

9 mai 2012 / Hors-série

Numéro thématique – Risques microbiologiques alimentaires dans les produits d'origine animale : surveillance et évaluation / *Special issue - Microbiological hazards in food products of animal origin: monitoring and evaluation*

p. 1 **Éditorial / Editorial**

p. 2 **Sommaire détaillé / Table of contents**

Numéro coordonné par Sandrine Baron¹, Judith Benrekassa², Didier Calavas¹, Henriette De Valk², Catherine Delorme¹, Laetitia Gouffé-Benadiba², Valérie Henry², Clara Marcé³, Julien Santolini², Véronique Vaillant²

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses)

2/ Institut de veille sanitaire (InVS)

3/ Direction générale de l'alimentation, Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche

Remerciements à Thierry Ancelle (Parasitologie-Mycologie, hôpital Cochin) pour sa contribution à la qualité scientifique de ce numéro.

Éditorial / Editorial

Après le numéro conjoint entre le Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH) et le Bulletin épidémiologique Anses-DGAL consacré aux risques zoonotiques paru en mai 2010, voici un nouveau numéro conjoint dédié aux risques microbiologiques alimentaires.

Il s'agit d'une problématique aussi importante que complexe. Importante car, si la maîtrise de l'hygiène alimentaire n'a jamais atteint un tel niveau dans notre pays, plusieurs dizaines de milliers de cas de toxi-infections alimentaires (TIA) sont malgré tout répertoriés chaque année. Complexe par la difficulté d'estimer et de maîtriser le risque tout au long de la chaîne de production, « de la fourche à la fourchette » selon la formule consacrée, et ce pour des filières alimentaires complexes et très diverses. Plusieurs raisons peuvent être invoquées.

La première raison tient à la difficulté d'estimer quantitativement la présence de microorganismes potentiellement zoonotiques à la source, c'est à dire chez l'animal et dans l'aliment. Bon nombre de bactéries à l'origine de TIA sont des bactéries ubiquitaires largement présentes chez les animaux (*Campylobacter*, *Escherichia coli*), faisant souvent partie de la flore commensale, n'entraînant donc en général aucun trouble visible chez les animaux. Il peut également s'agir de bactéries telluriques (*Listeria*) pouvant souiller les produits animaux tout au long de la chaîne de production. Dans ces conditions, on comprend que les plans de surveillance visant à estimer la présence de ces bactéries chez les animaux peuvent difficilement fournir une image représentative de la situation au niveau de l'aliment. Mais il en est de même des plans de surveillance des aliments qui doivent, en théorie, estimer la présence d'un ensemble d'agents zoonotiques dans une multitude d'aliments, produits en France ou importés, représentant une infinité de « lots de production ».

La deuxième raison est liée au fait que la présence de tel ou tel agent pathogène ne suffit pas à établir le risque. Pour les bactéries par exemple, la détermination de l'espèce est souvent insuffisante. Il est nécessaire d'apprécier la virulence d'un isolat pour l'Homme, ce qui nécessite, quand les déterminants sont connus (gènes de virulence, certains sérotypes, certains génotypes, etc.) des analyses de biologie moléculaire et de génomique qui ne peuvent pas être mises en œuvre en routine. L'appréciation de ce potentiel de virulence est pourtant parfois nécessaire à l'estimation du risque. Ainsi ce type d'études sur les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) a montré que seul un nombre restreint de STEC étaient des *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) responsables d'infections chez l'Homme.

La troisième raison tient à la difficulté de maîtriser le risque tout au long de la chaîne alimentaire. Au niveau de l'animal, si la présence de certaines bactéries peut être contrôlée (*Salmonella*) par des mesures de biosécurité visant à contrôler l'introduction des agents infectieux dans les élevages, il faut bien considérer qu'une grande partie des animaux sont élevés en plein air, et sont naturellement et normalement exposés à des microbes. Dans ce cas, la maîtrise au niveau de l'animal n'a pas de sens, elle doit être reportée au niveau du processus de production des aliments. Or, le développement des aliments préparés crée une multitude de risques, à chacune des étapes de l'abattage, du transport des « matières premières », de la fabrication, du conditionnement, du transport et du stockage du produit fini avant consommation. Au risque lié à la matière première s'ajoutent des risques inhérents au processus (y compris des risques de contamination d'origine humaine tout au long de la chaîne de production) démultipliés par le volume des lots de production (« mêlées » de plusieurs centaines de kilos de viande hachée dont un lot de départ est contaminé). Si les procédures qualité (HACCP) et les autocontrôles mis en œuvre par les industries agroalimentaires (IAA) permettent globalement de mieux maîtriser les risques, il est clair que la garantie absolue ne peut pas être apportée à chaque lot d'aliments produits.

Enfin, la dernière raison tient aux pratiques alimentaires et culinaires. Au-delà du fait que le développement de l'alimentation collective, couplé à l'utilisation accrue d'aliments préparés, augmente « mécaniquement » les risques d'exposition, les pratiques individuelles peuvent aussi engendrer un risque. La consommation de plus en plus fréquente de produits d'origine animale peu ou pas cuits (steak haché, « tartare » de viande ou de poisson, œufs) contribue à faire évoluer les risques. Plus globalement au niveau de chacun, toutes les phases de conservation, de préparation et de cuisson des aliments peuvent contribuer à l'exposition du consommateur, voire amplifier un risque préexistant.

Le présent numéro a donc pour objet de faire un point des connaissances pour certains des risques microbiologiques alimentaires liés aux produits d'origine animale les plus importants, à la fois sur le plan de la situation épidémiologique et sur le plan des dispositifs de surveillance.

Le Comité de rédaction BEH-BE

Sommaire détaillé / *Table of contents*

RISQUES MICROBIOLOGIQUES ALIMENTAIRES DANS LES PRODUITS D'ORIGINE ANIMALE : SURVEILLANCE ET ÉVALUATION

MICROBIOLOGICAL HAZARDS IN FOOD PRODUCTS OF ANIMAL ORIGIN: MONITORING AND EVALUATION

p. 1	Éditorial <i>Editorial</i>
p. 3	Les systèmes de surveillance des maladies d'origine alimentaire : sources, méthodes, apports, limites <i>Surveillance systems of foodborne illness: sources, methods, contributions, limitations</i>
p. 7	Systèmes de surveillance des microorganismes dans la chaîne alimentaire : finalités, base réglementaire et organisation en France <i>Surveillance systems of microorganisms in the food chain: objectives, regulatory basis and organization in France</i>
p. 11	Surveillance des infections à <i>Campylobacter</i> chez l'Homme en France, 2003-2010 <i>Surveillance of human Campylobacter infection in France, 2003-2010</i>
p. 14	Encadré – Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France <i>Box – Surveillance of hemolytic uremic syndrome in children under 15 years in France</i>
p. 15	Antibiorésistance de <i>Campylobacter</i> dans différentes filières animales (avicole, bovine, porcine) en France : principales tendances <i>Antimicrobial resistance of Campylobacter strains isolated from animals (poultry, pig, cattle) in France: major trends</i>
p. 17	<i>Campylobacter</i> dans les filières de production animale <i>Campylobacter in animal production sectors</i>
p. 20	<i>E. coli</i> producteurs de shigatoxines (STEC) : définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC) <i>Shiga toxin-producing E. coli (STEC): definitions, virulence and properties of enterohaemorrhagic (EHEC) strains</i>
p. 25	Salmonelloses en France, 2002-2010 : tendances en épidémiologie humaine, émergence de la souche monophasique, principaux aliments impliqués dans les dernières épidémies <i>Salmonellosis in 2002-2010 in France: trends in human epidemiology, monophasic serotype emergence, main food implicated in the latest outbreaks</i>
p. 29	Encadré – Épidémie nationale de salmonellose de sérotype 4,12:i:- liée à la consommation de saucisson sec, France, 2010 <i>Box – Nationwide outbreak of Salmonella serotype 4,12:i:- linked to the consumption of dried sausage, France, 2010</i>
p. 30	Surveillance des salmonelles isolées de la chaîne alimentaire en France <i>Surveillance of salmonella isolated from the food chain in France</i>
p. 34	Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France <i>Surveillance of biological risks associated to shellfish consumption in France</i>
p. 38	Surveillance de la listériose humaine en France, 1999-2011 <i>Surveillance of human listeriosis in France, 1999-2011</i>
p. 41	Surveillance des <i>Listeria monocytogenes</i> dans les aliments <i>Surveillance of Listeria monocytogenes in food</i>
p. 45	Toxi-infections alimentaires collectives à <i>Bacillus cereus</i> : bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010 <i>Bacillus cereus food poisoning outbreaks: strain characterization results, 2006-2010</i>
p. 50	Épidémiologie de <i>Yersinia enterocolitica</i> chez le porc, réservoir animal de souches pathogènes pour l'Homme <i>Epidemiology of Yersinia enterocolitica in pig, animal reservoir of pathogenic strains for humans</i>

Les systèmes de surveillance des maladies d'origine alimentaire : sources, méthodes, apports, limites

Véronique Vaillant (v.vaillant@invs.sante.fr), Henriette De Valk, Christine Saura

Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Résumé / Abstract

En France, la surveillance des maladies infectieuses d'origine alimentaire repose sur plusieurs systèmes : la déclaration obligatoire (DO), les Centres nationaux de référence (CNR), des réseaux de biologistes et des réseaux de cliniciens volontaires. Ses principaux objectifs sont de suivre les tendances évolutives des maladies surveillées, de décrire les caractéristiques des cas, de détecter des épidémies ou des phénomènes émergents. Neuf maladies d'origine alimentaire et les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) sont à DO, et 14 CNR contribuent à la surveillance de 17 agents à transmission alimentaire. Les principales limites de ces systèmes sont liées au fait qu'ils ne recensent qu'une partie des cas survenant en population générale. La proportion de cas identifiés par chacun d'entre eux dépend de la nature du système et de la maladie surveillée. Elle varie suivant les caractéristiques des cas et impacte ainsi la représentativité des surveillances. Elle peut aussi évoluer au cours du temps, pouvant compromettre le suivi des tendances. La diversité et la complémentarité de ces systèmes permet cependant de disposer de données grâce auxquelles il est possible d'évaluer l'impact des mesures de prévention ou de contrôle existantes et de les adapter ou orienter vers de nouvelles mesures.

Mots-clés / Key words

Maladies d'origine alimentaire, surveillance épidémiologique, France / Foodborne illness, epidemiological surveillance, France

En France, la surveillance des maladies infectieuses d'origine alimentaire repose sur plusieurs systèmes complémentaires : la déclaration obligatoire (DO), les Centres nationaux de référence (CNR), des réseaux de biologistes et des réseaux de cliniciens volontaires. Les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) et neuf maladies potentiellement d'origine alimentaire sont actuellement à déclaration obligatoire (DO). Ces surveillances ont pour principaux objectifs de suivre les tendances évolutives des maladies surveillées, de décrire les caractéristiques des cas, de détecter des épidémies ou des phénomènes émergents. Elles permettent d'évaluer l'impact des mesures de prévention ou de contrôle existantes, de les adapter ou d'orienter de nouvelles mesures.

Épidémiologiquement, les maladies d'origine alimentaire peuvent s'exprimer sous trois formes : cas isolés (dit sporadiques) sans lien identifié avec d'autres cas ; foyers de cas groupés (dénommés toxi-infections alimentaires collectives) liés à une source commune « circonscrite », comme par exemple parmi les personnes d'une même famille ou celles ayant participé à un même événement ponctuel (banquet) ou partageant la même restauration collective ; épidémies diffuses dites « communautaires » dues à des produits distribués largement et touchant majoritairement des personnes sans lien apparent entre elles. Ces épidémies diffuses peuvent inclure des foyers de cas groupés.

La déclaration obligatoire

Les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) et neuf maladies potentiellement d'origine alimentaire sont actuellement à déclaration obligatoire (DO) : le botulisme, la brucellose, le charbon, le choléra, la listériose, les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, l'hépatite A, les suspicions de maladie de Creutzfeldt-Jakob et autres encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles humaines (ESST) et la tularémie.

Tout docteur en médecine ou chef de laboratoire d'analyse et de biologie médicale doit notifier les cas de maladies inscrites sur la liste des maladies à DO aux médecins inspecteurs de santé publique de l'Agence régionale de santé (ARS) du département de résidence des cas. Les critères de notification sont spécifiques à chaque maladie (tableau 1) et les notifications sont faites sur des fiches également spécifiques à chaque maladie. Ces maladies, qui peuvent justifier une intervention urgente locale, nationale ou internationale, sont à signaler par tout moyen approprié (téléphone, télécopie, etc.) au médecin de l'ARS avant confirmation du cas et envoi de la fiche de notification.

Surveillance systems of foodborne illness: sources, methods, contributions, limitations

In France, surveillance of foodborne illnesses is based on multiple systems: mandatory notification, national reference centres (NRC), laboratory and physician based networks. The main objectives of surveillance are to follow temporo-spatial trends, describe the characteristics of cases, and detect outbreaks or emerging phenomenon. Nine foodborne illnesses and foodborne outbreaks are mandatory notifiable, and 14 NRCs contribute to the surveillance of 17 foodborne pathogens. The main limits of these systems are related to their lack of sensitivity. The proportion of cases identified depends on the nature of the system and on the disease under surveillance. It varies according to the characteristics of cases and has an impact on the representativeness of the surveillance. It can also vary over time, and may therefore compromise the monitoring of trends. Diversity and complementarity of these systems, however, provide data needed for assessing the impact of existing measures of prevention or control and for guiding their adaptation.

Tableau 1 Critères de notification pour neuf maladies à déclaration obligatoire avec possible transmission alimentaire et pour les toxi-infections alimentaires collectives, France, 2012 / Table 1 Notification criteria for 9 notifiable diseases with possible foodborne transmission and for foodborne outbreaks, France, 2012

Botulisme – Diagnostic clinique de botulisme (même en l'absence de confirmation par mise en évidence de la toxine botulinique). Un foyer de botulisme est défini comme un ou plusieurs cas liés à un repas ou à un aliment commun.

Brucellose – Tableau clinique évocateur de brucellose et, pour un cas certain : un isolement de *Brucella* spp. dans un prélèvement clinique ; pour un cas probable : amplification génique positive sur un prélèvement clinique ou séroconversion ou multiplication par quatre au moins du titre d'anticorps entre un sérum prélevé en phase aiguë et un sérum prélevé 15 jours plus tard ; pour un cas possible : mise en évidence d'anticorps à titre élevé dans un seul sérum.

Charbon – Signes cliniques évocateurs de charbon associés et, pour un cas certain : isolement de *Bacillus anthracis* à partir d'un échantillon clinique ; pour un cas probable : amplification génique positive sur un échantillon clinique ; pour un cas possible : cas de charbon cutané sans confirmation biologique ou autres formes cliniques avec un lien épidémiologique avec des cas animaux ou humains confirmés.

Choléra – Tableau clinique évocateur de choléra avec identification d'un vibron cholérique.

Fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes – Tableau clinique évocateur de fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes associé à un isolement de *Salmonella* Typhi, Paratyphi A ou Paratyphi B ou Paratyphi C, quel que soit le site d'isolement.

Hépatite A aiguë – Présence d'IgM anti-VHA dans le sérum.

Listériose – Isolement de *Listeria monocytogenes*.

Suspicion de maladie de Creutzfeldt-Jakob – Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insomnie fatale familiale, apparition récente et d'évolution progressive sans rémission d'au moins un signe neurologique associé à des troubles intellectuels ou psychiatriques après élimination de toute autre cause.

Toxi-infections alimentaires collectives – Survenue d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

Tularémie – Tableau clinique évocateur de tularémie associé à, pour un cas confirmé : isolement de *Francisella tularensis* à partir de prélèvements cliniques ou séroconversion ou multiplication par quatre au moins du titre d'anticorps entre un sérum prélevé en phase aiguë et un sérum prélevé 15 jours plus tard ou en phase de convalescence ou PCR positive à partir d'un prélèvement clinique ; pour un cas probable : mise en évidence d'anticorps spécifiques dans un seul sérum avec un titre supérieur ou égal au seuil du laboratoire ; pour un cas possible : exposition commune à celle d'un cas confirmé.

À réception de la déclaration, l'ARS vérifie que les critères de notification sont respectés et complète les informations éventuellement manquantes auprès du déclarant. En cas de menace potentielle pour la santé publique, l'ARS initie rapidement une investigation complémentaire pour prendre des mesures de contrôle adaptées. Ces situations sont de nature variée. Il peut s'agir de cas groupés avec une possible source de contamination commune comme les Tiac, de cas isolés pour certaines maladies comme le charbon, le botulisme, la fièvre typhoïde autochtone, la brucellose autochtone, ou encore de cas survenant dans des contextes particuliers favorables à la transmission, tel un cas d'hépatite A dans un établissement médico-social. Les investigations complémentaires nécessaires pour orienter ces mesures sont conduites par les ARS en collaboration avec les partenaires locaux concernés, en particulier les Directions départementales de protection des personnes (DDPP) et avec l'appui éventuel des cellules de l'InVS en région (Cire).

Les fiches de notification sont adressées à l'Institut de veille sanitaire (InVS) qui effectue, à réception, une nouvelle validation et une évaluation visant à détecter une alerte dépassant le niveau régional (par exemple, plusieurs cas de botulisme survenus en même temps dans différentes régions, plusieurs cas d'hépatite A ou de typhoïde avec notion de voyage dans une même zone géographique, etc.). Les investigations nécessaires sont alors réalisées avec les acteurs concernés en santé humaine, au niveau régional (ARS, Cire, DDPP), national (Direction générale de la santé - DGS, CNR) voire international (Centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies - ECDC) et en collaboration avec les structures compétentes pour les investigations ou la gestion dans le domaine alimentaire (Direction générale de l'alimentation - DGAL, Direction générale de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes - DGCCRF, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Anses, ARS, DDPP).

Les fiches sont saisies dans une base de données nationale. L'InVS réalise une analyse et une synthèse annuelle de ces données, publiée sur son site Internet¹. La DO permet de suivre les tendances évolutives et de connaître les caractéristiques des cas de ces différentes maladies et leurs facteurs de risque. Elle est essentielle pour évaluer l'efficacité des mesures mises en œuvre pour la prévention de ces maladies aux différents stades de la filière alimentaire. Elle a ainsi montré l'impact des mesures prises pour la prévention de la listériose, dont l'incidence a été diminuée de 68% entre 1987 et 1997 [1], et du plan de lutte contre la brucellose dans les troupeaux, la presque totalité des cas identifiés au cours de ces dix dernières années étant des cas importés de pays à forte incidence [2]. Elle permet aussi d'adapter les actions de santé publique. Par exemple, en 2010, l'analyse des DO du botulisme montrant une augmentation du nombre de cas de botulisme infantile liés à la consommation de miel, l'Anses a émis un avis recommandant des mesures préventives pour le grand public (étiquetage du miel déconseillant la consommation avant l'âge de 1 an) et l'InVS a sensibilisé les pédiatres à cette maladie et à ses facteurs de risque via la littérature pédiatrique [3]. De même, en 2009, suite à la survenue de plusieurs Tiac dues au virus de l'hépatite E liées à la consommation de figatelles crues, et la publication d'un avis de l'Anses confirmant le risque lié à ce produit, la DGAL a sollicité l'intervention des professionnels de la filière concernée afin que la mention « à consommer cuit à cœur » soit portée sur l'étiquetage de ces produits. La DGS a pour sa part diffusé une information aux professionnels de santé portant sur les recommandations vers les patients à risque vis-à-vis de l'hépatite E [4]. Enfin, une étude récente sur les caractéristiques des cas de listériose déclarés a permis d'identifier plus précisément les populations les plus à risque et permettra de cibler les recommandations vers ces populations [5].

Les données issues des DO doivent cependant être interprétées en prenant en compte les limites de cette surveillance. En effet, tous les cas ne sont pas déclarés et la proportion de cas déclarés varie suivant les maladies. Elle a ainsi été estimée à 87% pour la DO de la listériose en 2000 [6], à 42% pour celle des fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes en 1998 [données non publiées, InVS] et à 21% pour les Tiac à salmonelles en 1995 [7]. Une proportion de déclarations même relativement faible permet le suivi des tendances épidémiologiques à condition que la DO reste stable dans le temps et selon les lieux et les caractéristiques des cas. Cette proportion peut en effet varier en fonction des caractéristiques des cas (ou Tiac) et influencer ainsi sur la représentativité des cas (ou Tiac) déclarés par rapport aux cas (ou Tiac) survenus dans la population. Ainsi, les cas les plus graves, hospitalisés, seront probablement plus souvent notifiés. De même, les Tiac dues à des micro-organismes entraînant des symptômes peu graves ou rapidement résolutifs (comme les Tiac à norovirus),

les Tiac touchant un petit nombre de malades (comme les Tiac familiales) ou encore les Tiac affectant des collectifs de circonstance (comme la clientèle d'un seul service d'un restaurant) ont une probabilité plus faible d'être déclarées que les Tiac avec une symptomatologie plus sévère (comme les Tiac à salmonelles) ou les Tiac avec un grand nombre de personnes malades (comme les Tiac en restauration collective). Par ailleurs, les Tiac déclarées ne sont pas toutes investiguées et l'attribution de la Tiac à un aliment donné repose alors sur l'avis du médecin déclarant ou des malades, qui peuvent attribuer plus facilement la Tiac aux aliments les plus connus comme à risque tels que les œufs ou les coquillages, avec en conséquence une surestimation de la part de ces aliments. En outre, en l'absence de recherche de l'agent en cause chez les patients ou dans les aliments suspects, l'agent est souvent seulement suspecté sur des critères cliniques ou épidémiologiques. De 2006 à 2008, un tiers des Tiac déclarées avait fait l'objet d'un rapport d'investigation et l'agent en cause n'avait pu être confirmé que pour un quart d'entre elles [8].

La surveillance par les Centres nationaux de référence

Institués en France en 1972 dans le cadre de la lutte contre les maladies transmissibles, les CNR sont nommés par arrêté du ministère chargé de la Santé. Ils sont proposés à ce dernier par l'InVS, au terme d'une évaluation de leur capacité à répondre à un cahier des charges spécifique déclinant, pour chacun, leurs missions. Ils ont des missions d'expertise concernant la microbiologie ou la pathologie des agents infectieux, de contribution à la surveillance épidémiologique, d'alerte par l'information immédiate de l'InVS ou du ministre chargé de la Santé de toute constatation pouvant avoir des répercussions sur l'état sanitaire de la population. Ils ont également une mission de conseils auprès des professionnels de santé et des pouvoirs publics.

En 2012, 14 CNR assurent ou contribuent à la surveillance de 17 agents responsables de maladies à transmission potentiellement alimentaire (tableau 2). Cette surveillance s'exerce par l'intermédiaire de réseaux de laboratoires qui adressent aux CNR les souches isolées ou qui leur notifient les cas diagnostiqués. Ces envois sont accompagnés de fiches recueillant des informations sur les principales caractéristiques des cas. La surveillance par les CNR est essentielle pour les maladies qui ne relèvent pas d'une DO dédiée comme les salmonelles, les *Campylobacter*, les *Yersinia* entéropathogènes ou les vibrions. Elle permet aussi de compléter la surveillance des maladies à DO en recensant des cas non déclarés. Par exemple, chaque cas de listériose ou de botulisme identifié par le CNR concerné est notifié en temps réel par le CNR à l'InVS, qui contacte l'ARS si ce cas n'a pas été déclaré pour obtenir une DO. À l'inverse, l'InVS demandera que les souches ou échantillons des cas déclarés soient adressés au CNR pour confirmation du diagnostic et caractérisation des souches. Les CNR apportent aussi des informations microbiologiques complémentaires à la DO, nécessaires pour la surveillance des maladies concernées.

Les CNR effectuent en routine le typage des souches qui leurs sont adressées. La variation de la distribution de ces sous-types (génotype ou sérotype) permet la détection d'épisodes de cas groupés liés à des souches de même sous-type ou d'une augmentation de souches de sous-types connus ou d'une émergence de nouveaux sous-types. Les CNR contribuent à l'alerte en détectant et signalant ces événements à l'InVS. À cette fin, certains CNR comme celui des salmonelles et des *Listeria* ont mis en place des algorithmes permettant de détecter un excès de souches d'un sérotype ou génotype donné par rapport à un nombre attendu de souches du même type. Le délai inévitable entre la date de survenue des cas et leur identification par le CNR (cumul du délai entre la date de début des symptômes et la date de consultation, du délai de confirmation du diagnostic par le laboratoire, du délai d'envoi au CNR et enfin du délai nécessaire aux analyses au CNR) entraîne cependant un retard dans la détection d'épisodes de cas groupés. Les signalements des CNR déclenchent une investigation par l'InVS et ses partenaires. Les CNR contribuent à ces investigations grâce aux méthodes de caractérisation fines des souches que ces laboratoires experts sont capables de mettre en œuvre. Ces méthodes permettent d'identifier la souche épidémique et de confirmer microbiologiquement un lien entre l'épidémie et un aliment suspect par comparaison génomique des souches isolées chez l'Homme et dans les aliments. Les CNR contribuent également à la surveillance de la résistance aux antibiotiques. Ils peuvent détecter et signaler d'autres phénomènes inhabituels comme l'émergence de souches présentant de nouvelles caractéristiques (nouvelles antibiorésistances, nouveaux facteurs de pathogénicité, etc.).

Par nature, la surveillance des CNR s'exerce sur des cas confirmés et ne peut être représentative que de ces derniers. Ceux-ci sont non représentatifs de

¹ <http://www.invs.sante.fr>

Tableau 2 Systèmes de surveillance des principales maladies ou agents d'origine alimentaire et apport dans leur surveillance, France, 2012 / *Table 2. Surveillance systems of the main foodborne illnesses or foodborne pathogens and contribution to their surveillance, France, 2012*

Agents	Déclaration obligatoire ¹	Centre national de référence ¹	Réseaux volontaires	Réseau services urgences Oscore® ¹
<i>Bacillus cereus</i>	DO Tiac +	-	-	-
Botulisme	DO botulisme + (cas isolé et groupés) DO Tiac +/-	CNR des bactéries anaérobies et du botulisme ⁺ +	-	+/- ²
<i>Brucella</i>	DO <i>Brucella</i> +	CNR des <i>Brucella</i> ⁺ +	-	+/- ²
<i>Campylobacter</i>	DO Tiac +/-	CNR des <i>Campylobacter</i> et <i>Helicobacter</i> + Réseau de 350 laboratoires (en 2010)	-	-
Charbon	DO du charbon +	CNR du charbon ⁺ +	-	+/- ²
Choléra	DO choléra +	CNR des vibriens et du choléra ⁺ +	-	+/- ²
<i>Clostridium perfringens</i>	DO Tiac +	CNR des bactéries anaérobies et du botulisme -	-	-
Cryptosporidiose Giardiase	DO Tiac +/-	-	Réseau Crypto-Anofel (39 services de parasitologie) +	-
<i>Escherichia coli</i> STEC	DO Tiac +/-	CNR des <i>Escherichia coli</i> , shigelles, salmonelles +	+ Réseau de surveillance du SHU (31 services de néphrologie pédiatrique) + Réseau France-échino + (multidisciplinaire)	-
Échinococose alvéolaire	-	CNR de l'échinococose alvéolaire ⁺ +	-	-
Hépatite A aiguë	DO hépatite A +	CNR des virus des hépatites à transmission entérique A et E +	-	+/- ²
Hépatite E	DO Tiac +/-	CNR des virus des hépatites à transmission entérique A et E +	-	-
<i>Listeria</i>	DO <i>Listeria</i> + DO Tiac pour les formes GEA +/-	CNR des <i>Listeria</i> ⁺ +	-	+/- ²
Maladie de Creutzfeldt-Jakob et agents transmissibles non conventionnels (MCJ/ATNC)	DO MCJ +/-	CNR des agents transmissibles non conventionnels +	Réseau national de surveillance de la MCJ + (multidisciplinaire)	-
Salmonelles	DO Tiac +	CNR des <i>Escherichia coli</i> , shigelles, salmonelles + Réseau de 1 542 laboratoires (2009)	-	-
Shigelles	DO Tiac +	CNR des <i>Escherichia coli</i> , shigelles, salmonelles + Réseau de 1 542 laboratoires (2009)	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (entérotoxine)	DO Tiac +	-	-	-
Toxoplasmose	DO Tiac +/-	CNR de la toxoplasmose + Réseau de 51 laboratoires (2009)	-	-
Tularémie	DO tularémie +	CNR de <i>Francisella tularensis</i> +	-	-
Vibriens non cholériques	DO Tiac +/-	CNR des vibriens et du choléra +	-	-
Virus entériques	DO Tiac +	CNR des virus entériques +	Réseau Sentinelles® (médecins généralistes) : surveillance syndromique GEA +	Surveillance syndromique GEA +
<i>Yersinia</i>	DO Tiac +/-	CNR de la peste et autres yersinioses + Réseau de 99 laboratoires (2010)	-	-

* Ces CNR reçoivent la presque totalité des souches isolées des micro-organismes correspondants ou des échantillons pour confirmation du diagnostic.

¹ Les +, +/-, - indiquent l'apport de ce système pour la surveillance du micro-organisme ou de la maladie concernés. + = bon, +/- = moyen à faible, - = pas d'apport.

² Le réseau Oscore® collecte les passages aux urgences pour ces différentes maladies à DO.

l'ensemble de cas d'infection survenant dans la population générale. Par exemple, les cas ayant le plus recours aux soins (enfants, personnes âgées) et ceux avec les formes les plus graves sont plus à même d'être confirmés et recensés par les CNR. La proportion de cas confirmés recensés est variable suivant les maladies et les CNR. Elle est élevée pour les maladies rares nécessitant une hospitalisation, telle que la listériose, et d'autant plus que leur diagnostic nécessite une confirmation par le CNR, comme pour le botulisme. Le CNR des salmonelles, bien que surveillant une maladie très fréquente, a aussi une bonne couverture en raison de la taille importante de son réseau qui lui permet de recevoir des souches ou des informations pour deux tiers des souches de salmonelles isolées en France. Néanmoins, comme pour la DO, la surveillance par les CNR peut permettre le suivi des tendances à condition qu'elle reste stable dans le temps.

En raison des limites des surveillances par la DO et les CNR décrites ci-dessus, toute évolution apparente des caractéristiques épidémiologiques d'une maladie, telle une augmentation du nombre de cas, l'émergence ou recrudescence de formes cliniques ou souches inhabituelles, ou l'identification de nouveaux facteurs de risque, entraîne une analyse de l'InVS en collaboration avec les partenaires concernés (CNR, Anses, DGAL, etc.) pour déterminer si l'évolution constatée est réelle ou liée à un biais de surveillance. Si, à l'issue de cette évaluation, l'évolution constatée est considérée comme réelle, des investigations complémentaires sont conduites pour en rechercher les causes éventuelles. À titre d'exemple, des analyses approfondies de l'augmentation du nombre de cas de *Campylobacter* observés par le CNR sont en cours par l'InVS et le CNR [9].

Les autres systèmes de surveillance et de signalement

Les réseaux volontaires de surveillance

Des réseaux de cliniciens ou de biologistes, hospitaliers et libéraux, contribuent à la surveillance de plusieurs maladies d'origine alimentaire.

- Le syndrome hémolytique et urémique (SHU), complication des infections à *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC), est surveillé depuis 1996 chez l'enfant par un réseau national de 31 services hospitaliers de néphrologie pédiatrique coordonné par l'InVS (voir encadré page 14). Ce réseau permet à la fois la détection de cas groupés d'infection à STEC et le suivi des tendances de l'infection chez l'enfant. Toutefois, il ne permet pas la surveillance des infections à STEC n'évoluant pas vers un SHU, ni la surveillance des infections chez l'adulte [10].
- Le réseau Crypto-Anofel, constitué en 2004 en partenariat scientifique avec l'InVS et l'Anses et regroupant 39 laboratoires hospitaliers de parasitologie répartis sur l'ensemble du territoire, contribue à la surveillance des infections à *Cryptosporidium* et *Giardia*. Il permet de suivre des tendances d'incidence, de connaître les caractéristiques des cas et leur répartition temporo-spatiale, d'identifier les groupes à risque et de déterminer les génotypes circulant [11]. Néanmoins, seule une très faible fraction des infections à *Cryptosporidium* et *Giardia* fait l'objet d'un examen parasitologique des selles, ce qui compromet la détection de cas groupés de ces infections par ce réseau.
- Le Réseau national de surveillance des maladies de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) et des maladies apparentées (RNS-MCJ) assure, depuis 2000, la surveillance

des variants de la MCJ et des maladies apparentées. Ce réseau multidisciplinaire (neurologues, biologistes, anatomopathologistes) est coordonné depuis 2011 par l'équipe Maladies à prions-Maladie d'Alzheimer de l'Inserm UMRS 975 (EMP-U975) [12]. S'appuyant sur l'ensemble des sources susceptibles de recenser des cas de MCJ, il vise à une détection exhaustive de ces cas et, plus particulièrement, des cas de variants (v-MCJ). Il permet de les classer par étiologie, d'en estimer l'incidence, de décrire leur répartition temporo-spatiale, de décrire leurs tendances évolutives et de détecter les cas groupés. Il contribue à rechercher des facteurs de risque et à générer des hypothèses pour des études complémentaires.

- Depuis 2003, l'InVS a développé un système de surveillance sanitaire dit syndromique, basé sur la collecte de données non spécifiques, qui permet la centralisation quotidienne d'informations provenant, début 2012, de 364 services d'urgences participant au réseau de surveillance coordonnée des urgences (Oscour®) [13]. Ce réseau permet une surveillance syndromique des gastro-entérites aiguës (GEA). Il recueille en outre les passages aux urgences pour plusieurs maladies à DO (tableau 2). Ce système permet de détecter et de suivre l'évolution de phénomènes de grande ampleur, comme des épidémies hivernales de gastro-entérites virales. En revanche, en l'absence de diagnostic spécifique, son apport pour la surveillance des infections d'origine alimentaire est faible.

- Le réseau Sentinelles® qui repose sur 1 300 médecins généralistes libéraux, volontaires, répartis sur le territoire métropolitain français, est coordonné par l'unité mixte de recherche UMR-S 707 de l'Inserm et de l'Université Pierre et Marie Curie, en collaboration avec l'InVS. Il assure une surveillance syndromique des GEA [14], qui permet de suivre les évolutions temporo-spatiales et les caractéristiques des épidémies saisonnières de GEA dans la population générale au niveau national et régional. Toutefois, sa couverture géographique ne permet pas d'obtenir des estimations fiables d'incidence au niveau infra-régional.

Autres dispositifs contribuant au signalement

- Le signalement externe des infections nosocomiales est obligatoire depuis 2001 [15]. Il a pour objectif de détecter des événements inhabituels au niveau local, régional ou national et de promouvoir l'investigation des épidémies et leur contrôle. Il peut contribuer au signalement d'événements concernant des maladies d'origine alimentaire survenant dans les structures de soins.

- Le dispositif de signalement spontané par les professionnels de santé des phénomènes inhabituels, pour lequel l'ensemble des professionnels et établissements de santé et institutions publiques doit, dans le cadre de l'article 3 de la loi de santé publique du 9 août 2004, signaler à l'InVS sans délai des menaces imminentes pour la santé de la population et des situations dans lesquelles une présomption sérieuse de menace sanitaire grave semble constituée [16]. Ce dispositif contribue entre autres à la réactivité dans la détection de cas groupés des infections dont la surveillance dépend de la centralisation des souches par le CNR, le signalement étant réalisé avant l'envoi des souches aux CNR.

Conclusion

La diversité et la complémentarité des systèmes de surveillance des maladies d'origine alimentaire existant en France permettent de disposer de données de surveillance utiles pour la prévention et la gestion de la majorité de ces maladies. L'apport de ces données est renforcé par leur mise en commun avec celles issues de la surveillance chez l'animal et dans les aliments, pour une meilleure compréhension des réservoirs et des modes de transmission.

Des études de recherche appliquée comme celles sur les facteurs de risque de cas sporadiques ou celle réalisée récemment sur l'incidence des GEA [17], ainsi que les investigations d'épidémies apportent des informations complémentaires ou confortent les connaissances sur l'épidémiologie des maladies d'origine alimentaire acquises par leur surveillance. Les données issues de la surveillance des maladies d'origine alimentaire n'ont pas pour objectif et ne permettent pas à elles seules d'estimer le poids absolu et relatif de ces différentes maladies. Ces estimations ne peuvent être obtenues que par des études lourdes à partir d'informations provenant de multiples sources de données (surveillance, enquêtes, épidémies) [18].

L'ensemble des données de surveillance issues des différents systèmes permet à l'InVS de contribuer à la surveillance européenne en transmettant trimestriellement ou annuellement les données françaises à l'ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*). Celui-ci centralise les données des États-membres de l'Union européenne pour différentes maladies infectieuses,

dont 20 maladies d'origine alimentaire, et en publie annuellement une synthèse dans son rapport épidémiologique annuel [19]. Enfin, l'Autorité européenne de sécurité sanitaire des aliments (EFSA) publie, en lien avec l'ECDC, un second rapport qui présente les données issues de la surveillance chez l'Homme et celles de la surveillance chez l'animal et dans les aliments pour les Tiac et les zoonoses listées dans la directive 2003/99/EC [20].

Références

- [1] Goulet V, De Valk H, Pierre O, Stainer F, Rocourt J, Vaillant V, *et al.* Effect of prevention measures on incidence of human listeriosis, France, 1987-1997. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:983-9.
- [2] Maillat A, Vaillant V. Étude sur les brucelloses humaines en France métropolitaine, 2002 - 2004. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2007. 56p. Disponible à : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=4036
- [3] King LA, Popoff MR, Mazuet C, Espié E, Vaillant V, de Valk H. Le botulisme infantile en France, 1991-2009. *Arch Pediatr.* 2010;17:1288-92.
- [4] Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Santé. Prévenir l'hépatite E chez les personnes susceptibles de développer une forme grave. Paris: Direction générale de la santé; 2011. 4 p. Disponible à : http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Fiche_Hepatitis_E.pdf
- [5] Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, *et al.* Incidence and mortality due to listeriosis among groups at risk of listeriosis. *Clin Infect Dis.* 2012;17:1-9.
- [6] Institut de veille sanitaire. La surveillance de la listériose humaine en France en 2000. *In: Surveillance nationale des maladies infectieuses 1998-2000.* Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2003. pp 137-43. Disponible à : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=5882
- [7] Gally A, Vaillant V, Bouvet P, Grimont P, Desenclos JC. How many foodborne outbreaks of *Salmonella* infection occurred in France in 1995? Application of the capture-recapture method to three surveillance systems. *Am J Epidemiol.* 2000;152(2):171-7.
- [8] Delmas G, Jourdan Da Silva N, Pihier N, Weill FX, Vaillant V, De Valk H. Les toxoinfections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008. *Bull Epidémiol Hebd.* 2010;(31-32):344-8.
- [9] King L, Mégraud F. Surveillance des infections à *Campylobacter* chez l'Homme en France, 2003-2010. *Bull Epidémiol Hebd.* 9 mai 2012;(Hors-série):11-3.
- [10] King LA, Espié E, Haeghebaert S, Grimont F, Mariani-Kurkdjian P, Filliol-Toutain I, *et al.* Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de 15 ans et moins en France, 1996-2007. *Bull Epidémiol Hebd.* 2009;(14):125-8.
- [11] ANOFEI Cryptosporidium National Network. Laboratory-based surveillance for Cryptosporidium in France, 2006-2009. *Euro Surveill.* 2010;15(33):19642. Erratum in: *Euro Surveill.* 2010;15(41). pii: 19690.
- [12] Capek I, Vaillant V pour le réseau national de surveillance des maladies de Creutzfeldt-Jakob et des maladies apparentées. Les maladies de Creutzfeldt-Jakob et les maladies apparentées en France en 2008. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2010. 4 p. Disponible à : http://www.invs.sante.fr/content/download/30738/156474/version/1/file/BILAN+MCJ+2008_final+.pdf
- [13] Caillière N, Caserio-Schönemann C, Fournet N, Fouillet A, Pateron D, Leroy C, *et al.* Surveillance des urgences. Réseau Oscour® (Organisation de la surveillance coordonnée des urgences). Résultats nationaux 2004/2011. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 12 p. Disponible à : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=7090
- [14] Réseau Sentinelles. Bilan 2010 [Internet]. Disponible à : <http://websenti.u707.jussieu.fr/sentiweb/document.php?doc=1911>
- [15] Institut de veille sanitaire. E-sin. Signalement externe des infections nosocomiales [Internet]. Disponible à : <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Signalement-et-alertes/Signalement-externe-des-infections-nosocomiales>
- [16] République française. Loi n°2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique Article L1413-15 du Code de la santé publique. Disponible à : <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000787078&dateTexte>
- [17] Van Cauteren D, De Valk H, Vaux S, Le Strat Y, Vaillant V. Burden of acute gastroenteritis and healthcare seeking behaviour in France : a population-based study. *Epidemiol Infect.* 2012;140(4):697-705.
- [18] Vaillant V, de Valk H, Baron E, Ancelle T, Colin P, Delmas MC, *et al.* Foodborne infections in France. *Foodborne Pathog Dis.* 2005;2(3):221-32.
- [19] European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2011. Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2011. 239 p. Disponible à : http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf
- [20] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. Parma: EFSA; 2010. 410 p. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1496.pdf>

Systemes de surveillance des microorganismes dans la chaîne alimentaire : finalités, base réglementaire et organisation en France

Bertrand Lombard (bertrand.lombard@anses.fr)¹, Corinne Danan², Anselme Agbessi³, Laurent Laloux¹

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons-Alfort, France

2/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Ministère de l'Agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire, Paris, France

3/ Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), Ministère de l'Économie, des finances et de l'industrie, Paris, France

Résumé / Abstract

La surveillance des microorganismes à différents stades de la chaîne alimentaire est un outil important de maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments. Les deux systèmes principaux, les contrôles officiels (notamment plans de surveillance et plans de contrôle) mis en œuvre par les pouvoirs publics, et les autocontrôles effectués par les opérateurs de la chaîne alimentaire, sont présentés tels qu'ils sont établis au niveau français. Les évolutions sont ensuite envisagées, avec le lancement de l'Observatoire de l'alimentation.

Surveillance systems of microorganisms in the food chain: objectives, regulatory basis and organization in France

The surveillance of microorganisms, at different steps of the food chain, is an important tool to control food safety. The two main systems, official controls (in particular monitoring and control plans), implemented by public authorities, and own checks performed by food business operators, are presented, as settled in France. Trends are then envisaged, with the launching of the Food surveillance board.

