Heuvelink AE, van den Biggelaar FL, Zwartkruis Nahuis J, Herbes RG, Huyben R, Nagelkerke N, *et al.* (1998) Occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms. *J Clin Microbiol* 36:3480-3487.
- Hilborn ED, Mermin JH, Mshar PA, Hadler JL, Voetsch A, Wojtkunski C, Swartz M, Mshar R, Lambert-Fair MA, Farrar JA, Glynn MK, Slutsker L. (1999) A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Arch Intern Med* 159:1758-64.
- IASR (Infectious Agents Surveillance Reports) "Verotoxin-producing *Escherichia coli*, January 1991-November 1995, Japan" Vol.17 No.1 (No.191).
- Jackson LA, Keene WE, McAnulty JM, Alexander ER, Diermayer M, Davis MA, Hedberg K, Boase J, Barrett TJ, Samadpour M, Fleming DW (2000) Where's the Beef? The Role of Cross-Contamination in 4 chain Restaurant-Associated Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 in the Pacific Northwest. *Arch. Intern. Med.* 160:2380-2385.
- Jordan D., McEwen, S.A., Lammerding, A.M., McNab, W.B. and Wilson, J.B., 1999a. A simulation model for studying the role of pre-slaughter effects on the exposure of beef carcasses to human microbial hazards. *Prev. Vet. Med.*, 41: 37-54.
- Jordan D., McEwen, S.A., Lammerding, A.M. McNab, B., and Wilson, J.B., 1999b. Pre-slaughter control of *Escherichia coli* O157 in beef cattle: a simulation study. *Prev. Vet. Med.*, 41: 55-74.
- Kassenborg H, Hedberg C, Hoekstra M, *et al.* (2001) Farm visits and undercooked hamburgers as major risk factors for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infections - data from a case-control study in five FoodNet sites. Manuscript in preparation.
- Keene WE, Sazie E, Kok J, Rice DH, Hancock DD, Balan VK, *et al.* (1997) An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections traced to jerky made from deer meat. *JAMA* 277:1229-1231.
- Kudva IT, Hatfield PG, Hovde CJ (1996). *Escherichia coli* O157:H7 in microbial flora of sheep. *J Clin Microbiol* 34: 431-433.
- Lammerding A, Fazil, A, Paoli, G, Vanderlinde, P., Desmarchelier, P. 1999 Risk assessment case studies for selected meat products, Report No MSRC.002, Meat and Livestock Australia.
- LeJeune, Besser, TE, Hancock DD (2001) Cattle Water Troughs as Reservoirs of *Escherichia coli* O157. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:3053-3057.
- Le Saux N, Spika JS, Friesen B, *et al.* (1993) Ground beef consumption in noncommercial settings is a risk factor for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection in Canada. *J Infect Dis* 167:500-2 (letter).
- Lung AJ, Lin CM, Kim JM, Marshall MR, Nordstedt R, Thompson NP, Wei CI (2001) Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in cow manure composting. *J. Food Prot.* 64(9):1309-1314.
- MacDonald KW, O'Leary MJ, Cohen ML, *et al.* (1988) *Escherichia coli* O157:H7, an emerging gastrointestinal pathogen: results of a one-year, prospective, population-based study. *JAMA* 259(24):3567-3570.
- Mahon BE, Griffin PM, Mead PS, *et al.* (1997) Hemolytic uremic syndrome surveillance to monitor trends in infection with *Escherichia coli* O157:H7 and other shiga toxin-producing *E. coli*. *Emerg Infect Dis* (letter) 3(3):409-411.
- Martin D, MacDonald K, White K, *et al.* (1990) The epidemiology and clinical aspects of the hemolytic uremic syndrome in Minnesota. *New Engl J Med* 323:1161-1167.
- Mead PS *et al.* (1997) Risk factors for sporadic infection with *Escherichia coli* O157:H7. *Arch Intern Med* 157:204-208.
- Mead P and Griffin P (1998) *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 352:1207-1212.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, *et al.* (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 5(5):607-25.