Mot clefs / Keywords

Surveillance, aliments, microorganismes / Surveillance, food, microorganisms

Introduction

La surveillance des microorganismes à différents stades de la chaîne alimentaire humaine et animale (principalement en production primaire, à la transformation et distribution des aliments) représente un outil essentiel pour la maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments, en vue de protéger la santé des consommateurs. Au niveau national, cette surveillance permet en effet d'estimer la contamination (fréquence et niveau) des aliments par des microorganismes pathogènes pour l'Homme (bactéries, virus et parasites), les sources de cette contamination et les produits les plus contaminés. Pour une entreprise de la chaîne alimentaire, la surveillance est un moyen de maîtrise de la sécurité de son processus de fabrication ou de commercialisation.

Deux systèmes principaux de surveillance existent : les contrôles officiels, comprenant en particulier les plans de surveillance et de contrôle gérés par les pouvoirs publics, et les autocontrôles effectués par les opérateurs de la chaîne alimentaire. Nous présenterons dans cet article ces deux systèmes tels qu'ils sont mis en œuvre en France, avant d'envisager comme évolution la mise en place de l'Observatoire de l'alimentation.

Contrôles officiels

Cadre réglementaire

Le socle réglementaire des contrôles officiels en microbiologie des aliments est constitué par trois textes fondamentaux. Ce socle s'intègre pour partie dans le Paquet Hygiène, ensemble de textes réglementaires européens publiés dans leur version initiale en 2004 et entrés en vigueur en janvier 2006, qui ont visé à refondre la législation européenne en matière de sécurité sanitaire des aliments en y apportant plus de cohérence et une relative simplification.

Le règlement (CE) n°882/2004 relatif aux contrôles officiels

Les contrôles officiels sont définis dans le règlement (CE) n°882/2004 [1] comme « toute forme de contrôle effectué par l'autorité compétente ou par la Communauté pour vérifier le respect de la législation relative aux aliments pour animaux et aux denrées alimentaires, ainsi que les dispositions concernant la santé animale et le bien-être des animaux ».

Ce règlement a réorganisé les contrôles officiels de manière à intégrer les contrôles à toutes les étapes de la production et dans tous les secteurs cités ci-dessus, grâce à une approche européenne harmonisée en matière de conception et de mise en œuvre des systèmes nationaux de contrôle. De plus, le règlement (CE) n°854/2004 [2] définit des règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. Des contrôles officiels sont notamment organisés à l'abattoir en vue de détecter des zoonoses et les maladies sur la liste A, ou le cas échéant la liste B, listées par l'Office international des épizooties (OIE) (en particulier, dépistage des cysticercoses bovines

et des trichinelloses). Des recherches de trichine sont par ailleurs organisées à l'abattoir sur les porcs (contrôle systématique sur les porcs élevés en plein air et les animaux de réforme, contrôle par sondage pour les porcs charcutiers hors sol) [3] et font l'objet d'une restitution annuelle vers l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA).

Le Règlement (CE) n°2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

Le règlement (CE) n°2073/2005 [4] établit les critères microbiologiques relatifs aux aliments pour certains microorganismes et les règles d'application que les exploitants doivent observer lorsqu'ils mettent en place les mesures d'hygiène visées par la réglementation. L'autorité compétente nationale vérifie le respect de ces règles et critères, conformément au règlement (CE) n°882/2004. Sur cette base, l'autorité compétente peut entreprendre d'autres échantillonnages et analyses, dans le cadre soit d'une vérification de procédé, soit d'une analyse de risque.

La Directive 2003/99/CE sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques

La Directive 2003/99/CE [5] souligne la responsabilité qu'ont les États-membres de collecter des données de surveillance des zoonoses, des agents zoonotiques et de la résistance antimicrobienne associée.

Des exigences minimales ont ainsi été définies afin de renforcer les systèmes de surveillance nationaux. De plus, afin d'obtenir des données représentatives et comparables, des schémas harmonisés pour les plans de surveillance sont établis par l'EFSA pour certains agents zoonotiques, qui doivent être établis et appliqués par l'ensemble des pays européens pour pouvoir conclure sur d'éventuelles tendances observées. Sont concernées en priorité les zoonoses majeures, dont des zoonoses d'origine alimentaire, liées à *Campylobacter*, *Echinococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Trichinella*, *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines. Selon la situation épidémiologique, les systèmes peuvent être élargis à d'autres dangers, tels que le virus de l'hépatite A, les parasites (*Cryptosporidium*, *Toxoplasma*...).

Cette surveillance épidémiologique des zoonoses est essentielle pour suivre la dynamique de ces infections et agir, en prévention, sur les facteurs de risques et leur survenue. Pour certaines d'entre elles, la surveillance est à la fois humaine, animale et alimentaire (par exemple : *Salmonella*).

Plans de surveillance et de contrôle de la DGAL

La Direction générale de l'alimentation (DGAL) du ministère de l'Agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire élabore et met en œuvre chaque année un ensemble de plans de surveillance (PS) et de plans de contrôles (PC) de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale et/ou végétale et des produits destinés à l'alimentation animale.

Définitions

Les termes « plans de surveillance » et « plans de contrôles » sont à considérer ici selon les définitions suivantes (d'après [6]) :

- plan de surveillance (PS) : un plan de surveillance a pour objectif principal l'évaluation globale de l'exposition du consommateur à un risque. Il est toujours fondé sur un échantillonnage réalisé de manière aléatoire au sein d'une population ou d'une sous-population identifiée. Ainsi, du fait de leur représentativité, les résultats de plans de surveillance constituent des valeurs de référence, utiles pour une analyse des risques sanitaires menée à une échelle nationale ;
- plan de contrôle (PC) : un plan de contrôle a pour objectif principal la recherche des anomalies, des non-conformités, voire des fraudes. Il est normalement fondé sur un échantillonnage ciblé ou suspect, c'est-à-dire que les prélèvements sont réalisés sur la base de critères de ciblage prédéterminés.

Objectifs

Les objectifs de ces plans sont :

- d'assurer une pression de contrôle sur les productions nationales ou en provenance de pays-tiers ;
- de constituer un outil de veille sur la fréquence et les niveaux de contamination de certaines catégories d'aliments ;
- de répondre à des obligations au niveau de l'Union européenne ;
- d'aider à la détermination de critères réglementaires (dans un contexte communautaire, les plans répondent à une demande de contrôles harmonisés et contribuent à assurer un statut sanitaire uniforme de tous les États-membres) ;
- de récolter des données pour l'analyse de risques, au niveau national (PS) ou de manière plus ciblée (PC) ;
- et d'apporter des garanties à l'exportation et à l'importation.

Au total, ces plans contribuent à la prévention des risques infectieux alimentaires humains en apportant des données quantifiées et objectivées sur la contamination des aliments. Ils constituent un outil d'aide à la décision et à la gestion des risques en permettant d'identifier les combinaisons (agent pathogène, aliment) nécessitant la mise en place de contrôles officiels ou d'autocontrôles, par le biais notamment de critères microbiologiques.

Planification – réalisation - communication

L'organisation des PS/PC en microbiologie des aliments est pilotée, au niveau central, par le Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires de la Sous-direction de la sécurité des aliments à la DGAL.

Les PS/PC sont planifiés chaque année en étroite concertation avec les autres services de l'État en charge de la sécurité sanitaire des aliments (Direction générale de la santé - DGS, Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes - DGCCRF), de la surveillance des maladies humaines (Institut de veille sanitaire - InVS) et de l'évaluation des risques (Anses), ainsi qu'avec l'appui des Laboratoires nationaux de référence (LNR) concernés. L'Anses peut par ailleurs apporter son appui scientifique et technique pour l'élaboration des protocoles et la définition des plans d'échantillonnage, par le biais de saisines de ses tutelles. Cette concertation a lieu dès la conception des plans et permet d'identifier un nombre limité de couples « matrice/danger microbiologique » à surveiller selon les priorités identifiées, pour une enveloppe budgétaire annuelle de l'ordre de 400 000 euros.

Le protocole de chaque PS/PC, une fois défini au niveau national, est communiqué sous forme d'une Note de service aux Directions régionales de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt (Draaf), pour une mise en œuvre effective dans les départements. Les Draaf sont chargées de la répartition des prélèvements au niveau régional pour une mise en œuvre conforme à l'objectif de chaque plan.

Les prélèvements sont analysés par des laboratoires agréés par le ministère chargé de l'Agriculture selon des conditions définies¹. Dans certains cas, les LNR prennent en charge tout ou partie des analyses, lorsque les laboratoires agréés ne sont pas en mesure d'effectuer les analyses selon les méthodes officielles référencées par la DGAL. Les LNR peuvent également assurer la confirmation de certains résultats obtenus par les laboratoires agréés (c'est le cas par exemple pour *Escherichia coli* producteur de

shigatoxines, STEC), ou caractériser les souches isolées (exemple : sérotypage de *Salmonella*, typage moléculaire de *Listeria monocytogenes*, étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes).

Les laboratoires sont tenus de communiquer les résultats non conformes au service préleveur, qui en informe la Mission des urgences sanitaires de la DGAL. Les mesures de gestion sont mises en place de manière harmonisée au niveau du territoire et proportionnée au risque pour les consommateurs.

Les résultats analytiques et épidémiologiques sont centralisés à la DGAL pour la réalisation d'un bilan annuel, faisant l'objet d'une communication publique accessible sur le site Internet du ministère. Pour les PS/PC microbiologiques, la qualification encore partielle des laboratoires pour transmettre leurs résultats *via* le système d'information SIGAL est un point critique dans l'exploitation des résultats.

Exploitation

Les PS/PC comprennent des plans d'échantillonnage permettant d'estimer le niveau de prévalence d'un danger dans une matrice donnée. Les plans d'échantillonnage caractérisent soit le niveau d'exposition du consommateur (plan à la distribution), soit la contamination des denrées mises sur le marché (plan à la production).

Lorsque les PS/PC sont répétés à l'identique à une fréquence définie (annuelle ou avec un pas de temps de 2 à 3 ans), leurs résultats peuvent être comparés pour évaluer la tendance d'une fréquence et/ou niveau de contamination ou l'impact de mesures de gestion.

L'ensemble des données biologiques et épidémiologiques constituent des informations précieuses pour mener des appréciations quantitatives du risque, voire identifier la contribution relative des différentes sources à la survenue des cas humains. Les résultats des PS/PC sont ainsi communiqués aux agences d'évaluation des risques :

- l'Anses au niveau national ;
- l'EFSA au niveau européen, en vue d'une compilation avec les données des autres États-membres de l'Union européenne.

Plans de surveillance et de contrôle de la DGCCRF

Planification

Les Tâches nationales (TN), ou PS/PC, de la DGCCRF sont organisées annuellement à partir d'une « Directive nationale d'orientation » (DNO). Cette DNO, élaborée au moyen d'une large concertation au plan national, tient compte des attentes du marché et de ses acteurs économiques. Elle a pour objectif d'établir des orientations claires, précises et prédéfinies pour les actions de la DGCCRF au cours de l'année.

L'orientation de la DNO correspondant aux TN dans le domaine de la microbiologie des aliments a pour ambition de répondre aux obligations communautaires de mise en œuvre de plans de contrôle officiels de surveillance des marchés. Ces exigences communautaires découlent de l'application du Règlement 882/2004 [1].

Ces TN² sont pilotées et suivies par le Bureau 4B « Qualité et Valorisation des denrées alimentaires » de la DGCCRF.

Outre un plan de nature générale, visant à détecter les manquements aux dispositions législatives et réglementaires en matière d'hygiène alimentaire, reconduit annuellement, les TN ont porté en 2010 et 2011 sur :

- *Listeria monocytogenes* à la distribution (grandes et moyennes surfaces), ainsi que dans le cadre d'un plan mené au niveau européen pour estimer la prévalence de cette bactérie dans certaines catégories d'aliments ;
- *Salmonella* dans les produits à base de porc à la distribution et dans les végétaux consommés crus au stade de la première mise sur le marché ;
- la qualité microbiologique (notamment vis-à-vis d'*E. coli* STEC) des graines germées crues ou à germer ;
- STEC dans les végétaux, compte-tenu de l'épidémie due à *E. coli* O104 en 2011.

¹ Voir liste à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-methodes-officielles-alimentation>

² N'étant pas destinés à la recherche et à la constatation d'infractions, les TN sont établies sur la base de l'article R. 218-1 du Code de la consommation.

L'organisation des services déconcentrés de la DGCCRF a été modifiée profondément en 2006, en faisant de la direction régionale (DIRECCTE) l'échelon de référence. Les directions départementales (DDecPP) sont ainsi placées sous l'autorité des directions régionales.

Cette réforme confère aux directions régionales, à qui sont adressées les TN, des pouvoirs d'impulsion, de pilotage et de gestion, les unités départementales se concentrant sur les missions opérationnelles de réalisation des prélèvements.

Pour contrôler la conformité et la sécurité des produits, la DGCCRF fait appel au Service commun des laboratoires (SCL), placé sous tutelle commune de la DGCCRF et de la Direction générale des douanes et droits indirects (DGDDI).

Les analyses microbiologiques des échantillons prélevés par les DDecPP sont effectuées par les laboratoires SCL installés dans les départements suivants : 33, 34, 35, 67, 69, 91.

Les analyses des prélèvements opérés par les Directions des entreprises, de la concurrence, de la consommation, du travail et de l'emploi (DIECCTE), installées dans les DOM, sont effectuées comme suit :

- Réunion, Mayotte et Martinique par les LDA locaux ;
- Guadeloupe et Guyane par les Instituts Pasteur locaux.

Les résultats des analyses sont communiqués au niveau national à l'Anses et à l'EFSA au niveau européen.

Autocontrôles effectués par les exploitants du secteur alimentaire

Les professionnels mettent en place des analyses microbiologiques dans le cadre des autocontrôles pour valider leurs mesures de maîtrise de l'hygiène et suivre les tendances vis-à-vis de certains indicateurs.

Le Paquet Hygiène a repris le principe introduit par l'ex-Directive 93/43/CE de réalisation d'autocontrôles dans le cadre de procédures fondées sur la méthodologie de l'analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise (HACCP). Il a de plus renforcé la place du système HACCP en rendant obligatoire sa mise en œuvre à tous les maillons de la chaîne agro-alimentaire (production, transformation, distribution des denrées alimentaires - consommation humaine et alimentation animale), à l'exception de la production primaire. Le système HACCP doit être considéré comme un outil privilégié de maîtrise de la qualité sanitaire mais il n'est pas une fin en soi. Le Paquet Hygiène donne ainsi une place prépondérante aux autocontrôles pour démontrer l'efficacité du dispositif mis en place par les exploitants du secteur alimentaire, par rapport aux contrôles officiels, qui ont pour mission d'évaluer de façon globale les plans de maîtrise sanitaire (PMS) mis en œuvre dans les établissements.

Le PMS décrit les mesures prises par l'exploitant pour assurer la salubrité et la sécurité sanitaire de ses productions vis-à-vis des dangers biologiques, physiques et chimiques. Le PMS comprend la mise en place :

- des bonnes pratiques d'hygiène ou pré-requis ;
- de procédures fondées sur les principes de l'HACCP ;
- de procédures de traçabilité et de gestion des non-conformités.

Le système HACCP intègre un certain nombre d'exigences afin de permettre, grâce à une analyse des dangers, l'identification des points critiques dont la maîtrise concourt à la maîtrise de la sécurité des aliments :

- identification de tout danger qu'il y a lieu d'éviter, d'éliminer ou de ramener à un niveau acceptable ;
- identification des points critiques au niveau desquels une surveillance est indispensable ;
- mise en place de limites critiques au-delà desquelles une action corrective est nécessaire ;
- établissement de procédures d'autocontrôle pour vérifier l'efficacité des mesures prises ;
- établissement d'enregistrements destinés à prouver l'application effective de ces mesures et à faciliter les contrôles officiels par l'autorité compétente.

Les analyses d'autocontrôles sont des outils à disposition de l'exploitant pour effectuer la validation, la surveillance et la vérification des mesures de maîtrise des dangers qu'il a définies, associées au PMS.

En ce qui concerne les analyses microbiologiques des aliments, les professionnels doivent *a minima* intégrer dans leur plan d'autocontrôles les

microorganismes qui font l'objet de critères définis dans le règlement (CE) n°2073/2005 [4], tant du point de vue de la sécurité sanitaire des produits que de la maîtrise d'hygiène des procédés. Cependant, du fait des limites d'efficacité des plans d'échantillonnage, si la conformité à des critères de sécurité visant des produits mis sur le marché offre l'assurance que certains pathogènes ne sont pas présents à des niveaux élevés de contamination, elle ne permet pas pour autant de garantir l'absence de ces pathogènes.

Il faut insister sur le fait que le plan d'autocontrôles défini par un exploitant doit s'intégrer dans une démarche préventive de la maîtrise de la sécurité sanitaire et de la salubrité de ses fabrications. Il ne doit pas se limiter à des contrôles *a posteriori* sur les produits finis pour s'assurer du respect des critères microbiologiques réglementaires. Des critères complémentaires pour d'autres micro-organismes, ou des limites de CCP définies par l'exploitant, sont souvent nécessaires pour prendre en compte tous les facteurs permettant la maîtrise de l'hygiène des aliments aux différentes étapes de la chaîne alimentaire. Les guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP, élaborés par les fédérations professionnelles et prévus par le règlement (CE) n°852/2004 [7], incluent des données qui peuvent être utilisées par les exploitants du secteur concerné [8].

Les professionnels peuvent choisir le laboratoire qui réalise leurs analyses d'autocontrôles, à l'exception des analyses de dépistage de *Salmonella* en élevage de volaille, pour lesquelles une liste de laboratoires reconnus a été déterminée par la DGAL dans la mesure où il s'agit d'autocontrôles obligatoires.

Le règlement (CE) n°2073/2005 définit les exigences relatives aux analyses microbiologiques des denrées alimentaires, notamment en matière de méthodes d'analyses, introduisant une certaine flexibilité (article 5, point 5). Avec une déclinaison nationale de ces règles, les méthodes ci-dessous peuvent ainsi être utilisées :

- méthodes normalisées par l'Afnor, reprenant à l'identique les normes du CEN et/ou de l'ISO (citées comme méthodes de référence dans les critères microbiologiques du règlement (CE) n°2073/2005), ou à défaut des méthodes uniquement normalisées par l'Afnor au niveau national ;
- méthodes commerciales (kits commerciaux), à condition d'être validées par l'Afnor Certification selon le protocole de la norme NF EN ISO 16140 ; il convient d'être vigilant sur les restrictions d'emploi éventuelles précisées sur l'attestation de validation Afnor ;
- méthodes internes, à condition qu'elles aient fait l'objet d'une validation appropriée, en se référant notamment aux protocoles de validation définis dans la norme NF EN ISO 16140.

L'absence ou l'inefficacité des autocontrôles peuvent entraîner des sanctions administratives importantes, allant de la saisie des denrées produites jusqu'à la fermeture de l'établissement, correspondant à des mesures de type préventif. Des mesures de rappel peuvent être envisagées lorsque des non-conformités sont détectées au stade de la mise sur le marché.

Enfin, le distributeur d'un produit agro-alimentaire ou le consommateur peuvent mener des actions civiles lorsque le produit ne présente pas les caractéristiques attendues, notamment en termes de sécurité alimentaire. Le producteur sera considéré comme responsable si les autocontrôles prévus n'ont pas été mis en place.

Mise en place de l'Observatoire de l'alimentation

L'Observatoire de l'alimentation a été créé par la Loi de modernisation de l'agriculture et de la pêche, adoptée en juillet 2010. Il est constitué de trois volets : nutritionnel, sanitaire et socio-économique. Le décret n°2011-778 du 28 juin 2011 [9] précise le fonctionnement et la composition de l'Observatoire de l'alimentation placé auprès des ministres chargés de la consommation, de la santé et de l'alimentation.

Le volet sanitaire de l'Observatoire de l'alimentation se met en place progressivement, dans le cadre d'une démarche ouverte à la discussion avec les différents partenaires. L'objectif principal, ambitieux, est d'objectiver le niveau sanitaire de l'offre alimentaire sur le marché national, en dehors de situations de crise. Il s'agit de construire un dispositif reposant sur le volontariat et permettant de mutualiser des données de surveillance des secteurs privés et publics : recueil notamment des données des autocontrôles des professionnels, des contrôles officiels et des résultats d'études particulières, tels que ceux de l'Étude de l'alimentation totale (EAT) visant à estimer la nature et les quantités de contaminants contenues dans les aliments tels qu'ils sont consommés.

Ce volet sanitaire doit conduire à :

I. Mesurer l'évolution nationale de la qualité sanitaire des aliments aux différentes étapes de la chaîne alimentaire, et dans différents secteurs. Des indicateurs doivent être définis selon les attentes de chaque partenaire ; les données rétrospectives disponibles seront intégrées pour rendre compte rapidement d'une évolution de la qualité sanitaire.

II. Valoriser les activités de surveillance des différents acteurs (professionnels et pouvoirs publics) par la mutualisation de données validées et vérifiables et la constitution d'une plateforme de centralisation et d'échanges de résultats de contrôles officiels, d'autocontrôles et d'enquêtes particulières.

Cette valorisation conduira à établir des passerelles entre les dispositifs de surveillance existants, publics ou privés (Observatoire de la qualité des aliments, Observatoire des résidus de pesticides, Plateforme d'épidémiologie sur la qualité sanitaire microbiologique et physico-chimique des différents maillons de la chaîne alimentaire).

III. Éclairer les interventions des autorités et des professionnels en vue d'une évolution des stratégies d'amélioration de la qualité sanitaire des aliments. Les indicateurs obtenus seront des outils d'aide à la détermination des niveaux de protection de la santé publique (ALOP). Au regard des risques et des objectifs de santé publique, des mesures de gestion seront définies, telles que des objectifs de sécurité des aliments (FSO), soit une fréquence ou une concentration maximale d'un danger dans un aliment. Cette réflexion doit être menée par secteur (lait, viande...).

IV. Renforcer le partenariat entre pouvoirs publics et filières agro-alimentaires pour la définition d'objectifs de santé publique, en relation avec les organismes en charge de la santé humaine. Les liens ainsi créés entre les différents acteurs (professionnels, distributeurs, scientifiques, consommateurs et pouvoirs publics) s'intégreront naturellement dans un processus d'amélioration continue de la qualité sanitaire, par le partage d'objectifs communs formalisés et des échanges de connaissance technique, scientifique et réglementaire.

V. Communiquer vers les consommateurs sur le niveau de qualité global de l'alimentation. Une communication objective sera de nature à mettre en valeur les produits alimentaires et (re)gagner la confiance des consommateurs si nécessaire. Cette communication sera dirigée :

- vers les autorités européennes pour appuyer les discussions d'harmonisation de la réglementation en matière d'hygiène ou de sécurité des aliments ;
- vers les professionnels, qui pourront se situer par rapport à un niveau de qualité globale (*benchmarking*).

Une première phase (octobre 2011-juin 2013), pilotée par la DGAL en étroite collaboration avec l'Anses, est destinée à la réalisation d'un prototype en collaboration avec un nombre limité de secteurs professionnels volontaires ; une deuxième phase consistera à élargir le dispositif au regard des premiers résultats obtenus.

Conclusion

Différents systèmes de surveillance ont été mis en place en France et ont fait preuve de leur efficacité pour assurer la maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments. Ces systèmes relèvent soit des pouvoirs publics (contrôles

officiels, PS/PC), soit des opérateurs privés de la chaîne alimentaire (auto-contrôles) et présentent une bonne complémentarité entre eux. Ainsi en matière de PS/PC, la DGAL met en œuvre prioritairement des plans au niveau de la transformation des aliments et sur les denrées d'origine animale, alors que les plans de la DGCCRF portent surtout sur la distribution des aliments et les aliments d'origine végétale, avec de toute façon une coordination entre les deux administrations pour la planification annuelle de ces plans. Les mesures de gestion ou de maîtrise qui en découlent ont permis de réduire les taux de prévalence et les niveaux de contamination des aliments à risque, donc de diminuer le nombre de toxi-infections alimentaires affectant la population française.

Cependant, la masse des données générées par les organisations publiques ou privées sont encore l'objet d'un manque d'exploitation raisonnée et globale. Les outils de collecte et de traitement des données doivent être améliorés tant pour les données des PS/PC que pour les données d'autocontrôle qui restent la plupart du temps au sein des structures privées. La création de l'Observatoire de l'alimentation offre une réelle opportunité pour, d'une part, renforcer la cohérence de ces différents éléments et, d'autre part, mieux exploiter et valoriser les données collectées. Cette nouvelle structuration devrait ainsi permettre d'optimiser les mesures de maîtrise de la qualité sanitaire des aliments par l'ensemble des partenaires, tant publics que privés.

Références

[1] Règlement (CE) n° 882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux. JOCE L 165 du 30/04/2004, 1-141.

[2] Règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. JOCE L 139 du 30/04/2004, 206-319.

[3] Règlement (CE) n° 2075/2005 de la Commission du 5 décembre 2005 fixant les règles spécifiques applicables aux contrôles officiels concernant la présence de *Trichinella* dans les viandes. JOCE L 338 du 22/12/2005, 60-82.

[4] Règlement (CE) n° 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. JOCE L 338 du 22/12/2005, 1-26.

[5] Directive 2003/99/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117/CEE du Conseil. JOCE L 325 du 12/12/2003, 31-40.

[6] Note de Service DGAL/SDPPST/N2010-8291 Dispositions générales relatives aux plans de surveillance et aux plans de contrôle de la contamination des denrées animales et d'origine animale, et des produits destinés à l'alimentation animale pour l'année 2011, 27/10/2010.

[7] Règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires. JOCE L 139 du 30/04/2004, 1-54.

[8] Note de Service DGAL/SDSSA/N2008-8009 Précisions relatives aux modalités de mise en œuvre des analyses microbiologiques de denrées alimentaires et d'exploitation des résultats, 14/01/2008.

[9] Décret n° 2011-778 du 28 juin 2011 relatif au fonctionnement et à la composition de l'Observatoire de l'alimentation mentionné à l'article L. 230-3 du code rural et de la pêche maritime. JORF du 30/06/2011.

Surveillance des infections à *Campylobacter* chez l'Homme en France, 2003-2010

Lisa A. King (l.king@invs.sante.fr)¹, Francis Mégraud²

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

2/ Centre national de référence des Campylobacters et Hélicobacters, Bordeaux, France

Résumé / Abstract

Introduction – En France, la surveillance des infections humaines à *Campylobacter* est basée sur un réseau de laboratoires volontaires. Elle permet de décrire les caractéristiques épidémiologiques de la maladie, de détecter les cas groupés et de surveiller la résistance aux antibiotiques.

Matériel-méthodes – Un cas est défini par l'isolement d'une souche de *Campylobacter* dans un prélèvement biologique. Les laboratoires volontaires participants envoient chaque souche isolée au Centre national de référence (CNR) des Campylobacters et Hélicobacters pour caractérisation de l'espèce et de la sensibilité aux antibiotiques.

Résultats – Le nombre annuel de souches reçues au CNR a augmenté de 97% entre 2003 et 2010. L'âge médian des personnes infectées était de 24 ans (extrêmes : 0 mois-100 ans). En moyenne, 25% des souches isolées par an l'ont été chez des enfants âgés de moins de 6 ans, et 45% des souches ont été isolées chaque année entre juin et septembre. La résistance aux quinolones a atteint 49% pour *C. jejuni* et 79% pour *C. coli* en 2010.

Conclusion – Les données de surveillance 2003-2010 montrent une augmentation du nombre de cas d'infections à *Campylobacter* depuis 2003, un pic estival marqué et une résistance élevée et croissante aux quinolones.

Surveillance of human *Campylobacter* infection in France, 2003-2010

Introduction – In France, surveillance of human *Campylobacter* infections is based on a network of voluntary laboratories. This surveillance enables the follow-up of epidemiological characteristics of the infection, the detection of outbreaks and the surveillance of the resistance of *Campylobacter* to antibiotics.

Methods – A case is defined as the isolation of *Campylobacter* from a biological sample. Voluntary participant laboratories send each *Campylobacter* strain isolated to the National Reference Centre (NRC) for *Campylobacter* and *Helicobacter* for species identification and evaluation of antimicrobial susceptibility.

Results – Between 2003 and 2010, the annual number of isolates received by the NRC increased by 97%. The median age of cases was 24 years (extremes: 0 month-100 years). On average, 25% of strains isolated each year were from children under 6 years old, and 45% of strains were isolated each year from June to September. Resistance to quinolone antibiotics was 49% for *C. jejuni* and 79% for *C. coli* in 2010.

Conclusion – Surveillance data for 2003-2010 show an increase in the number of *Campylobacter* infections since 2003, a notable summer peak in infections, and a high and rising level of resistance to quinolone antibiotics.

Mots clés / Key words

Surveillance, *Campylobacter*, France, antibiorésistance / Surveillance, *Campylobacter*, France, antibiotic resistance

Introduction

Le genre *Campylobacter* comprend 17 espèces dont les principales sont *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Campylobacter coli* (*C. coli*) responsables d'entérites et *Campylobacter fetus* (*C. fetus*) responsable de septicémies. Après une période d'incubation de deux à cinq jours, les signes cliniques généralement observés sont ceux d'une gastroentérite aiguë le plus souvent bénigne et spontanément résolutive en moins d'une semaine. Une diarrhée souvent sanglante est un des symptômes les plus fréquemment observés (90% des cas). Les complications associées aux infections à *Campylobacter* sont rares mais peuvent être graves. Elles comprennent les adénites mésentériques, les pancréatites et appendicites, le syndrome de Reiter (arthrites réactionnelles) et le syndrome de Guillain-Barré qui représente la complication la plus sévère [1]. Plus récemment, des études ont montré qu'une proportion importante de syndromes de l'intestin irritable survenait après une infection intestinale à *C. jejuni* [2].

Campylobacter appartient à la flore commensale des animaux (volailles, porcs et bovins) et peut être transmis à l'Homme par l'intermédiaire d'aliments contaminés insuffisamment cuits, principalement la viande de volaille (poulet), mais aussi la viande de porc ou de bœuf [3]. Sont également sources de contamination le lait non pasteurisé, les eaux non traitées et contaminées par la bactérie et les animaux infectés ou malades. La contamination croisée entre de la volaille crue et des aliments non cuits est fréquente. L'Homme (malade ou porteur) est également une source potentielle de contamination [3].

Entre 1986 et mars 2002, la surveillance des infections à *Campylobacter* était basée sur un réseau de laboratoires hospitaliers (LH), généraux et universitaires, répartis sur le territoire national et coordonné par le Centre national de référence (CNR) des Campylobacters et Hélicobacters à Bordeaux. En avril 2002, la surveillance a été étendue aux laboratoires d'analyse de biologie médicale (LABM) volontaires [4]. Cette surveillance n'est pas exhaustive. Elle a comme objectif de décrire les caractéristiques épidémiologiques de la maladie, de suivre les évolutions temporelles et spatiales de l'incidence, de décrire les espèces de *Campylobacter* en cause et de

surveiller la résistance aux antibiotiques. Dans certaines situations, elle permet de détecter les cas groupés. Cet article présente une synthèse des données issues de la surveillance pour la période 2003-2010.

Matériel-méthodes

Un cas d'infection à *Campylobacter* est défini par l'isolement d'une souche de *Campylobacter* dans un prélèvement biologique (selles, sang ou autre) chez une personne résidant en France. Aucune information sur les signes cliniques n'est recueillie.

Les laboratoires volontaires participants recherchent systématiquement les Campylobacters dans toute coproculture et envoient les souches qu'ils isolent au CNR avec une fiche d'information. Cette fiche collecte des informations épidémiologiques (département du laboratoire, date de naissance, sexe, notion de voyage à l'étranger dans les 15 jours précédant le début de la maladie, notion de cas groupés) et biologiques (nature de l'échantillon, date d'isolement, site de prélèvement). Pour chaque souche reçue, le CNR réalise une caractérisation de l'espèce, faite en 2010 par spectrométrie de masse MALDI-TOF, et des tests de sensibilité aux antibiotiques.

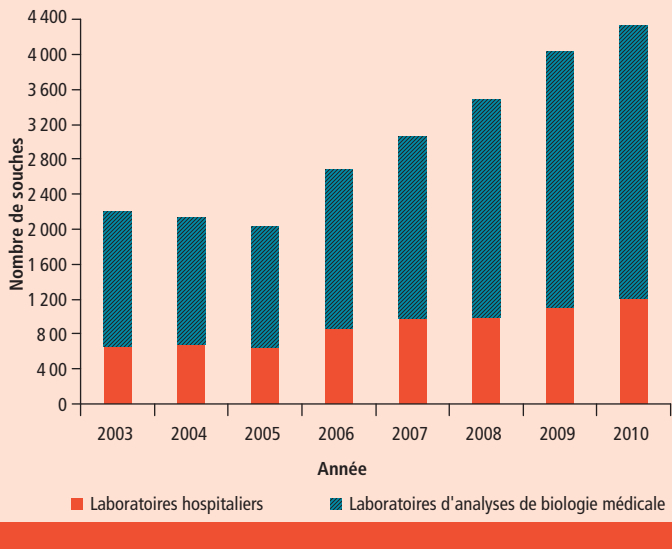
Les données de surveillance ont été analysées avec le logiciel Stata® (v11) (StataCorp, Texas). Pour comparer la différence entre deux proportions, le test de Chi2 a été utilisé.

Les analyses d'antibiorésistance portent sur la période de 2003 à 2010 et sur des souches provenant des LH et LABM pour tous les antibiotiques, sauf pour les quinolones pour lesquelles il existe des données historiques provenant des LH qui remontent jusqu'à 1986 pour l'acide nalidixique et 2000 pour la ciprofloxacine.

Résultats

Le nombre de souches reçues au CNR en 2010 a été de 4 324, ce qui représente une augmentation de 97% par rapport au nombre reçu en 2003 (figure 1). L'augmentation annuelle pour la période 2003-2010 a été de 11% en moyenne. La proportion de souches provenant des LABM est restée

Figure 1 Nombre d'isolements de *Campylobacter* selon le type de laboratoire, France, 2003-2010 / Figure 1 Number of *Campylobacter* isolates by type of laboratory, France, 2003-2010



constante pour la période avec une moyenne de 70% (figure 1). L'espèce a été caractérisée pour 93% des souches chaque année ; dans 7% des cas, la souche reçue n'a pas donné de subculture.

L'espèce *C. jejuni* a été la plus fréquente pour la période 2003-2010 et représente en moyenne 76% des souches par an, suivie de *C. coli* (15%) et *C. fetus* (4%). La grande majorité des souches a été isolée à partir de selles (95% en moyenne) (extrêmes : 92%-97%) et environ 4% des souches (extrêmes : 3%-5%) ont été isolées à partir d'hémocultures. Parmi les souches isolées entre 2003 et 2010 à partir de selles, *C. jejuni* est majoritaire avec une moyenne de 80%, alors que *C. fetus* représente en moyenne 67% des souches isolées à partir d'hémocultures.

L'âge médian des personnes infectées par *Campylobacter* entre 2003 et 2010 a été de 24 ans (extrêmes : 0 mois-100 ans) et est resté stable durant la période. Le nombre le plus important de souches de *Campylobacter* a été isolé chaque année chez les enfants et 25% des souches ont été isolées chez ceux âgés de moins de 6 ans (figure 2). Un nombre plus important de souches a été isolé chez les femmes âgées de 21 à 30 ans comparativement aux hommes (figure 2). Inversement, un plus grand nombre de cas masculins a été observé chez les enfants, les adolescents et globalement chez les personnes âgées de plus de 30 ans ($p=0,003$) (figure 2).

Concernant la période 2003-2010, une recrudescence saisonnière des isolements de *Campylobacter* a été observée pendant la période estivale. Pour la période 2003-2010, 45% des souches ont été isolées entre les mois de juin

Figure 3 Nombre moyen annuel d'isolements de *Campylobacter* selon le mois de prélèvement de l'échantillon biologique, France, 2003-2010 / Figure 3 Average annual number of *Campylobacter* isolates by month of biological sampling, France, 2003-2010

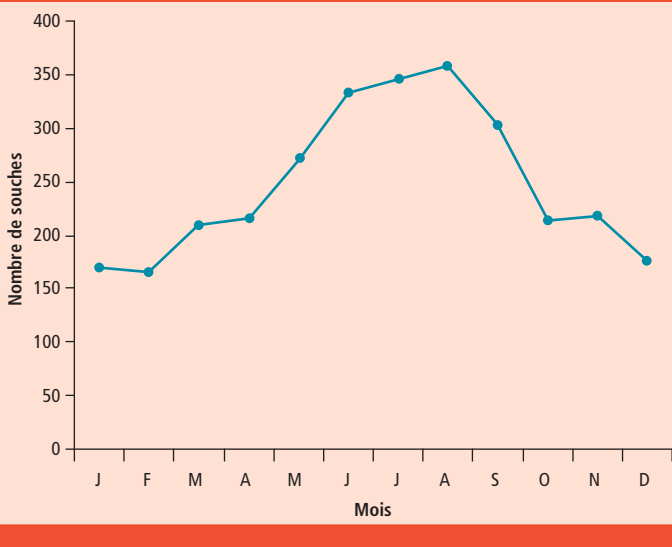
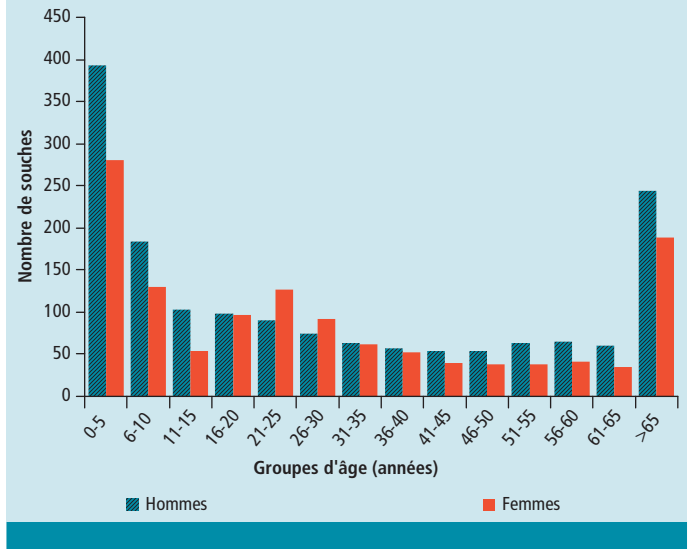


Figure 2 Nombre moyen annuel d'isolements de *Campylobacter* selon l'âge et le sexe, France, 2003-2010 / Figure 2 Average annual number of *Campylobacter* isolates by age and sex, France, 2003-2010



et septembre (figure 3). L'information sur l'éventualité d'un voyage dans un pays étranger dans les 15 jours précédant le début des symptômes a été disponible en moyenne pour 26% des cas par an pour la période 2003-2010 ; 14% de ces cas ont rapporté un tel voyage à l'étranger. Cette proportion est restée stable durant la période étudiée.

Entre 2003 et 2010, la résistance à l'ampicilline et à la doxycycline a été élevée, en moyenne 24% et 33% des souches respectivement, mais globalement stable (figure 4). La résistance à l'érythromycine a été faible (3%) et stable. Elle a été quasi nulle pour la gentamicine (0,1%) et pour l'amoxicilline/acide clavulanique (0,1%) durant cette période.

Une augmentation globale de la résistance aux quinolones est observée depuis 1986 et elle a atteint 49% pour *C. jejuni* et 79% pour *C. coli* en 2010 (figure 5). Une augmentation importante de la résistance à l'acide nalidixique observée entre 1994 et 1996 (de 9% à 28% pour *C. jejuni* et de 18% à 63% pour *C. coli*) a été suivie d'une diminution de la résistance entre 1996 et 1999-2000. Depuis 2001, une augmentation constante de la résistance aux quinolones est observée (de 27% à 44%). Les taux de résistance à la ciprofloxacine et à l'acide nalidixique (quinolones) sont équivalents pour *C. coli* et *C. jejuni* (figure 5).

Discussion

Les données de surveillance des infections à *Campylobacter* pour la période 2003-2010 confirment les caractéristiques épidémiologiques observées dans d'autres pays européens : un pic saisonnier pendant la période estivale, un

Figure 4 Taux de résistance à l'érythromycine, la doxycycline et l'ampicilline des *Campylobacter* isolés chez l'Homme, France, 2003-2010 / Figure 4 Rate of resistance to erythromycin, doxycycline and ampicillin among human *Campylobacter* isolates, France, 2003-2010

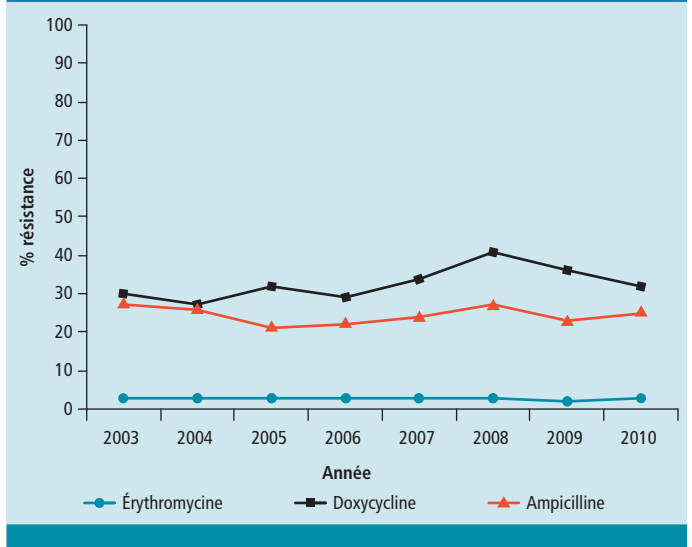
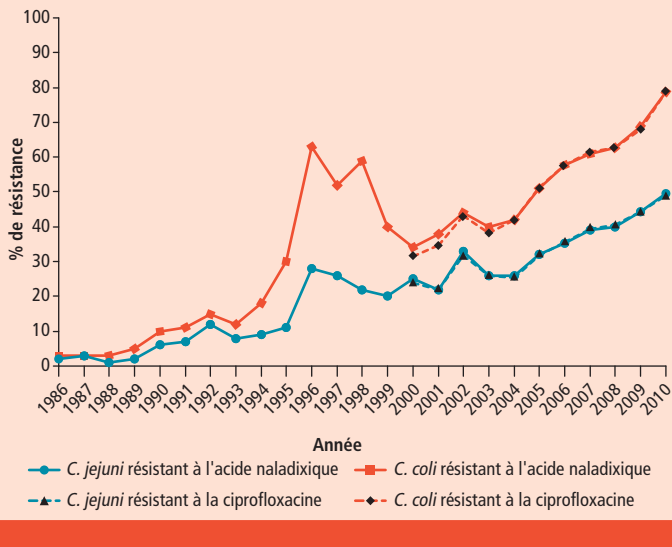


Figure 5 Résistance à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine des *Campylobacter jejuni* et *C. coli* isolés chez l'Homme, France, 1986-2010 (données issues des laboratoires hospitaliers) / **Figure 5** Resistance to nalidixic acid and ciprofloxacin among human *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates, France, 1986-2010



nombre de souches plus élevé isolé chez les jeunes enfants, une fréquence plus importante de l'espèce *C. jejuni* et une résistance élevée et croissante aux quinolones [5-7].

On constate une augmentation de 97% du nombre de souches de *Campylobacter* reçues au CNR entre 2003 et 2010. Cette augmentation se situe dans un contexte d'augmentation globale de 21% de cas identifiés observée au niveau européen entre 2006 et 2010 [5]. Depuis 2006, une augmentation statistiquement significative du nombre d'infections à *Campylobacter* identifiées a été observée pour six autres pays européens (Pologne, Pays-Bas, Estonie, Chypre, Malte et Luxembourg) [5].

L'augmentation observée en France est probablement attribuable à une combinaison de facteurs tels que le recrutement de nouveaux laboratoires participants et l'augmentation du nombre de souches envoyées par les laboratoires participant déjà à la surveillance. La réorganisation importante des structures de biologie médicale en cours depuis 2009, avec des regroupements des laboratoires vers des plateformes techniques de bactériologie, est susceptible d'entraîner un changement de la taille des populations desservies par ces laboratoires et pourrait également engendrer une modification de la population concernée par la surveillance. Des analyses plus approfondies de cette augmentation sont en cours par l'Institut de veille sanitaire (InVS) et le CNR. Si les résultats de ces analyses amènent à conclure que l'augmentation du nombre de souches de *Campylobacter* transmises au CNR depuis 2003 correspond à une augmentation réelle de l'incidence de la maladie, un travail multidisciplinaire pour explorer la ou les raisons de cette augmentation sera nécessaire.

En 2010, la résistance aux quinolones des souches de *C. jejuni* et *C. coli* isolées chez l'Homme a atteint le niveau de résistance le plus élevé depuis le

début de la surveillance. Cette résistance élevée aux quinolones ne semble pas liée à des biais de surveillance. En effet, ni les méthodes d'analyses utilisées en routine au CNR, ni le recrutement des souches par les laboratoires de ville et les laboratoires hospitaliers n'ont été modifiés. De plus, la répartition des souches de *Campylobacter* par classe d'âge est constante et aucune augmentation du nombre de souches de *Campylobacter* isolées chez des patients ayant séjourné à l'étranger n'a été observée (données InVS). Les taux de résistance aux quinolones des souches de *Campylobacter* isolées au niveau européen en 2010 (52% résistance à la ciprofloxacine et 50% à l'acide nalidixique pour *C. jejuni*; 66% résistance à la ciprofloxacine et 69% à l'acide nalidixique pour *C. coli*) sont similaires aux taux élevés observés en France [7]. Les taux de résistance observés varient cependant selon les États-membres [7].

Si les données de surveillance observées jusqu'en 2003 suggèrent un impact positif des mesures limitant l'utilisation des quinolones en médecine vétérinaire mises en place par l'Union européenne en 1999 [8], les évolutions récentes chez l'Homme soulèvent des interrogations. Il convient donc d'attirer l'attention sur l'évolution de la résistance des infections à *Campylobacter* aux antibiotiques chez l'Homme et l'animal. Par ailleurs, des travaux de recherche complémentaires visant à documenter le lien possible entre l'usage des antibiotiques chez l'animal et l'apparition de résistance bactérienne des *Campylobacter* chez l'Homme sont nécessaires.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier tous les laboratoires ayant contribué à la surveillance des infections à *Campylobacter*.

Références

- [1] Lindsay JA. Chronic sequelae of foodborne disease. *Emerg Infect Dis.* 1997;3(4):443-52.
- [2] Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut.* 2000;47(6):804-11.
- [3] Heymann DL. *Control of communicable diseases manual.* 18th Ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2004. p. 81-4.
- [4] Gally A, Mégraud F. Mise en place d'un système de surveillance des infections à *Campylobacter* en France. *Revue Française des Laboratoires.* 2003;(354):37-42.
- [5] European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2011. Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC, 2012. 239 p. Disponible à : http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DisForm.aspx?ID=767
- [6] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. *EFSA Journal.* 2012; 10(3):2597. [442p]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2597.htm>
- [7] European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. *EFSA Journal.* 2012; 10(3):2598. [233 p]. Disponible à : http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DisForm.aspx?ID=837
- [8] European Commission. Opinion of the Scientific Steering Committee on antimicrobial resistance. 28 May 1999. Brussels: European Commission; 1999. 121 p. Disponible à : http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out50_en.pdf

Encadré – Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France / Box – Surveillance of hemolytic uremic syndrome in children under 15 years in France

Lisa A. King (l.king@invs.sante.fr)¹, Patricia Mariani-Kurkidjan², Malika Gouali³

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

2/ Laboratoire associé au Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella*, Hôpital Robert Debré, Paris, France

3/ Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella*, Institut Pasteur, Paris, France

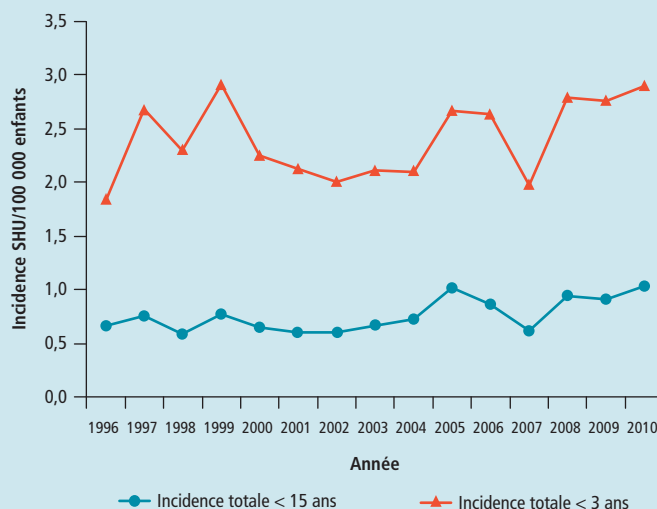
Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont responsables de manifestations cliniques variées : de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique pouvant évoluer dans 5 à 8% des cas, principalement chez le jeune l'enfant, vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU). Le SHU représente la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant de moins de 3 ans en France. La létalité rapportée dans la littérature avoisine 5% et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme. Les STEC se transmettent principalement par voie alimentaire, par contact interhumain ou par contact avec des ruminants infectés, ainsi que par l'environnement contaminé par les matières fécales animales ou humaines.

En France, la recherche de STEC dans les selles n'étant pas effectuée en routine dans les laboratoires d'analyses médicales, la surveillance des infections à STEC est basée sur la surveillance du SHU chez l'enfant de moins de 15 ans¹. Cette surveillance, mise en place en 1996, permet de suivre les tendances spatio-temporelles du SHU chez l'enfant de moins de 15 ans, de connaître les caractéristiques épidémiologiques des cas et de détecter des cas groupés. La surveillance repose sur un réseau constant de néphrologues pédiatres volontaires de 31 hôpitaux répartis sur tout le territoire métropolitain. Les cliniciens signalent à l'Institut de veille sanitaire (InVS) tout enfant de moins de 15 ans pour lequel un diagnostic clinique de SHU a été posé avec les critères biologiques suivants : une anémie hémolytique micro-angiopathique (hémoglobine <10 g/100 mL et schizocytose² ≥2%) associée à une thrombopénie et une insuffisance rénale (créatininémie >60 µmol/L si âge <2 ans ou >70 µmol/L si âge ≥2 ans). Les cas de SHU sont notifiés à l'InVS à l'aide d'une fiche standardisée qui recueille des informations cliniques, microbiologiques et épidémiologiques. La survenue d'un cas de diarrhée ou de SHU dans l'entourage du cas dans les quinze jours précédant ou suivant le début du SHU est également recherchée et, dans une telle circonstance, une enquête complémentaire téléphonique est réalisée par l'InVS pour identifier une éventuelle exposition commune. L'infection à STEC est confirmée au Centre national de référence (CNR) des *Escherichia coli* et *Shigella* et au laboratoire associé au CNR par la recherche systématique d'anticorps sériques dirigés contre le lipopolysaccharide des principaux sérogroupes de STEC, l'isolement de souches de STEC et/ou la détection par PCR de gènes de virulence STEC (*stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*) dans les selles ou sur écouvillonnage rectal.

Entre 1996 et 2010, 1 378 cas de SHU ont été notifiés à l'InVS. L'incidence moyenne annuelle était de 0,8/10⁵ enfants de moins de 15 ans (extrêmes : 0,6/10⁵ en 1998 et 1,0/10⁵ en 2005 et en 2010) (figure 1). L'incidence annuelle moyenne la plus élevée a été observée dans les régions de Franche-Comté (1,6/10⁵) et Bretagne (1,4/10⁵). On observe une recrudescence estivale du nombre de cas : 52% d'entre eux sont survenus entre juin et septembre. L'âge médian des cas était de 30 mois (extrêmes : 0-15 ans) et 60% des cas avaient moins de 3 ans. Le ratio garçon-fille était de 0,9 pour la période (pour un ratio de 1,0 observé pour la population <15 ans pendant la période concernée³). Une diarrhée prodromique a été rapportée pour 1 325 (96%) des cas, sanglante pour 59% des cas pour lesquels l'information était disponible. Douze enfants (0,9%) sont décédés des complications de leur SHU au cours de cette période. Des prélèvements biologiques ont été analysés pour 1 191 (95%) cas entre 1996 et 2009 et une infection à STEC a été confirmée par sérologie ou par coproculture chez 790 (66%) d'entre eux. Parmi ces 790 cas, le sérotype O157 a été prédominant (77%), suivi par O26 (7%) et O103 (3%).

Le système de surveillance et son réseau ont permis de détecter quatre épidémies d'infections à STEC avec une source alimentaire commune identifiée. Deux des épidémies sont survenues en 2005 : une épidémie d'infections

Figure 1 Incidence annuelle du syndrome hémolytique et urémique (SHU) par 100 000 enfants de moins de 15 ans en France, 1996-2010 / Figure 1 Annual incidence of hemolytic uremic syndrome (SHU) per 100, 000 children under 15 years in France, 1996-2010



à STEC O157 (69 cas dont 17 SHU) dans les régions Aquitaine et Midi-Pyrénées liée à la consommation de steaks hachés surgelés, et une épidémie d'infections à STEC O26 et O80 (16 cas de SHU) en Normandie liée à la consommation de fromage au lait cru. Les deux épidémies les plus récentes sont survenues en 2011 : une épidémie d'infections à STEC O157 (19 cas de SHU) dans le grand quart nord-est du pays, liée à la consommation de steaks hachés et d'hamburgers surgelés, et une épidémie d'infections à STEC O104 (24 cas dont 7 SHU) en Aquitaine liée à la consommation de graines germées de fenugrec. Les études moléculaires ont montré que la souche O104 française était génétiquement reliée à la souche O104 allemande responsable de la grande épidémie de STEC O104 survenue en Allemagne en mai-juin 2011 qui a entraîné plus de 4 000 cas et 50 décès. Une enquête européenne de traçabilité sur l'origine des graines de fenugrec incriminées a permis d'identifier un producteur et un lot de graines commun entre l'épidémie de STEC O104 en Aquitaine et l'épidémie allemande [1-3].

Les données de surveillance française pour le SHU chez les enfants de moins de 15 ans confirment les caractéristiques épidémiologiques des SHU observées dans d'autres pays et décrites dans la littérature : survenue majoritairement sous forme sporadique avec des rares épidémies, recrudescence estivale, incidence plus élevée chez les très jeunes enfants et prédominance du sérotype O157 parmi les infections à STEC confirmées. La surveillance du SHU vise la détection précoce de cas de SHU et d'infections à STEC possiblement liés. Un signalement précoce à l'InVS permet la mise en œuvre réactive d'une investigation afin d'identifier une éventuelle source (alimentaire ou environnementale) commune entre les cas et de proposer des mesures de contrôle adaptées. La capacité de ce système de surveillance à atteindre cet objectif a été démontrée à plusieurs reprises depuis 1996.

Références

- [1] Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, et al; HUS Investigation Team. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 2011;365(19):1771-80.
- [2] Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Tracing seeds, in particular fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds, in relation to the Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 Outbreaks in Germany and France. Technical report of EFSA. 2011. 23 p. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/176e.pdf>.
- [3] King LA, Nougareda F, Weill FX, Mariani-Kurkidjan P, Loukiadis E, Gault G, et al. Outbreak of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4 associated with organic fenugreek sprouts, France, June 2011. *Clin Inf Dis*. 2012 (sous presse).

¹ Voir le dossier « Syndrome hémolytique et urémique » sur le site internet de l'InVS : <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique>

² Fragmentation des globules rouges due à un processus pathologique.

³ Estimations annuelles de la population française fournies par l'Institut national de la statistique et des études économiques (Insee).

Antibiorésistance de *Campylobacter* dans différentes filières animales (avicole, bovine, porcine) en France : principales tendances

Isabelle Kempf (isabelle.kempf@anses.fr)¹, Gwenaëlle Mourand¹, Pierre Châtre², Marisa Haenni², Julien Santolini³ et Jean-Yves Madec²

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, France

2/ Anses, Laboratoire de Lyon, France

3/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires, Paris, France

Résumé / Abstract

Depuis une dizaine d'années, la surveillance de la résistance aux antibiotiques de *Campylobacter* est organisée par la Direction générale de l'alimentation dans les filières avicoles, porcines et bovines françaises, et sa réalisation a été confiée aux laboratoires de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses). À partir des prélèvements effectués dans les abattoirs selon un plan d'échantillonnage représentatif des filières de production, des souches de *Campylobacter jejuni* et *C. coli* sont isolées et identifiées et les concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques d'intérêt sont déterminées. Pour les volailles, la résistance aux macrolides reste toujours très faible pour *C. jejuni* et généralement inférieure à 20% pour *C. coli*, mais la résistance aux fluoroquinolones a augmenté régulièrement et atteignait 51% pour *C. jejuni* et près de 70% pour *C. coli* en 2010. Pour la filière porcine, en 2009, 34% et 45% des souches de *C. coli* étaient résistantes à la ciprofloxacine et à l'érythromycine respectivement. Chez les bovins, la résistance aux fluoroquinolones s'est fortement accrue, passant, de 2002 à 2006, de 29,7% à 70,4%. La résistance à la gentamicine est rare dans les trois filières. Les données de cette surveillance alimentent le rapport annuel européen sur l'antibiorésistance des bactéries zoonotiques et indicatrices.

Antimicrobial resistance of *Campylobacter* strains isolated from animals (poultry, pig, cattle) in France: major trends

Monitoring of *Campylobacter* antimicrobial resistance has been conducted by the General Directorate for Food (Ministry of Agriculture) since 2000 in poultry, swine and bovine production, and is performed by laboratories from the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety (ANSES). Strains of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* are isolated and identified from production representative samples collected in slaughterhouses. The minimum inhibitory concentrations of important antimicrobials are determined. For poultry, resistance to macrolides is rare for *C. jejuni* and is usually lower than 20% for *C. coli*, but resistance to fluoroquinolones has increased regularly up to 51% for *C. jejuni* and close to 70% for *C. coli* in 2010. For pigs, in 2009, 34% and 45% of *C. coli* strains were resistant to ciprofloxacin and erythromycin respectively. In bovines, from 2002 to 2006, resistance to fluoroquinolones increased dramatically from 29.7% to 70.4%. Resistance to gentamicin is rare in the three animal productions. Data from this monitoring are included in the annual European report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria.

Mots clés / Key words

Campylobacter, antibiorésistance, surveillance / *Campylobacter*, antimicrobial resistance, monitoring

Campylobacter est une bactérie zoonotique responsable d'une part importante des gastro-entérites bactériennes humaines. Ces dernières nécessitent parfois, lors d'infections sévères ou chez les patients immunodéprimés, un traitement antibiotique. L'augmentation préoccupante des résistances en médecine humaine, en particulier vis-à-vis des fluoroquinolones, est à l'origine de la mise en place d'une surveillance dans les filières animales.

Cette surveillance s'est mise en place en France à partir de 1999 chez les poulets, les porcs et les bovins, qui sont les principaux réservoirs zoonotiques de *Campylobacter*. Elle a été organisée par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et confiée aux laboratoires Afssa, devenue Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), de Ploufragan pour les filières avicoles et porcines et de Lyon pour la filière bovine. La directive européenne (EC) 2003-99 sur la surveillance des zoonoses donne un cadre réglementaire à cette surveillance, en obligeant les États-membres à collecter puis à transmettre des données représentatives sur l'antibiorésistance de *Campylobacter* à un stade pertinent de la chaîne alimentaire. Cet article expose les principaux résultats de la surveillance française et européenne.

Organisation et résultats de la surveillance en France

Filières avicoles et porcines

Chaque année, une note de service de la Direction générale de l'alimentation (DGAL) précise les conditions de réalisation des prélèvements en abattoir de poulets de chair ou de porcs par les services déconcentrés. Ainsi, depuis plus de dix ans, environ 200 prélèvements de caeca de poulets (ainsi que, certaines années, des prélèvements de peaux de cou de poulets) et de matières fécales de porcs sont collectés de manière aléatoire selon un plan d'échantillonnage représentatif des filières de production françaises. Les échantillons sont répartis sur huit mois et proviennent de huit départements pour la filière avicole et de dix départements pour la filière porcine, représentant une part substantielle de la production nationale.

Les souches sont isolées par les laboratoires vétérinaires départementaux et transmises ensuite à l'Anses Ploufragan qui détermine l'espèce (*C. jejuni*

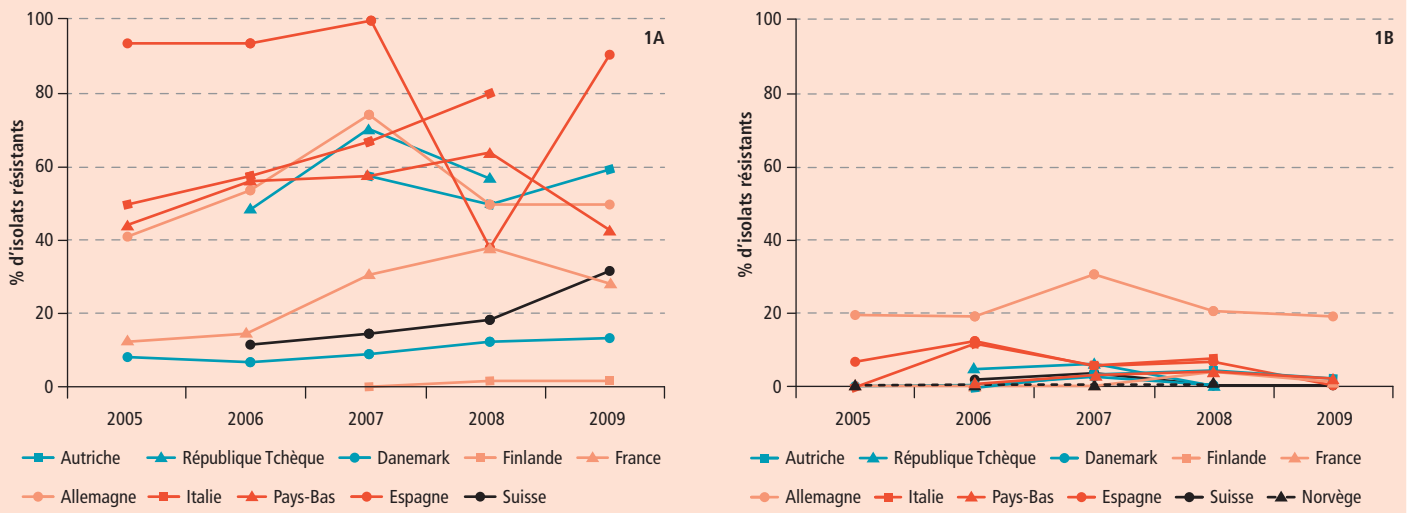
ou *C. coli*) et la sensibilité des souches. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches ont été déterminées par dilution en milieu gélosé jusqu'en 2006. Puis, dans un souci d'harmonisation au niveau européen, la méthode de dilution en milieu liquide à l'aide de microplaques du commerce a été réalisée selon le référentiel M31-A3 du CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Contrairement aux souches humaines, les seuils utilisés sont les « cut-offs épidémiologiques » définis par EUCAST (<http://www.srga.org/eucastwt/MICTAB/index.html>) et, chaque année, le Laboratoire communautaire de référence (DTU, Danemark) organise un contrôle de qualité externe. Les résultats de cette surveillance nationale sont publiés périodiquement dans le rapport FARM (*French Antimicrobial Resistance Monitoring*), avec les résultats de la surveillance concernant les autres bactéries zoonotiques, indicatrices, ou pathogènes des animaux [1]. Ils sont transmis parallèlement à l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (EFSA) qui les exploite dans le cadre de son rapport annuel européen sur l'antibiorésistance.

Pour la filière volaille, l'évolution de la résistance en Europe vis-à-vis des deux familles d'antibiotiques importantes pour le traitement des infections humaines à *Campylobacter*, les fluoroquinolones et les macrolides, est présentée dans la figure 1. La résistance aux macrolides reste toujours très faible pour les souches de *C. jejuni* de poulets et généralement inférieure à 20% pour les souches de *C. coli* de poulets. La résistance aux fluoroquinolones augmente régulièrement et en 2010, pour cette filière, elle atteignait 51% pour *C. jejuni* et près de 70% pour *C. coli*. Des taux de résistance très proches sont obtenus pour des souches isolées de produits de découpe de poulets [2].

Pour la filière porcine, 34% des souches de *C. coli* étaient résistantes à la ciprofloxacine en 2009, alors que le pourcentage ne dépassait pas 15% au début des années 2000, et 45% des souches de *C. coli* étaient résistantes à l'érythromycine.

Quels que soient le type de production et l'espèce, la prévalence de la résistance à la tétracycline est supérieure à 50%. La résistance à la gentamicine est rare, de même que la résistance à la streptomycine pour les souches isolées de volailles, alors qu'elle est très élevée pour les souches de *C. coli* de porcs (>70%).

Figure 1 Évolution de la résistance aux fluoroquinolones (1A) et aux macrolides (1B) des souches de *C. jejuni* de poulets dans différents pays européens (Source : [4]) / Figure 1 Trends in resistance to fluoroquinolones (1A) and macrolides (1B) of *C. jejuni* strains from chickens in different European countries (Source: [4])



Filière bovine

La filière bovine a également fait l'objet d'une surveillance de la résistance aux antibiotiques chez *Campylobacter* à partir de la flore fécale saine de jeunes bovins de boucherie, de vaches allaitantes de réforme et de veaux. Cette surveillance a été conduite dans neuf départements pendant cinq ans (2002-2006) et a porté sur l'analyse de 2 255 échantillons bovins, répartis de façon égale entre les trois filières de production [3]. Les souches ont été isolées dans un seul laboratoire (Anses Lyon), puis l'espèce identifiée (*C. jejuni* / *C. coli*). Les CMI vis-à-vis de six antibiotiques d'intérêt (ampicilline, tétracyclines, érythromycine, gentamicine, acide nalidixique, ciprofloxacine) ont été ensuite déterminées par E-test®.

Campylobacter a été isolé dans 39,1% des prélèvements de veaux qui représentent, de très loin, la filière de production la plus concernée par le portage de cette bactérie. Parmi les souches de *Campylobacter* isolées, *C. jejuni* a été identifié dans 71% des cas, et ces données sont en cohérence avec celles de la littérature sur ce sujet. Compte-tenu de ce déséquilibre lié à la forte prévalence de *C. jejuni* chez les veaux, une robustesse satisfaisante de l'analyse statistique des taux de résistances n'est atteinte que pour ce couple bactérie/filière. Une forte résistance à la tétracycline (66,2%), et plus faible à l'ampicilline (17%), a été observée, tandis que la résistance à l'érythromycine reste négligeable (1,9%). Toutes les souches sont sensibles à la gentamicine. De façon plus préoccupante, la résistance aux fluoroquinolones s'est accrue dramatiquement entre 2002 et 2006, passant de 29,7% à 70,4%. Il s'agit également de la seule famille d'antibiotiques affichant une tendance à la hausse sur les cinq années d'études, au contraire de la stabilité observée pour les autres molécules.

Discussion

Les résultats obtenus par les différents pays sont collectés et publiés chaque année sous la forme d'un rapport commun de l'EFSA. En 2009, le rapport préparé par l'EFSA et l'ECDC contenait également les résultats de souches d'origine humaine [4].

Les données européennes montrent de nettes différences selon les pays, et ces différences persistent en dépit des efforts d'harmonisation des méthodes et des seuils d'interprétation. Cette variabilité est aussi retrouvée lors d'études monocentriques [5] et reflète vraisemblablement les

différences d'usages des antibiotiques dans les pays. Certains auteurs soulignent d'ailleurs les différences de sensibilité entre souches isolées d'animaux élevés localement ou d'animaux ou de viandes importées [6].

Les données de la surveillance de la résistance pour les productions aviaires et bovines montrent des taux inquiétants de souches de *Campylobacter* résistantes aux fluoroquinolones, vraisemblablement liés à l'utilisation de ces antibiotiques en élevage. Cette résistance est retrouvée dans les souches de produits finis de volaille et les taux de résistance sont proches de ceux observés pour les souches humaines. Des mesures visant à une meilleure gestion des antibiotiques en élevage pour préserver leur efficacité doivent être mises en place.

Remerciements

Les auteurs remercient la DGAL et les laboratoires vétérinaires départementaux participant aux plans de surveillance de la résistance de *Campylobacter*.

Références

- [1] Anses. FARM 2007-2008 - Programme français de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale. Rapport 2007-2008. Maisons-Alfort : Anses, 2010. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-FARM2008.pdf>
- [2] Chemaly M, Houard E, Rouxel S, Quesne S, Kempf I. Prévalence et antibiorésistance de *Campylobacter* dans les produits de découpe de poulets. 30^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. Paris, 2-3 décembre 2010; pp.144-5.
- [3] Châtre P, Haenni M, Meunier D, Botrel MA, Calavas D, Madec JY. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from cattle between 2002 and 2006 in France. J Food Prot. 2010;73(5):825-31.
- [4] EFSA-ECDC. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. EFSA J. 2011; 9(7):2154. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2154.pdf>
- [5] de Jong A, Bywater R, Butty P, Deroover E, Godinho K, Klein U, et al. A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. J Antimicrob Chemother. 2009;63(4):733-44.
- [6] Skjøl-Rasmussen L, Ethelberg S, Emborg HD, Agersø Y, Larsen LS, Nordentoft S, et al. Trends in occurrence of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from broiler chickens, broiler chicken meat, and human domestically acquired cases and travel associated cases in Denmark. Int J Food Microbiol. 2009;131(2-3):277-9.

Campylobacter dans les filières de production animale

Marianne Chemaly¹, Catherine Magras^{2,3}, Jean-Yves Madec⁴, Julien Santolini⁵, Martine Denis (martine.denis@anses.fr)¹

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), LNR *Campylobacter*, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France

2/ L'Université Nantes Angers Le Mans, Oniris, Nantes, France

3/ Institut national de la recherche agronomique (Inra), UMR 1014 Sécurité des aliments et microbiologie (Secalim), Nantes, France

4/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de Lyon, Lyon, France

5/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires, Paris, France

Résumé / Abstract

Campylobacter a pour réservoir le tube digestif des animaux des filières de production animale, oiseaux domestiques et mammifères. La voie essentielle de transmission à l'Homme de cette bactérie zoonotique est la consommation de denrées contaminées, consommées crues ou insuffisamment cuites, et les contaminations croisées lors de la manipulation des viandes pendant la préparation des repas. L'objectif de cet article est de présenter une synthèse des connaissances sur l'épidémiologie de *Campylobacter* dans trois filières majeures de production des viandes : avicole, porcine et bovine, et de faire un point sur la réglementation européenne et nationale concernant ce germe zoonotique.

Mots clés / Key words

Campylobacter, volailles, porcs, bovins, réglementation / *Campylobacter*, poultry, pig, bovine, regulation

Campylobacter, *jejuni* et *coli*, a pour réservoir le tube digestif des animaux homéothermes, notamment les animaux de production tels que les oiseaux domestiques (poulet, dinde, canard...) et les mammifères (bovins, porcins, petits ruminants). La voie essentielle de transmission à l'Homme de cette bactérie zoonotique est la consommation de denrées contaminées consommées crues ou insuffisamment cuites [1]. Les viandes, toutes espèces confondues, apparaissent comme les aliments les plus fréquemment contaminés [2-4]. Il est aujourd'hui avéré que leur contamination primaire intervient lors d'une maîtrise insuffisante de certaines opérations d'abattage, par un transfert des bactéries depuis le réservoir digestif des animaux vers la surface des masses musculaires, les taux de transfert étant variables selon les abattoirs [5;6]. Cette contamination primaire engendre des contaminations secondaires croisées d'autres denrées faisant intervenir, de façon primordiale, l'hygiène des procédés et les interactions de la bactérie avec l'environnement [5;7]. Apporter des connaissances sur l'épidémiologie de *Campylobacter* dans trois filières majeures de production des viandes, les filières, avicole, porcine et bovine, permet de mieux apprécier le risque et d'envisager des moyens de maîtrise.

Campylobacter dans la filière poulet de chair

Les produits de volailles crus ou mal cuits constituent le facteur de risque principal de la contamination humaine sporadique [3;8] et apportent le plus fréquemment la bactérie dans la cuisine du consommateur [7]. Dans la filière *Gallus gallus*, *Campylobacter* est présent à tous les stades de la chaîne avec une très forte prévalence de contamination : 70% à 100% des lots de poulets à leur arrivée à l'abattoir [9] ; 72% à 77% de portage caecal individuel en élevage et à l'arrivée à l'abattoir ; 88% des carcasses et 76% des produits au niveau de la distribution. Ces résultats pour la France sont globalement comparables à certains pays à forte prévalence de l'Union européenne ; des variations fortes s'observent entre les pays, allant de 4,9 à 100% [10].

Au niveau de l'élevage, 40,5% des lots sont contaminés par *C. jejuni*, 29,7% par *C. coli* et 1,7% par les deux espèces. Selon l'étude de Hue *et al.* effectuée en 2008 en France, une forte association statistique entre les variables « détassage », « âge des animaux », « saison, été-printemps » et la contamination par *Campylobacter* a été mise en évidence [9]. Ainsi, plus les animaux abattus sont âgés, plus la prévalence de la bactérie dans les caeca est élevée (98,68% à plus de 68 jours). En revanche, ni l'âge ni la saison ne semblent avoir d'effet sur le niveau de contamination en *Campylobacter* dans les caeca avec une valeur moyenne observée de 8 log₁₀ UFC/g. Par ailleurs, un suivi réalisé sur des lots échantillonnés en élevage avant le transport, à l'arrivée à l'abattoir (caeca) montre que l'excrétion de *Campylobacter* pendant la phase transport/attente/pré-abattage n'augmente pas de manière significative [11]. L'enquête effectuée en 2008 a montré qu'à l'abattoir, le niveau moyen de contamination des carcasses est de l'ordre de 2,4 log₁₀ UFC/g. Leur fréquence de contamination, bien que corrélée à celle des caeca (p<0,001), est plus élevée du fait de contaminations

Campylobacter in animal production sectors

Campylobacter is commonly found in the digestive tract of domestic birds and mammals. The main way of transmission to man of this zoonotic microorganism is the consumption of contaminated or insufficiently cooked food, and the cross contaminations during the handling of meats for cooking. The objective of this article is to update the knowledge on the epidemiology of *Campylobacter* in three major animal production sectors: poultry, pork and bovine, and to describe the state of the art about the European Union and national regulations regarding *Campylobacter*.

croisées lors du processus d'abattage, en raison d'un niveau de maîtrise insuffisant des opérations d'éviscération [9;12].

Le géotypage des isolats au cours de ces différentes étapes de la chaîne de production a permis de suivre la contamination des lots entre l'élevage, le transport et l'abattoir. Un lot (animaux et carcasses) peut être contaminé par un seul ou plusieurs isolats de *Campylobacter* mais aussi par les deux espèces, *jejuni* et *coli*, soit initialement dès l'élevage et/ou au cours du transport et à l'abattoir par des contaminations croisées [11].

Campylobacter dans la filière porcine

Le porc charcutier, producteur de l'essentiel des viandes porcines, est aujourd'hui identifié comme un réservoir naturel de *Campylobacter*. Bien que la localisation préférentielle de la bactérie soit le contenu intestinal, le portage gastrique des porcs entrant à l'abattoir existe (prévalence moyenne de 51,5% [13]). À ce moment, leur portage intestinal est en revanche aussi élevé, tant en fréquence individuelle qu'en niveau de contamination, que celui des poulets de chair : en moyenne 65,5% d'individus excréteurs dans leurs matières fécales et 71% de porteurs au niveau du tube digestif avec un niveau moyen de contamination de l'ordre de 5,7 log UFC/g de fèces de 1,3 à 6,3 UFC/g) [14].

La présence de la bactérie est démontrée dans de très nombreux élevages : de 69,2% [15] à 100% [14] des exploitations étudiées, mais il apparaît que des pratiques de biosécurité ou d'élevage peuvent réduire significativement la contamination des animaux [14;16]. En effet, la contamination apparaît dans la phase d'élevage des porcelets, du fait d'une contamination précoce auprès de la truie contaminée (25,1% à 79% de truies positives [15;17]) et par des contaminations croisées entre les familles (la truie et sa portée) d'une même bande dues aux matériels souillés par les matières fécales [17;18]. Cette transmission oro-fécale inter-animale a été confirmée expérimentalement [19].

La prévalence moyenne de contamination des carcasses est variable en fonction de la maîtrise du processus d'abattage [5] mais le niveau moyen de contamination observé est plus faible que celui des animaux, de 0,4 à 2,5 log UFC/cm² [20]. Cette diminution de la prévalence des bactéries détectées se poursuit après l'étape de refroidissement, 23% avant contre 9,7% après 24h de refroidissement, mais le niveau de contamination reste très variable de 0,4 à 330 UFC/cm² [21]. D'autres études conduites sur morceaux de découpe de porc, à différents stades de la chaîne de production, confirment des prévalences faibles, de l'ordre de 0,5 à 10%. Globalement sur l'ensemble des viandes et produits porcins, le statut (fréquence et niveau) de contamination apparaît donc à ce jour nettement plus faible que celui des viandes de poulet.

S'il est observé une certaine spécificité entre l'espèce de *Campylobacter* et l'espèce porcine hôte, en revanche, au cours de la progression de la denrée

Tableau 1 Critères réglementaires en attente d'adoption pour *Campylobacter* / Table 1 Regulatory criteria pending adoption for *Campylobacter*

Catégorie de denrée alimentaire	n	c	m	M	Méthode	Stade d'application du critère	Action en cas de résultats insatisfaisants
2.1.9. Carcasse de poulet de chair	5	3	1 000	10 000	ISO/TS 10272-2	Carcasses après refroidissement	Amélioration de l'hygiène à l'abattoir et contrôles du processus d'abattage, de l'origine des animaux et des mesures de biosécurité à la ferme d'où proviennent les carcasses.

Note de lecture : n=nombre d'unités constituant l'échantillon ; c=nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre m et M ; m=limite des concentrations de microorganismes correspondant à une hygiène satisfaisante ; M=limite des concentrations de microorganismes correspondant à une hygiène insatisfaisante

dans la filière de transformation, une diversité des *Campylobacter* isolés est constatée. Ainsi chez le porc, le portage intestinal est quasi exclusivement lié à *C. coli* [14-16]. Sur la carcasse, seule cette espèce est isolée [1;5] mais, sur les produits alimentaires frais, *C. jejuni* peut-être isolé, voire même *C. lari*. Néanmoins, une très grande diversité génétique (évaluée par des études des profils PFGE) des souches de *C. coli* est rencontrée [8;15;18].

Campylobacter dans la filière bovine

Les bovins sont également un réservoir de *Campylobacter*, mais leur rôle dans les campylobactérioses humaines est peu décrit. La part attribuable aux bovins des campylobactérioses humaines dont on connaît la cause est faible. Mais pour de nombreuses campylobactérioses humaines déclarées n'ayant pas de cause connue, il se pourrait qu'il y ait une part bovine non identifiée. Enfin, beaucoup de campylobactérioses humaines ne sont tout simplement pas déclarées, et donc la part bovine de ces derniers cas ne peut pas être estimée. Des cas de contamination humaine ont été, par exemple, reliés à la consommation de lait cru de vache [22].

En France, une étude a estimé la prévalence de *Campylobacter* dans 2 255 fèces de bovins collectés à l'abattoir pendant cinq ans (2002-2006) [23]. Les prélèvements étaient issus d'animaux provenant de 1 693 élevages couvrant trois filières de production en proportions égales : veaux, jeunes bovins de boucherie, vaches allaitantes de réforme. *Campylobacter* a été détecté dans 16,5% (372/2 255) des échantillons, et le taux d'isolement est apparu très dépendant de la filière de production, *Campylobacter* ayant été détecté chez 39,1% des veaux contre 6,0% des jeunes bovins de boucherie et 4,6% des vaches allaitantes de réforme. Également, *C. jejuni* a été détecté environ quatre fois plus fréquemment que *C. coli* (12,8% vs. 3,7%).

En Europe, les données de prévalence de *Campylobacter* en filière bovine sont très variables (de 0% à 89,4%) [24-27]. Il s'agit de données de portage fécal et non de contamination des viandes, les données concernant ces dernières étant encore plus fragmentaires ou de faible qualité. Leur comparaison est hasardeuse en raison des différentes méthodologies utilisées. Ainsi, l'introduction (ou non) d'une étape d'enrichissement préalable à l'isolement bactérien constitue un facteur très discriminant, de même que la saisonnalité des prélèvements, ou la plus ou moins grande qualité de l'échantillonnage. Il reste que la plus forte prévalence de *Campylobacter* (en particulier *C. jejuni*) chez les veaux peut être considérée comme un point commun à toutes ces études.

Enfin, les bovins sont décrits comme le réservoir d'une autre espèce de *Campylobacter*, *C. fetus*, dont la prévalence du portage est mal connue. Pour autant, *C. fetus* est responsable d'infections graves chez l'Homme, dont le lien éventuel avec le réservoir bovin est très rarement étudié.

La réglementation

La réglementation européenne (2073/2005/EC) ne prévoit pas pour l'instant de critères microbiologiques pour les denrées et notamment les viandes concernant *Campylobacter*. En revanche, la directive 2003/99/EC prévoit, en tant que danger zoonotique, sa surveillance dans les filières animales. Ainsi, l'étude de prévalence communautaire de 2008 pilotée par l'Autorité européenne de sécurité sanitaire des aliments (EFSA) [28], concernant le poulet de chair, a montré qu'à contamination initiale égale des animaux, il existe une grande hétérogénéité des niveaux de contamination des carcasses en sortie d'abattoir. Ceci montre l'importance des actions hygiéniques qui doivent y être conduites, en particulier le respect des bonnes pratiques d'hygiène d'abattage. Aussi, sur la base d'une analyse de risque nationale, des États-membres ont déjà mis en place des plans nationaux de contrôle de *Campylobacter* en élevage et à l'abattoir. Sans atteindre l'éradication, jugée illusoire, certains de ces États ont ainsi observé une diminution encourageante des niveaux de contamination. En France, une amélioration notable pourrait être atteinte avec la mise en œuvre à l'abattoir d'actions correctrices simples, couplées pour les lots les plus contaminés à des mesures de biosécurité en élevage et de maîtrise de la flore digestive des animaux (compléments alimentaires, substances acidifiantes du contenu digestif, implantation d'une flore compétitive, etc.).

Tableau 2 Distribution des carcasses de poulets de chair en fonction du nombre de *Campylobacter* par gramme présent sur les carcasses, en France en 2008 (422 carcasses, EFSA, 2008) / Table 2 Distribution of broiler carcasses according to the number of *Campylobacter* per gram present on the carcasses, in France in 2008 (422 carcasses, EFSA, 2008)

	Dénombrement de <i>Campylobacter</i> en UFC/g						Total
	<10	10-39	40-99	100-999	1 000-10 000	>10 000	
Nombre de carcasses	102	54	47	154	54	11	422
Proportion (%)	24,2	12,8	11,1	36,5	12,8	2,6	100

Au niveau communautaire, les travaux se poursuivent et envisagent une possible évolution des critères microbiologiques d'hygiène des procédés à l'abattoir qui cibleraient, dans un premier temps, les carcasses de volailles (tableau 1). En effet, il apparaît que *Salmonella* n'est plus pertinent comme indicateur d'hygiène et de maîtrise des contaminations d'origine digestive en comparaison de *Campylobacter*, bien plus fréquemment présent dans l'intestin des volailles. Si ce critère entrait en application, et d'après les résultats du plan en 2008 (tableau 2), il y aurait donc en France 2,6% de lots considérés comme impropres à la consommation et 12,8% nécessiteraient une correction des mesures d'hygiène à l'abattoir. Cet objectif est atteignable avec une prise en compte systématique de ce danger dans les plans HACCP des abattoirs.

Discussion

Malgré un portage animal très répandu et important dans les trois filières, avicole, porcine et bovine, les viandes de volailles sont à ce jour les viandes les plus fréquemment et fortement contaminées par la bactérie. Dans les élevages de volailles, l'introduction de *Campylobacter* via une rupture des barrières sanitaires demeure la principale cause identifiée d'introduction de la bactérie dans l'élevage [29]. L'introduction de *Campylobacter* dans l'environnement des animaux après la deuxième semaine d'élevage conduit à la contamination de l'ensemble du troupeau en quelques jours. La biologie particulière de *Campylobacter* dans le tube digestif des volailles (la bactérie évolue essentiellement dans le mucus intestinal) n'entraîne pas de réaction immunitaire efficace chez les oiseaux qui restent contaminés quelle que soit la durée d'élevage, à des taux très élevés (de l'ordre de 10⁸ UFC/g dans le contenu caecal) [9]. Les risques de souillures digestives de la carcasse lors de l'abattage, en particulier lors de l'étape d'éviscération, sont dans ces conditions très élevés et proportionnels au niveau de contamination du tube digestif des animaux [6].

Quelle que soit la matrice carnée contaminée par *Campylobacter* à l'abattoir, les bactéries ne se multiplient pas mais sont capables d'y survivre tout au long de la chaîne de production jusqu'à la cuisine du consommateur. Ainsi, différents travaux confirment sa longue à très longue survie quelle que soit l'espèce animale d'origine (aviaire, porcine ou bovine) et notamment dans la gamme des températures de conservation de ces denrées, correspondante à « la chaîne du froid » (de -20°C à < 10°C) [30]. Par ailleurs, la présence de la flore bactérienne « naturelle » des matrices carnées n'affecte pas la durée de survie de *Campylobacter jejuni* et *coli* comme le montrent différents travaux conduits sur matrices non stériles [30;31].