- Meng J, Doyle MP (1998) Microbiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. In: J.B. Kaper and A.D. O'Brien, eds. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains, Washington, DC: ASM Press, pp 92-108.
- Mermin J, Hilborn E, Voetsch A, Swartz M, Lambert Fair M, Farrar J, *et al.* A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with eating mesclun mix lettuce, abstract V74/I. In: Anonymous 3rd International symposium and workshop on Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* infections. Melville, N.Y., Etats-Unis: Lois Joy Galler foundation for Haemolytic-Uremic Syndrome Inc. 1997:9.

- Michino H, Araki K, Minami S, Nakayama T, Ejima Y, Hiroe K, et al. Recent outbreaks of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7 in Japan. In: Kaper JB, O'Brien AD, editors. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. Washington, D.C., Etats-Unis: ASM Press, 1998:73-81.
- Michino H, et al. (1999) Massive outbreak of *E. coli* O157:H7 infections in school children in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol* 150:787-796.
- MMWR (1997a) Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating alfalfa sprouts--Michigan and Virginia, juin-juillet 1997. 46:741-744.
- MMWR (1997b) Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection and cryptosporidiosis associated with drinking unpasteurized apple cider--Connecticut et New York, octobre 1996. 46:4-8.
- Morgan GM, Newman C, Palmer SR, Allen JB, Shepherd W, Rampling AM, et al. (1988) First recognized community outbreak of haemorrhagic colitis due to verotoxin-producing *Escherichia coli* O 157.H7 in the UK. *Epidemiol Infect* 101:83-91.
- Nataro JP, Kaper JB (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 11:142-201.
- OCD (Oregon Health Division, Center for Disease Prevention & Epidemiology) (1998). Sporadic cases of hemorrhagic escherichiosis. CD Summary 47(6) (17 mars 1998).
- Ostroff SM, Kobayashi JM and Lewis JH (1989) Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State: The first year of statewide disease surveillance. *JAMA* 262(3):355:359.
- Paton A.W., Ratcliff, R.M., Doyle, R.M., Seymour-Murray, J., Davos, D., Lanser, J.A. and Paton, J.C. (1996) Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of clinical Microbiology* 34:1622-1627.
- Paton JC, Paton AW (1998) Pathogenesis and diagnosis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clin Microbiol Rev* 11:450-479.
- Paton AW, Woodrow MC, Doyle RM, et al (1999). Molecular characterization of a shiga toxigenic *Escherichia coli* O113:H21 strain lacking eae responsible for a cluster of cases of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* 37(10):3357-61.
- Pierard D.; Cornu, G.; Proesmans, W.; Dediste, A.; Jacobs, F.; Van de Walle, F.; Mertens, A.; Ramet, H.; Lauwers, S.; BVIKM/SBIMC HUS Study Group "Incidence of HUS and role of O157 and non-o157 VTEC infection in HUS in Belgium" presented at 3rd International Symposium and Workshop on Shiga Toxin (Verocytotoxin) – Producing *Escherichia coli* (STEC) Infections June 22nd-26th 1997.
- Proctor ME, Davis JP (2000) *Escherichia coli* O157:H7 infections in Wisconsin, 1992-1999. *Wisconsin Med J* 99(5):32-7.
- Rice DH, Hancock DD (1995) Non-bovine sources of *Escherichia coli* O157:H7/Epidemiology. Conference of Research Workers in Animal Diseases: November 13-14, 1995. Chicago, IL. Abstract #66.
- Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, et al. (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New Engl J Med* 308:681-685.
- Roberts T, Buzby J, Lin J, et al. (1998) Economic aspects of *E. coli* O157:H7: disease outcome trees, risk, uncertainty, and the social cost of disease estimates. In: Greenwood B and DeCock K, eds. *New and resurgent infections: Prediction, detection and management of tomorrow's epidemics*. London School of Hygiene & Tropical Medicine. Seventh Annual Public Health Forum. John Wiley & Sons, Ltd: West Sussex, England, pp 155-172.