Il apparaît donc que l'introduction d'une matière première contaminée en cuisine constitue la porte d'entrée potentielle de ces dangers dans la cuisine du consommateur et de ce fait de son exposition. Les manipulations de ces produits contaminés dans des conditions d'hygiène insuffisantes contribuent ensuite à la dissémination des *Campylobacter* :

- vers les aliments après la cuisson (celle-ci élimine les *Campylobacter*) ;
- vers les aliments destinés à être mangés crus (salade, etc.) ;
- vers les surfaces de travail ou les ustensiles de cuisine [7] ;
- vers les mains des utilisateurs [32].

Parmi les causes d'exposition du consommateur, le facteur principal de risque reste donc une hygiène insuffisante en cuisine à l'origine de « contaminations croisées ». Il est aussi recommandé d'assurer une cuisson suffisante (> à 65°C à cœur) de la viande.

En conclusion, du fait des origines et des possibilités de dissémination tout au long de la chaîne alimentaire, les mesures de maîtrise vis-à-vis de *Campylobacter* s'articulent essentiellement autour de la mise en place de bonnes pratiques hygiéniques tant au niveau des élevages que des abattoirs et des ateliers de transformation des viandes, sans oublier l'implication des consommateurs en fin de chaîne. Enfin, pour réduire significativement le risque d'exposition du consommateur, des actions de réduction du niveau de contamination des viandes de volailles, à toutes les étapes de la chaîne, doivent être promues [2;33].

Références

- [1] Fosse J, Seegers H, Magras C. Hiérarchiser les risques de zoonoses alimentaires : une approche quantitative. Application aux dangers bactériens transmis par les viandes porcine et bovine. *Rev Sci Techn Off Int Epiz.* 2008;27(3):643-55.
- [2] European Food Safety Authority. Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *Efsa Journal.* 2011;9(4):2105 [141 pp]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2105.htm>
- [3] Friedman CR, Hoekstra RM, Samuel M, Marcus R, Bender J, Shiferaw B, *et al*; Emerging Infections Program FoodNet Working Group. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. *Clin Infect Dis.* 2004;38(Suppl 3):S285-96.
- [4] Gallay A, Bousquet V, Siret V, Prouzet-Mauléon V, De Valk H, Vaillant V, *et al*. Risk factors for acquiring sporadic *Campylobacter* infection in France: results from a national case-control study. *J Infect Dis.* 2008;197(10):1477-84.
- [5] Fosse J, Oudot N, Laroche M, Rossero A, Seegers H, Magras C. Contamination de lots de porcs par cinq agents de zoonoses alimentaires bactériennes : variabilité en élevage et à l'abattoir. *Epidémiol Santé Anim.* 2008 ;(53):57-71.
- [6] Malher X, Simon M, Charnay V, Danguy des Déserts R, Lehébel A, Belloc C. Factors associated with carcass contamination by *Campylobacter* at slaughterhouse in cecal-carrier broilers. *Int J Food Microb.* 2011;150(1):8-13.
- [7] Fravallo P, Laisney MJ, Gillard MO, Salvat G, Chemaly M. *Campylobacter* transfer from naturally contaminated chicken thighs to cutting board is inversely related to the initial load. *J Food Prot.* 2009;72(9):1836-40.
- [8] Denis M, Chidaine B, Laisney MJ, Kempf I, Rivoal K, Mégraud F, *et al*. Comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry, pig and *Campylobacter* human infections in Brittany, France. *Pathol Biol.* 2009;57(1):23-9.
- [9] Hue O, Le Bouquin S, Laisney MJ, Allain V, Lalande F, Petetin I, *et al*. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. *Food Microbiol.* 2010;27(8):992-9.
- [10] European Food Safety Authority. The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *Efsa Journal.* 2010;8(1):1496 [410 pp]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1496.htm>
- [11] Chemaly M, Allain V, Laisney MJ, Petetin I, Hue O, Homo N, *et al*. Follow-up of *Campylobacter* spp. contamination of broilers from the farms to the slaughterhouses. XIIIth European Poultry Conference, Tours (France), 23-27 August 2010. Disponible à : <http://www.epc2010.org/cd/Abstracts/391.pdf>
- [12] Hue O, Allain V, Laisney MJ, Le Bouquin S, Lalande F, Petetin I, *et al*. *Campylobacter* contamination of caeca and carcasses at the slaughterhouse and correlation with *Salmonella* contamination. *Food Microbiol.* 2011;28(5):862-8.
- [13] Payot S, Dridi S, Laroche M, Federighi M, Magras C. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from fattening pigs in France. *Vet Microbiol.* 2004;101(2):91-9.
- [14] Fosse J, Seegers H, Magras C. Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: a review. *Zoonosis Public Health.* 2009;56(8):429-54.
- [15] Denis M, Henriche E, Chidaine B, Tircot A, Bougeard S, Fravallo P. *Campylobacter* from sows in farrow-to-finish pig farms: risk indicators and genetic diversity. *Vet Microbiol.* 2011;154(1-2):163-70.
- [16] Fosse J, Laroche M, Oudot N, Seegers H, Magras C. On-farm multi-contamination of pigs by food-borne bacterial zoonotic hazards: an exploratory study. *Vet Microbiol.* 2011;147(1-2):209-13.
- [17] Magras C, Garrec N, Laroche M, Rossero A, Mircovich C, Desmonts MH, *et al*. Sources of *Campylobacter* sp. infection of piglets in farrowing units of farrow-to-finish farms: first results. In: Madec F, Clement G editors. *Animal production in Europe: the way forward in a changing world.* In-Between Congress of the ISAH, 11-13 October 2004, Saint-Malo, France:409-10. Disponible à : <http://www.isah-soc.org/isah04.php>
- [18] Laroche M, Desmonts MH, Minvielle B, Rossero A, Federighi M, Mircovich C, *et al*. *Campylobacter coli*: pulsed field gel electrophoresis genotypic diversity in pork. 14th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms (CHRO), 2-5 September 2007, Rotterdam, The Netherlands. *Zoonosis Public Health.* 2007;54(S1):27.
- [19] Leblanc Maridor M, Denis M, Lalande F, Beaurepaire B, Cariolet R, Fravallo P, *et al*. Experimental infection of specific-pathogen-free pigs: excretion in faeces and transmission to non-inoculated pig. *Vet Microbiol.* 2008 ;131(3-4):309-17.
- [20] Lebigre X. Prévalence et niveau de contamination en *Campylobacter* thermotolérants des porcs et de leur carcasse à l'abattoir [Thèse pour le diplôme d'État de Docteur vétérinaire]. Nantes: École nationale vétérinaire de Nantes; 2004. 101 p.
- [21] Minvielle B, Magras C, Laroche M, Desmonts MH, Mircovich C. *Campylobacter* in the pork food chain: a quantitative hazard analysis. 7th International Symposium on the epidemiology and control of foodborne pathogens in pork (Safepork), 9-11 May 2007, Verona (Italy).
- [22] Peterson MC. *Campylobacter jejuni* enteritis associated with consumption of raw milk. *J Environ Health.* 2003;65(9):20-1,24,26.
- [23] Châtre P, Haenni M, Meunier D, Botrel MA, Calavas D, Madec JY. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from cattle between 2002 and 2006 in France. *J Food Prot.* 2010;73(5):825-31.
- [24] Bywater R, Deluyker H, Deroover E, de Jong A, Marion H, McConville M, *et al*. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54(4):744-54.
- [25] Englen MD, Hill AE, Dargatz DA, Ladely SR, Fedorka-Cray PJ. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* in US dairy cattle. *J Appl Microbiol.* 2007;102(6):1570-7.
- [26] Stanley KN, Wallace JS, Currie JE, Diggle PJ, Jones K. The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. *J Appl Microbiol.* 1998;85(3):472-80.
- [27] Wesley IV, Wells SJ, Harmon KM, Green A, Schroeder-Tucker L, Glover M, *et al*. Fecal shedding of *Campylobacter* and *Arcobacter* spp. in dairy cattle. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(5):1994-2000.
- [28] European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008, Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. *Efsa Journal.* 2010; 8:(3):1503 [100 pp]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1503.htm>
- [29] Rivoal K, Ragimbeau C, Salvat G, Colin P, Ermel G. Genomic diversity of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolates recovered from free-range broiler farms and comparison with isolates of various origins. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(10):6216-27.
- [30] Laroche M, Kaiser J, Magras C. Survival of *Campylobacter* spp. on inoculated pork skin or meat. 7th International Symposium on the epidemiology and control of foodborne pathogens in pork (Safepork), 9-11 May 2007, Verona (Italy).
- [31] Laroche M, Kaiser J, Federighi M, Magras C. Survie de *Campylobacter jejuni* et de *Campylobacter coli* sur des échantillons de couenne et de viande de porc stockés à 4°C. *Viandes et Produits Carnés.* 10^e Journées Sciences du muscle et technologies des viandes (JSMTV), 25-26 octobre 2004, Rennes. 2004;(NS):185-6.
- [32] Luber P, Brynestad S, Topsisch D, Scherer K, Bartelt E. Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(1):66-70.
- [33] Nauta M, Hill A, Rosenquist H, Brynestad S, Fetsch A, Van Der Logt P, *et al*. A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *Int J Food Microbiol.* 2009;129(2):107-23.

E. coli producteurs de shigatoxines (STEC) : définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC)

Hubert Brugère^{1,2} (h.brugere@envt.fr), Frédéric Auvray³, Patricia Mariani-Kurkdjian⁴, Lisa A. King⁵, Estelle Loukiadis⁶

1/ Inserm, UMR1043, Toulouse, France

2/ Université de Toulouse, INP-École nationale vétérinaire de Toulouse, France

3/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, France

4/ Laboratoire associé au Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella*, Paris, France

5/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

6/ Université de Lyon, VetAgro Sup, Laboratoire national de référence pour les STEC, Marcy l'Étoile, France

Résumé / Abstract

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des agents pathogènes responsables d'infections humaines aux manifestations cliniques variées. Celles-ci vont de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique et au syndrome hémolytique et urémique (SHU). Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez les jeunes enfants. Les principaux modes de transmission des STEC à l'Homme sont la consommation d'aliments et d'eaux contaminés, la transmission interhumaine et le contact avec des animaux porteurs (bovins en particulier). Si tous les STEC ne sont pas pathogènes pour l'Homme, certaines souches dénommées *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables d'infections humaines graves. Cinq sérotypes dominants d'EHEC ont été recensés jusqu'à présent en Europe (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 et O145:H28), mais il existe un grand nombre d'autres sérotypes de STEC plus rarement impliqués dans des cas humains ou des épidémies. Ce fut le cas très récemment du sérotype O104:H4, responsable de deux épidémies en Allemagne et en France.

Cet article a pour objet de définir les propriétés des souches EHEC, avec une attention particulière aux principaux sérotypes responsables d'infections humaines. Cet article résumera l'état actuel des connaissances sur les divers éléments pouvant concourir à la virulence des STEC et à leur dangerosité pour l'Homme.

Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC): definitions, virulence and properties of enterohaemorrhagic (EHEC) strains

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are enteropathogens causing human infections with a broad spectrum of clinical outcomes. These range from watery diarrhoea to haemorrhagic colitis and the haemolytic uraemic syndrome (HUS). HUS is the leading cause of acute renal failure in young children. Transmission of STEC to humans occurs through consumption of contaminated food or water and through direct contact from person to person or from infected animals (cattle in particular). Although not all STEC are pathogenic for humans, some strains named enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) however are responsible for severe illnesses. Five major EHEC serotypes have been identified until now in Europe (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 and O145:H28), but a large number of other STEC serotypes that are less frequently involved in human cases or outbreaks are also known. This was the case recently of serotype O104:H4 that caused two HUS outbreaks in Germany and France.

The aim of this article was to define the properties of EHEC strains, with a particular focus on the major serotypes causing human diseases. This paper will summarize the current state of knowledge about the diverse STEC attributes that may contribute to their virulence and pathogenic potential for humans.

Mots clés / Keywords

STEC, EHEC, SHU, facteurs de virulence, shigatoxines, *stx*, *eae* / STEC, EHEC, HUS, virulence factors, Shiga toxins, *stx*, *eae*

Depuis leur première identification en 1982 [1], les épidémies et les cas sporadiques de colite hémorragique, de syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant ou de micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte, provoqués par les *Escherichia coli* (*E. coli*) entérohémorragiques ou EHEC (*Enterohaemorrhagic E. coli*), sont devenus une préoccupation de santé publique importante dans plusieurs régions du monde. Les infections causées par les EHEC constituent un problème majeur en raison de l'extrême sévérité des manifestations cliniques qu'elles peuvent générer. Le SHU est en effet la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant de moins de 3 ans. La létalité varie de 3 à 5% et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme [2;3].

Un cas isolé (ou sporadique) de SHU ou d'infection à EHEC est défini comme un cas sans lien épidémiologique (regroupement dans le temps, dans l'espace, par activité ou exposition à risque commune) avec d'autres cas de SHU ou d'infection à EHEC.

Un épisode de cas groupés de SHU ou d'infections à EHEC liés à une source de contamination commune est suspecté devant :

- au moins deux cas de SHU dans un délai d'un mois dans une même famille, une même collectivité (crèche, école, maison de santé) ou toute autre situation commune aux patients (par exemple, participation à un même évènement) ;
- un cas de SHU associé à des cas de diarrhée dans son entourage dans les 15 jours précédant le début du SHU ;
- un nombre de cas de SHU ou d'infections à EHEC anormalement élevé regroupés dans le temps et sur une zone géographique donnée.

On parle d'épidémie quand un épisode de cas groupés touche plusieurs foyers familiaux ou des collectivités (dans lesquels il peut n'y avoir qu'un seul cas) à une échelle géographique plus large. Leur étude montre que seuls certains sérotypes d'EHEC semblent plus souvent associés aux épidémies de SHU et d'infections à EHEC, on parle alors de souches EHEC « majeures ».

La compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC est indispensable à l'évaluation du risque pour la santé publique lié à la présence de ces bactéries pathogènes, en particulier dans les denrées alimentaires. Les différents facteurs de virulence connus à ce jour ont été décrits dans l'avis Afssa du 27 mai 2010 et il convient de souligner que leur support génétique joue un rôle majeur dans l'évolution des EHEC et l'émergence de nouveaux clones pathogènes pour l'Homme [4].

Dans cet article, nous nous attacherons à mieux définir différents termes utilisés pour identifier les *E. coli* entérohémorragiques tout en précisant l'état des connaissances sur les divers éléments pouvant concourir à leur virulence et leur dangerosité pour l'Homme.

Pathogénie des EHEC

Les EHEC, un des pathovars intestinaux de l'espèce *E. coli*

Bacille à coloration de Gram négative, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, mesurant de 2 à 4 µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 µm, *E. coli* est une bactérie normalement présente parmi la microflore digestive de l'Homme et des animaux à sang chaud. Mais certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes car elles ont acquis des facteurs de virulence. Sur la base des signes cliniques observés chez les malades, les souches d'*E. coli* pathogènes sont regroupées en pathovars (ou pathotypes) parmi lesquels les EHEC.

Les souches d'*E. coli* pathogènes intestinaux sont capables de se multiplier, de persister dans le tractus digestif en contournant les défenses immunitaires de l'hôte, et d'induire des dommages cellulaires. Ces souches ont développé différents modes d'interaction avec leur hôte se traduisant par des signes cliniques variés, pouvant être accompagnés de complications extra-digestives.

Le pathovar EHEC est responsable de troubles variés allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un SHU chez l'enfant ou une MAT chez l'adulte. Il est distinct du pathovar EPEC

(pour *Enteropathogenic E. coli*) qui est responsable de diarrhée sévère, principalement chez les enfants de moins de 12 mois dans les pays en voie de développement [5;6].

Les EHEC produisent des shigatoxines

Les EHEC se caractérisent par la production et la libération de toxines, les shigatoxines (encore appelées vérotoxines). Chez le malade, ces toxines traversent l'épithélium intestinal avant de rejoindre la circulation sanguine et atteindre des récepteurs spécifiques, les récepteurs glycolipidiques Gb3 (globotriosyl céramide 3) qui se trouvent à la surface des cellules endothéliales. Elles entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques et induisent des lésions de l'endothélium vasculaire (figure 1), principalement intestinal, rénal et cérébral, ce qui explique les manifestations cliniques avec complications rénales ou neurologiques [7].

Deux classes de shigatoxines, Stx1 et/ou Stx2, peuvent être produites, elles sont codées par les gènes *stx1* et *stx2*.

Toute souche d'*E. coli* possédant un gène *stx* est appelée *E. coli* producteur de shigatoxine ou STEC (pour *Shiga toxin-producing E. coli*) ou encore VTEC (pour *Verotoxin-producing E. coli*). Les EHEC constituent un sous-groupe des STEC, ce sont les souches de STEC pathogènes pour l'Homme [8].

Les EHEC colonisent le tube digestif du malade

EHEC « typiques »

La plupart des souches EHEC ont la possibilité de provoquer des lésions dites « d'attachement et d'effacement » (A/E) des cellules de la muqueuse de l'iléon distal et du côlon, notamment par l'intermédiaire d'une protéine de membrane, l'intimine. Ces souches sont appelées EHEC « typiques ».

Les lésions A/E sont caractérisées par une adhésion intime des bactéries aux entérocytes [9]. Elles résultent de l'action combinée de protéines codées par un ensemble de gènes, dont le gène *eae* codant pour l'intimine, regroupés dans un îlot de pathogénicité, le LEE (pour *Locus of enterocyte effacement*) [10].

L'ensemble des souches d'*E. coli* possédant le LEE peuvent être regroupées sous le terme d'AEEC (pour *Attaching and effacing E. coli*, voir figure 2). Les EHEC typiques font partie des AEEC et les EPEC constituent un autre sous-groupe des AEEC, responsables de diarrhée sévère chez l'Homme, comme décrit ci-dessus.

EHEC « atypiques »

Le terme d'EHEC « atypiques » est utilisé pour désigner des souches EHEC qui ne possèdent pas le gène *eae* et ne produisent donc pas de lésion d'attachement et d'effacement (figure 2). La colonisation du tube digestif étant une étape majeure de la physiopathologie des EHEC, les souches atypiques possèdent donc d'autres mécanismes d'adhésion à la muqueuse colique. De nombreuses adhésines potentielles ont été décrites (*cf. infra*) mais leur implication véritable dans la pathogénie de ces souches reste néanmoins à préciser.

Figure 1 Étapes de l'infection par les EHEC chez l'Homme / Figure 1 Stages of EHEC infection in humans

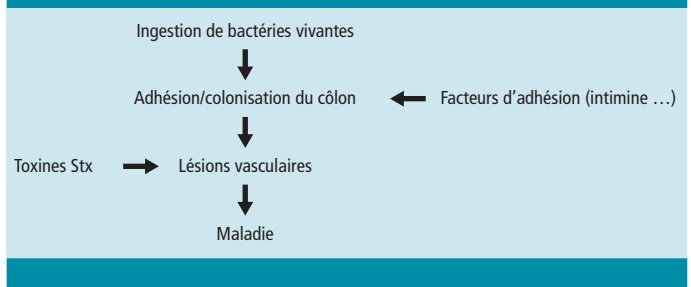
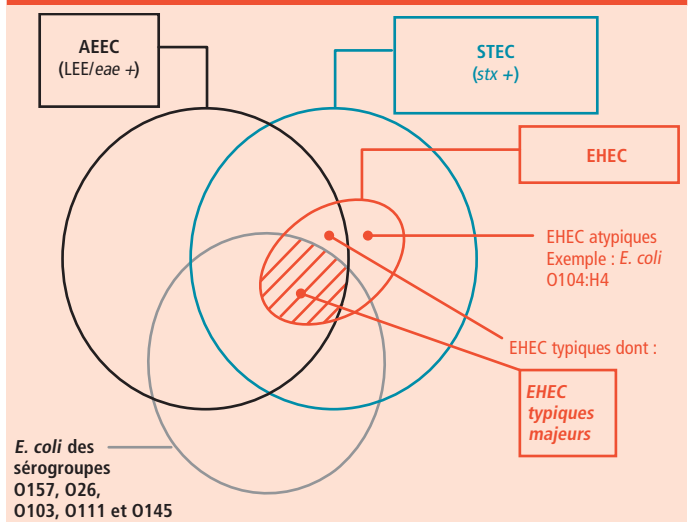


Figure 2 AEEC, STEC et EHEC (adapté de [4]) / Figure 2 AEEC, STEC and EHEC (based on [4])



Légende : toutes les souches possédant le LEE, incluant le gène *eae*, quels que soient les signes cliniques associés, appartiennent au groupe des AEEC. Toutes les souches possédant les gènes codant pour les toxines Stx, quels que soient les signes cliniques associés, sont des STEC. Les EHEC sont associées chez l'Homme à une colite hémorragique et/ou à un syndrome hémolytique et urémique et produisent des toxines Stx. Ainsi, toutes les EHEC sont des STEC mais toutes les souches STEC, même celles qui possèdent le LEE, ne sont pas systématiquement associées à la maladie chez l'Homme. La grande majorité des EHEC possèdent le LEE et les souches EHEC LEE+ sont dénommées EHEC typiques. Les souches EHEC typiques appartenant aux sérotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, et O145:H28 (et leurs dérivés non mobiles) sont les souches les plus souvent associées à des signes cliniques graves (SHU) et aux épidémies et sont dites souches « EHEC typiques majeures ».

Les EHEC sont transmis par voie orale

Les principaux modes de transmission des infections à EHEC à l'Homme sont la consommation d'aliments contaminés, la transmission de personne à personne, l'ingestion d'eau contaminée et le contact avec des animaux porteurs et excréteurs de ces bactéries (notamment les bovins) [2;8].

Figure 3 Flux de STEC et voies de contamination de l'Homme par des EHEC / (adapté de [2]) / Figure 3 STEC dissemination and contamination pathways to humans by EHEC (based on [2])

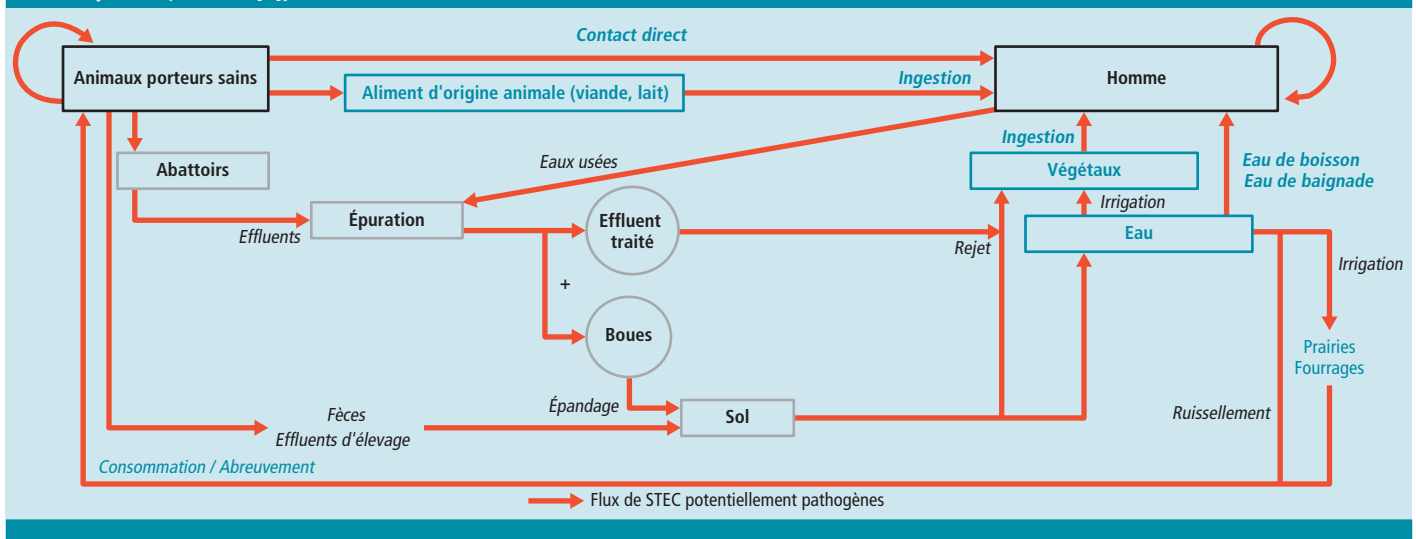


Tableau 1 Épidémies à EHEC survenues depuis 2006 et publiées dans la littérature internationale (adapté de [4]) / **Table 1** EHEC outbreaks occurred since 2006 and published in the international literature (based on [4])

Sérogroupe/sérotype	Pays (année)	Mode de transmission*	Nombre de cas	Référence
O104:H4 stx2	France (2011)	Alimentaire (graines germées de fenugrec)	15	[14]
O104:H4 stx2	Allemagne (2011)	Alimentaire (graines germées de fenugrec)	3 816	[15]
O145:H28 stx1 eae	Norvège (2009)	Personne à personne (crèche)	16	[16]
O157	Angleterre (2009)	Contact avec des animaux de ferme (ferme pédagogique)	36	Cité dans [4]
O157: H- stx1 stx2 eae	Pays-Bas (2008-2009)	Alimentaire (viande de bœuf crue)	20	Cité dans [4]
O157	États-Unis (2008)	Alimentaire (viande de bœuf)	99	[17]
O111	États-Unis (2008)	Alimentaire (aliment non précisé)	341	[18]
O157:H-	États-Unis (2008)	Alimentaire (lait cru)	14	[19]
O157:H-	États-Unis (2007)	Contact avec des animaux de ferme (ferme pédagogique)	7	Cité dans [4]
O157:H- stx1 stx2 eae	Pays-Bas ; Islande (2007)	Alimentaire (salade verte)	50	Cité dans [4]
O26:H11 stx1 stx2 eae	Danemark (2007)	Alimentaire (saucisse de viande bovine biologique)	20	Cité dans [4]
O26 stx2 eae / O145 stx1 eae	Belgique (2007)	Alimentaire (glace au lait pasteurisé)	12	Cité dans [4]
O157 stx1 stx2	Angleterre (2007)	Alimentaire (sandwich au poulet et herbes)	12	Cité dans [4]
O157:H7 stx2	États-Unis (2006)	Alimentaire (salade verte)	77	[20]
O157:H7 stx1 stx2	Japon (2006)	Contact avec des animaux de ferme (ferme laitière)	4	Cité dans [4]
O157:H7 stx2	États-Unis (2006)	Alimentaire (épinards)	205	Cité dans [4]
O103 stx1	Japon (2006)	Personne à personne (crèche)	8	Cité dans [4]
O103:H25 stx2	Norvège (2006)	Alimentaire (saucisse de viande ovine)	17	Cité dans [4]
O26:H11 stx1	Japon (2006)	Personne à personne (crèche)	6	Cité dans [4]

* Mode de transmission déterminé selon des preuves microbiologiques et épidémiologiques ou uniquement épidémiologiques.

Les ruminants domestiques, et plus particulièrement les bovins, sont les principaux réservoirs de STEC dans leur tube digestif. Ce sont des porteurs sains, ils participent à la contamination de l'environnement par les bactéries présentes dans leurs fèces. Dans une moindre mesure, d'autres animaux d'élevage ou des animaux sauvages, dont certains gibiers, peuvent également être porteurs sains de STEC. Les études réalisées chez les bovins montrent qu'en fonction des élevages, de 20 à 80% des animaux peuvent être porteurs de STEC (recherche des gènes *stx* dans les matières fécales), mais le sérotype majeur *E. coli* O157:H7 n'est isolé que chez peu d'animaux (0 à 3%) [1;11].

La persistance de souches de STEC dans les cheptels est due au portage digestif par les animaux et à la contamination par contact d'animal à animal, mais aussi à la contamination des sols (prairies, champs) et des eaux superficielles à partir des déjections animales ou d'engrais de ferme contaminés (fumiers, lisiers) épandus pour fertiliser les terres agricoles (figure 3). Les aliments (herbe, fourrages) et l'eau d'abreuvement des animaux peuvent ainsi être contaminés. Les STEC peuvent survivre pendant plusieurs semaines dans l'environnement de la ferme (tels que les sédiments d'abreuvoir, les fèces ou le fumier sur le sol).

Différents végétaux consommés par l'Homme peuvent être contaminés par des STEC, soit par les fumures obtenues à partir d'animaux contaminés, soit quand de l'eau contaminée est utilisée pour l'irrigation.

Du fait des possibilités de leur transmission, directe ou indirecte, des réservoirs animaux à l'Homme, ces bactéries doivent être considérées comme des agents zoonotiques. La transmission directe est possible par contact avec des animaux porteurs et excréteurs ou avec leurs déjections, mais aussi de personne à personne (transmission interhumaine féco-orale). La principale voie de transmission est indirecte par consommation d'aliments d'origine animale ou végétale et d'eau de boisson contaminés par un environnement souillé, le plus souvent par les matières fécales d'animaux infectés, mais il ne faut pas écarter le risque associé aux eaux usées issues des activités humaines quand ces dernières ne sont pas ou sont insuffisamment épurées avant leur rejet dans l'environnement. Aux États-Unis, les études épidémiologiques montrent que la consommation d'aliments contaminés, la transmission de personne à personne, l'ingestion d'eau contaminée et le contact

avec les animaux (notamment les bovins) représentent respectivement 66%, 20%, 12% et 2% des modes de contamination ayant pu être identifiés [12].

Les EHEC « majeurs » sont les plus fréquemment impliqués dans les cas humains

L'analyse des données épidémiologiques mondiales montre qu'un nombre important de sérotypes d'EHEC (plus de 200) est associé à l'apparition de symptômes cliniques sévères chez l'Homme, comme la colite hémorragique ou le SHU. Cependant, en complément du sérotype O157:H7 qui est le plus fréquemment retrouvé (64% des cas de SHU en Europe entre 2002 et 2006), seul un nombre restreint de sérotypes a été régulièrement associé à des épidémies (tableau 1).

Karmali et coll. ont classé les sérotypes de STEC dans cinq sérotypotypes (de A à E ; tableau 2) en fonction (i) de l'incidence relative des sérotypes dans les infections humaines, (ii) de leur fréquence d'implication dans des épidémies, et (iii) de leur association ou non avec des symptômes cliniques sévères [13].

Parmi les EHEC typiques, les souches les plus fréquemment impliquées aujourd'hui dans les épidémies ont été définies par l'Anses comme souches « EHEC typiques majeures » [4]. Elles appartiennent aux cinq sérotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7 et leurs dérivés non mobiles. Par ailleurs, elles appartiennent aux sérotypotypes A et B définis par Karmali.

Parmi les EHEC « atypiques » il faut citer les cas d'infections à EHEC dues à des souches du sérogroupe O91 ou encore O104, dont la souche O104:H4 responsable de deux épidémies en Allemagne et en France en 2011 et dont l'étude épidémiologique a montré qu'elles étaient associées à la consommation, après leur germination, de graines de fenugrec contaminées (tableau 1) [14;15].

Avancée des connaissances relatives à la caractérisation de la virulence des EHEC

La liste des facteurs de virulence et des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC n'est pas encore complètement connue. En

Tableau 2 Classification des sérotypes de STEC en sérotypotypes (d'après [13]) / **Table 2** Classification of STEC serotypes in seropathotypes [based on [13]]

Sérotypotype	Incidence relative	Implication dans des épidémies	Association avec les SHU ou les colites hémorragiques	Sérotypes
A	Élevée	Fréquente	Oui	O157:H7, O157:NM*
B	Modérée	Non fréquente	Oui	O26:H11, O103:H2, O111:H8/NM, O121:H19, O145:NM
C	Faible	Rare	Oui	O91:H21, O104:H21, O113:H21, et autres sérotypes.
D	Faible	Rare	Non	Multiples sérotypes
E	Non humain**	n.a.	n.a.	Multiples sérotypes

* NM : non mobile ; ** Sérotypes de STEC isolés chez les animaux mais jamais associés à des infections humaines ; n.a. : non applicable.

effet, bien que la production de toxine Stx et la colonisation de la muqueuse colique soient nécessaires, elles ne sont pas suffisantes pour induire la maladie chez l'Homme. De nombreux autres facteurs de virulence potentiels ont été décrits. La ou les combinaisons des facteurs de virulence impliqués dans le pouvoir pathogène des souches EHEC restent encore à déterminer, et l'un des défis majeurs des études de caractérisation moléculaire des souches isolées, notamment dans les aliments, reste la distinction des souches STEC non pathogènes pour l'Homme des véritables souches EHEC.

Les shigatoxines (Stx)

Les shigatoxines sont les principaux facteurs de virulence des EHEC. La famille des Stx regroupe l'ensemble des toxines présentant une structure similaire (hexapeptides de type A₁B₂) et une activité biologique proche. Sur la base de leur différence de toxicité *in vitro* et *in vivo*, de séquence en acides aminés ou de séquence nucléotidique des gènes *stx*, deux grands types de shigatoxines, Stx1 et Stx2, et de nombreux variants (Stx1a à Stx1c, et Stx2a à Stx2g) ont été identifiés [21].

Le type de variant reflèterait à la fois l'origine des souches (moutons, porcs), leur phylogénie, mais aussi leur pouvoir pathogène. Les études épidémiologiques ont montré que Stx2 est plus souvent associée à une maladie grave chez l'Homme que Stx1 [22]. D'autre part, parmi les variants de Stx2, Stx2a et Stx2c semblent plus souvent être produits par des souches EHEC associées à des cas d'infection sévère chez l'Homme (colite hémorragique, SHU) [23].

Les gènes *stx* sont portés par des prophages c'est à dire par des génomes de phages intégrés dans le chromosome des souches EHEC [24]. Des prophages codant pour les toxines Stx ont été identifiés chez *E. coli* mais aussi chez *S. dysenteriae* type 1, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* ou *S. flexneri*. Plusieurs études ont montré que les gènes *stx* pouvaient être transmis au sein de la population d'*E. coli* [24;25]. Ces transferts horizontaux seraient ainsi à l'origine du très grand nombre observé de sérotypes de STEC (plus de 400 répertoriés).

Certains facteurs exogènes, tels que les rayons UV ou des antibiotiques comme la mitomycine C, peuvent déclencher un cycle lytique chez une bactérie lysogène, se traduisant par l'excision de l'ADN du phage hors du chromosome bactérien et par la production de particules phagiques pouvant alors infecter d'autres souches bactériennes. Le cycle lytique conduit ainsi, d'une part, à la perte du phage et donc du gène *stx* par la bactérie porteuse et, d'autre part, au transfert (ou « transduction ») de ce dernier vers d'autres bactéries, appelé « conversion lysogénique » [26]. La conversion de souches d'*E. coli* a été démontrée *in vitro* mais aussi *in vivo*, dans le tractus gastro-intestinal de souris, de ruminants ou d'humains [27]. Les bactériophages joueraient donc un rôle dans le pouvoir pathogène des souches EHEC mais aussi dans la dissémination de facteurs de virulence au sein de la population d'*E. coli*. Ainsi, le transfert des gènes *stx* au sein de la population d'*E. coli* pourrait être un phénomène fréquent et favoriser l'émergence de nouvelles souches EHEC pathogènes pour l'Homme. Chez l'Homme, des données cliniques obtenues à partir de patients atteints de SHU suggèrent que des souches EHEC sont susceptibles de perdre leur phage *stx* au cours de l'infection. Un nombre non négligeable (23%) de souches d'*E. coli* O157:H7 issues de multiples sources (bovine, aviaire et environnementale) s'est avéré également ne pas posséder de gènes *stx*.

D'autre part, bien que non formellement démontrée à l'heure actuelle, l'acquisition de phage *stx* par des souches commensales de la flore intestinale de l'Homme (voire par des souches possédant déjà certains facteurs de virulence) suite à l'ingestion d'une souche STEC, paraît probable.

Cas d'une souche AECC (*stx*-*eae*+) appartenant à l'un des cinq sérotypes d'EHEC majeurs et isolée d'un bouillon de culture positif pour la recherche des gènes *stx*

Au laboratoire, au cours de la recherche de souches STEC potentiellement hautement pathogènes dans les aliments, des bouillons d'enrichissement peuvent donner une réponse positive pour la recherche des gènes *stx* par une technique moléculaire, et ne permettre d'isoler que des souches AECC *stx*- ayant toutes les caractéristiques génétiques des souches EHEC typiques majeures recherchées hormis le gène *stx*.

À l'heure actuelle, les données disponibles sont encore insuffisantes pour établir un véritable profil de risque microbiologique associé à la présence de ces AECC particuliers dans les aliments. Il n'est pas possible de déterminer si une souche d'AECC isolée d'un aliment testé *stx*-positif par PCR correspond

à un *E. coli* n'ayant jamais acquis de phage *stx* ou bien à une souche STEC ayant perdu un phage *stx* au cours de l'étape d'isolement. Il n'est pas non plus possible d'identifier, parmi les souches d'AECC, celles qui seraient susceptibles d'acquies un phage *stx* et de se convertir en STEC. Il est donc nécessaire d'initier des travaux pour étudier ces phénomènes.

Les facteurs d'adhésion

L'intimine

La colonisation du tube digestif est une étape majeure de la physiopathologie des EHEC. Chez les EHEC typiques, elle est caractérisée par le développement de lésions d'attachement-effacement (A/E) des entérocytes, résultant de l'action combinée de protéines codées par des gènes regroupés dans le LEE. Le gène *eae* est un des principaux gènes conservés au sein du LEE et code pour l'intimine, une protéine de la membrane externe bactérienne impliquée dans l'adhésion étroite de la bactérie à l'entérocyte. Plusieurs variants d'intimine ont été identifiés. Ces différents variants seraient impliqués dans le tropisme cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène des EHEC.

Ainsi, certains variants (intimines *gamma* et *epsilon*) semblent être plus spécifiquement exprimés par des souches EHEC. Cette association n'est pas stricte puisque ces variants, comme la plupart des autres variants, sont également retrouvés chez des souches EPEC ou des souches non pathogènes (souches d'origine animale non associées à la maladie chez l'Homme ou souches d'autres espèces bactériennes) [28]. Cependant, certains variants semblent associés à certains sérotypes d'EHEC : *eae-gamma* avec O157:H7 et O145:H28, *eae-beta* avec O26:H11, *eae-epsilon* avec O103:H2 et *eae-theta* avec O111:H8.

Autres facteurs d'adhésion

Les souches LEE-négatives sont en général non pathogènes, mais certaines d'entre elles ont cependant été associées à des SHU (EHEC atypiques). Ces souches atypiques possèdent donc d'autres facteurs d'adhésion permettant une colonisation de la muqueuse colique aussi efficace que l'A/E.

- Cas de la souche *E. coli* O104:H4 associée à deux épidémies en Allemagne et en France en 2011

La souche *E. coli* O104:H4 associée à ces épidémies présente une association peu commune de caractéristiques propres d'une part aux souches de STEC/EHEC et d'autre part aux souches d'*E. coli* entéroagréguatives (EAEC ou EAggEC pour *Enterococcus aggregative E. coli*) [29]. En effet, elles possèdent la capacité de produire la toxine Stx2a, et la capacité à adhérer à la muqueuse intestinale avec un profil d'adhésion agrégative [14;15]. L'adhésion agrégative des EAEC décrite sur des cellules HEP-2 en culture et sur les cellules épithéliales de l'iléon terminal et du côlon chez l'Homme est due à des *fimbriae* AAF (pour *Aggregative adherence fimbriae*) dont l'expression est régulée par le gène *aggR* présent sur le plasmide de virulence pAA des EAEC [6]. L'infection par une souche EAEC est en général associée à une diarrhée aqueuse souvent persistante, le plus souvent chez les enfants dans les pays en voie de développement ou chez des malades atteints du sida.

L'association de facteurs de virulence des EAEC et des STEC a rarement été décrite pour des souches d'*E. coli* isolées chez l'Homme. Cependant, les facteurs d'adhésion plasmidiques des EAEC ont été auparavant mis en évidence chez des souches EHEC LEE-négatives O111:H2 lors d'une épidémie de SHU survenue en France en 1995 [30].

Cette association non habituelle de facteurs de virulence appartenant à différents pathotypes d'*E. coli* semble conférer aux souches un très haut potentiel de virulence.

- Autres exemples

Plusieurs adhésines potentielles ont été décrites chez des souches EHEC atypiques comme par exemple l'adhésine Saa (*STEC autoagglutinating adhesin*).

De nombreuses protéines susceptibles de jouer un rôle dans la colonisation du tube digestif par les EHEC ont été décrites, aussi bien chez des souches EHEC atypiques que typiques. Cependant leur implication dans la pathogénie des souches reste encore à démontrer.

Autres facteurs de virulence potentiels

D'autres facteurs de virulence potentiels, codés par des gènes présents sur le chromosome et/ou sur des éléments génétiques mobiles (plasmides,

phages ou îlots de pathogénicité), ont été décrits chez les souches EHEC. Ils regroupent :

- des toxines, telles que l'entérohémolysine (Ehx), l'entérohémolysine thermostable EAST1, la cytotoxine subtilase (SubAB), les cyclomodulines CDT (pour « *Cytolethal Distending Factor* ») et Cif (pour « *Cycle inhibiting factor* ») ;
- des protéases, telles que la sérine protéase EspP, la catalase peroxydase KatP, la métalloprotéase StcE ;
- des systèmes de captation du fer, notamment le sidérophore codé par l'îlot de pathogénicité HPI (pour « *High Pathogenicity Island* ») ;
- des systèmes de résistance à l'acidité gastrique ;
- des uréases ;
- des protéines de fonction inconnue telles que les effecteurs Nle (pour « *Non LEE-encoded effector* »).

La liste de ces facteurs de virulence potentiels ne cesse de s'allonger mais, à ce jour, leur rôle respectif dans la pathogénie des EHEC n'est pas démontré.

Cas particulier des « O Islands »

Les *O Islands* (OI) correspondent à des îlots ou segments génétiques présents dans le génome des EHEC (dont *E. coli* O157:H7) mais absents du génome des *E. coli* non pathogènes [21]. Au total, 177 îlots ont été identifiés, dont certains contiennent des facteurs de virulence potentiels, d'où leur qualification d'îlots de pathogénicité. Certains îlots regroupent des gènes codant pour des effecteurs de type III appelés *nle*. La distribution des gènes *nle* au sein des îlots est variable d'une souche à l'autre, et l'on remarque que plus les îlots contiennent de gènes *nle* (c'est à dire plus ils sont complets), plus la maladie associée aux souches qui les contiennent est grave. Cette observation est valable pour trois îlots de pathogénicité: OI-57, OI-71 et OI-122 [13;31]. Au total, 14 gènes *nle* ont été identifiés comme étant plus fréquemment présents dans des souches EHEC que dans des souches STEC n'ayant jamais provoqué d'épidémie ou de SHU. De plus, ces gènes contribuent de manière additive à la virulence (« effet dose ») puisque les souches à l'origine soit de SHU soit d'épidémies contiennent un nombre plus élevé de gènes *nle* que les souches non virulentes.

Conclusion

Les shigatoxines et l'intimine constituent les deux protéines majeures impliquées dans le pouvoir pathogène des EHEC dits « typiques », même si tous les variants de Stx ou de l'intimine ne semblent pas présenter la même toxicité ou la même spécificité pour l'Homme.

Néanmoins, plusieurs autres facteurs encore inconnus ou mal déterminés semblent intervenir dans le pouvoir pathogène des EHEC, et notamment d'autres facteurs d'adhésion aux cellules intestinales dans le cas des EHEC « atypiques ». De plus, bien que les caractéristiques des souches responsables d'infections humaines, en particulier l'ensemble des facteurs de virulence exprimés, soient probablement déterminantes, le processus infectieux des EHEC est multifactoriel et dépend aussi de facteurs liés à l'hôte.

S'agissant des souches isolées chez l'Homme, l'analyse des données épidémiologiques montre que certains sérotypes d'*E. coli* entérohémorragiques sont plus fréquemment associés à une maladie grave et aux épidémies. Dans la majorité des cas, ces sérotypes présentent des caractéristiques moléculaires particulières, celles des EHEC typiques majeurs, bien que d'autres sérotypes puissent être plus rarement isolés lors d'infections humaines comme l'ont montré les épidémies associées à la souche EHEC atypique O104:H4 en 2011.

S'agissant d'une souche STEC isolée hors d'un contexte clinique chez l'Homme, comme par exemple lors de l'examen bactériologique d'un aliment, il n'est pas possible de dire avec certitude que cette souche est pathogène pour l'Homme en l'état actuel des connaissances [4;32].

Il convient cependant de considérer que la souche peut être :

- potentiellement pathogène quand elle présente les caractéristiques d'un EHEC typique (possession des gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae*) ;
- potentiellement hautement pathogène quand elle présente :
 - soit les caractéristiques d'un EHEC typique majeur (possession des gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae* et appartenance à l'un des cinq sérotypes suivants et leurs dérivés non mobiles : O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 et O111:H8) ;
 - soit les caractéristiques d'un EHEC atypique particulier impliqué dans de graves épidémies, comme par exemple la souche EHEC O104:H4

responsable des épidémies en Allemagne et en France à la fin du printemps 2011.

C'est bien la mise en évidence de ces différents facteurs ou marqueurs de virulence au sein d'une même souche qui permet d'estimer son caractère pathogène et d'orienter les mesures de gestion du risque à mettre en oeuvre.

Remerciements

Les auteurs de cet article étaient membres du groupe de travail « EHEC-EPEC » de l'Anses. En réponse à la saisine 2010-SA-0031, leurs travaux ont abouti à la rédaction des avis de l'Afssa du 27 mai 2010 et de l'Anses du 11 janvier 2011 relatifs aux EHEC. Ils remercient chaleureusement les autres membres de ce groupe de travail.

Références

- [1] Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, *et al.* Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med.* 1983;308(12):681-5.
- [2] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). Maisons-Alfort: Afssa; 2003. 220 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC-Ra-STECC.pdf>
- [3] Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet.* 2005;365(9464):1073-86.
- [4] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis du 27 mai 2010 relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008. 2010. Maisons-Alfort: Afssa; 2010. 19 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2010sa0031.pdf>
- [5] Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis.* 1987;155(3):377-89.
- [6] Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(2):123-40.
- [7] O'Loughlin EV, Robins-Browne RM. Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells. *Microbes Infect.* 2001;3(6):493-507.
- [8] Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res.* 2005;36(3):289-311.
- [9] Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:142-201.
- [10] McDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS, Kaper JB. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:1664-8.
- [11] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Avis du 10 décembre 2010 relatif aux contaminations microbiologiques des viandes à l'abattoir. Maisons-Alfort: Anses; 2010. 62 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2008sa0308.pdf>
- [12] Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:603-9.
- [13] Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, *et al.* Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4930-40.
- [14] Gault G, Weill FX, Mariani-Kurkdjian P, Jourdan-da Silva N, King L, Aldabe B, *et al.* Outbreak of haemolytic uraemic syndrome and bloody diarrhoea due to *Escherichia coli* O104:H4, South-West France, June 2011. *Euro Surveill.* 2011;16(26):pii=19905. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19905>
- [15] Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, *et al.* Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med.* 2011;365(19):1771-80.
- [16] Wahl E, Vold L, Lindstedt BA, Bruheim T, Afsset JE. Investigation of an *Escherichia coli* O145 outbreak in a child day-care centre - extensive sampling and characterization of eae- and stx1-positive *E. coli* yields epidemiological and socioeconomic insight. *BMC Infect Dis.* 2011;11:238.
- [17] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Two multistate outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections linked to beef from a single slaughter facility - United States, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(18):557-60.
- [18] Calderon VE, Chang Q, McDermott M, Lytle MB, McKee G, Rodriguez K, *et al.* Outbreak caused by cad-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111, Oklahoma. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(1):107-9.
- [19] Guh A, Phan Q, Nelson R, Purviance K, Milardo E, Kinney S, *et al.* Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clin Infect Dis.* 2010;51(12):1411-7.

[20] Sodha SV, Lynch M, Wannemuehler K, Leeper M, Malavet M, Schaffzin J, *et al.* Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with a national fast-food chain, 2006: a study incorporating epidemiological and food source traceback results. *Epidemiol Infect.* 2011;139(2):309-16.

[21] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis du 15 juillet 2008 relatif aux souches d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme. Maisons-Alfort: Afssa; 2008. 14 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2008sa0122.pdf>

[22] Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP, Gyles CL. Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol.* 1999;37:497-503.

[23] Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang W-L, Pulz M, Kuczius T, Ammon A, *et al.* *Escherichia coli* harbouring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis.* 2002;185:74-84.

[24] Herold S, Karch H, Schmidt H. Shiga toxin-encoding bacteriophages - genomes in motion. *Int J Med Microbiol.* 2004;294:115-21.

[25] Muniesa M, Jofre J. Occurrence of phages infecting *Escherichia coli* O157:H7 carrying the Stx2 gene in sewage from different countries. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;183:197-200.

[26] Schmidt H, Bielaszewska M, Karch H. Transduction of enteric *Escherichia coli* isolates with a derivative of Shiga toxin 2-encoding bacteriophage phi3538 isolated from *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:3855-61.

[27] Bielaszewska M, Prager R, Kock R, Mellmann A, Zhang W, Tschape H, *et al.* Shiga toxin gene loss and transfer *in vitro* and *in vivo* during enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 infection in humans. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(10):3144-50.

[28] Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marches O, Caprioli A. Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. *Infect Immun.* 2000;68:64-71.

[29] Scheutz F, Nielsen EM, Frimodt-Møller J, Boisen N, Morabito S, Tozzoli R, *et al.* Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill.* 2011;16(24). pii:19889. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19889>

[30] Morabito S, Karch H, Mariani-Kurkdjian P, Schmidt H, Minelli F, Bingen E, *et al.* Enteroaggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol.* 1998;36:840-2.

[31] Coombes BK, Wickham ME, Mascarenhas M, Gruenheid S, Finlay BB, Karmali MA. Molecular analysis as an aid to assess the public health risk of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:2153-60.

[32] European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) - Monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. *EFSA Journal.* 2007;579:1-61. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/579.htm>

Salmonelloses en France, 2002-2010 : tendances en épidémiologie humaine, émergence de la souche monophasique, principaux aliments impliqués dans les dernières épidémies

Nathalie Jourdan-Da Silva (n.jourdan@invs.sante.fr)¹, Simon Le Hello²

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

2/ Centre national de référence des *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France

Résumé / Abstract

Les infections à *Salmonella* sont une des principales causes d'infections bactériennes d'origine alimentaire.

Cet article décrit les tendances récentes et les évolutions des sérotypes de *Salmonella* étudiés au Centre national de référence des *Salmonella* (CNR-Salm) de 2002 à 2010, ainsi que les caractéristiques des principales épidémies de salmonellose détectées durant cette période en France.

Entre 2002 et 2010, une baisse globale de 20% du nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR, liée à une diminution importante du nombre de souches de sérotype Enteritidis mais aussi de sérotype Typhimurium, ainsi que l'émergence des variants monophasiques de Typhimurium détectée par le système de surveillance ont été observés. Sur la même période, 26 épidémies majeures de salmonellose ont fait l'objet d'investigations poussées.

Malgré une diminution notable du nombre d'infections à *Salmonella*, l'émergence de nouveaux sérotypes, la multiplicité des réservoirs de *Salmonella* et le développement des résistances des souches aux antibiotiques incitent au maintien de la vigilance afin d'adapter les recommandations et les mesures de contrôle.

Mots clés / Key words

Salmonellose, tendances épidémiologiques, France, souche monophasique, *S. Typhimurium* / *Salmonellosis*, *epidemiological trends*, France, *monophasic serotype*, *S. Typhimurium*

Les infections à *Salmonella* sont une des principales causes d'infections bactériennes d'origine alimentaire. Les salmonelloses dites mineures, dont le réservoir est strictement animal, sont des zoonoses. En général, l'Homme se contamine en consommant des aliments contaminés, le plus souvent d'origine animale (viande - et particulièrement volaille -, produits carnés, œufs et produits laitiers) consommés crus, peu cuits ou recontaminés après cuisson. Plus rarement, la contamination peut avoir pour origine un contact direct

Salmonellosis in 2002-2010 in France: trends in human epidemiology, monophasic serotype emergence, main food implicated in the latest outbreaks

Salmonella infections are a major cause of bacterial foodborne infections. This article describes recent trends and developments of *Salmonella* serotypes studied at the National Reference Center for *Salmonella* (NRC-Salm) from 2002 to 2010, and the characteristics of major outbreaks of salmonellosis detected during this period in France.

Between 2002 and 2010, an overall decline of 20% of the number of records at the NRC-Salm, linked to a decrease in the number of strains of serotype Enteritidis but also serotype Typhimurium, and the emergence of monophasic variant of Typhimurium detected by the monitoring system were observed. Over the same period, 26 major outbreaks of salmonellosis were extensively investigated.

Despite a decrease in the number of *Salmonella* infections, the emergence of new serotypes, the multiple reservoirs of *Salmonella* and the development of resistant strains to antibiotics encourage the maintenance of vigilance to adapt recommendations and control measures.

avec un animal malade ou porteur. Enfin, la transmission manuportée d'une personne contaminée à une autre personne est aussi possible, en particulier chez les jeunes enfants.

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont aussi causées par des *Salmonella*, dont le réservoir est strictement humain, du genre Typhi ou Paratyphi A, C et certaines souches Paratyphi B (type java-). La contamination résulte, dans ce cas, de l'ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une

Tableau 1 Les 15 principaux sérotypes enregistrés au Centre national de référence des *Salmonella* depuis 2002 en France (nombre de souches et comptes-rendus de sérotypage) / **Table 1** The main 15 *Salmonella* strains recorded by the National Reference Centre for *Salmonella* since 2002 in France (numbers of isolates and serotyping results)

	2002 (N=11 775)	2003 (N=10 472)	2004 (N=10 589)	2005 (N=11 439)	2006 (N=10 154)	2007 (N=8 124)	2008 (N=10 378)	2009 (N=9 947)	2010 (N=9 405)
1	Enteritidis (4 469)	Enteritidis (4 144)	Enteritidis (3 897)	Typhimurium (3 992)	Typhimurium (4 013)	Typhimurium (2 978)	Typhimurium (4 787)	Typhimurium (3 867)	Typhimurium (3 027)
2	Typhimurium (3 998)	Typhimurium (3 222)	Typhimurium (3 635)	Enteritidis (3 638)	Enteritidis (2 878)	Enteritidis (2 148)	Enteritidis (1 941)	Enteritidis (1 777)	Enteritidis (1 711)
3	Hadar (282)	Virchow (201)	Typhi (151)	Agona (274)	Derby (150)	Derby (127)	1,4,[5],12:i:-(410)	1,4,[5],12:i:-(1 011)	1,4,[5],12:i:- (1 098)
4	Infantis (178)	Hadar (178)	Hadar (131)	Infantis (210)	Typhi (148)	Hadar (123)	Derby (177)	Hadar (177)	Kentucky (208)
5	Virchow (174)	Typhi (167)	Derby (128)	Typhi (187)	Napoli (144)	1,4,[5],12:i:-(122)	Kentucky (139)	Typhi (170)	Newport (191)
6	Derby (162)	Newport (161)	Newport (122)	Derby (158)	Hadar (140)	Typhi (120)	Typhi (138)	Derby (160)	Typhi (181)
7	Typhi (154)	Infantis (139)	Virchow (122)	Hadar (147)	Infantis (135)	Newport (118)	Newport (126)	Newport (139)	Derby (167)
8	Brandenburg (142)	Brandenburg (131)	Infantis (122)	Virchow (142)	Virchow (118)	Kentucky (113)	Panama (105)	Infantis (134)	Panama (148)
9	Heidelberg (126)	Derby (109)	Agona (102)	Newport (133)	1,4,[5],12:i:-(113)	Infantis (108)	Hadar (105)	Kentucky (130)	Infantis (128)
10	Newport (99)	Agona (92)	Brandenburg (87)	Panama (124)	Newport (105)	Panama (89)	Brandenburg (101)	Panama (107)	Napoli (100)
11	Dublin (92)	Heidelberg (90)	Napoli (80)	1,4,[5],12:i:- (99)	Panama (95)	Virchow (87)	Infantis (100)	Virchow (85)	Dublin (81)
12	Paratyphi B (85)	Napoli (83)	Panama (80)	Manhattan (95)	Agona (73)	Napoli (71)	Give (90)	Napoli (81)	Hadar (76)
13	Bovismorbificans (77)	Dublin (69)	Paratyphi A (77)	Napoli (93)	Brandenburg (64)	Bredeney (59)	Virchow (77)	Saint-Paul (77)	Corvallis (70)
14	Panama (75)	Indiana (67)	Indiana (77)	Indiana (86)	Paratyphi B (64)	Agona (55)	Corvallis (71)	Dublin (74)	Kottbus, Virchow (66)
15	Blockley (57)	Paratyphi B (63)	Paratyphi B (62)	Brandenburg (82)	Manhattan (64)	Montevideo (54)	Bovismorbificans (69)	Montevideo (57)	Saint Paul (64)

contamination fécale d'origine humaine ou d'une transmission directe de personne à personne.

Cet article décrit les tendances récentes et les évolutions des sérotypes de *Salmonella* étudiées au Centre national de référence des *Salmonella* (CNR-Salm) de 2002 à 2010, ainsi que les caractéristiques des principales épidémies de salmonellose mineure détectées durant cette période en France.

Systèmes de surveillance

Le CNR-Salm, en charge de la surveillance microbiologique des salmonelloses humaines, reçoit des souches et des comptes rendus de sérotypage d'un réseau de laboratoires volontaires hospitaliers et privés. En 2009, 1 542 laboratoires répartis en 381 laboratoires hospitaliers (25%) et 1 161 laboratoires d'analyses biomédicales privés (75%) ont participé à la surveillance des infections à *Salmonella* en France, soit environ 35% des laboratoires d'analyses médicales recensés en France en 2007. Une étude conjointe du CNR, de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afsaps) et de l'Institut de veille sanitaire (InVS) a permis d'estimer l'exhaustivité du CNR-Salm à 66% des salmonelloses humaines confirmées en laboratoire en France et dans les territoires ultramarins.

Chaque semaine, des algorithmes de détection de dépassement de seuils, établis pour chaque sérotype à partir des données historiques du CNR-Salm, sont utilisés afin de détecter des augmentations inhabituelles ou des cas groupés de souches d'un sérotype donné.

La mise en œuvre de méthodes de typage moléculaire (PFGE (*Pulse Field Gel Electrophoresis*), MLVA (*Multi-Locus VNTR (variable number of tandem repeat) Analysis*)) pour l'investigation de cas groupés est d'une aide très précieuse dans la détection et l'investigation des épidémies.

La surveillance des infections humaines à *Salmonella* est complétée par la surveillance des toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) qui sont à déclaration obligatoire en France depuis 1987 [1]. Ainsi, en 2010¹, 92 Tiac confirmées à *Salmonella* ont été déclarées, représentant environ 40% des foyers de Tiac dont l'agent étiologique a été confirmé. Ces Tiac à *Salmonella* ont été à l'origine de 1 066 malades et 145 hospitalisations.

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes font l'objet d'une déclaration obligatoire spécifique ; 1 278 cas ont été déclarés entre 2002 et 2010, dont 154 pour l'année 2010 [2].

Tendances en épidémiologie humaine entre 2002 et 2010

Les tendances évolutives des 15 sérotypes les plus fréquents (souches et fiches info reçues) enregistrés au CNR-Salm depuis 2002 sont présentées dans le tableau 1 et la figure 1.

Description des souches sérotypées au CNR-Salm

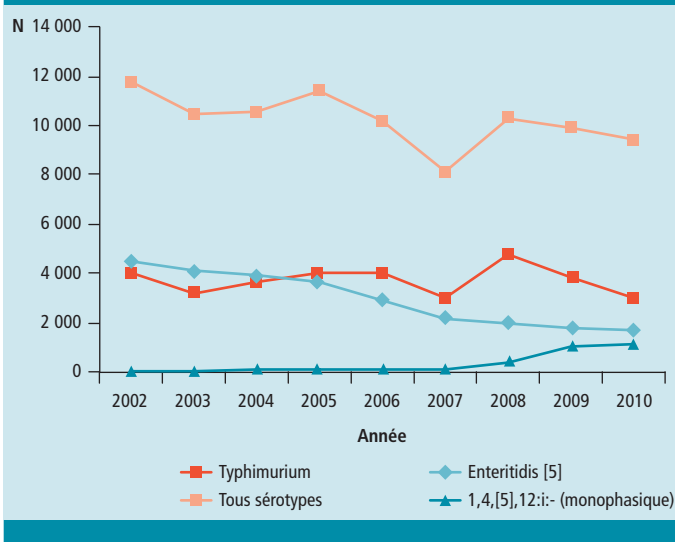
De 2002 à 2010, le CNR-Salm a reçu pour sérotypage 60 335 souches de *Salmonella*. Le nombre annuel de souches était relativement stable de 2002 à 2006 (variant de 6 200 à 6 600 souches) avant de diminuer en 2007 (5 690 souches, soit une diminution de 14%). En 2008, le nombre de souches de *Salmonella* reçues au CNR a augmenté (7 567 souches, soit une augmentation de 33%) et reste stable depuis (7 451 souches reçues en 2009 et 7 434 souches en 2010). Le recrutement, à partir de 2008, d'un nouveau laboratoire dans le réseau de surveillance, transmettant près de 1 500 isoléments chaque année, a probablement contribué à l'augmentation observée.

Parmi les cas dont l'âge était renseigné, 32% des isoléments concernaient des nourrissons ou enfants âgés de 1 à 4 ans, 15% des enfants de 5 à 14 ans, 39% des personnes âgées de 15 à 64 ans, et 14% des personnes âgées de 65 ans ou plus. Cette répartition par âge est stable sur la période d'étude.

Le sexe ratio H/F des cas était de 1. La distribution par sexe ne différait pas selon les années.

Les salmonelloses humaines sont caractérisées par une saisonnalité estivale marquée, avec plus d'un quart des souches (28%) transmises d'août à septembre. Le mois de février était le mois de réception avec le plus faible nombre de souches reçues (5% des souches transmises). Cette saisonnalité estivale ou

Figure 1 Évolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'Homme (2002-2010), France (données du Centre national de référence des *Salmonella*) / **Figure 1** Trends of the main *Salmonella* strains isolated in humans (2002-2010), France (data from the National Reference Center for *Salmonella*)



¹ <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Toxi-infections-alimentaires-collectives>

post-estivale est particulièrement marquée pour certains sérotypes, comme Kentucky ou Typhi, connus pour être associés à des expositions en zones d'épidémie (Afrique, Asie, Inde, pays du Maghreb...). Le sérotype Napoli, sérotype émergent dans plusieurs pays européens [3] est encore peu fréquent en France (<100 cas/an). Son incidence est caractérisée par une saisonnalité estivale très marquée, avec 42% des isollements reçus en août et septembre, localisés dans certaines régions en France (moitié ouest du pays). À ce jour, aucune hypothèse sur le réservoir de ce sérotype n'a pu être avancée.

Les deux principaux sérotypes isolés ces dix dernières années en santé humaine sont respectivement le sérotype Typhimurium et le sérotype Enteritidis, ces deux sérotypes représentant historiquement près des trois quarts des isollements de *Salmonella* en pathologie humaine.

Depuis 2005, *S. Typhimurium* est le sérotype le plus fréquemment isolé en santé humaine, représentant 27,6% (16 679 souches) des souches de *Salmonella* reçues au CNR depuis 2002. Sa part parmi tous les sérotypes est globalement stable sur toute la période (variant de 24% à 30% selon les années), sauf en 2008 où elle a atteint 36% (2 713 souches). Cette augmentation était attribuable à deux phénomènes conjoints : d'une part, le recrutement d'un laboratoire important qui auparavant n'envoyait pas les souches des sérotypes Typhimurium et Enteritidis et, d'autre part, deux épidémies nationales dont l'une était liée à la consommation de charcuterie et l'autre dont la source alimentaire n'a pas pu être identifiée [4].

S. Enteritidis, prédominant jusqu'en 2004, est le deuxième sérotype le plus fréquent en santé humaine et représente 23% (13 904 souches) des isollements reçus au CNR entre 2002 et 2010. La part de ce sérotype est passée de 31-33% en 2002-2004 à 23-24% entre 2005 et 2007, puis à 16% en 2008-2010.

Émergence de la souche monophasique en Europe

S. enterica subsp. *enterica* sérotype 1,4,[5],12,i:- est un variant monophasique du sérotype Typhimurium, qui était rarement identifié avant le milieu des années 1990. Cette souche est caractérisée par la délétion du gène codant le second flagelle « 1,2 » (parfois dénommé Typhimurium-like ou variant monophasique de Typhimurium), et par son profil de résistance aux antibiotiques (résistance de type-ASSuTe : amoxicilline, streptomycine, sulfamides et tétracycline). Sa prévalence parmi les cas humains de salmonellose est en augmentation depuis le milieu des années 1990 et ce sérotype est actuellement l'un des plus fréquents parmi les cas humains, et ce dans de nombreux pays [5;6].

En France, à partir de 2004, ce sérotype est devenu l'un des dix sérotypes les plus fréquemment isolés en santé humaine et sa part est en constante augmentation depuis, atteignant 15% des isollements reçus au CNR en 2010 (figure 1). Initialement retrouvée dans la filière porcine, cette souche s'est propagée dans d'autres filières.

Principaux aliments impliqués dans les dernières épidémies

Sur la période 2002-2010, 26 épidémies importantes de salmonellose mineure ont été investiguées en France (tableau 2).

Cinq épidémies dues au sérotype Typhimurium sont survenues : une en 2002, 2 en 2008 et 2 en 2010. Les aliments identifiés ou suspectés être à l'origine de ces épidémies étaient de la charcuterie pour 2 d'entre elles, et de la viande chevaline et du fromage au lait cru pour les autres. Pour un épisode, aucun aliment n'a pu être identifié à l'issue des investigations [4].

Trois épidémies dues au sérotype Newport sont survenues, l'une en 2003 et 2 en 2010, liées à la consommation de viande de cheval crue dans un épisode [7] et de fromages de chèvre au lait cru dans les 2 autres.

Deux épidémies, survenues en 2010 et dues à des variants monophasiques de Typhimurium, S.4,12:i:- et S.4,5,12:i:-, ont été attribuées respectivement à la consommation de saucisse sèche [8] et de steaks hachés de bœuf surgelés [9].

Les 16 autres épidémies étaient dues à des sérotypes plus rares et différents. Trois épisodes (sérotypes Montevideo, Stourbridge et Muenster) ont été attribués à la consommation de fromages au lait cru [10-12], 3 épisodes (sérotypes Worthington, Agona, Give) à la consommation de lait en poudre [13-15], 2 épisodes (sérotype Manhattan et Brandenburg) à la consommation de produits à base de viande de porc [16], 2 épisodes (sérotypes Oranienburg et Meleagridis) à la consommation de viande de cheval, un épisode (sérotype Cerro) à la consommation de poudre pour préparation pâtissière, un épisode (sérotype Putten) à la consommation de steaks

Tableau 2 Aliments mis en cause lors d'épidémies de salmonellose, France, 2002-2010 / Table 2 Food associated with Salmonellosis outbreaks in France, 2002-2010

Année	Sérotype	Nombre de cas	Aliment incriminé
2002	Typhimurium	27	Saucisse sèche
2002	Cerro	22	Poudre crème pâtissière
2003	Newport	14	Viande de cheval
2005	Agona	141	Lait en poudre
2005	Worthington	51	Lait en poudre
2005	Stourbridge	21	Fromage de chèvre
2005	Oranienburg	7	Viande de cheval
2005	Manhattan	27	Saucisse de porc
2006	Meleagridis	6	Viande de cheval
2007	Montevideo	23	Fromage au lait cru
2007	Bredenev	10	Inconnu
2007	Rissen	18	Inconnu
2008	Brandenburg	35	Saucisson sec ?
2008	Typhimurium	101	Rosette
2008	Muenster	25	Fromage au lait cru
2008	Typhimurium	112	Inconnu
2008	Putten	8	Steak haché de bœuf
2008	Give	57	Lait en poudre
2008	Ajjobo	16	Inconnu
2009	Hadar	71	Viande de volaille
2010	Newport	28	Fromage au lait cru
2010	Typhimurium	34	Viande de cheval
2010	Newport	10	Fromage au lait cru
2010	Typhimurium	35	Fromage au lait cru ?
2010	4,12:i:-	132	Saucisse sèche
2010	4,5,12:i:-	554	Steak haché de bœuf

hachés de bœuf [17] et un épisode (sérotype Hadar) à la consommation de préparation à base de viande de volaille. Pour 3 épisodes, aucun aliment n'a pu être suspecté.

Émergences de souches de plus en plus résistantes aux antibiotiques

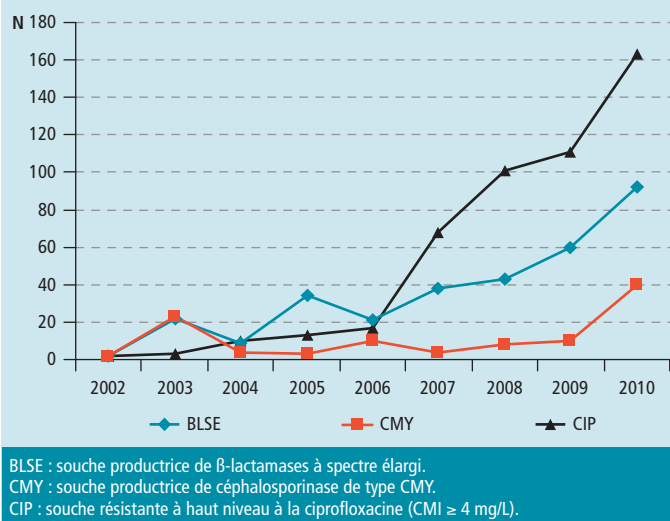
Depuis le début des années 1990, des souches de salmonelles ont acquis progressivement les gènes de résistance aux antibiotiques majeurs utilisés en médecine humaine et vétérinaire, laissant craindre la perspective d'impasse thérapeutique pour les infections les plus sévères.

La multirésistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* est en augmentation à l'échelon international cette dernière décennie. Avant 1990, les souches de *Salmonella* isolées en santé humaine présentaient peu ou pas de résistances aux antibiotiques. Dans les années 1990, la situation a évolué avec l'émergence chez l'animal et l'Homme, dans plusieurs pays industrialisés en Europe et en Amérique du Nord, de souches de *S. Typhimurium* appartenant au lysotype DT104 et présentant une penta-résistance primaire aux antibiotiques. Ces souches de *S. Typhimurium* DT104 représentaient en France 60% des infections humaines à *S. Typhimurium* entre 1997 et 2002. Leur part a ensuite diminué de 2003 (51%) à 2006 (38%), pour augmenter de nouveau en 2010 (50%), associée à une résistance additionnelle à l'acide nalidixique [18]. Les études de prévalence faites au CNR-Salm montrent une évolution rapide et inquiétante des souches résistantes aux antibiotiques tant dans leur nombre que dans leur spectre, de plus en plus étendu. La détection croissante, depuis 2002, de souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération ou ayant une résistance de haut niveau à la ciprofloxacine, les deux antibiotiques clés dans le traitement des salmonelloses sévères, est particulièrement inquiétante (figure 2). Ces souches hautement résistantes sont le plus souvent sporadiques, mais aussi parfois à l'origine d'épidémies nationales voire internationales [7;18-21].

Conclusion

Entre 2002 et 2010, une baisse globale de 20% du nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR, liée à une diminution importante du nombre de souches de sérotype Enteritidis (-38%), a pu être observée. Le sérotype Typhimurium a aussi globalement diminué de 24% sur cette période après un pic en 2008. L'émergence des variants monophasiques de Typhimurium

Figure 2 Nombre de souches de *Salmonella* résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération ou aux fluoroquinolones enregistrées annuellement en France (données : Centre national de référence des *Salmonella*, 2002-2010) / **Figure 2** Number of *Salmonella* strains resistant to 3rd generation cephalosporins or to fluoroquinolones registered each year in France (data: National Reference Centre for *Salmonella*, 2002-2010)



détectée par le système de surveillance est un événement notable à souligner et à surveiller.

En matière de surveillance, l'utilisation hebdomadaire, en routine depuis 2007, d'algorithmes développés dans le but de détecter les excès de cas de salmonellose par sérotype, et la mise en œuvre de méthodes de sous-typage (PFGE, MLVA, analyse des mécanismes de résistance aux antibiotiques...) sont d'une aide précieuse pour la détection précoce et l'investigation des épidémies.

De multiples catégories d'aliments sont associées à la survenue d'épidémies de salmonellose. Cependant, les aliments identifiés lors des investigations ne sont pas représentatifs des aliments impliqués dans la majorité des cas de salmonellose. En effet, les aliments à l'origine d'épidémies liées à des sérotypes rares seront plus facilement identifiés, ces épidémies étant plus facile à détecter que les épidémies liées à des sérotypes plus fréquents.

Le suivi des populations de salmonelles résistantes aux antibiotiques clés dans le traitement des salmonelloses sévères est indispensable, autant dans le domaine vétérinaire qu'en santé humaine. En effet, les infections liées à ces souches sont connues pour leur morbidité et leur mortalité élevées [22].

Dans les années 1990, les importantes mesures de contrôle mises en œuvre dans la filière aviaire ont permis de diminuer, de manière importante, les infections humaines dues au sérotype Enteritidis [23]. Mais l'émergence de nouveaux sérotypes, la multiplicité des réservoirs de *Salmonella* et le développement des résistances des souches aux antibiotiques incitent au maintien de la vigilance afin d'adapter les recommandations et les mesures de contrôle.

Références

[1] Delmas G, Jourdan-Da Silva N, Pihier N, Weill FX, Vaillant V, De Valk H. Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008. Bull Epidemiol Hebd. 2010;(31-32):344-8.

[2] Delmas G, Vaillant V, Jourdan N, Le Hello S, Weill FX, De Valk H. Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes en France entre 2004 et 2009. Bull Epidemiol Hebd. 2011;(2):9-12.

[3] Fisher IS, Jourdan-Da Silva N, Hächler H, Weill FX, Schmid H, Danan C, et al. Human infections due to *Salmonella* Napoli: a multicountry, emerging enigma recognized by the Enter-net international surveillance network. Foodborne Pathog Dis. 2009;6(5):613-9.

[4] Grandesso F, Jourdan-Da Silva N, Le Hello S, Roussel S, Rasson S, Rousseau C, et al. Excess of infections due to a multi-drug sensitive *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in France in June 2008. Euro Surveill. 2008;13(44):pii=19022. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/viewarticle.aspx?articleid=19022>

[5] Switt AI, Soyer Y, Warnick LD, Wiedmann M. Emergence, distribution, and molecular and phenotypic characteristics of *Salmonella enterica* serotype 4,5,12:i:-. Foodborne Pathog Dis. 2009;6(4):407-15.

[6] Hopkins KL, Kirchner M, Guerra B, Granier SA, Lucarelli C, Porrero MC, et al. Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Europe: a new pandemic strain? Euro Surveill. 2010;15(22):pii=19580. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19580>

[7] Espié E, De Valk H, Vaillant V, Quelquejeu N, Le Querrec F, Weill FX. An outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections linked to the consumption of imported horse meat in France. Epidemiol Infect. 2005;133(2):373-6.

[8] Bone A, Noël H, Le Hello S, Pihier N, Danan C, Raguenaud ME, et al. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,12:i:- infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010. Euro Surveill. 2010;15(24):pii=19592. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19592>

[9] Raguenaud ME, Germonneau P, Delmas G. Épidémie de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype 4,5,12:i:- en milieu scolaire associée à la consommation de steak haché importé : une étude de cohorte rétrospective. Poitiers, France, octobre 2010. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 23 p. Disponible à : <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2011/Epidemie-de-salmonellose-a-Salmonella-enterica-serotype-4-5-12-i-en-milieu-scolaire-associee-a-la-consommation-de-steak-hache-importe-une-etude-de-cohorte-retrospective>

[10] Espié E, Vaillant V. International outbreak of *Salmonella* Stourbridge infection, April-July 2005: results of epidemiological, food and veterinary investigations in France. Euro Surveill. 2005;10(32):pi=2772. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2772>

[11] Dominguez M, Jourdan-Da Silva N, Vaillant V, Pihier N, Kermin C, Weill FX, et al. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Montevideo infections in France linked to consumption of cheese made from raw milk. Foodborne Pathog Dis. 2009;6(1):121-8.

[12] Van Cauteren D, Jourdan-Da Silva N, Weill FX, King L, Brisabois A, Delmas G, et al. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Muenster infections associated with goat's cheese, France, March 2008. Euro Surveill. 2009;14(31):pi=19290. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19290>

[13] Institut de veille sanitaire, Outbreak Investigation Group. Outbreak of *Salmonella* Worthington infection in elderly people due to contaminated milk powder, France, January-July 2005. Euro Surveill. 2005;10(29):pi=2753. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/viewarticle.aspx?articleid=2753>

[14] Brouard C, Espié E, Weill FX, Kérouanton A, Brisabois A, Forgue AM, et al. Two consecutive large outbreaks of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants linked to the consumption of powdered infant formula. Pediatr Infect Dis J. 2007;26(2):148-52.

[15] Jourdan N, Le Hello S, Delmas G, Clouzeau J, Manteau C, Désaubliaux B, et al. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Give infections in infants in France, linked to infant milk formula, September 2008. Euro Surveill. 2008;13(39):pi=18994. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18994>

[16] Noël H, Dominguez M, Weill FX, Brisabois A, Duchazeaubeneix C, Kerouanton A, et al. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Manhattan infection associated with meat products, France, 2005. Euro Surveill. 2006;11(11):pii=660. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=660>

[17] Loury P, Guillois-Bécel Y, Le Mao A, Briand A, Le Hello S, Jourdan-Da Silva N, et al. Cas groupés de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype Putten. Nord-ouest de la France, juillet-août 2008. Bull Epidemiol Hebd. 2009;(30):329-31.

[18] Weill FX, Le Hello S. Centre national de référence des *Salmonella*. Rapport d'activité annuel 2009. Paris: Institut Pasteur ; 2010. 71 p. Disponible à : <http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/01s-00004f-0re/ra-cnr-salm-2009.pdf>

[19] Le Hello S, Hendriksen RS, Doublet B, Fisher I, Nielsen EM, Whichard JM, et al. International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin. J Infect Dis. 2011;204(5):675-84.

[20] Fabre L, Delauné A, Espié E, Nygard K, Pardos M, Polomack L, et al. Chromosomal integration of the extended-spectrum beta-lactamase gene blaCTX-M-15 in *Salmonella enterica* serotype Concord isolates from internationally adopted children. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(5):1808-16.

[21] Bertrand S, Weill FX, Cloeckeaert A, Vrints M, Mairiaux E, Praud K, et al. Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). J Clin Microbiol. 2006;44(8):2897-903.

[22] Mølbak K. Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. Clin Infect Dis. 2005;41(11):1613-20.

[23] Poirier E, Watier L, Espié E, Weill FX, De Valk H, Desenclos JC. Evaluation of the impact on human salmonellosis of control measures targeted to *Salmonella Enteritidis* and *Typhimurium* in poultry breeding using time-series analysis and intervention models in France. Epidemiol Infect. 2008;136(9):1217-24.

Encadré – Épidémie nationale de salmonellose de sérotype 4,12:i:- liée à la consommation de saucisson sec, France, 2010 / Box – Nationwide outbreak of *Salmonella* serotype 4,12:i:- linked to the consumption of dried sausage, France, 2010

Nathalie Jourdan-Da Silva (n.jourdan@invs.sante.fr)¹ et Simon Le Hello² pour l'équipe d'investigation

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

2/ Centre national de référence des *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France

En mai 2010, le Centre national de référence des *Salmonella* (CNR-Salm) signalait à l'Institut de veille sanitaire (InVS) un excès national d'isolements de *Salmonella enterica* sérotype 4,12:i:- (SI.4,12:i:-) : 69 cas depuis le début de l'année 2010 (dont 6 regroupés près de Limoges), pour 37 en 2009 et 8 en 2008. Une investigation était lancée pour déterminer l'ampleur de l'épidémie et identifier le véhicule de transmission afin de prévenir la survenue d'autres cas [1;2].

Un cas était défini comme « une personne résidant en France métropolitaine ayant eu un isolement de SI.4,12:i:-, depuis le 1^{er} janvier 2010 dans un prélèvement de selles ou de sang à l'occasion de symptômes compatibles ».

Les cas les plus récents étaient interrogés par téléphone à l'aide d'un questionnaire standardisé sur leurs symptômes, leurs consommations alimentaires dans les sept jours précédant les symptômes, la présence de cas dans l'entourage, les voyages récents et les expositions environnementales.

Le CNR-Salm a procédé au sous-typage par macro-restriction ADN (PFGE), MLVA [Multi-Locus VNTR (variable number of tandem repeat) analysis] et à l'analyse d'une région génomique dénommée CRISPR de toutes les souches humaines et alimentaires de SI.4,12:i:- (identifiées par l'Anses dans la filière porcine en 2010). Afin d'identifier un profil épidémique, des souches de SI.4,12:i:- non épidémiques isolées en 2007, et toutes les souches de sérotype Typhimurium et ses différents variants monophasiques pour la semaine épidémique 16 (19-25 avril 2010), ont été sous-typées. Un cas épidémique était défini par l'identification d'un profil unique et majoritaire le différenciant des autres profils.

Une étude cas-témoins comparant les cas épidémiques aux cas sporadiques de la même période a permis de tester les hypothèses épidémiques générées par l'interrogatoire des cas.

La Direction générale de l'alimentation (DGAL) a conduit des enquêtes de traçabilité des produits suspectés ou pour lesquels la présence de *Salmonella* avait été mise en évidence dans les mois précédents. Les lieux de fabrication de ces produits ont été inspectés.

Entre le 1^{er} janvier et le 5 juillet 2010, 132 cas d'infection à SI.4,12:i:- ont été identifiés dans 62 départements. L'âge médian des cas était de 6 ans (6 mois-89 ans) et le sexe ratio F/H de 1,1. La courbe épidémique par date de prélèvement montrait une élévation du nombre de cas dès la semaine du 22 au 28 mars, avec un pic entre le 19 avril et le 9 mai (semaines 16 à 18). Le sous-typage MLVA concernait 93 souches d'origine humaine. Un sous-type majoritaire unique en PFGE, en MLVA (de type 3-13-15-NA-211) et en CRISPR (CT 136), était retrouvé pour 54 cas dits épidémiques, les autres cas étant considérés comme sporadiques.

Soixante cas ont été interrogés dont 2 cas secondaires. Vingt cas (33%) ont été hospitalisés. Le sous-typage MLVA réalisé pour 57 cas interrogés identifiait 36 cas épidémiques et 21 sporadiques. Parmi les cas épidémiques, 78% (29) rapportaient l'achat de provisions dans un supermarché de l'enseigne A dans la semaine précédant l'apparition des signes. Les produits les plus consommés étaient le saucisson sec (92%), la viande de bœuf (86%) et le jambon blanc (83%). La consommation de saucisson sec était significativement plus fréquente parmi les cas épidémiques que chez les cas sporadiques (odds ratio = 5,50, IC95% [1,03-36,54]). Les cas épidémiques fréquentaient plus souvent l'enseigne A que les cas sporadiques (OR=5,69, IC95% [1,51-21,89]).

Aucune souche alimentaire (Anses ou enquête vétérinaire) ne présentait le profil épidémique humain. Les données des cartes de fidélité de 13 cas épidémiques montraient que tous avaient acheté un saucisson sec de même type et même marque, dans les trois semaines précédant l'apparition des troubles. Ce saucisson était produit exclusivement pour les supermarchés A. Une des sept mêlées entrées dans la fabrication d'un lot produit en février 2010 avait été positive à *Salmonella* lors d'un autocontrôle (souche non conservée). Les analyses réalisées par la suite dans le cadre du processus de

fabrication ayant été négatives, le lot de produits finis avait été mis sur le marché. Ce lot avait été livré à l'enseigne A la première quinzaine de mars.

Le 27 mai 2010, le producteur a effectué et annoncé le retrait et le rappel du lot concerné. Les autorités belges ont été informées de la commercialisation en Belgique d'une faible fraction du lot incriminé par une notification au RASSF (système européen d'alerte alimentaire rapide). Les États-membres de l'UE ont été informés de cette épidémie par signalements aux systèmes d'intelligence épidémique (EPIS) et d'alerte et de réponse rapide (EWRS) du Centre européen de lutte et de prévention des maladies. Aucun excès de cas associés à SI.4,12:i:- n'a été signalé en retour.

La période de contamination probable des cas épidémiques s'étendait du 22 mars à la mi-mai 2010, avec un dernier achat documenté le 11 mai pour le dernier cas épidémique. La distribution en plateforme des supermarchés A avant la mi-mars du lot concerné, les temps de rotation moyens en magasin pour ce type de produit, et la répartition du lot dans plusieurs départements rendaient possible l'implication d'un ou plusieurs autres lots. Le producteur a effectué le 7 juin le retrait et le rappel de tous les lots produits avant le 12 avril et encore disponibles à la vente. Les analyses complémentaires réalisées par le producteur sur de nombreux produits, dont des échantillons des lots retirés, n'ont pas révélé la présence de SI.4,12:i:-.