- Rowe PC, Orrbine E, Well GA, et al. (1991). Epidemiology of haemolytic-uremic syndrome in Canadian children from 1986 to 1988. *J Pediatr* 119(2):218-224.
- Ryan CA, Tauxe RV, Hosesk GW, et al. (1986). *Escherichia coli* O157:H7 diarrhoea in a nursing home: clinical epidemiologic and pathological findings. *J Infect Dis* 154: 631-638.
- Sargeant, JM, Gillespie JR, Oberst RD, et al. (2000) Results of a longitudinal study of the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on cow-calf farms. *Am J Vet Res* 61:1375-1379.
- Schlundt J (2001) Emerging food-borne pathogens. *Biomed. Environ. Sci.* 14(1-2):44-52.
- Siegler RL, Pavia AT, Christofferson RD, et al. (1994) A 20-year population-based study of postdiarrheal haemolytic uremic syndrome in Utah. *Pediatrics* 94: 35:40.
- Slutsker L, Ries AA, Maloney K, et al. (1998) A nationwide case-control study of *Escherichia coli* O157:H7 infection in the United States. *J Infect Dis* 177:962-966.
- Solomon EB, Potenski CJ, Matthews KR (2002a) Effect of irrigation method on transmission to and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *J. Food Prot.* 65(4):673-676.

- Solomon EB, Yaron S, Matthews KR (2002b) Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from Contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue and Its Subsequent Internalization. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(1):397-400.
- Steele BT, Murphy N, Arbus GS, Rance CP. An outbreak of haemolytic uremic syndrome associated with ingestion of fresh apple juice. *J Pediatr* 1982; 101:963-965.
- Su C, Brandt LJ (1995) *Escherichia coli* O157:H7 infection in humans. *Ann Intern Med* 123:698-714.
- Swerdlow DL, Griffin PM (1997) Duration of faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 among children in day-care centres. *Lancet* 15;349(9054):745-746.
- Tarr PI, Hickman RO (1987) Haemolytic uremic syndrome epidemiology: A population-based study in King County, Washington, 1971 to 1980. *Pediatrics* 80:41-45.
- Tauxe R. V. (1997) Emerging Foodborne Diseases: An Evolving Public Health Challenge *Emerging Infect. Dis.* 3(4).
- Tilden J Jr., Young W, McNamara A-M, Custer C, Boesel B, Lambert-Fair MA, Majkowski J, Vugia D, Werner SB, Hollingsworth J, Morris JG. (1996) A new route of transmission for *Escherichia coli*: Infection from dry fermented salami. *American Journal of Public Health* 86(8):1142-1145.
- USDA; Food Safety Inspection Service (2001) "Draft Risk Assessment of the Public Health Impact of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Beef" available at: www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/00-023NReport.pdf
- Van de Kar NC, Roelofs HG, Muytjens HL, Tolboom JJ, Roth B, Proesmans W, *et al.* (1996) Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection in haemolytic uremic syndrome in part of western Europe. *Eur J Pediatr* 155:592-595.
- Wachtel MR, Whitehand LC, Mandrell RE (2002a) Prevalence of *Escherichia coli* Associated with a Cabbage Crop Inadvertently Irrigated with Partially Treated Sewage Wastewater 65(3):471-475.
- Wachtel MR, Whitehand LC, Mandrell RE (2002b) Association of *Escherichia coli* O157:H7 with Preharvest Leaf Lettuce upon Exposure to Contaminated Irrigation Water *J. Food Prot.* 65(1):18-25.
- Wells JG, Davis BR, Wachsmuth IK, *et al.* (1983) Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *J Clin Micro* 18(3):512-20.
- WHO (1997) Consultation "Prevention and Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Infections" WHO/FSF/FOS/97.6
- WHO (1998) "Zoonotic non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). Report of a WHO Scientific working group meeting. Berlin, Germany 23-26 June.
- Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI (2000) The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N. Engl. J. Med.* 342(26):1930-1936.
- Zhao, T, Doyle MP, Harmon BG, Brown CA, Mueller PO, Parks AH (1998) Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 36(3):641-647.