La consultation des cartes de fidélité utilisées par les cas a été un élément important pour identifier le véhicule à l'origine de cette épidémie et le producteur de cette saucisse. Ces cartes de fidélité, de plus en plus répandues, ont déjà prouvé leur utilité dans d'autres épidémies [3-5]. Cependant, ces cartes ne représentent pas de façon parfaite la consommation de chaque cas, les cartes n'étant pas présentées systématiquement à la caisse pour chaque visite au supermarché, ou bien des achats d'autres produits alimentaires pouvant être réalisés dans d'autres enseignes. C'est pourquoi ces données d'achat doivent être interprétées en lien avec les données épidémiologiques et microbiologiques.

Les investigations épidémiologiques et de traçabilité montrent que cette épidémie d'infections à SI.4,12:i:- était liée à la consommation de saucisson sec produit par un fabricant unique et distribué exclusivement par l'enseigne A. Après le retrait et le rappel des lots suspects, le nombre de cas hebdomadaires était rapidement revenu à un niveau habituel pour ce sérotype. Les sous-typages des souches de *Salmonella* mis en œuvre ont permis de discriminer un sous-type spécifique à l'épidémie. Les cartes de fidélité constituent une source de données innovante pour préciser la source d'une épidémie d'origine alimentaire. Enfin, cette épidémie montre que, même après séchage, les produits de saucisserie restent des véhicules potentiels de *Salmonella*. La détection d'une mêlée contaminée appelle à un renforcement des contrôles avant mise sur le marché des lots de produits finis.

Références

- [1] Bone A, Noël H, Le Hello S, Pihier N, Danan C, Raguenaud ME, *et al.* Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,12:i:- infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010. Euro Surveill. 2010;15(24). pii: 19592. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19592>
- [2] Noël H, Pihier N, Weill FX, Danan C, Bone A, Raguenaud ME, *et al.* Épidémie nationale d'infections à *Salmonella enterica* subspecies *enterica* sérotype 4,12:i:- liée à la consommation de saucisson sec. Bulletin Épidémiologique, Santé Animale et Alimentation 2010;(41):6-8. Disponible à : <http://www.anses.fr/bulletin-epidemiologique/Documents/BEP-mg-BE41-art2.pdf>
- [3] Schneider JL, White PL, Weiss J, Norton D, Lidgard J, Gould LH, *et al.* Multistate outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport infections associated with ground beef, October to December 2007. J Food Prot. 2011;74(8):1315-9.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Salmonella* Montevideo infections associated with salami products made with contaminated imported black and red pepper - United States, July 2009-April 2010. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2010;59(50):1647-50.
- [5] Shah L, MacDougall L, Ellis A, Ong C, Shyng S, LeBlanc L; British Columbia *Cyclospora* Investigation Team. Challenges of investigating community outbreaks of cyclosporiasis, British Columbia, Canada. Emerg Infect Dis. 2009;15(8):1286-8.

Surveillance des salmonelles isolées de la chaîne alimentaire en France

Corinne Danan (corinne.danan@agriculture.gouv.fr)¹, Anselme Agbessi², Gaël Cabassut³, Frédérique Moury⁴, Marie Guyot⁵, Lucile Talleu⁶, Siham Salah⁷, Marianne Chemaly⁸

1/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires, Paris, France

2/ Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), Bureau qualité et valorisation des denrées alimentaires, Paris, France

3/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris, France

4/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons-Alfort, France

5/ Syndicat national des labels avicoles de France, Paris, France

6/ Association Oqualim, Syndicat national de l'industrie de la nutrition animale, Paris, France

7/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Mission des urgences sanitaires, Paris, France

8/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), LNR *Campylobacter*, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France

Résumé / Abstract

En Europe, la prévention des toxi-infections alimentaires causées par *Salmonella* repose avant tout sur une politique de «Santé publique vétérinaire». Ainsi, dès l'amont de la chaîne alimentaire, les professionnels mettent en place des procédures basées sur l'HACCP et les bonnes pratiques d'hygiène accompagnées d'un système de surveillance dans le cadre des autocontrôles. Par ailleurs, les autorités de contrôle mettent en place des dispositifs de surveillance, orientés prioritairement vers les filières animales considérées comme les réservoirs principaux en *Salmonella*. La collaboration entre les différents acteurs privés et publics contribue à la réactivité du système en cas de gestion d'aliments non conformes. D'un point de vue de la surveillance épidémiologique, le dispositif actuel est l'un des plus complets pour un agent responsable de zoonoses d'origine alimentaire. Cet article décrit les dispositifs existants en France et présente les données de surveillance les plus récentes dans les différents secteurs de la chaîne alimentaire.

Surveillance of salmonella isolated from the food chain in France

The prevention of foodborne diseases caused by *Salmonella* is based on a veterinary public health policy in Europe. Thus, food business operators implement procedures based on HACCP together with the application of good hygiene practice from the primary sector. This must be completed by a monitoring system based on own controls. Furthermore, control authorities develop surveillance systems in the main veterinary reservoir for *Salmonella*. Collaboration between the different public and private actors contribute to the reactivity of the system in the case of non-compliant products. From an epidemiological point of view, the current system can be considered as one of the most comprehensive related to a foodborne zoonotic agent. This article describes current surveillance systems in France and presents recent data in the different sectors of the food chain.

Mots clés / Key words

Salmonella, aliment, surveillance, plan de surveillance, plan de contrôle, autocontrôles, alerte / *Salmonella*, food, monitoring, surveillance plan, control plan, own controls, alert

Les salmonelles non typhiques font partie des principaux agents responsables de zoonoses alimentaires. Ces bactéries sont pour la plupart ubiquitaires et peuvent être hébergées dans le tube digestif des animaux de toutes espèces ; c'est pourquoi, une grande variété de produits alimentaires d'origine animale peut être source de contamination. S'il existe plus de 2 500 sérovars considérés pathogènes pour l'Homme, les données de surveillance du Centre national de référence (CNR) des *Salmonella* indiquent que deux sérovars, Typhimurium (y compris le variant monophasique de Typhimurium S. 1,4,[5],12:i:-) et Enteritidis représentent près de 70% des souches isolées chez l'Homme [1].

Les salmonelloses se manifestent par des cas isolés, des épidémies communautaires, ou des foyers de toxi-infections alimentaires collectives. Le nombre annuel de cas de salmonelloses en France a été estimé sur la période 1995-1999, par l'Institut de veille sanitaire (InVS), entre 30 600 et 41 140 dont 92 à 535 cas mortels [2].

En Europe, la prévention des toxi-infections alimentaires causées par *Salmonella* repose avant tout sur une politique de «Santé publique vétérinaire». Ainsi, dès l'amont de la chaîne alimentaire, les professionnels mettent en place des mesures de maîtrise de la contamination, accompagnées d'un système de surveillance dans le cadre de leurs autocontrôles. Par ailleurs, les autorités de contrôle mettent en place des dispositifs de surveillance, orientés prioritairement vers les filières animales considérées comme les réservoirs principaux en *Salmonella*. Les analyses officielles de la contamination des aliments par *Salmonella* sont principalement mises en œuvre dans le cadre de plans annuels de surveillance et de contrôle des autorités de contrôle. Ces deux approches de maîtrise et de surveillance constituent un dispositif « actif », fondé sur une analyse de risque et encadré par la réglementation. L'existence d'un dispositif de surveillance « événementielle », reposant sur un réseau de laboratoires volontaires, complète le dispositif national de surveillance des salmonelles isolées de la chaîne agroalimentaire.

Cet article présente les systèmes de surveillance des *Salmonella* isolées d'aliments. Il porte principalement sur l'alimentation animale et les denrées destinées à l'Homme et ne porte pas sur la production primaire. Pour plus de détails sur les dispositifs de surveillance de l'ensemble de la chaîne agroalimentaire, voir [3].

Contexte réglementaire

Le règlement (CE) n°2160/2003 décrit une approche progressive pour la mise en place de dispositifs de contrôle des principaux réservoirs en salmonelles. Ainsi, depuis 2004, chaque État-membre doit atteindre des objectifs de réduction de la contamination des élevages de poulets de chair, de poules pondeuses, de dindes et de porcs. Ces objectifs visent cinq sérovars de salmonelles majoritairement associés aux cas humains, dits « d'intérêt en santé publique » : Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Infantis et Virchow. Il s'agit de réduire la contamination dans ces réservoirs et par voie de conséquence aux différentes étapes de la chaîne alimentaire.

Pour l'aval de la chaîne alimentaire, les exigences réglementaires sont fixées par un ensemble de textes constituant le Paquet Hygiène (cf. article de Lombard *et coll.* pp. 7-10 de ce même numéro). La première obligation pour les exploitants du secteur alimentaire est de mettre en place un plan de maîtrise sanitaire (PMS). Le plan d'autocontrôles défini par les exploitants doit faire partie du PMS et s'intégrer dans une démarche préventive de la maîtrise de la sécurité et la salubrité de ses fabrications.

Pour ce qui relève des analyses microbiologiques des aliments, les professionnels doivent *a minima* intégrer, dans leur plan d'autocontrôles, les microorganismes pour lesquels des critères sont définis dans le règlement (CE) n°2073/2005. Dans ce règlement, les salmonelles sont considérées comme un indicateur de sécurité de certaines denrées d'origine animale, ou comme un indicateur d'hygiène pour les procédés d'abattage de volailles. Les critères de sécurité relatifs à *Salmonella* visent, dans la majorité des cas, l'absence de *Salmonella* spp. quel que soit le sérovar ; toutefois, depuis le 1^{er} décembre 2011, un critère de sécurité pour les viandes fraîches de volailles, a été défini pour *Salmonella* Enteritidis ou Typhimurium, en cohérence avec le règlement (CE) n°2160/2003.

L'application par les exploitants du secteur alimentaire des principes HACCP (Analyse des dangers – points critiques pour leur maîtrise) ne remplace pas les contrôles officiels effectués par l'autorité compétente. Les autorités de contrôle sont chargées de vérifier les mesures de maîtrise sanitaire mises en place par les professionnels. De plus, chaque année, la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) mettent en place

des plans de surveillance dans certaines denrées alimentaires considérées comme à risque pour le consommateur. Les salmonelles et leur sensibilité aux antibiotiques font ainsi régulièrement l'objet d'une surveillance officielle.

Les données de surveillance publique ou privées collectées au niveau national, sont communiquées à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) conformément à la directive 2003/99/CE sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques.

La surveillance active des salmonelles sur la chaîne alimentaire

Surveillance de l'alimentation animale

Les autocontrôles des professionnels

Depuis 1989, le secteur de l'alimentation animale mutualise des données de surveillance des salmonelles sur matières premières et aliments finis. Initialement axée sur les matières premières, cette surveillance collective a permis de sensibiliser les fournisseurs à la qualité sanitaire de leurs produits et de l'améliorer grâce à des échanges fondés sur les données collectées.

Plus récemment, en 2004, la surveillance des aliments finis a été étoffée à des fins d'épidémiologie, dans le cadre de l'application de la directive 2003/99/CE et a fait l'objet d'un partenariat avec les pouvoirs publics. L'objectif poursuivi était de constituer une base de données sur les salmonelles présentes dans les aliments pour animaux, d'identifier les sérovars émergents et de suivre l'évolution des prévalences.

En 2009, Oqualim, association créée à l'initiative des syndicats représentant le secteur de l'alimentation animale, a souhaité organiser et structurer les démarches de la profession en matière de sécurité sanitaire des aliments pour animaux. Les plans d'épidémiologie des salmonelles dans les matières premières et les aliments pour animaux ont naturellement rejoint Oqualim, permettant d'améliorer leur couverture géographique et leur représentativité. Construits annuellement sur la base d'une analyse de risques collective, ces plans déterminent un nombre d'échantillons à contrôler en France, échantillons qui sont ensuite répartis entre les entreprises qui participent à la démarche. Les résultats obtenus sur les échantillons sont qualifiés par Oqualim, comme « conforme », « non conforme » ou « à surveiller », selon le schéma présenté dans le tableau 1.

En 2010, cette mutualisation couvrait 70% de la production d'aliments composés française, soit 57 entreprises ou groupes, représentant 15,6 millions de tonnes d'aliments fabriqués ; 4241 échantillons ont été analysés au regard des salmonelles, 2 916 analyses portaient sur les produits finis et 1 325 sur les matières premières.

Sur les 1 325 analyses sur matières premières, aucune « non-conformité » n'a été détectée. Huit résultats ont été classés « à surveiller ». Parmi ces résultats, seule une analyse sur des tourteaux de tournesol produits en France a détecté la présence d'une salmonelle réglementée mais elle n'a pas été confirmée lors de l'analyse de confirmation. Les autres résultats « à surveiller » ont fait état de la présence de sérovars non réglementés. En 2010, la prévalence moyenne de *Salmonella* spp. dans les matières premières est estimée à 0,6%.

Sur les 2 916 analyses sur produits finis, aucune non-conformité n'a été détectée. Quinze résultats ont été classés « à surveiller ». Parmi ces

Tableau 1 Qualification des aliments pour animaux au regard de la contamination par *Salmonella* spp. (Source : Oqualim, France) / Table 1 Qualification of animal feed in terms of contamination due to *Salmonella* spp. (Source: OQUALIM, France)

Première analyse	Analyses de confirmation	Qualification de l'échantillon
Absence de salmonelle		Conforme
Présence de salmonelle (sérovar non réglementé)*	Absence de salmonelle	À surveiller
	Présence de salmonelle (sérovar non réglementé)	À surveiller
	Présence de salmonelle (sérovar réglementé)	Non conforme
Présence de salmonelle (sérovar réglementé)	Absence de salmonelle	À surveiller
	Présence de salmonelle (sérovar non réglementé)	Non conforme
	Présence de salmonelle (sérovar réglementé)	Non conforme

* Sérovars d'intérêt en santé publique (*Enteritidis*, *Typhimurium*, *Hadar*, *Infantis* et *Virchow*).

résultats, deux analyses sur des aliments destinés aux poules pondeuses d'œufs de consommation et une analyse sur des aliments destinés aux porcs ont détecté la présence d'une salmonelle réglementée. Cependant, celles-ci n'ont pas été confirmées. Les autres résultats « à surveiller » ont fait état de la présence de sérovars non réglementés. En 2010, la prévalence moyenne *Salmonella* spp sur les aliments finis est estimée à 0,5%. Depuis 2005, première année de collecte des résultats salmonelles sur produits finis, la prévalence est passée de 1,5% en 2005 à 0,5% en 2010 (figure 1).

La surveillance officielle

Le suivi des salmonelles en alimentation animale fait l'objet d'un plan de surveillance national annuel par la DGAL, coordonné avec la DGCCRF. Il concerne le suivi des contaminations par des salmonelles, à la fois dans les matières premières à destination de la fabrication d'aliments pour animaux, mais également dans les matières premières ou aliments composés distribués aux animaux en élevage. Environ 250 prélèvements sont réalisés chaque année par les services officiels. Depuis 2002, la prévalence observée est très faible, voire nulle, avec seulement deux prélèvements détectés positifs : un échantillon d'aliment pour les porcs en 2009 contaminé par *S. Stourbridge* et un échantillon de farine de poisson en 2003 contaminé par *S. Havana*. En l'absence de critère microbiologique réglementaire pour les aliments pour animaux, une notification est faite aux professionnels ; cependant, les lots contaminés ne font pas l'objet de mesure de gestion immédiate. Toutefois, pour les troupeaux de plus de 250 volailles de reproduction des espèces *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo*, les exploitants ont l'obligation de se fournir en aliments composés auprès d'usines de fabrication dites « agréées salmonelles ». Cet agrément est délivré aux usines de fabrication qui garantissent le respect de la maîtrise du danger *Salmonella* dans la fabrication et le transport des aliments composés vers ces élevages.

La surveillance active des denrées alimentaires

À ce jour, très peu de données d'autocontrôles des professionnels sont rendues publiques. On peut citer cependant l'observatoire du Synalaf, syndicat représentant les filières de production de labels avicoles en France (Label Rouge et Bio). Le Synalaf a mis en place un observatoire interne de la qualité microbiologique en collaboration avec des experts scientifiques de l'Anses (conseils sur le choix des indicateurs, représentativité et collecte des données, harmonisation et interprétation des résultats...), sur les produits à l'abattoir dans un premier temps, et sur les volailles en fin d'élevage plus récemment [4]. L'ensemble de la filière française de volailles Label Rouge participe à cet observatoire, qui a permis de collecter les résultats de 4 000 analyses en 1991 à 6 000 analyses en 2011. Une diminution de la contamination des carcasses par *Salmonella* a été observée depuis 1995, s'accroissant depuis 1999 pour atteindre une prévalence de moins de 1% depuis 2003 (figure 2). Cette évolution est associée à la mise en place des plans de lutte en amont de la filière, notamment à l'égard des sérovars *Enteritidis* et *Typhimurium* visés dès les années 1990 par la directive 92/117/CEE.

Au sein de la filière, le succès de cette approche est lié à une volonté collective de connaissance et d'amélioration continue de la production. Si la confidentialité des données a été assurée dans un premier temps, les professionnels ont ensuite souhaité rendre ces données publiques afin qu'elle puissent être régulièrement utilisées dans le cadre de négociations européennes et nationales pour défendre le statut des volailles Label Rouge élevées en plein

Figure 1 Évolution de la prévalence en *Salmonella* spp. dans les aliments finis (toutes espèces animales confondues) depuis 2006 (source : Oqualim, France) / Figure 1 Prevalence trends of *Salmonella* spp. in finished foods (all animal species included) since 2006 (source: OQUALIM, France)

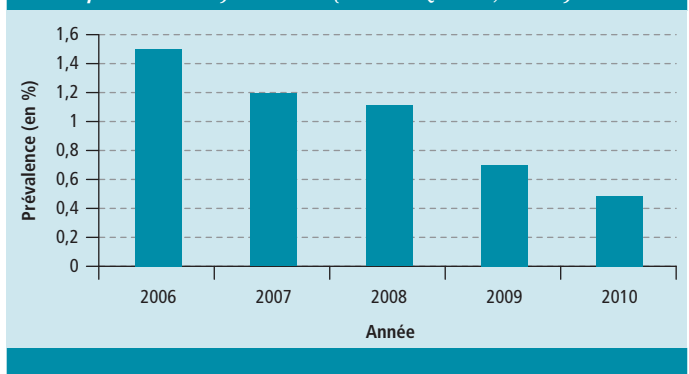
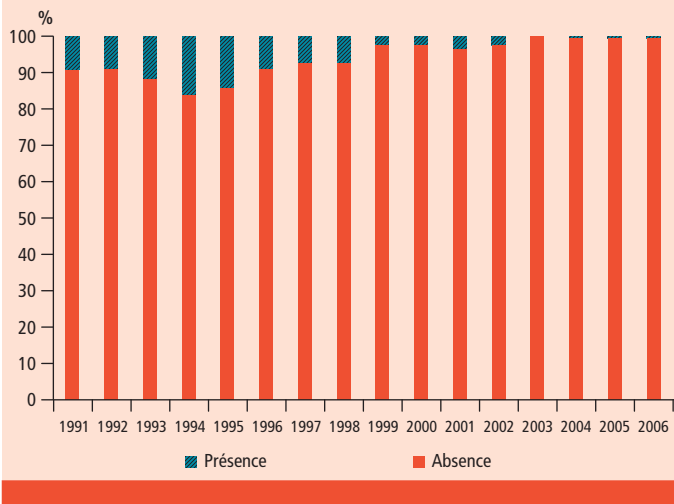


Figure 2 Évolution de la contamination des carcasses entières de poulets Label Rouge par *Salmonella* spp. (source : Synalaf, France) / Figure 2 Trends in the *Salmonella* spp. contamination in whole labeled poultry carcasses (source: SYNALAF, France)



air. Cet observatoire a permis de collecter des données qui n'existent pas par ailleurs. Depuis 20 ans, des objectifs d'amélioration ont été définis et atteints.

En dehors de cet exemple, la majeure partie des informations publiées sur le niveau de contamination des aliments repose sur les plans de surveillance organisés par les administrations de contrôle, dans un contexte national ou communautaire.

Les plans de surveillance mis en place par les autorités correspondent à une surveillance active destinée à collecter des données représentatives de la contamination nationale aux différentes étapes de la chaîne alimentaire. Les résultats les plus récents des plans de surveillance de la contamination des aliments par *Salmonella* sont détaillés dans le tableau 2.

En 2010, la surveillance à l'abattoir a mis en évidence un effet « abattoir » caractérisé par un niveau de contamination relativement stable dans un établissement donné, pour plusieurs interventions. Ces résultats complètent ceux obtenus en 2008, dans 58 abattoirs, sur la prévalence de *Salmonella* et sur les facteurs de risque de contamination des carcasses de poulet de chair [9]. La prévalence observée était de 7,5% [5,0-10,1] (N=425). Une analyse des données par régression logistique a identifié deux facteurs de risque potentiels : *Gallus gallus* comme seule espèce de poulet abattue dans

l'abattoir (Odds Ratio=7,08) et quand moins de deux personnes étaient présentes à l'étape d'éviscération (OR=4,7). Cette dernière variable traduit l'importance de l'étape d'éviscération dans la contamination croisée à l'abattoir déjà décrite dans d'autres études [10].

Au stade de la production, les résultats des plans de surveillance en filière avicole indiquent une contamination des VSM (viandes séparées mécaniquement), des préparations de viande et des viandes hachées de l'ordre de 20%, sans différence significative entre ces types de produits, ni entre les espèces de volailles.

Au stade de la distribution, les résultats 2009-2010 indiquent que la prévalence dans les viandes fraîches de dinde est significativement plus élevée que dans les viandes fraîches de poulet ou de porc. Pour la volaille, la présence de peau est un facteur de contamination plus importante. Néanmoins, dans les viandes fraîches, la majorité des échantillons contaminés présente un niveau de contamination inférieur au seuil de dénombrement (1,6 UFC/g).

Du point de vue qualitatif, le sérovar Indiana est celui retrouvé majoritairement dans les produits issus des filières avicoles à tous les stades de la chaîne alimentaire. Dans ces filières soumises au plan de lutte en production primaire, les sérovars d'intérêt pour la santé publique sont rares. Dans la viande fraîche de porc, même si la prévalence de la contamination est relativement faible, le sérovar *Typhimurium*, incluant le variant monophasique S. 1,4,[5],12:i:-, a été identifié plus fréquemment (3/8 échantillons contaminés détectés dans le cadre du plan de surveillance sur les viandes fraîches à la distribution).

La surveillance événementielle des *Salmonella* isolées de la chaîne alimentaire

Parallèlement aux dispositifs de surveillance actifs, une surveillance événementielle des contaminations de la chaîne alimentaire a été mise en place par le réseau *Salmonella*¹. Ce réseau regroupe plus de 150 laboratoires vétérinaires volontaires, privés et publics, couvrant la majorité des départements français. Il est animé par le Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses de Maisons-Alfort. L'un de ses principaux objectifs est de collecter et caractériser, au niveau national, les types de *Salmonella* d'origine non humaine. Depuis 2000, cette activité rassemble environ 14 500 souches de salmonelles par an, permettant d'apprécier la diversité des salmonelles sur l'ensemble de la chaîne alimentaire et d'en suivre l'évolution dans les différents secteurs, de l'animal jusqu'au consommateur. Le réseau *Salmonella* permet également de recueillir des informations qui ne seraient pas disponibles par ailleurs, dans certaines filières (filiale porcine, notamment) ou pour des sérovars rares ou non couverts par la réglementation.

Les informations épidémiologiques, combinées aux données de caractérisation des souches, sont exploitées régulièrement dans le cadre de prévention ou d'investigation de toxi-infections alimentaires collectives [11], ainsi que d'épidémies communautaires [12], en collaboration avec le CNR des *Salmonella*, l'InVS et les autorités de contrôle.

La stabilité de fonctionnement du réseau depuis plusieurs années rend possible une analyse temporelle permettant de mettre en évidence l'évolution de la fréquence d'isolement de sérovars particuliers (figure 3) ou la détection statistique de phénomènes ponctuels, inhabituels, susceptibles d'être considérés comme des signaux précoces sur la chaîne alimentaire [12;13].

La gestion des alertes

En France, la gestion des alertes sanitaires liées aux aliments passe par une détection précoce des cas humains en lien avec l'alimentation ou des non-conformités sur des produits. Dans le premier cas, les alertes sont déclenchées soit par les services déconcentrés de l'État, soit par les administrations centrales après un signalement de l'InVS. Dans le second cas, les alertes émanent majoritairement des autocontrôles des professionnels de l'agroalimentaire, conformément aux exigences de l'article 19 du règlement (CE) n°178/2002, ou encore des contrôles et de la surveillance exercés par les services officiels.

L'efficacité de ce dispositif repose également sur une gestion centralisée par la DGAL pour les produits d'origine animale et par la DGCCRF pour les autres produits alimentaires et le lait infantile.

Ces alertes peuvent aussi trouver leur origine dans d'autres pays suite à la détection sur leur territoire de non-conformités pouvant avoir un impact

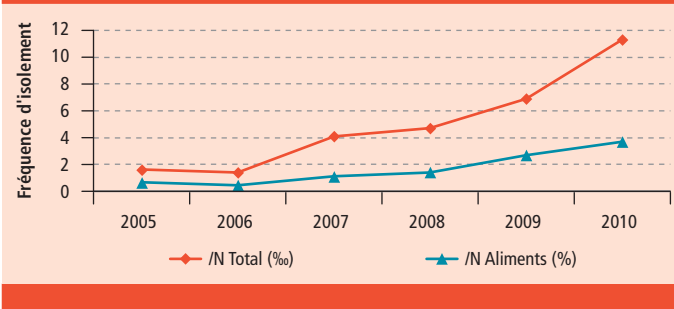
Tableau 2 Surveillance officielle de la contamination par *Salmonella* des denrées alimentaires d'origine animale à différents stades de la chaîne, France / Table 2 Official surveillance of contamination of animal feed due to *Salmonella* at various stages of the production chain, France

Stade/matrice (année)	Filière	Nombre de prélèvements (N)	Prévalence <i>Salmonella</i> (%) [IC95%]
Abattoir / carcasse ¹ (2010)	Poulet	67	10,4 [4,3-20,4]
	Dinde	30	16,7 [5,6-34,7]
Production / VSM ¹ (2010+2006)	Poulet	76	21,1 [13,4-28,7]
	Dinde	168	17,9 [13,0-22,7]
Production / préparations de viandes, viandes hachées ¹	Poulet	26	11,5 [2,5-30,2]
	Dinde	26	15,4 [4,4-34,9]
Distribution / viandes fraîches ¹ (2010+2009)	Poulet	691	2,5 [1,5-3,4]
	Dinde	323	7,4 [5,0-9,8]
	Porc	327	2,4 [1,1-4,8]
Distribution / préparations de viande et produits à base de viande ¹ (2008)	Volailles	72	4,2 [1,5-11,5]
	Porc	78	5,1 [2,1-12,5]
	Porc et volaille	18	5,6 [1,3-26,0]
Distribution / produits à base de viande (2010) ²	Porc	490	0 [0,0-0,6]
Première mise sur le marché / végétaux à consommer crus (2011) ²	Fruits, légumes, herbes aromatiques	806	0 [0,0-0,4]

*Viande séparée mécaniquement. Sources : ¹ Plans de surveillance DGAL [5-8] ; ² Plan de surveillance DGCCRF.

¹ <http://www.ansespro.fr/reseauSalmonella/>

Figure 3 Évolution de la fréquence d'isolement du sérovar *S.* 1,4,[5],12:i:- dans les aliments depuis 2005 par rapport au nombre total de souches d'origine alimentaire, France (source : Réseau Salmonella) | **Figure 3** Trend in the frequency of *S.* 1,4,[5],12:i:- serotype isolated in food since 2005 compare to the total number of animal strains, France (source: Salmonella Network)



sur la France. La transmission de ces alertes s'effectue très rapidement au moyen d'un réseau national piloté soit par la DGCCRF, soit par la DGAL, en relation permanente avec le réseau européen RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*), et parfois avec le réseau international INFOSAN (*International Food Safety Authorities Network*) mis en œuvre par l'Organisation mondiale de la santé (OMS).

Sur la base d'une appréciation de la situation, des mesures de gestion adaptées sont mises en œuvre et leur effectivité est contrôlée. La définition et la mise en place des mesures (retrait et/ou rappel des denrées alimentaires) relèvent en premier lieu des professionnels. L'administration vérifie la pertinence et la bonne application de celles-ci et, si nécessaire, en prescrit d'autres. Ces mesures sont complétées par des actions correctives ou préventives au sein des établissements concernés, voire de suites administratives, pouvant aller jusqu'à la fermeture d'un établissement ou des poursuites judiciaires.

Les alertes donnent lieu régulièrement à une analyse par les services officiels en vue d'une consolidation du socle préventif réglementaire ou d'un ciblage des contrôles. Les bilans sont également exploités par les professionnels, soucieux d'une amélioration permanente de la qualité sanitaire de leurs productions.

Conclusion

La surveillance des salmonelles sur la chaîne alimentaire en France repose aujourd'hui sur différents dispositifs complémentaires, intégrés ou non à la réglementation.

Les données de surveillance des aliments sont collectées par les professionnels de manière continue dans le cadre de leurs autocontrôles ; elles sont sectorisées et spécifiques de l'analyse de danger de chaque type de production. Les données de surveillance des aliments collectées par les autorités de contrôle sont représentatives du niveau de contamination dans une matrice donnée au niveau national, mais restent le plus souvent ponctuelles, avec une faible précision sur le niveau de la contamination compte tenu du nombre limité d'échantillons. À ce jour, une comparaison des données entre ces deux dispositifs reste délicate compte tenu des différences de contexte, de protocole d'échantillonnage et éventuellement de méthodes utilisées.

Le dispositif actif de surveillance des salmonelles dans les aliments est étroitement associé au dispositif de surveillance en production primaire. À ce titre, il vise concrètement la filière avicole longtemps considérée comme un des réservoirs majeurs de salmonelles et des principaux sérovars d'intérêt en santé publique. Le dispositif événementiel pour les salmonelles de la chaîne alimentaire complète le dispositif national, en couvrant toute matrice et tout sérovar ne relevant pas nécessairement de la réglementation. Cette surveillance continue apporte des informations sur la diversité et l'évolution de la contamination dans différents secteurs de la chaîne alimentaire. De plus, ce réseau apporte des informations plus fines sur l'écologie des salmonelles, et nécessaires aux travaux d'analyse de risque et à la gestion de contaminations. Le typage des souches et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques peuvent être exploités par exemple dans des études d'attribution des cas de salmonelloses humaines selon les différentes sources alimentaires [14;15]. Des perspectives de mise à disposition de bases de données

moléculaires sont en cours, au niveau national [16] et européen, afin de partager ces informations en temps réel entre les acteurs de la surveillance, d'identifier le plus précocement possible des contaminations susceptibles de présenter un risque pour le consommateur et prévenir leur dissémination.

L'organisation des dispositifs actuels et la collaboration entre les différents acteurs (professionnels, autorités de contrôle, agences sanitaires, laboratoires et centre de référence) contribuent à la réactivité du système en cas de gestion d'aliments non conformes. Du point de vue de la surveillance épidémiologique, le dispositif actuel est l'un des plus complets pour un agent responsable de zoonoses d'origine alimentaire ; il permet de collecter des données fondant des mesures de gestion de la contamination aux différentes étapes de la chaîne alimentaire. Les travaux doivent être néanmoins poursuivis afin de constituer une base robuste pour l'analyse de risque. Dans ce contexte, la prochaine étape consiste à mutualiser les données obtenues des différentes sources et à les analyser selon une approche multifactorielle ; c'est l'un des enjeux de la section sanitaire de l'Observatoire de l'alimentation qui se met en place depuis début 2012, en étroite collaboration entre les professionnels, l'Anses et les autorités de contrôle.

Références

- [1] Weill FX, Le Hello S. Centre national de référence des *Salmonella*. Rapport d'activité annuel 2009. Paris: Institut Pasteur ; 2010. 71 p. Disponible à : <http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/01s-00004f-0re/ra-cnr-salm-2009.pdf>
- [2] Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 192 p. Disponible à : http://www.invs.sante.fr/publications/2004/inf_origine_alimentaire/index.html
- [3] David J, Danan C, Chauvin C, Chazel M, Souillard R, Brisabois A, et al. Structure of the French farm-to-table surveillance system for *Salmonella*. *Revue Méd Vét.* 2011;10(162):489-500.
- [4] Salvat G, Laszczyk-Legendre A, Cuenot M. Qualité bactériologique des poulets fermiers Label Rouge : bilan de 16 ans de surveillance par la filière. *TeMA.* 2008;(7)12-7.
- [5] Note de service DGAL/SDSSA/N2011-8207 du 12 septembre 2011. Résultats du plan de surveillance 2010 de la contamination microbiologique des carcasses de poulet et de dinde à l'abattoir.
- [6] Note de service DGAL/SDSSA/N2011-8111 du 16 mai 2011. Résultats du plan de surveillance 2010 de la contamination microbiologique des viandes séparées mécaniquement (VSM) dites « viandes gros grains » de volaille au stade de la production.
- [7] Note de service DGAL/SDSSA/N2009-8241 du 17 août 2009. Résultats du plan de surveillance 2008 de la contamination par *Salmonella* des préparations de viande et produits à base de viande de volaille et de porc au stade de la distribution.
- [8] Note de service DGAL/SDSSA/N2007-8123 du 22 mai 2007. Résultats du plan de contrôle 2006 de la contamination par *Salmonella* des produits contenant des viandes hachées de volaille et certaines VSM.
- [9] Hue O, Le Bouquin S, Lalande F, Allain V, Rouxel S, Petetin I, et al. Prevalence of *Salmonella* spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008. *Food Control.* 2011;22(8):1158-64.
- [10] Rosenquist H, Sommer HM, Nielsen NL, Christensen BB. The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. *Int J Food Microbiol.* 2006;108(2):226-32.
- [11] Bone A, Noël H, Le Hello S, Pihier N, Danan C, Raguenaud ME, et al. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,12:i:- infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010. *Euro Surveill.* 2010;15(24):pii=19592. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19592>
- [12] Fisher IS, Jourdan-Da-Silva N, Hächler H, Weill FX, Schmid H, Danan C, et al. Human infections due to *Salmonella* Napoli: a multicountry, emerging enigma recognized by the Enter-net international surveillance network. *Foodborne Pathog Dis.* 2009;6(5):613-9.
- [13] Danan C, Baroukh T, Moury F, Jourdan-Da-Silva N, Brisabois A, Le Strat Y. Automated early warning system for the surveillance of *Salmonella* isolated in the agro-food chain in France. *Epidemiol Infect.* 2011;139(5):736-41.
- [14] Wahlström H, Andersson Y, Plym-Forsell L, Pires SM. Source attribution of human *Salmonella* cases in Sweden. *Epidemiol Infect.* 2011;139(8):1246-53.
- [15] Pires SM, Evers EG, Van Pelt W, Ayers T, Scallan E, Angulo FJ, et al; Med-Vet-Net Workpackage 28 Working Group. Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. *Foodborne Pathog Dis.* 2009;6(4):417-24.
- [16] Feurer C, Marault M, Danan C, Guizard C, Roussel S. Setting up a French molecular sub-typing database for *Salmonella* surveillance in the pig and pork industry [Poster]. International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis. 28-30 June 2010, Saint-Malo (France).

Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France

Véronique Vaillant (v.vaillant@invs.sante.fr)¹, Nathalie Jourdan-Da Silva¹, Marie-Laure Quilici², Elisabeth Couturier¹, Soyizc Le Guyader³, Gilles Delmas¹, Jean-Claude Le Saux³

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

3/ Institut français pour l'exploitation de la mer (Ifremer), Laboratoire de microbiologie, Nantes, France

2/ Centre national de référence des vibrions et du choléra, Institut Pasteur, Paris, France

Résumé / Abstract

Les coquillages filtrent des volumes d'eau importants afin de satisfaire leurs exigences nutritionnelles et ingèrent ainsi le phytoplancton, mais concentrent également les micro-organismes présents dans l'eau naturellement (vibrions, phycotoxines) ou d'origine fécale rejetés en mer par voie hydrique (virus entériques, entérobactéries, protozoaires). L'analyse des données issues des systèmes contribuant à la surveillance des toxi-infections liées à la consommation de coquillages et des investigations d'épidémies publiées montre que, en France, les toxi-infections liées à la consommation de coquillages sont principalement d'origine virale, dues majoritairement aux norovirus et secondairement au virus de l'hépatite A (VHA). Le risque lié aux phycotoxines apparaît faible et celui lié aux entérobactéries et aux vibrions très faible. La déclaration obligatoire (DO) des Tiac reste le système le plus performant pour la surveillance et la détection d'effets sanitaires liés à la consommation de coquillages. Cette DO pourrait être renforcée dans les zones conchylicoles, d'une part en augmentant son exhaustivité par une sensibilisation des déclarants potentiels dans la zone surveillée et, d'autre part, en augmentant le nombre et la qualité des investigations. En termes de prévention, les systèmes de surveillance du milieu et des coquillages adaptés aux risques phycotoxiques et bactériologiques pourraient être complétés par une approche préventive des contaminations fécales, basée principalement sur la sécurisation des systèmes d'assainissement et le partage entre les partenaires des signaux d'alerte permettant de suspecter ou anticiper une contamination du milieu, afin que des mesures de sauvegarde des coquillages puissent être mises en œuvre par les conchyliculteurs.

Surveillance of biological risks associated to shellfish consumption in France

Shellfish filter large volumes of water to meet their nutritional requirements and thus ingest phytoplankton, but also concentrate microorganisms naturally present in water (vibrions, phycotoxins) or of fecal origin (enteric viruses, enterobacteria, protozoan). The analysis of data from systems contributing to the surveillance of foodborne illnesses associated with shellfish consumption and from published outbreak investigations shows that, in France, foodborne illnesses associated with shellfish consumption are mainly of viral origin, mostly due to norovirus followed by hepatitis A virus. The risk linked to phycotoxins appears low and the one related to enterobacteria and vibrions very low. The mandatory notification (MN) of foodborne outbreaks remains the most effective system for the surveillance and detection of health effects associated with shellfish consumption. MN could be enhanced in shellfish growing areas, by increasing its completeness by the mean of raising awareness among potentially notifying persons, and by increasing the quantity and quality of investigations. In terms of prevention, the environmental and shellfish monitoring suitable for bacterial and phycotoxin risks could be reinforced by a preventive approach to fecal contamination. This approach could be based primarily on securing the sanitation system and also on sharing information allowing to suspect or anticipate environmental contamination among concerned partners so that shellfish safety measures could be implemented by shellfish farmers.

Mots clés / Key words

Toxi-infections alimentaires, coquillages, phycotoxines, risques biologiques, surveillance épidémiologique, déclaration obligatoire, France / Foodborne illnesses, shellfish, phycotoxins, biological risks, epidemiological surveillance, mandatory notification, France

Introduction

Les coquillages filtrent des volumes d'eau importants afin de satisfaire leurs exigences nutritionnelles et respiratoires. Ils ingèrent ainsi le phytoplancton, mais concentrent également dans leur tractus digestif des micro-organismes présents dans l'eau qui peuvent être à l'origine de toxi-infection alimentaire. Il s'agit, d'une part, de micro-organismes excrétés dans les fèces de l'Homme et des animaux (virus entériques, bactéries entéropathogènes, protozoaires) rejetés en mer par la voie hydrique, provenant directement de l'Homme (rejets domestiques), des activités industrielles (rejets industriels) ou agricoles (épandage d'effluents d'élevages) et, d'autre part, de micro-organismes présents naturellement dans le milieu marin (vibrions, phycotoxines produites par les phycoplanctons).

Les virus entériques (*Caliciviridae* (norovirus et sapovirus), rotavirus, astrovirus, adénovirus des sous-types 40 et 41, entérovirus et parechovirus) et les virus des hépatites A (VHA) et E (VHE), incapables de se multiplier en l'absence de cellules-hôtes, peuvent cependant persister et rester infectieux plusieurs jours voire semaines dans l'eau de mer. Les norovirus sont à l'origine de la majorité des épidémies associées à la consommation d'huîtres publiées dans le monde. Le VHA est le deuxième micro-organisme le plus fréquemment en cause dans ces épidémies.

Les entérobactéries potentiellement présentes dans les coquillages (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*) survivent moins longtemps que les virus dans l'eau de mer. Elles sont beaucoup plus rarement à l'origine d'infections transmises par consommation de coquillages.

Des parasites pathogènes pour l'Homme (protozoaires (*Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma gondii*), *Cyclospora cayatanensis*, microsporidies) ont été mis en évidence principalement dans les mollusques bivalves. Les protozoaires, en raison d'une phase de dissémination environnementale dans leur cycle et de

leur extrême résistance dans le milieu extérieur, constituent un risque théorique d'infections par consommation de coquillages, mais aucune épidémie attribuée à la consommation de coquillages et liée à ces agents n'a été rapportée à ce jour dans le monde.

Certains vibrions pathogènes pour l'Homme (*Vibrio cholerae* O1 et O139, *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139, *Vibrio parahaemolyticus*) sont présents naturellement dans l'eau de mer ou les sédiments marins. La majorité des épidémies d'origine bactérienne liées à la consommation de coquillages, rapportées dans le monde, sont dues à *Vibrio parahaemolyticus*. Elles ont surtout été décrites en Amérique du Nord et majoritairement corrélées à la consommation d'huîtres. La prévalence et la densité de ces vibrions sont liées à la température de l'eau de mer avec une augmentation en période chaude (>16°C).

Découvertes dans les années 1980, les phycotoxines produites par quelques espèces phytoplanctoniques sont classiquement distinguées en quatre groupes en fonction des symptômes induits : les toxines diarrhéiques liposolubles (DSP), produites notamment par des espèces du genre *Dinophysis* (acide okadaïque, dinophysistoxines, azaspiracide) ; les toxines paralysantes hydrosolubles (PSP) produites notamment par le genre *Alexandrium*, dont la plus connue est la saxitoxine (STX) ; les toxines amnésiantes hydrosolubles (ASP), produites notamment par des diatomées du genre *Pseudo-nitzschia*, constituées principalement par l'acide domoïque (AD) ; les toxines neurologiques liposolubles (NSP), constituées des brevétoxines. Des contaminations de la production conchylicole par au moins une des familles de phycotoxines (hormis les NSP) ont été observées dans tous les pays de l'Union européenne, dont la France.

La conchyliculture française, avec une production moyenne de 200 000 tonnes de coquillages par an (dont 130 000 tonnes d'huîtres et 65 000 tonnes de moules), se classe au deuxième rang européen [1]. Les risques biologiques liés à la consommation de coquillages représentent donc une importante

préoccupation de santé publique en France. Deux réseaux de surveillance des zones de production des coquillages ont ainsi été mis en œuvre par l'Institut français pour l'exploitation de la mer (Ifremer). Le réseau microbiologique (Remi), basé sur l'analyse régulière de l'indicateur de contamination fécale *Escherichia coli*, permet d'évaluer et de suivre dans le temps le niveau de contamination des coquillages des zones de production, de détecter des épisodes inhabituels de contamination et de mettre en place des mesures de gestion en déterminant le niveau de classement sanitaire (Règlement CE 854/2004). Le réseau RePHY (Réseau de surveillance phytoplanctonique) effectue une surveillance des zones de production de coquillages afin de suivre la présence d'espèces de phytoplancton producteur de toxines dans les eaux et de toxines dans les coquillages. Des résultats supérieurs au seuil de sécurité sanitaire (déterminé au niveau européen) entraînent la fermeture temporaire des zones concernées. Le réseau des Laboratoires départementaux d'analyses réalise des analyses sur les coquillages commercialisés et les produits importés.

La surveillance des toxi-infections liées à la consommation de coquillages est assurée par différents systèmes : la déclaration obligatoire (DO) des toxi-infections alimentaires collectives (Tiac), la DO de l'hépatite A, la DO des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, la DO du choléra et la surveillance du Centre national de référence (CNR) du choléra et des vibrions. Les informations issues d'investigations approfondies d'épidémies complètent les données de ces surveillances. Nous présentons une synthèse des informations disponibles sur les toxi-infections liées à la consommation des coquillages en France, à partir de ces sources de données.

Synthèse des données disponibles

Données issues de la déclaration obligation (DO) des Tiac

De 1996 à 2010, 561 (5%) des 11 261 Tiac déclarées ont été attribuées à la consommation de coquillages. Ces 561 foyers ont été à l'origine de 4 338 malades (3% du nombre total de malades rapportés pour l'ensemble des Tiac déclarées) et 179 hospitalisations (2% du nombre total d'hospitalisations rapportées pour l'ensemble des Tiac déclarées). Un seul décès a été rapporté lors d'une Tiac sans agent mis en évidence. Le nombre annuel de foyers de Tiac a varié de 18 à 131, représentant entre 3% et 14% de l'ensemble des Tiac déclarées sans tendance évolutive notable. Un agent pathogène a été confirmé ou suspecté dans 86% (480/561) des Tiac. Il s'agissait d'un virus pour plus de la moitié de ces Tiac (54%) et d'une DSP pour 26% d'entre elles (tableau 1).

Dix-sept des 29 foyers de Tiac à DSP déclarés, confirmés par mise en évidence de la toxine dans les coquillages, sont liés à 2 épisodes de contamination dans des zones conchylicoles du Morbihan : 1 en 2007 à l'origine de 6 foyers de Tiac (109 cas identifiés) dus à des moules contaminées par des DSP du groupe OA ; 1 en 2009 à l'origine de 11 foyers de Tiac (45 cas identifiés), dus à des moules contaminées par de l'acide okadaïque (OA) et une dinophysistoxine [2]. L'investigation de ce dernier épisode a montré que ces Tiac ont été le résultat d'une

augmentation très rapide de la densité de dinophysis dans la zone de production qui n'avait pas pu être détectée par la surveillance RePHY [2].

Seize épisodes de Tiac virales associées à la consommation de coquillages, à l'origine de plusieurs foyers ou d'un grand nombre de cas survenus en France entre 1992 et 2010, ont fait l'objet d'investigations approfondies et ont été publiés [3-10] (tableau 2). Ces Tiac sont toutes survenues en hiver, principalement en février-mars. Quatorze (87%) étaient liées à la consommation d'huîtres, une à la consommation de moules et une autre à la consommation de palourdes. Les coquillages suspectés provenaient des principaux bassins conchylicoles français : Manche, Atlantique et Méditerranée. Quatorze Tiac étaient liées à des coquillages de production. Des norovirus (identifiés comme calcivirus avant 2000) ont été mis en évidence pour les 11 épisodes de Tiac pour lesquelles un virus a été recherché dans les selles des patients ou dans les coquillages suspectés. Plusieurs souches de norovirus ont été retrouvées dans 6 épisodes et plusieurs virus entériques dans quatre. Ces contaminations multiples suggèrent une contamination, au niveau de la zone de production, par des eaux usées brutes ou insuffisamment traitées. L'origine de la contamination des coquillages, documentée pour 4 Tiac, était pour 3 d'entre elles consécutive à des dysfonctionnements des réseaux d'eaux usées littorales lors de fortes pluies, pendant la période épidémique hivernale de gastro-entérite aiguë (GEA) virale dans la population.

Trois Tiac bactériennes liées à la consommation de coquillages importés ont également fait l'objet de publications :

- deux Tiac à *Vibrio parahaemolyticus* :
 - une survenue en 1997, à l'origine de 40 cas de GEA dans un régiment du Var, attribuée à la consommation d'une sauce aux crustacés préparée avec des moules et des crevettes surgelées importées d'Asie [11] ;
 - une autre, en 2001, avec 11 foyers à l'origine de 100 cas liés à la consommation de moules en provenance de deux zones de production en Irlande [12].
- une Tiac à *Shigella flexneri* attribuée à la consommation d'une salade composée contenant des moules et des crevettes congelées importées d'Asie, survenue en juillet 1995 [13].

Données de la DO de l'hépatite aiguë A et des investigations d'épidémies

L'hépatite aiguë A est une maladie à DO depuis novembre 2005. De 2006 à 2010, 6 349 cas d'hépatite A ont été déclarés. Parmi les expositions à risque recueillies dans les fiches de notification, la consommation de fruits de mer dans les 2 à 6 semaines précédant le début des symptômes a été rapportée pour 23% (990) des 3 257 cas pour lesquels cet item était renseigné. La consommation d'huîtres était notée pour 44% des 809 cas renseignés. Les facteurs de risque d'acquisition d'une hépatite A étant multiples, il n'est pas possible de déterminer, devant un cas isolé, si son infection est due à la consommation de fruits de mer même s'ils ont été consommés pendant la période à risque. Le lien ne peut être établi que lors de la survenue d'épidémies et après une investigation multidisciplinaire approfondie.

Six épidémies d'hépatite A attribuées à la consommation de coquillages survenues en France depuis 1991 ont été investiguées et publiées [14-18] (tableau 3). Toutes sauf une sont survenues en période hivernale, période de forte consommation des coquillages. Quatre se sont produites sur le littoral Atlantique-Manche, dont 2 dans la zone d'élevage conchylicole de la baie de Paimpol en 1999 et 2007 et 2 en Languedoc-Roussillon, dont 1 a pu être attribuée à des huîtres provenant de l'étang de Thau.

Données de la DO des fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes et de la DO du choléra

Aucun cas de fièvre typhoïde ou paratyphoïde autochtone ni de cas de choléra liés à la consommation de coquillages n'ont été rapportés par la DO de ces maladies.

Données du CNR des vibrions non cholériques (VNC)

Les infections à VNC sont surveillées par le CNR des vibrions et du choléra (Institut Pasteur, Paris). De 1995 à 2010, ce CNR a recensé au total 142 cas d'infections à VNC. Parmi les 94 cas pour lesquels l'information concernant la source probable de contamination était disponible, 37 (39%) (24 à *Vibrio cholerae* et 13 à *Vibrio parahaemolyticus*) avaient rapporté la consommation de produits de la mer. Parmi ces 37 cas, 26 étaient des cas autochtones qui avaient consommé des produits de la mer en France (14 à *V. cholerae* non-O1/non-O139 et 12 à *V. parahaemolyticus*). Par ailleurs, parmi les 48 cas d'infection à VNC pour lesquels l'information concernant la source probable de contamination n'était pas

Tableau 1 Agents confirmés ou suspectés dans les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) déclarées pour lesquelles des coquillages ont été confirmés ou suspectés comme source de contamination. France, 1996-2010 | Table 1 Confirmed or suspected micro-organisms in notified foodborne outbreaks where shells were confirmed or suspected as a source of contamination. France, 1996-2010

Agents	Nombre de foyers		
	Confirmés ¹	Suspectés ¹	Total (%) ²
Virus	84	167	251 (54)
dont norovirus précisé	68	77	145 (31)
<i>Salmonella</i> spp	23	12	35 (8)
<i>Clostridium perfringens</i>	0	5	5 (1)
<i>Bacillus cereus</i>	0	1	1 (0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	17	17 (4)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	13 ³	3	16 (3)
DSP (<i>Diarrhetic Shellfish Poisoning</i>)	29 ⁴	92	121 (26)
Autre agent	9	10	19 (4)
Total agent connu	158	307	465
Agent inconnu			96
Total			561

¹ Confirmé par mise en évidence de l'agent chez le patient ou dans l'aliment suspect ; suspecté sur des arguments cliniques et épidémiologiques ; ² (%) : Part de ces foyers sur l'ensemble des foyers de Tiac à coquillages avec agent rapporté ; ³ 10 foyers d'infection à *Vibrio parahaemolyticus* en 2001 liés à la même source (moules d'Irlande) ; ⁴ 11 foyers en 2009 et 6 foyers en 2007 liés à 2 épisodes de contamination de moules produites dans le Morbihan.

Tableau 2 Bilan des 16 épisodes de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) virales liées à la consommation de coquillages publiés en France, 1992-2010 /
Table 2 Review of 16 episodes of viral foodborne outbreaks associated with shellfish consumption published in France, 1992-2010

Département de survenue [numéro de la référence]	Année	Nombre de cas recensés	Coquillages	Mois	Virus mis en évidence	Conditions suspectées de la contamination	Origine suspectée des coquillages
Hérault [3]	1992	61	Huîtres	Décembre	Calicivirus	Non déterminées	Étang de Thau (34) Zone classée A
Charente-Maritime [3]	1994	21	Palourdes	Mars	Calicivirus	Non déterminées	Inconnue
Loire-Atlantique [3]	1995	23	Huîtres	Mars		Fortes pluies et inondations en janvier sur tout le territoire français	Saint-Vaast-La Hougue (50) Bouin (85) Zones classées A
Loire-Atlantique [3]	1996	12	Huîtres	Février		Non déterminées	Pornic (44) Pêche à pied
Gironde [3]	1996	7	Huîtres	Février		Non déterminées	Bassin d'Arcachon (33) Zone classée A
Loire-Atlantique [3]	1996	23	Huîtres	Mars-avril		Non déterminées	Inconnue
Vienne [3]	1997	120	Huîtres	Mars	Calicivirus (2 souches) Rotavirus groupe A	Fortes pluies ayant entraîné un débordement du réseau de collecte des eaux usées en mer	Rivière de Saint-Philibert (56) Zone classée A
Nord, Orne, Rhône [3]	2000	Non rapporté	Huîtres	Février-mars		Dysfonctionnement de la station d'épuration placée en amont du lieu de stockage	Rivière du Jaudy (22) Zone classée B
Somme [4]	2001	19	Huîtres	Janvier	Norovirus génogroupe II (3 génotypes différents et génogroupe I) (2 génotypes différents) Patients et huîtres.	Non déterminées	Inconnue
Aude, Côte-d'Or, Hérault, Paris [5]	2002	69 (13 Tiac)	Huîtres	Novembre-décembre	Norovirus génogroupe II (3 génotypes différents) Patients et huîtres.	Non déterminées	Étang de Thau (34) 3 sites : Marseillan, Bouzigues, Meze Zone classée A
Seine-Maritime, Vendée [6]	2003	75 (34 Tiac)	Huîtres	Décembre	Norovirus génogroupe I Rotavirus Huîtres.	Non déterminées	Île de Ré (17)
Hérault, Gard, Haute-Garonne, Ardèche, Alpes-Maritimes, Bouches-du-Rhône, Meurthe et Moselle [7]	2006	203 (37 Tiac)	Huîtres	Février	8 virus entériques Norovirus (6 souches différentes), astrovirus (2 souches), rotavirus (2 souches), aichivirus, entérovirus. Patients et huîtres.	Dysfonctionnements sur les réseaux d'eaux usées littorales lors de 2 jours de fortes précipitations pendant une période d'épidémie hivernale de gastro-entérite	Étang de Thau (34) 3 sites : Marseillan, Bouzigues, Meze Zone classée B
Vendée [8]	2008	23	Huîtres	Février	Norovirus (2 souches) sapovirus, aichivirus. Patients et huîtres.		Pêche illégale dans un port (zone interdite à la pêche).
Loire-Atlantique [9]	2010	37 (2 foyers de Tiac non liés)	Huîtres pour le foyer 1 Moules pour le foyer 2	Janvier	Norovirus génogroupes I (2 génotypes) et II (2 génotypes). Patients et huîtres et moules.	Non déterminées	Huîtres impliquées dans le foyer 1 Rivière d'Auray & Petite mer du Gâvres (56) Zones classées A & B
Hérault [10]	2010	26 (+ autres Tiac liées à des huîtres de même origine)	Huîtres	Février	Norovirus, 3 souches différentes + sapovirus + astrovirus, enterovirus, virus Aichi chez les patients. Norovirus dans les huîtres.	Non déterminées	Étang de Thau, Site de Bouzigues Zone classée B

Sources : [2;19].

disponible, 15 cas de gastroentérite (potentiellement d'origine alimentaire et liés à la consommation de produits de la mer) étaient dus aux espèces *V. cholerae* (9 cas, 2 contractés en France, 7 à l'étranger) et *V. parahaemolyticus* (6 cas, 5 contractés en France, 1 à l'étranger).

On ne note pas d'évolution notable du nombre d'infections à VNC après consommation de produits de la mer identifiées ou confirmées au CNR.

Discussion

L'analyse des données disponibles à partir des systèmes de surveillance et d'investigations d'épidémies publiées montre qu'en France, les toxi-infections liées à la consommation de coquillages sont majoritairement d'origine virale, dues surtout aux norovirus et secondairement au VHA. Les phycotoxines apparaissent comme le deuxième agent en cause. Le risque lié aux entérobactéries et aux vibrions apparaît en revanche très limité.

Ces données doivent être interprétées en tenant compte des limites des systèmes de surveillance en termes d'exhaustivité et de qualité des données. En particulier, le nombre de Tiac à norovirus est probablement très sous-estimé en raison de la faible proportion de ces Tiac qui sont déclarées, du fait de la brièveté et de la relative bénignité des symptômes. À l'inverse, en l'absence d'investigation permettant d'imputer une Tiac à un aliment donné avec une bonne fiabilité, une Tiac peut être attribuée par excès à la consommation de coquillages en se basant sur les déclarations des malades ou des médecins déclarants qui considèrent les coquillages comme des aliments à risque. Ceci pourrait

expliquer les Tiac attribuées à des coquillages pour lesquelles l'agent suspecté est peu plausible (*S. aureus*, *C. perfringens* par exemple). La proportion de Tiac confirmées microbiologiquement à salmonelle est aussi très probablement surestimée, cette confirmation étant basée sur l'identification de la bactérie dans les selles et non dans les coquillages.

Suite à différentes crises sanitaires ayant touché plusieurs bassins de production conchylicole au cours des dernières années, des recommandations pour la surveillance, la prévention et la gestion du risque microbiologique « coquillages » ont été diffusées dans plusieurs avis et rapports de l'Anses [19-21]. Elles mettent en particulier l'accent sur l'importance majeure de la sécurisation des systèmes d'assainissement et proposent une approche préventive des contaminations. Cette dernière approche a été développée dans un protocole-cadre de gestion de la contamination des zones de production des coquillages par les norovirus diffusé en décembre 2011 par la Direction générale de l'alimentation [22]. Ce dispositif de prévention est mis en œuvre pendant l'épidémie hivernale de GEA virale. Il repose sur le recueil et le partage, par les partenaires locaux concernés, des signaux d'alerte permettant de suspecter ou anticiper une contamination virale du milieu (contamination fécale mise en évidence par la surveillance Remi, forte pluviométrie, dysfonctionnement des systèmes d'assainissement) afin que des mesures de sauvegarde des coquillages puissent être mises en œuvre par les conchyliculteurs et réduire le risque de Tiac. Les difficultés analytiques pour la recherche des virus dans les coquillages et l'absence de standardisation des méthodes restent un frein à la mise en place d'une surveillance de la contamination virale. Une étude de l'Ifremer en cours dans deux

Tableau 3 Épidémies d'hépatite A attribuées à la consommation de coquillages, France, 1991-2011 / Table 3 Outbreaks of hepatitis A attributed to the consumption of shellfish, France 1991-2011

Période	Lieu	Nombre de cas recensés	Coquillage incriminé ou suspecté	Imputabilité ¹	Génotype viral
Décembre 1991-mars 1992	Loire-Atlantique	402	Coquillages crus, huîtres Origine suspectée : Baie de la Vilaine	+/-	1A 1B
Décembre 1991-mars 1992	Morbihan	469	Coquillages crus, huîtres Origine inconnue	+/-	
Décembre 1996-mai 1997	Midi-Pyrénées	205	Huîtres Origine inconnue	+	
Février-mars 1999	Côtes d'Armor	33	Huîtres Origine : Baie de Paimpol Problème de traitement des eaux usées	+	
Décembre 1997-avril 1998	Hérault	45	Huîtres/moules Origine : Étang de Thau	++	1A 1B 3
Août-septembre 2007	Côtes d'Armor	104	Coquillages crus (majoritairement huîtres) Origine : Baie de Paimpol	+	3

¹ Niveaux d'imputabilité : +/- : basée sur enquête épidémiologique descriptive ; + : basée sur enquête épidémiologique analytique ; ++ : basée sur enquête épidémiologique et mise en évidence du VHA dans les coquillages.

zones ayant été à l'origine de plusieurs Tiac à norovirus depuis 2008, devrait permettre d'acquérir des données quantitatives sur la contamination du milieu, autour et pendant la période épidémique à risque, et de rechercher un niveau de base afin d'aider à la prévention et à la gestion des épidémies.

En ce qui concerne les micro-organismes naturels du milieu, la prolifération des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines et des vibrions ne pouvant être contrôlée, la surveillance du milieu et des coquillages reste la seule prévention pour éviter l'exposition des consommateurs.

Pour les vibrions, en raison des difficultés à détecter, dénombrer et caractériser leur pathogénicité et de l'absence de standardisation des méthodes, aucun système de surveillance systématique de ces bactéries dans le milieu n'a été mis en place à ce jour, situation qui pourrait évoluer du fait du développement récent de méthodes de détection et de quantification des *Vibrio* pathogènes. Les infections et les épidémies d'infections à vibrions dues à des coquillages produits sur le littoral français apparaissent très rares en France. L'exhaustivité des systèmes de surveillance pour ces agents est cependant inconnue et le nombre de cas pourrait être sous-estimé, en particulier du fait de l'absence de recherche de ces bactéries dans des coprocultures standards. Ces systèmes devraient cependant être en mesure de détecter des évolutions de tendance. Une augmentation de ces infections est en effet à craindre en lien avec le changement climatique.

Pour les phycotoxines, le dispositif de surveillance existant a permis de détecter, à plusieurs reprises, des épisodes de contamination des zones de production par DSP depuis 1984, de PSP depuis 1988 et d'ASP depuis 2000. Cette surveillance a entraîné la fermeture des zones contaminées et évité la mise sur le marché de coquillages potentiellement contaminés. Le nombre d'épisodes de contamination à l'origine de Tiac confirmées reste faible et le dispositif de prévention basé sur la surveillance apparaît donc efficace. Cependant, l'apparente extension observée, au cours de ces 3 dernières décennies, des zones géographiques touchées au niveau mondial et la découverte de nouvelles toxines, qui pourrait s'expliquer par l'amélioration des méthodes de détection mais qui pourrait aussi être en lien avec les activités humaines (transfert d'espèces dans l'eau des ballast des bateaux, eutrophisation des eaux côtières, changement climatique, etc.) [23], justifient des travaux de recherche pour une meilleure compréhension des phénomènes phycotoxiques et leur prévention. Les travaux communautaires visant à déterminer les types de toxines à rechercher et des seuils de toxicité ainsi qu'à développer des méthodes de détection quantitatives alternatives aux bio-essais sur souris sont particulièrement nécessaires.

La DO des Tiac reste le système le plus performant pour la surveillance et la détection d'effets sanitaires liés à la consommation de coquillages. Cette DO pourrait être renforcée dans les zones conchylicoles, d'une part en augmentant son exhaustivité par une sensibilisation des déclarants potentiels dans la zone surveillée (médecins mais aussi autres professionnels de santé, consommateurs, restaurateurs, distributeurs, etc.) et d'autre part en augmentant le nombre et la qualité des investigations.

Références

- [1] Comité national de la conchyliculture. Les statistiques [Internet]. Disponible à : <http://www.cnc-france.com/Les-statistiques.aspx>
- [2] Miossec L, Vaillant V. Épidémiologie des gastro-entérites virales associées à la consommation des coquillages. *Bull Soc Microbiol.* 2001;16:103-14.
- [3] Hossen V, Jourdan-da Silva N, Guillois-Bécel Y, Marchal J, Krys S. Food poisoning outbreaks linked to mussels contaminated with okadaic acid and ester dino-phystoxin-3 in France, June 2009. *Euro Surveill.* 2011;16(46):pii=20020. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20020>
- [4] Gilles C, de Casenove JN, Dubois E, Bon F, Pothier P, Kholi E, Vaillant V. Épidémie de gastro-entérites à norovirus liée à la consommation d'huîtres, Somme, janvier 2001. *Bull Epidémiol Hebd.* 2003;(8):47-8.
- [5] Barataud D, Doyle A, Gally A, Thiolet JM, Le Guyader S, Kholi E, et al. Toxi-infections alimentaires collectives à Norovirus, liées à la consommation d'huîtres de l'étang de Thau, France, décembre 2002. *Bull Epidémiol Hebd.* 2003;(38):77-9.
- [6] Lapidus N, Delmas G, Gally A. Toxi-infections alimentaires collectives liées à la consommation d'huîtres de l'île de Ré, France, décembre 2003. *Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2003.* 19 p. Disponible à : http://opac.invs.sante.fr/index.php?lvl=notice_display&id=4119
- [7] Le Guyader FS, Le Saux JC, Ambert-Balay K, Krol J, Serais O, Parnaudeau S, et al. Aichi virus, norovirus, astrovirus, enterovirus and rotavirus involved in clinical cases from a French oyster-related gastroenteritis outbreak. *J Clin Microbiol.* 2008;46(12):4011-7.
- [8] Le Guyader FS, Krol J, Ambert-Balay K, Ruvoen-Clouet N, Desaubliaux B, Parnaudeau S, et al. Comprehensive analysis of a norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):915-20.
- [9] Guillois-Bécel Y, Esvan M, Belichon S, Burel O, Le Saux JC, Loury P, et al. Investigation de deux foyers de toxi-infections alimentaires collectives liés à la consommation de coquillages en Loire-Atlantique, France, 2010. *Bull Epidémiol Hebd.* 2010;(37):390-2.
- [10] Viriot D, Cochet A, Watrin M, Benoit P, Moyano MB, Golliot F. Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective à germes multiples. *Stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010.* *Bull Epidémiol Hebd.* 2011;(25):289-92.
- [11] Lemoine T, Germanetto P, Giraud P. Toxi-infection alimentaire collective à *Vibrio parahaemolyticus*. *Bull Epidémiol Hebd.* 1999;(10):37-8.
- [12] Hervio-Heath D, Zidane M, Le Saux JC, Lozach S, Vaillant V, Le Guyader S, et al. Toxi-infections alimentaires collectives liées à la consommation de moules contaminées par *Vibrio parahaemolyticus* : enquête environnementale. *Bulletin épidémiologique Afssa-DGAL.* 2005;(17):1-2.
- [13] Cheftel E, Spiegel A, Bornert G, Morell E, Michel A, Buisson Y. Toxic food infection caused by *Shigella flexneri* in a military unit. *Santé.* 1997;7(5):295-9.
- [14] Nuiaouet C, Ponge A, Chambaud L, Raimondeau J. La surveillance et l'investigation : à propos de 2 épidémies d'hépatite virale dans des départements littoraux. *Bull Epidémiol Hebd.* 1993;(29):129-30.
- [15] Armengaud A, Daurat G, Guyonnet JP, Bourdiol Razes M, Lasalle JL. Épidémie d'hépatite virale A, département de l'Hérault, janvier-avril 1998. *XV^e Journées scientifiques Epiter; 25 septembre 1999, Veyrier-du-Lac.*
- [16] Delarocque-Astagneau E, Hemery C, Duchon C. Épidémie d'hépatites aiguës virales A, Midi-Pyrénées, 1997. *Rapport d'investigation. Saint-Maurice: RNSP;1998.* 25p.
- [17] Costa-Mattioli M, Monpoeo S, Schvoerer C, Besse B, Aleman MH, Billaudel S, et al. Genetic analysis of hepatitis A virus outbreak in France confirms the co-circulation of subgenotypes Ia, Ib and reveals a new genetic lineage. *J Med Virol.* 2001;65(2):233-40.
- [18] Guillois-Bécel Y, Couturier E, Le Saux JC, Roque-Afonso AM, Le Guyader FS, Le Goas A, et al. An oyster-associated hepatitis A outbreak in France in 2007. *Euro Surveill.* 2009;14(10):pii=19144. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19144>
- [19] Afssa. Évaluation du dispositif de surveillance microbiologique des zones de production conchylicole et du risque lié à la consommation des coquillages, notamment dans la situation du bassin d'Arcachon. *Maisons-Alfort : Afssa; 2008.* 81 p. Disponible à : <http://www.afssa.fr/Documents/MIC2006sa0254bRa.pdf>
- [20] Afssa. Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A. *Maisons-Alfort : Afssa; 2010.* 89 p.
- [21] Anses. Avis relatif à une évaluation du risque lié à la réouverture d'une zone conchylicole fermée pour cause de présence avérée de calicivirus (norovirus et sapovirus) dans les coquillages vivants. *Maisons-Alfort : Anses; 2011.* 18 p. Disponible à : <http://www.afssa.fr/Documents/MIC2011sa0022.pdf>
- [22] Note de service DGAL/SDSSA/N2011-8278 du 21 décembre 2011, relative à la contamination des zones de production de coquillages par les norovirus. *Protocole cadre de gestion.*
- [23] Van Dolah FM. Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ Health Perspect.* 2000;108(Suppl 1):133-41.

Surveillance de la listériose humaine en France, 1999-2011

Véronique Goulet (v.goulet@invs.sante.fr)¹, Alexandre Leclercq², Edith Laurent¹, Lisa A. King¹, Viviane Chenal-Francisque², Véronique Vaillant¹, Marie-Jo Letort¹, Marc Lecuit², Henriette de Valk¹

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

2/ Centre national de référence et Centre collaborateur de l'OMS des *Listeria*, Institut Pasteur, Paris, France

Résumé / Abstract

La listériose humaine est une maladie bactérienne qui se transmet par l'ingestion d'aliments contaminés. C'est une maladie à déclaration obligatoire. Un questionnaire alimentaire standardisé est complété par l'Agence régionale de santé pour chaque cas déclaré et transmis à l'Institut de veille sanitaire (InVS). Le Centre national de référence des *Listeria* (CNRL), situé à l'Institut Pasteur, contribue à la surveillance en caractérisant et génotypant les souches envoyées par les laboratoires. Ce typage permet de détecter rapidement les cas infectés simultanément avec une souche du même génotype, et à l'InVS de rechercher une source alimentaire commune dans les interrogatoires des cas signalés par le CNRL. En cas de suspicion d'une source commune, les investigations complémentaires sont effectuées par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et ses services départementaux. Depuis 2001, six investigations ont permis d'identifier une source commune et d'éviter une épidémie. Depuis 2006, l'incidence reste stable autour de 0,5 cas/100 000 d'habitants, avec chaque année environ 300 cas, 50 décès et une douzaine de morts fœtales ou de mort-nés. Les formes materno-néonatales représentent 15% des cas avec un ratio de 5 cas/100 000 naissances. L'incidence actuelle est proche de celle rapportée par la plupart des pays européens où l'on observe également une stabilité de l'incidence depuis 2007.

Surveillance of human listeriosis in France, 1999-2011

Human listeriosis is a mandatory notifiable bacterial foodborne disease. A questionnaire on food consumption is completed by the regional department in charge of public health and transmitted to the French Institute for Public Health Surveillance (InVS). The National Reference Centre for Listeria (NRCL) located at the Paris Pasteur Institute also contributes to the surveillance by characterizing and genotyping strains sent by hospital laboratories. This typing is useful to rapidly detect cases infected with strains of the same genotype, and for the InVS to search for a common foodborne source by analysing the interviews of cases identified by the NRCL. If a common source is suspected, investigations are made by the Ministry of Agriculture's services. Since 2001, six investigations have contributed to identifying a common source and preventing an outbreak. Since 2006, the incidence is relatively stable at around 0.5 cases/100,000 inhabitants with 50 deaths each year and around 12 foetal deaths or stillborn. Maternoneonatal cases represent 15% of cases of listeriosis with an annual ratio of 5 cases/100,000 births. Incidence in France is similar to the one observed in the majority of European countries where incidence has also been stable since 2007.

Mots clés / Key words

Listériose, surveillance, incidence, France / Listeriosis, surveillance, incidence, France

Introduction

La listériose est une maladie bactérienne qui touche l'Homme (principalement les personnes immunodéprimées et les femmes enceintes) et les animaux. C'est une maladie rare, mais qui a un impact en santé publique du fait de sa létalité élevée et de sa transmission alimentaire. La surveillance de la listériose humaine est menée conjointement en France par l'Institut de veille sanitaire (InVS) grâce à la déclaration obligatoire (DO), et par le Centre national de référence des *Listeria* (CNRL, Institut Pasteur, Paris) qui centralise et caractérise les souches de *L. monocytogenes* isolées chez l'Homme en provenance des laboratoires de microbiologie. La DO permet de disposer d'informations sur le nombre et les caractéristiques des cas afin de suivre les tendances évolutives de la maladie. L'un des objectifs principaux de la surveillance microbiologique effectuée par le CNRL est la détection précoce des cas groupés. Le signalement précoce de cas groupés a pour but de repérer au plus vite une menace épidémique afin d'éviter la survenue d'épidémies touchant plusieurs dizaines de cas, telles que celles survenues en France dans les années 1990-2000 et, plus récemment, sur le continent nord-américain (2008, Canada : 38 cas ; 2011, États-Unis : 146 cas dont 30 décès) [1;2].

Méthodes

Les cas de listériose sont déclarés, par les biologistes ou les médecins en charge des malades, à l'Agence régionale de santé (ARS) de leur région. Le médecin de l'ARS s'assure que la souche de *L. monocytogenes* a bien été envoyée au CNRL et a pour mission de compléter un questionnaire alimentaire auprès du cas ou d'un de ses proches, qui permet de connaître précocement la consommation alimentaire du patient en limitant au maximum les biais de mémorisation. S'il s'agit d'une forme neuroméningée (forme clinique observée fréquemment lors d'épidémies liées à la consommation de produits fortement contaminés), il propose la réalisation de prélèvements alimentaires au domicile du cas. Si le patient accepte, il contacte la Direction départementale de la protection des populations (DDPP) qui se charge des prélèvements et les fait analyser par un laboratoire agréé. Les souches isolées sont envoyées au CNRL où elles sont caractérisées et comparées à la souche isolée du patient. Le but est d'identifier les aliments à l'origine des cas de listériose, pour mettre en place précocement des mesures de maîtrise afin d'éviter la survenue ultérieure de nouveaux cas.

Quelle que soit la forme clinique de listériose, les ARS transmettent à l'InVS le questionnaire de DO et l'interrogatoire alimentaire. Le CNRL, de son côté, signale à l'InVS de façon systématique toutes les souches reçues provenant d'un prélèvement humain, ce qui permet à l'InVS de détecter des cas non notifiés. Ce système est très efficace car il s'auto-potentialise, en permettant aux ARS de récupérer les cas non signalés par la DO et au CNRL d'améliorer l'exhaustivité de la surveillance microbiologique.

Chaque souche adressée au CNR est identifiée, génotypée par PCR multiplex, puis typée par électrophorèse en champ pulsé après la macrorestriction de l'ADN total, selon le protocole standardisé du réseau *PulseNet Europe*. Sur la base d'une comparaison visuelle et, depuis 2005, au moyen du logiciel BioNumerics[®] qui compare les profils numérisés, les souches présentant des profils similaires de macrorestriction d'ADN avec les enzymes de restriction *Apal* et *Ascl* sont considérées comme du même pulsotype.

Si le CNR identifie, sur une période de moins de six semaines, au moins 3 cas humains dont les souches présentent les mêmes caractéristiques microbiologiques (génotype PCR et pulsotype), il signale ces cas à l'InVS, informe les membres de la «Cellule *Listeria*»¹ chargée de la coordination des investigations et des actions, et transmet le pulsotype de cette souche au Laboratoire national de référence des *Listeria monocytogenes* (LNRL, Anses, Maisons-Alfort). Si l'analyse des informations disponibles suggère que ces cas sont susceptibles d'être reliés sur le plan épidémiologique, l'InVS active la Cellule *Listeria* qui décide des investigations à entreprendre afin d'identifier rapidement un éventuel aliment commun à l'origine de ces cas.

La définition de cas est basée sur l'isolement de *L. monocytogenes* (Lm) d'un site habituellement stérile. Si cet isolement a été effectué dans le cadre d'une grossesse ou chez un nouveau-né de moins de 1 mois, le cas est considéré comme materno-néonatal (MN), avec un seul cas comptabilisé si la souche est isolée chez une mère et son nouveau-né. Tout autre cas est considéré comme non materno-néonatal (nonMN). Le questionnaire alimentaire comporte une liste d'aliments qui, d'après les connaissances scientifiques,

¹ La Cellule *Listeria* est constituée de représentants de la Direction générale de la santé (DGS), de l'InVS, du CNR *Listeria*, de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), de la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et de la Direction générale de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes (DGCCRF).

Tableau 1 Incidence, forme clinique, et mortalité de la listériose humaine en France de 1999 à 2011 (source : Déclaration Obligatoire/InVS) / **Table 1** Incidence, clinical form and mortality of human listeriosis in France from 1999 to 2011 (source: mandatory reports/InVS)

	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
France entière	269	263	188	220	209	236	221	290	319	276	328	312	282
France métropolitaine	261	257	183	214	202	234	216	277	311	271	323	307	280
Incidence (/100 000 habitants)	0,45	0,44	0,31	0,36	0,34	0,38	0,36	0,46	0,50	0,43	0,51	0,49	0,44
Formes non materno-néonatales													
Total cas	202	199	144	165	162	187	182	254	273	245	278	269	247
Forme bactériémique	117	106	85	87	99	124	113	170	173	159	173	168	171
Forme neuroméningée	70	78	51	70	55	54	62	67	86	70	87	78	68
Forme localisée	15	15	8	8	8	9	7	17	14	16	18	23	8
Décès	47	35	46	35	27	38	31	56	59	39	68	53	49
Létalité	23%	18%	32%	21%	17%	20%	17%	22%	22%	16%	24%	20%	20%
Sexe													
Féminin	78	74	55	70	74	76	76	116	104	107	111	106	97
Masculin	124	125	89	95	88	111	106	138	169	138	167	163	150
Formes materno-néonatales (femmes enceintes et nouveau-nés <30 jours)													
Total cas	67	64	44	55	47	49	39	36	46	32	50	43	35
Ratio/100 000 naissances	8,6	7,9	5,5	6,9	5,9	6,1	4,8	4,3	5,6	3,8	6,0	5,2	4,2
Mort fœtale (avortement spontané)	8	14	5	11	5	6	6	8	6	7	9	4	6
Mort-né	5	7	5	8	5	7	4	2	7	4	5	9	2
Décès après naissance	6	2	3	3	3	3	1	0	1	0	2	1	1
Létalité foeto-neonatale	28%	36%	30%	40%	28%	33%	28%	28%	30%	34%	32%	33%	26%

peuvent être potentiellement contaminés par *L. monocytogenes* au moment de leur consommation. Le logiciel Stata® a été utilisé pour comparer les incidences (incidence ratio) et les moyennes (test de Kruskal-Wallis).

Résultats

En France, le nombre de cas de listériose avait été divisé par 3 entre 1987 et 1997, avec une décroissance particulièrement marquée chez les femmes enceintes et les sujets non immunodéprimés, principalement grâce à la prise en compte du risque *Listeria* par les exploitants agro-alimentaires dans leurs plans de maîtrise de la contamination biologique [3]. L'incidence a continué à diminuer jusqu'en 2001 puis s'est stabilisée de 2001 à 2005. Cette tendance s'est inversée en 2006 avec une augmentation du nombre de cas qui s'est poursuivie en 2007, essentiellement chez les sujets de plus de 60 ans [4]. L'augmentation chez les personnes âgées de plus de 60 ans était similaire chez les sujets immunodéprimés et chez les non-immunodéprimés, et concernait principalement les formes bactériémiques [5]. Depuis 2007, l'incidence est stable autour de 0,5 cas/100 000 habitants, avec chaque année environ 300 cas, 50 décès et une douzaine de morts fœtales ou de mort-nés (tableau 1). Les formes materno-néonatales représentent 15% des cas avec un ratio de 5 cas/100 000 naissances.

On n'observe pas de variation importante de l'incidence d'une région à l'autre. Sur la période 2008-2011, l'incidence varie de 0,31/100 000 habitants (Picardie) à 0,66/100 000 habitants (Rhône-Alpes) avec une médiane régionale à 0,4/100 000 habitants. Les variations parfois observées dans une même région d'une année sur l'autre n'ont pas été expliquées par l'émergence d'une souche particulière et semblent plutôt dues à des fluctuations

aléatoires. Ces différences ne peuvent être dues à des biais de surveillance car l'exhaustivité de la DO est très satisfaisante. Elle a été estimée par la méthode capture-recapture avec le réseau Epibac à 87% [84%-89%] en 2001 et à 92% [91%-94%] en 2006 [6]. Le CNRL reçoit plus de 97% des souches des cas déclarés par la DO.

Sur une période de 12 ans, les moyennes mensuelles diffèrent ($p < 0,001$). De façon régulière, le nombre de cas est plus élevé en été (juin, juillet et août) et plus faible en février et décembre (figure 1). En revanche, pour certains mois comme janvier, les fluctuations sont très importantes d'une année sur l'autre.

L'analyse des cas déclarés de 2001 à 2008 a permis d'identifier les terrains les plus à risque de contracter la listériose (incidence > 5 listérioses/100 000 cas) : hémopathies, certains cancers, maladie de Horton, patients sous dialyse rénale, patients greffés, cirrhose hépatique ainsi que les femmes enceintes [7]. Elle a montré également que, bien que l'incidence de la listériose soit très liée à l'âge (figure 2) avec une augmentation importante de l'incidence à partir de 60 ans, c'est le terrain qui semble être le facteur de risque le plus déterminant.

Selon le bilan des 140 investigations de cas de listérioses neuroméningées réalisés de 2003 à 2008, 63 investigations (45%) ont donné lieu à des prélèvements alimentaires positifs à Lm [8]. Une souche d'un pulsotype similaire à celle du malade a été retrouvée lors de 23 investigations (16%). Les prélèvements avaient été réalisés lors d'investigations à domicile ($n=17$), dans des cuisines hospitalières ($n=2$) et dans les lieux d'achat ($n=4$).

Une dizaine de signalements de cas groupés est effectuée chaque année par le CNRL depuis 2006 (2006 : 11 ; 2007 : 16 ; 2008 : 9 ; 2009 : 11 ; 2010 : 10 ; 2011 : 9). Les cas inclus dans un signal représentent 26% de l'ensemble des

Figure 1 Distribution mensuelle du nombre de cas de listériose humaine sur une période de 12 ans (France, 1999-2011) / **Figure 1** Distribution by month of cases of human listeriosis on a 12 years period (France, 1999-2011)

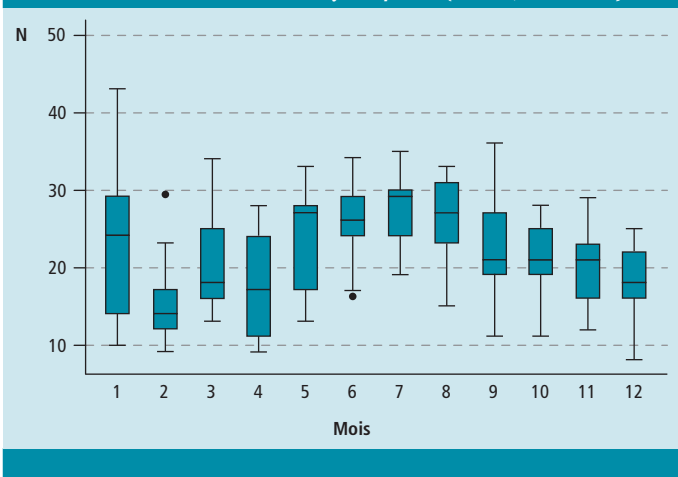


Figure 2 Incidence par classe d'âge des listérioses humaines (France, 2008-2011) / **Figure 2** Incidence of human listeriosis by age group (France, 2008-2011)

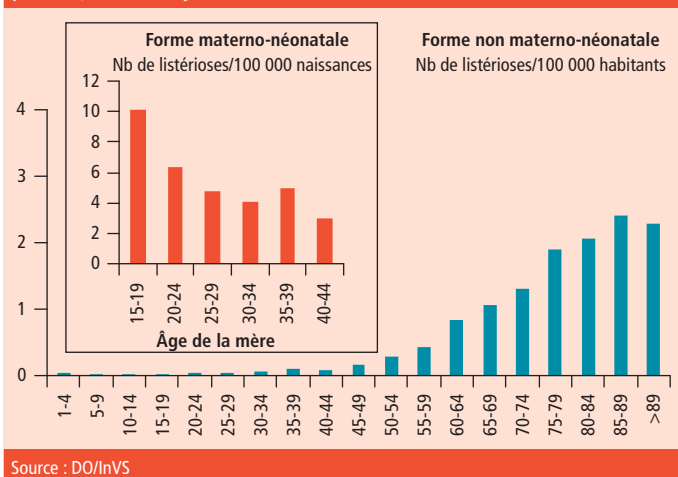


Tableau 2 Distribution (en %) des souches de *Listeria monocytogenes* isolées de cas humains par géosérotype de 1999 à 2011 (Source : CNR Listeria/ Institut Pasteur) / **Table 2** Distribution of strains of *L. monocytogenes* isolated from human cases by genosero grouping between 1999 and 2011 (Source: NRC for Listeria/ Institut Pasteur)

	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Nombre d'isolats cliniques/ an	240	222	186	202	197	233	212	280	310	268	319	298	277
Ila (sérotypes 1/2a et 3a)	27	33	33	22	26	30	24	29	30	33	28	34	30
IIb (sérotypes 1/2b, 3b et 7)	20	16	22	18	22	11	17	17	15	10	14	13	14
IIc (sérotypes 1/2c et 3c)	5	3	3	4	5	4	3	4	5	4	8	2	2
IVb+IVb-1 (sérotypes 4b,4d et 4e)	48	48	42	55	47	55	56	50	50	53	50	51	54
L (sérotypes 4a, 4ab et 4c)	<1	0	0	<1	<1	0	0	0	<1	0	<1	0	0

cas de listériose. Depuis l'épidémie de 2000 à l'origine de 31 cas [9], 6 investigations de cas groupés ont permis d'identifier ou d'avoir une hypothèse forte sur une source commune. Dans 4 de ces investigations, une souche de pulstotype similaire à celles des malades avait été retrouvée soit à domicile, soit sur le lieu de production de l'aliment soupçonné. Dans une autre investigation, un aliment a été impliqué sur des arguments épidémiologiques (saumon fumé) mais aucun producteur n'a été identifié. La sixième investigation concernait 5 cas de listériose chez des malades hospitalisés en 2009 dans le même établissement, sur une période de trois mois. Des Lm de pulstotypes similaires à celui des malades ont été isolées dans l'environnement, sur des repas témoins et sur l'appareil à trancher de la cuisine hospitalière. Le produit à l'origine de la contamination de la cuisine n'a pas été identifié.

La distribution des géosérotypes n'a pas changé ces dernières années (tableau 2). Comme les années précédentes, le géosérotype IVb est majoritaire. Il existe une grande diversité dans les pulstotypes des souches de Lm isolées chez les malades. Ainsi en 2011, 94 cas ont été contaminés par une Lm d'un pulstotype unique pour l'année en cours (tableau 3). Cependant, à côté de ces Lm de pulstotype rare, il existe des Lm avec des pulstotypes identifiés régulièrement que l'on pourrait qualifier d'endémiques.

Conclusion

Le dispositif de surveillance et d'investigations de la listériose humaine en France, basé sur la collaboration étroite entre l'InVS, le CNR des *Listeria*, la DGAL et les services territoriaux, apparaît performant. Depuis 2001, aucun épisode épidémique d'ampleur n'est survenu en France. Une source alimentaire commune identifiée ou fortement suspectée pour plusieurs épisodes de cas groupés a permis de mettre en place des mesures de maîtrise. L'augmentation de l'incidence des listérioses sporadiques observée en 2006 et 2007 ne s'est pas poursuivie ensuite.

En Europe, une augmentation de l'incidence avait été observée de 1999 à 2006 dans neuf pays (Allemagne, Irlande, Lituanie, Pays-Bas, Espagne, Royaume-Uni, Belgique, Danemark et Finlande) [4]. L'analyse de Gillespie *et al.* [9] avait montré que les caractéristiques de cette augmentation en Angleterre et au Pays de Galles (sujets âgés de plus de 60 ans, forme bactériémique, concernant la plupart des régions, souches de sous-types variés) étaient similaires à celles observées en France. De 2006 à 2010, l'incidence des cas rapportés par 25 États-membres à l'ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*) est restée stable (0,35 cas/100 000 habitants) [10]. En 2010, trois pays (Danemark, Finlande et Espagne) se sont distingués par une incidence bien plus élevée que la moyenne (>1 cas/100 000 habitants), sept pays (Autriche, Belgique, Estonie, Allemagne, Pays-Bas, Slovaquie et Suède) avaient une incidence proche de celle de la France (comprise entre 0,4 et 0,7/100 000 habitants).

Le Royaume-Uni faisait partie des pays qui rapportaient une incidence plus faible (0,28 cas/100 000 habitants).

Vu les progrès thérapeutiques et l'allongement de l'espérance de vie, le nombre de personnes vivant avec des défenses immunitaires affaiblies va augmenter notablement dans les années à venir. Pour éviter une remontée de l'incidence de la listériose, il est important de maintenir la maîtrise de ce pathogène dans la chaîne alimentaire, mais également de promouvoir auprès des personnes les plus vulnérables les recommandations hygiéno-diététiques diffusées par le ministère chargé de la Santé [11].

Références

- [1] Gaulin C, Ramsay D, Bekal S. Widespread listeriosis outbreak attributable to pasteurized cheese, which led to extensive cross-contamination affecting cheese retailers, Quebec, Canada, 2008. *J Food Prot.* 2012;75(1):71-8.
- [2] Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of listeriosis linked to whole cantaloupes from Jensen Farms, Colorado [Internet]. Disponible à : <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/120811/index.html>
- [3] Goulet V, de Valk H, Pierre O, Stainer F, Rocourt J, Vaillant V, *et al.* Effect of prevention measures on incidence of human listeriosis, France, 1987-1997. *Emerg Infect Dis.* 2001;7(6):983-9.
- [4] Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, de Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(5):734-40.
- [5] Goulet V, Leclercq A, Vaillant V, Le Monnier A, Laurent E, Thierry-Bled F, *et al.* Recrudescence récente des cas de listériose en France. *Bull Epidemiol Hebd.* 2008;(30-31):268-72.
- [6] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis sur l'augmentation des cas de listériose et le lien éventuel avec les modes de production, de la préparation et de consommation des aliments. Maisons-Alfort: Afssa; 2009. 65 p.
- [7] Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, *et al.* Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clin Infect Dis.* 2012;54(5):652-60.
- [8] Goulet V, Leclercq A, Laurent E, King L, Dusch V, Salem S, *et al.* Food Investigation of sporadic cases of neuroinvasive listeriosis. ISOPOL (International Symposium On Problems Of Listeriosis) XVII, Porto, May 5-8th 2010.
- [9] Gillespie IA, McLauchlin J, Grant KA, Little CL, Mithani V, Penman C, *et al.* Changing pattern of human listeriosis, England and Wales, 2001-2004. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(9):1361-6.
- [10] European Food Safety Agency, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. *Efsa Journal.* (2012);10(3):2597. [442p]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2597.htm>
- [11] Ministère en charge de la Santé : <http://www.sante.gouv.fr/listeriose.html>

Les données de surveillance de la listériose sont accessibles sur le site de l'InVS à l'adresse : <http://www.invs.sante.fr/surveillance/listeriose/default.htm>
Les données du CNR *Listeria* sont accessibles à l'adresse : <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/cnr/listeria>

Tableau 3 Distribution des différents pulstotypes des souches de *Listeria monocytogenes* isolées de cas humains en fonction de leur fréquence d'identification de 2008 à 2011 (Source : CNR Listeria/Institut Pasteur) / **Table 3** Distribution of different pulsotypes of *L. monocytogenes* isolated from human cases by rate of identification between 2008 and 2011 (Source: NRC for Listeria/ Institut Pasteur)

Fréquence des différents pulstotypes <i>AsclI/Apal</i> identifiés par an	Nombre de pulstotypes différents			
	2008 (268 cas)	2009 (319 cas)	2010 (298 cas)	2011 (277 cas)
Pulstotype identifié une fois *	96	96	84	94
Pulstotype identifié 2 -5 fois	26	24	33	31
Pulstotype identifié 6-12 fois	7	5	3	4
Pulstotype identifié >12 fois	2	6	5	4
Total des pulstotypes <i>AsclI/Apal</i>	131	131	125	133

* Interprétation: en 2008 : 96 cas de listérioses ont été infectés par une souche de Lm d'un pulstotype unique pour l'année considérée.

Surveillance des *Listeria monocytogenes* dans les aliments

Sophie Roussel^{1*}, Alexandre Leclercq^{2*}, Julien Santolini³, Anselme Agbessi⁵, Viviane Chenal-Francisque², Renaud Lailier¹, Marc Lecuit², Nathalie Pihier⁴, Anne Brisabois (anne.brisabois@anses.fr)¹

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments, Laboratoire national de référence pour *Listeria monocytogenes*, Maisons-Alfort, France

2/ Centre national de référence et Centre collaborateur de l'OMS des *Listeria*, Institut Pasteur, Paris, France

3/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaire, Paris, France

4/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Mission des urgences sanitaires, Paris, France

5/ Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), Bureau qualité et valorisation des denrées alimentaires, Paris, France

* Contributions égales

Résumé / Abstract

Listeria monocytogenes est une bactérie ubiquitaire largement répandue dans l'environnement, transmise à l'Homme suite à l'ingestion d'aliments contaminés et à l'origine de cas rares mais graves chez l'Homme. Cette situation justifie la mise en place d'une surveillance de la bactérie dans les principales filières de transformation des produits carnés, laitiers, des produits de la mer et des produits végétaux. Ces filières constituent les principales sources de contamination des aliments notamment en production agroalimentaire, soit à partir des matières premières, soit à partir de l'environnement où des souches peuvent devenir résidentes. Les plans nationaux de surveillance et de contrôle récents ont permis de cibler les filières de transformation les plus à risque. L'ensemble des mesures mises en place par l'industrie agroalimentaire et les autorités, tant dans le domaine de la surveillance que de la gestion en cas de non-conformité, contribue à la maîtrise de la contamination et à la réduction de l'exposition des populations. De plus, les analyses de caractérisation des souches isolées des aliments permettent une surveillance moléculaire des populations de souches circulant dans ces filières, une possible identification de l'aliment contaminé et apportent également des éléments complémentaires dans l'investigation épidémiologique des cas, et plus généralement dans l'évaluation du risque.

Surveillance of *Listeria monocytogenes* in food

Listeria monocytogenes (*L.m*) is a ubiquitous bacteria, environment wide-spread, transmitted to humans following ingestion of contaminated food and causing rare but serious cases in humans. This situation justifies the establishment of a surveillance of the bacteria in the main sectors of meat processing, dairy, seafood and vegetables that are the main sources of food contamination especially in food processing plants either from raw materials, or from the environment where strains may reside. National plans for surveillance and control enabled processing sector targets most at risk. However, all the measures implemented by the food industry and the authorities may contribute to prevent *L.m* contamination and to reduce population exposure. In addition, analysis of characterization of strains isolated from foods in different contexts presented allow a molecular surveillance of populations of strains circulating in these sectors, a possible identification of the contaminated food and also providing additional elements in the epidemiological investigation of cases, and more generally in the evaluation of risk.

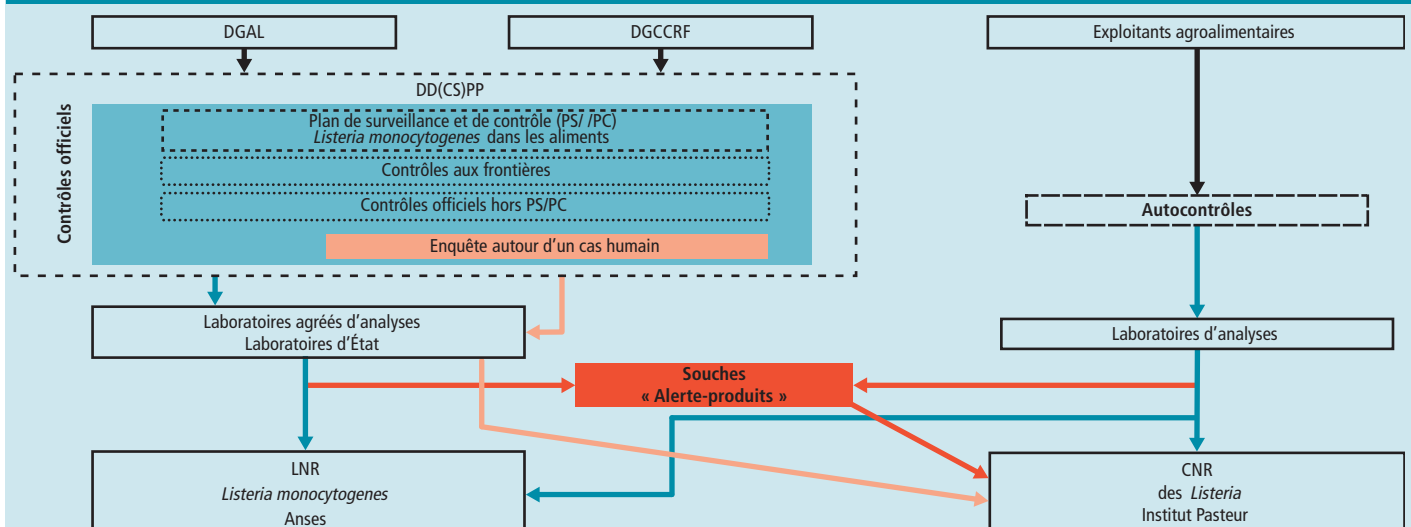
Mots-clés / Key words

Listeria monocytogenes, aliments, surveillance, typage / *Listeria monocytogenes*, food products, surveillance, typing

Listeria monocytogenes (*L.m*) est une bactérie de l'environnement responsable d'une zoonose appelée listériose. Cette infection parfois sévère diffère des autres maladies d'origine alimentaire par : i) la gravité de la symptomatologie, ii) sa préférence pour les sujets dont le système immunitaire est déficient et iii) un taux de létalité très élevé, de 20 à 30% [1]. Cette bactérie peut être également responsable de gastro-entérites. En France, 300 cas en moyenne de listériose sont recensés chaque année, correspondant à une incidence annuelle de 0,4 cas pour 100 000 habitants. La transmission de la bactérie par les aliments a été reconnue en 1981 suite à l'investigation d'une épidémie au Canada [2].

La contamination des aliments peut survenir à partir de matières premières animales ou végétales ou à partir de l'environnement industriel, du fait des capacités de persistance de la bactérie, et constitue de ce fait un problème récurrent tout au long de la chaîne alimentaire [3]. Devant la sévérité de cette maladie et suite aux épidémies françaises, un dispositif de surveillance continu des cas de listériose et de surveillance de *L.m* dans les aliments a été mis en place depuis plus de dix ans afin de prévenir et réduire le nombre de cas de listériose [4]. En outre, les réglementations européennes (EC 2073/2005 modifié et EC 178/2002) ont imposé des critères microbiologiques de sécurité spécifiques

Figure 1 Schéma de la surveillance des contaminations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments en France / Figure 1 Flow chart of the surveillance of *Listeria monocytogenes* contamination in food, in France



Note de lecture : les flèches de couleur correspondent aux flux des souches ou d'échantillons.

ou des règles générales (Article R201-11 du code rural) pour assurer la maîtrise du danger *L.m* notamment dans le cadre des autocontrôles réalisés par les exploitants. Le non respect de ces critères nécessite une notification aux autorités compétentes, ce qui engendre une « alerte produit ». Le dispositif de surveillance de *L.m* dans les aliments est complété conformément aux prérogatives de la directive EC 2003/99 par des plans officiels de surveillance et de contrôle annuels permettant une vision de la situation nationale vis-à-vis de ce pathogène dans des produits ciblés. Enfin, l'investigation des cas de listériose neuro-méningée ou non, des cas groupés ou de foyers épidémiques est assurée par la cellule *Listeria*, réunissant tous les acteurs impliqués dans la surveillance, la gestion et la caractérisation de *L.m*. La surveillance des contaminations dans les aliments repose sur plusieurs dispositifs gérés par différents acteurs selon les contextes (figure 1).

Dispositif analytique pour la surveillance des isolats

Les prélèvements réalisés dans les différents contextes de surveillance et de prévention sont analysés dans des laboratoires publics ou privés d'analyses vétérinaires et agroalimentaires ou dans les laboratoires d'hygiène hospitalière. Ces laboratoires font appel à la méthode normalisée de référence NF EN ISO 11290 partie 1 pour la détection et partie 2 pour le dénombrement des *L.m* ou à une méthode alternative validée selon la norme NF EN ISO 16140 par rapport à la méthode normalisée. À l'issue de cette analyse, les isolats, présumés *L.m* sont envoyés soit au Centre national de référence des *Listeria* (CNR, Institut Pasteur, Paris), soit au Laboratoire national de référence des *Listeria monocytogenes* (LNR, Anses, Maisons-Alfort), selon le contexte initial de prélèvement de l'échantillon.

Les plans nationaux de surveillance et de contrôle de *Listeria monocytogenes* dans les aliments

Les différents plans de surveillance et de contrôle

Les plans officiels de surveillance ou de contrôle sont ciblés sur certaines denrées alimentaires potentiellement sensibles au regard du risque lié à *L.m* au stade de la production ou au stade de la distribution, en fonction des besoins et d'une concertation entre la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et en lien avec l'Institut de veille sanitaire (InVS) et la Direction générale de la santé (DGS). L'échantillonnage est représentatif de la production ou de la consommation afin de mesurer, respectivement, la conformité de la production et notamment le respect des critères microbiologiques ou l'exposition du consommateur à ce danger.

La DGCCRF organise, chaque année depuis 1993, une campagne qui porte sur un minimum de 4 000 échantillons de denrées alimentaires, prélevés au stade de la distribution dans toutes les régions y compris l'Outre-mer. Jusqu'en 2010, les denrées ciblées appartenaient à trois grandes catégories de produits fabriqués industriellement, considérées comme les plus à risques : les produits de charcuterie cuite, les fromages et produits laitiers, les produits à base de poisson.

Les différents plans de surveillance et de contrôle organisés par la DGAL ces dernières années sont résumés dans le tableau 1. Le plan mis en place en 2008, décrit dans la note de service DGAL/SDSSA/N20078303, avait pour objectif d'estimer la prévalence et le niveau des contaminations dans les merguez crues préemballées contenant de la viande ovine. Il faisait suite à un plan de surveillance de la contamination par *L.m* des préparations de viande (DGAL/SDSSA/N20058284), réalisé en 2006, qui avait mis en évidence une forte contamination de merguez contenant entre autres de la viande ovine contaminée. Le second plan de 2008, décrit dans la note de service DGAL/SDSSA/N20078302, prolongé en 2009 par le plan décrit dans la note de service DGAL/SDSSA/N2008 8337, ciblait les saucisses crues à cuire, les lardons, le bacon, les saucisses et saucissons à consommer en l'état, ainsi que les pâtés (type pâtés de foie et terrines) pour le plan 2009.

Résultats des plans de surveillance ou de contrôle

Les résultats des plans nationaux de surveillance pilotés par la DGAL et la DGCCRF sont reportés respectivement dans les tableaux 1 et 2. Ils mettent en évidence la relative faible fréquence d'échantillons très contaminés, qui concernent majoritairement des produits à cuire. Par ailleurs, l'ensemble de ces données sont publiées sous forme de fiches au niveau national et dans le rapport zoonose au niveau européen (<http://www.efsa.europa.eu/en/efsa-journal/pub/2090.htm>).

Le plan DGCCRF de 2010, qui cible différentes catégories de produits sensibles, montre que le taux de prévalence le plus élevé a été identifié dans de la viande fraîche de poulet et dans la viande bovine avec, dans chaque cas, un échantillon contaminé à plus de 100 UFC/g. La prévalence était de 7% dans les poissons fumés avec cependant aucun échantillon non conforme (>100 UFC/g à la DLC). C'est dans la catégorie « viande de porc » prête à consommer qu'a été observé le plus grand nombre d'échantillons contaminés (>100 UFC/g). Dans cette même catégorie, où un très grand nombre d'échantillons a été testé, le taux de prévalence s'est révélé très faible (tableau 2).

Les préparations de viande, dans le cadre du plan de surveillance DGAL en 2006, ont montré des fréquences de contamination en *L.m* entre 40 et

Tableau 1 Synthèse des différents plans de surveillance et de contrôle de la contamination de *L. monocytogenes* à la production et à la distribution de 2005 à 2010 pilotés par la DGAL | Table 1 Summary of the different control programs of *Listeria monocytogenes* contamination in food production and retail managed by the DGAL from 2005 to 2010

N° Plans de surveillance (PS) / N° Plan de contrôle (PC)	Année	Nature de l'échantillon	Nombre d'unités testées*	Nombre d'unités positives	%	Nombre d'unités <10 UFC/g	Nombre d'unités >10 - <100 UFC/g	Nombre d'unités >100 UFC/g
N2005-8061 ¹	2005	Salades composées	131	2	1,5	2		
N2005-8284 ²	2006	Farce	76	34	45	ND	33	1
	2006	Chipolata	95	39	41	ND	38	1
	2006	Merguez	82	41	50	ND	35	6
	2006	Saucisses	109	52	48	ND	51	1
	2006	Autres**	9	4	44	ND	4	0
N2007-8302 ³	2008	Saucisses	139	32	23	28	3	1
	2008	Lardons	130	16	12,3	15	1	0
	2008	Bacon	126	5	4,0	4	1	0
	2008	Autres	146	3	2,1	2	1	0
N2007-8303 ⁴	2008	Merguez	131	75	57,3	62	13	0
N2008-8337 ⁵	2009	Saucisses crues à cuire	139	32	23	29	3	0
	2009	Lardons	139	17	12,2	16	1	0
	2009	Bacon	142	1	0,7	1	0	0
	2009	Pâtés	137	2	1,5	1	0	1
	2009	Autres	135	3	2,2	3	0	0
N2010-8346 ⁶	2011	Fromages	500	1				

* Unités testées à la fois pour la détection et le dénombrement de *L. monocytogenes*; ** Autres : saucisson à l'ail, Francfort, knack, salami, mortadelle, cervelas, etc.

¹ Note de service DGAL/SDSSA/N2005-8061, du 23/02/2005 : Plan de contrôle de la contamination par *Listeria monocytogenes* des salades composées préemballées contenant des produits sensibles à la croissance de cette bactérie.

² Note de service DGAL/SDSSA/N2005-8284, du 13/12/2005 : Plan de contrôle de la contamination par *Listeria monocytogenes* des préparations de viandes au stade de la production.

³ Note de service DGAL/SDSSA/N2007-8302 du 18/12/2007 : Plan de contrôle 2008 de la contamination par *Listeria monocytogenes* de certaines denrées alimentaires au stade de la distribution.

⁴ Note de service DGAL/SDSSA/N2007-8303 du 18/12/2007 : Plan de contrôle 2008 de la contamination par *Listeria monocytogenes* des merguez contenant de la viande ovine au stade de la production.

⁵ Note de service DGAL/SDSSA/N2008-8337 du 22/12/2008 : Plan de contrôle 2009 de la contamination par *Listeria monocytogenes* de certaines catégories de denrées alimentaires sensibles au stade de la distribution.

⁶ Note de service DGAL/SDSSA/N2010-8346 du 13/12/2010 : Plan de surveillance de la contamination par *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* des fromages au stade de la production - 2011.

Tableau 2 Résultats des plans nationaux de surveillance de la contamination de *L. monocytogenes* à la distribution pilotés par la DGCCRF en 2010 / **Table 2** Results of the national control programs of *Listeria monocytogenes* contamination at retail level managed by the DGCCRF in 2010

Nature de l'échantillon	Nombre d'unités testées*	Nombre d'unités positives	Proportion d'unités positives (en %)	Nombre d'unités positives avec >10 UFC/g et <100 UFC/g	Nombre d'unités positives avec >100 UFC/g
Saumon et truite fumés	297	21	7	21	0
Produits de la mer crus réfrigérés	145	3	2	3	0
Produits de la mer à consommer en l'état	213	6	2,8	6	0
Viande d'origine bovine, préparations de viande destinées à être cuites	227	17	7,5	7	2
Viande de poulet, préparations destinées à être cuites	38	5	13,1	1	2
Viande de porc, cuite à consommer en l'état	5 827	36	0,6	7	3
Fromages à pâte molle au lait pasteurisé de vache	1 453	6	0,4	0	0
Produits laitiers (autres que fromages), beurre...	178	0		ND	ND

ND : non déterminé ; * Unités testées à la fois pour la détection et le dénombrement de *L. monocytogenes*.

50% avec 2% des échantillons contenant plus de 100 UFC/g. Les merguez ont présenté un niveau de contamination élevé avec 50% d'échantillons positifs, dont 7% au-delà de 100 UFC/g. Le plan de contrôle en 2008, ciblé sur les merguez, a confirmé la fréquence élevée (57,3%) de *L.m.*, avec cependant des niveaux de contamination plus faibles qu'en 2006 et aucun résultat supérieur à 100 UFC/g. Les plans de contrôle successifs de la DGAL en 2008 et 2009 ont montré une stabilisation du niveau de prévalence de *L.m.* dans les différents produits analysés qui se situe entre 8 et 10%, avec une grande majorité d'échantillons (90%) contaminés à des niveaux inférieurs à 10 UFC/g, et moins de 0,2% des échantillons ont présenté un dénombrement supérieur à 100 UFC/g (tableau 1). L'analyse des résultats par filière animale montre des différences sensibles de fréquence de contamination selon les espèces animales, avec un taux variant de 30% en volaille à 37% en filière bovine, 49% en filière porcine et 55% en filière ovine, la plus fréquemment contaminée avec des dénombrements élevés jusqu'à 2 000 UFC/g (figure 2).

Les contrôles officiels effectués en dehors des plans de surveillance et de contrôle

Les DDCSPP (Directions départementales de la cohésion sociale et de la protection des populations) effectuent également des contrôles officiels sur des produits dans le cadre du suivi des établissements, dans le cadre d'alertes-produits et lors d'enquêtes sur des cas humains.

Les autocontrôles effectués par les exploitants

Dans le cadre de leur plan de maîtrise sanitaire, les exploitants agroalimentaires (producteurs et/ou distributeurs) doivent intégrer le danger *L.m.* et mettre en place les moyens destinés à en assurer la maîtrise. Ils effectuent ainsi des analyses (autocontrôles) afin de vérifier l'efficacité des mesures mises en place. Ils doivent également s'assurer que tout au long de sa durée de vie, le produit respecte les critères réglementaires en s'appuyant notamment sur les guides permettant de déterminer la durée de vie d'un produit. En cas de non-conformité, ils doivent mettre en place les mesures nécessaires tant au niveau des produits concernés (retrait et/ou rappel auprès des consommateurs) qu'au niveau de leur établissement avec l'identification de l'origine de la contamination, et la mise en place de mesures correctives.

Surveillance des *Listeria* dans le contexte d'« alertes-produits »

Une alerte-produit est établie quand une denrée alimentaire non-conforme, et donc présentant un risque pour la santé publique, a été mise sur le marché et que des mesures de retrait et/ou rappel auprès du consommateur doivent être prises. Les alertes-produits peuvent être issues de contextes de surveillance variés décrits dans les chapitres précédents : contrôles officiels, autocontrôles effectués par les professionnels ou plans de surveillance et de contrôle. Il faut noter qu'en France, ces alertes-produits sont déclenchées en cas de présence de *L.m.*, pour tout produit mis sur le marché, à consommer en l'état et permettant la croissance de *Listeria*, quel que soit le résultat de dénombrement, ce qui est plus sévère que ce qui est prévu par le règlement 2073/2005 modifié (100 UFC/g). De 2009 à 2010, 646 alertes relatives à des produits d'origine animale ou à des denrées à base de ces produits ont été enregistrées pour *L.m.* dont 85% suite à des autocontrôles effectués par les professionnels. Dans 65% des cas, les prélèvements ont eu lieu au stade de la distribution (grandes et moyennes surfaces, restaurants). Parmi ces alertes-produits, le dénombrement de *L.m.* a été réalisé pour 93% des

échantillons et variait de <10 à 120 000 UFC/g. Dans 55% des échantillons, le dénombrement était <100 UFC/g. Les aliments concernés par ces alertes étaient, par ordre de fréquence, les produits carnés, les produits de la pêche et les produits laitiers.

La surveillance des *Listeria* à l'échelle européenne

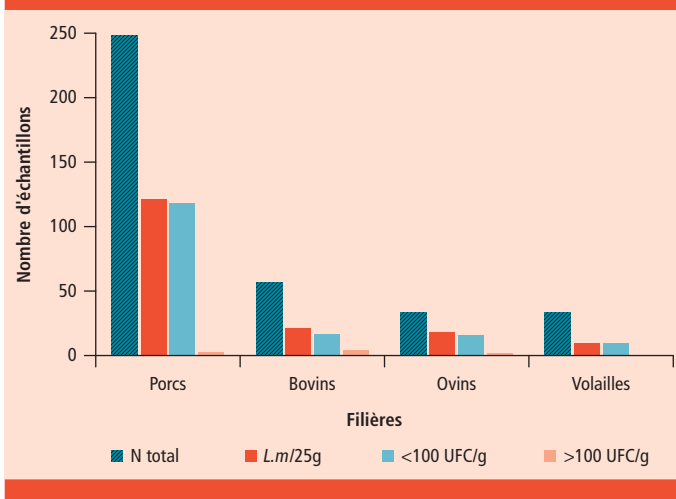
Plan de surveillance communautaire harmonisé (Baseline Survey)

Suite à l'augmentation de l'incidence des cas de listériose humaine depuis 2006 dans certains pays européens, sans explication évidente et compte tenu des taux élevés de non-conformités enregistrées dans les fromages, les produits de la pêche et les produits consommés en l'état soulignés par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC), la Commission européenne à travers la DG-Sanco (Direction générale de la santé et de la protection des consommateurs de l'Union européenne) a établi un plan de surveillance communautaire harmonisé ou *Baseline Survey* (BLS) afin de recueillir des données de prévalence comparables entre les États-membres. En France, ce plan communautaire dont les modalités techniques sont décrites dans la décision EC 2010/678, est mis en œuvre par la DGCCRF (TN 32 CAB et TN 32 DAB). Il impose 1 600 prélèvements, dont 400 prélèvements en deux échantillons identiques de poisson fumé à chaud ou à froid ou « *gravad lax* » (poisson mariné dans du sel et du sucre sans traitement thermique) ; 400 prélèvements de fromages à pâte molle ou semi-molle, à l'exception des fromages frais ; 400 prélèvements de produits à base de viande soumis à un traitement thermique, emballés. Les résultats de ce plan communautaire seront disponibles dans un rapport de l'EFSA.

Réseaux d'alertes

Le réseau d'alerte européen RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) est activé lorsqu'un produit mis sur le marché est non conforme au regard de *L.m.*, dans la mesure où ce produit a été fabriqué dans un autre État que celui dans lequel a été identifiée la non-conformité et/ou quand ce produit a été distribué dans d'autres pays. L'alerte ainsi notifiée au RASFF

Figure 2 Contamination en *Listeria monocytogenes* des différentes filières animales / **Figure 2** *Listeria monocytogenes* contamination in the different food-animal sources



permet aux autres États-membres de prendre les mesures nécessaires à leur niveau, soit vis-à-vis des produits mis sur le marché, soit vis-à-vis du fabricant ou de l'importateur situé sur leur territoire.

Enfin, le système EPIS (*Epidemic Intelligence Information System*), coordonné par l'ECDC est un système sécurisé de communication entre les États-membres, qui permet des échanges rapides de données de surveillance des cas humains et des souches alimentaires en cas d'investigation à l'échelle européenne de cas groupés ou d'épidémie.

Caractérisation des isolats

Méthodes et contextes

Les isolats collectés dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle sont adressés au Laboratoire national de référence des *L.m* (LNR) à l'Anses. Les isolats d'origine alimentaire ou de l'environnement associés à un contexte d'alerte-produit ou d'enquête autour de cas humains ainsi que les isolats cliniques doivent obligatoirement être envoyés pour caractérisation au Centre national de référence (CNR) des *Listeria* à l'Institut Pasteur. Une caractérisation approfondie est effectuée dans les deux laboratoires selon des méthodes standardisées permettant la vérification de l'identité d'espèce, la détermination du sérovar et/ou du génosérogroupe [5;6], et l'identification d'un profil moléculaire par la méthode d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) après macro-restriction de l'ADN par deux enzymes *Ascl* et *Apal* [7;8]. L'ensemble des résultats de caractérisation associés aux données épidémiologiques relatives à l'isolement de la souche est ensuite rassemblé dans des bases de données permettant de suivre l'évolution des différents profils de souches selon les filières et les catégories de produits au cours du temps. Les bases de données de caractérisation du CNR et du LNR sont gérées par le logiciel BioNumerics® et sont compatibles, ce qui permet l'échange rapide de données sur les souches.

Données globales

Globalement, 6 958 souches d'origine alimentaire de *L.m* ont été analysées par le CNR et le LNR entre 2006 et 2010. Les trois génosérogroupe IIa (sérovars 1/2a et 3a), IIb (sérovars 1/2b, 3b et 7), IIc (sérovars 1/2c et 3c) représentent ensemble 84% des souches, dont 57% pour le génosérogroupe IIa, majoritaire dans chaque catégorie d'aliments. Le génosérogroupe IVb (sérovars 4b, 4d, 4e), pourtant le plus fréquemment à l'origine des cas de listériose humaine, correspond à seulement 15% des souches isolées d'aliments. La figure 3 présente la distribution des différents génosérogroupe selon les années.

Caractérisation des isolats issus des plans de surveillance et de contrôle

Les 156 souches de *L.m* isolées de préparations de viande du plan de surveillance de 2006 ont été analysées par le LNR. Les deux serovars les plus fréquents 1/2a et 1/2c représentaient chacun 40% des souches alors que seulement 8% des souches étaient de sérovar 4b. La caractérisation par PFGE a identifié 65 profils combinés *Apal/Ascl*, avec parfois une spécificité de profil selon l'origine géographique d'isolement de la souche ; cependant, aucun profil n'a pu être associé à un type précis de produit alimentaire [9]. De

même, la caractérisation moléculaire réalisée sur les 152 souches reçues au LNR, issues des deux plans de contrôle de 2008 et 2009 et du plan de contrôle sur les merguez en 2008, a montré que les souches appartenaient majoritairement au génosérogroupe IIa. L'analyse par PFGE a permis d'identifier 72 profils combinés par les enzymes de restriction *Apal/Ascl* globalement corrélés aux génosérogroupe. La majorité des profils PFGE avait déjà été identifiés dans d'autres produits ; cependant, un profil s'est avéré spécifiquement associé aux souches isolées de merguez et de chipolatas. Le croisement de ces profils avec ceux observés par le CNR correspondant à des signalements de cas a permis d'identifier seulement neuf profils similaires [10].

Caractérisation des isolats issus des autocontrôles

Les souches issues des autocontrôles peuvent être envoyées volontairement pour des analyses complémentaires de caractérisation au LNR ou au CNR. Comme il s'agit d'une démarche volontaire, la synthèse des résultats ne peut pas refléter la situation nationale. Néanmoins, on peut indiquer qu'entre 2006 et 2010, le CNR et le LNR ont analysé 2 850 isolats issus d'autocontrôles. La caractérisation des souches peut présenter un intérêt pour les professionnels dans le cadre de la maîtrise des étapes de transformation.

Caractérisation des isolats dans le cadre d'alerte-produit

Les souches isolées dans un contexte d'alerte-produit doivent être adressées au CNR qui réalise une caractérisation moléculaire pour comparaison avec les souches cliniques. Cette comparaison des caractéristiques de typage des souches issues d'alertes-produits par rapport aux souches humaines est effectuée hebdomadairement sur une période de trois mois et est communiquée à l'InVS et aux autorités compétentes (DGAL, DGCCRF et DGS) afin de mettre en place d'éventuelles investigations complémentaires. Les souches d'alertes-produits et les autres souches d'origine alimentaire sont également comparées aux souches des cas groupés humains détectés sur le territoire, appelés « signalements », ou aux souches de patients présentant différentes formes cliniques de listériose afin d'identifier d'éventuelles similarités en termes de caractéristiques microbiologiques [11]. Cette approche doit permettre de détecter et circonscrire le plus précocement possible une épidémie. Sur la période 2009-2010, 482 alertes-produits ont été suivies par l'envoi de 1 144 souches au CNR, soit d'origine alimentaire (91%) ou de l'environnement agroalimentaire (9%). Le taux d'exhaustivité des souches d'alertes-produits est en augmentation constant pour atteindre plus de 80% en 2010. Les génosérogroupe des souches alimentaires d'alertes-produits étaient IIa à 55%, IIb à 14%, IIc à 20%, et IVb à 11%. Le nombre de profils combinés *Ascl/Apal* différents variait de 1 à 8 par alerte-produit. Au total, 226 profils combinés *Ascl/Apal* différents ont été observés parmi ces souches, dont 66 profils également identifiés parmi les souches humaines durant la même période. Cependant, une seule alerte-produit concernant un produit de la pêche pu être reliée épidémiologiquement par le biais des questionnaires à un cas humain.

Conclusion

La surveillance de *L.m* dans les aliments en France est basée sur plusieurs dispositifs complémentaires, faisant intervenir les autorités compétentes

Figure 3 Distribution des souches de *Listeria monocytogenes* isolées des aliments entre 2006 et 2010 dans chacun des génosérogroupe (données compilées du CNR et du LNR) / *Figure 3* *Geno-serogroup distribution of the Listeria monocytogenes strains recovered from foods during 2006 to 2010 (combined data from the National Reference Centre and the National Reference Laboratory for Listeria)*



mais aussi tous les acteurs de la chaîne de transformation des aliments « de la fourche à la fourchette » ainsi que les deux laboratoires de référence, CNR et LNR, spécialisés dans la caractérisation des isolats. La confrontation des données de caractérisation moléculaire avec celles concernant l'origine et le contexte d'isolement contribue pleinement à l'épidémiologie des souches. Ces données permettent d'identifier très rapidement la présence de cas humains groupés reliés éventuellement à un aliment contaminé et de prendre les mesures nécessaires pour éviter la survenue d'une épidémie. Ce système unique est reconnu par ses performances en termes de réactivité et de détection de cas de listériose. Il existe donc une exhaustivité des déclarations des cas humains et de la transmission des souches cliniques associées. En revanche, la surveillance des aliments positifs en *L.m* et l'envoi des souches au CNR ou au LNR n'est pas exhaustive car seule la déclaration des aliments contaminés dans le cadre d'une alerte produit est obligatoire. L'obtention d'une cartographie des souches alimentaires françaises permettrait d'améliorer l'identification de l'origine de cas sporadiques humains, et pourrait être utile pour identifier rapidement un produit non répertorié à risque pouvant être la source d'une épidémie, comme ce fut le cas aux États-Unis en 2011 dans l'épidémie liée à la contamination de cantaloups.

L'ensemble des dispositifs, en particulier, les plans de surveillance réalisés au cours de ces dernières années, montrent que certains produits peuvent représenter un danger pour le consommateur notamment ceux consommés en l'état, permettant la croissance de *L.m* et conservés un certain temps à basse température. De plus, compte tenu de son caractère ubiquiste, cette bactérie est très largement répandue dans le milieu extérieur, ce qui peut engendrer des contaminations à partir de l'environnement de l'atelier (plans de travail, matériel). Si elle contamine un aliment qui permet sa croissance, il existe alors un risque potentiel pour le consommateur. C'est pourquoi, une classification des aliments selon le risque a été élaborée précédemment par l'Afssa (devenue Anses) [12]. Parmi les mesures établies pour assurer un niveau élevé de protection des consommateurs, la réglementation européenne EC 178/2002 indique que l'exploitant agro-alimentaire doit notifier toute denrée alimentaire non-conforme aux prescriptions de sécurité sanitaire et mettre en œuvre des mesures de retrait et/ou rappel. Le règlement EC 2073/2005 modifié a établi des critères de sécurité pour *L.m* pour certaines catégories de produits. En complément des ces actions de plan de maîtrise, les mesures de gestion des aliments liés aux alertes-produits ont pu contribuer à l'absence d'épidémie à *L.m* en France depuis 2006. Il apparaît donc important de maintenir une vigilance sur toute la chaîne de production, d'impliquer tous les acteurs, de sensibiliser la population, en particulier les populations à risque et d'identifier l'évolution des modes de préparation pouvant présenter un risque pour le consommateur.

Remerciements

Les auteurs remercient tous les laboratoires publics et privés qui participent à la transmission des souches de *Listeria monocytogenes* et des informations épidémiologiques s'y rapportant, ainsi que tous les acteurs de terrain.

Références

- [1] Le Monnier A, Leclercq A. *Listeria* and listeriosis: from farm to fork. *Pathol Biol.* 2009;57(1):17-22.
- [2] Schlech WF 3rd, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, et al. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *N Engl J Med.* 1993;308 :203-6.
- [3] Brisabois A. *Listeria monocytogenes*: une bactérie sous haute surveillance. *Bulletin de l'AAEIP (Association des anciens élèves de l'Institut Pasteur).* 2008;50(195):71-7.
- [4] Goulet V, Leclercq A, Vaillant V, Le Monnier A, Laurent E, Thierry-Bled F, et al. Recrudescence récente des cas de listériose en France. *Bull Epidemiol Hebd.* 2008;(30-31):268-72.
- [5] Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004;42(8):3819-22.
- [6] Kérouanton A, Marault M, Petit L, Grout J, Dao TT, Brisabois A. Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping. *J Microbiol Methods.* 2010;80(2):134-7.
- [7] Graves LM, Swaminathan B. PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol.* 2001;65(1-2):55-62.
- [8] Martin P, Jacquet C, Goulet V, Vaillant V, De Valk H; Participants in the PulseNet Europe Feasibility Study. Pulsed-field gel electrophoresis of *Listeria monocytogenes* strains: the PulseNet Europe Feasibility Study. *Foodborne Pathog Dis.* 2006;3:303-8.
- [9] Kérouanton A, Marault M, Dao TT, Brisabois A. Bilan de la caractérisation des souches isolées dans le cadre du plan de surveillance 2006-contamination par *Listeria monocytogenes* des préparations de viandes. *Bulletin Épidémiologique Afssa-DGAL.* 2008;(23-24):10-1.
- [10] Roussel S, Guiliani L, Dao TT, Vignaud ML, Grout J, Félix B, et al. Bilan de la caractérisation moléculaire des souches de *Listeria monocytogenes* isolées de merguez et de charcuterie dans le cadre des plans de contrôles mis en place par la Direction générale de l'alimentation en 2008 et en 2009. *Bulletin Épidémiologique Afssa-DGAL.* 2010;(37):7-11.
- [11] Chaussade H, Garot D, Bastides F, De Gialluly C, Mercier E, Gras G, et al. A Touraine cluster of central nervous system listeriosis. *Med Mal Infect.* 2011;41(11):613-6.
- [12] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis sur la révision de l'avis 2000-SA-0094 sur la classification des aliments au regard du risque représenté par *Listeria monocytogenes* et les protocoles de tests de croissance. Avis du 9 mars 2005. Afssa: Maisons-Alfort; 2005. 21 p. Disponible à : <http://www.afssa.fr/Documents/MIC2003sa0362.pdf>

Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus* : bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010

Sabrina Cadel Six (sabrina.cadelsix@anses.fr)¹, Marie-Laure De Buysse¹, Marie-Léone Vignaud¹, Trinh Tam Dao¹, Sabine Messio², Sylvie Pairaud², Jacques-Antoine Hennekinne², Nathalie Pihier³, Anne Brisabois¹

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, Unité Caractérisation et épidémiologie bactérienne, Maisons-Alfort, France

2/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, Unité Caractérisation des toxines, Maisons-Alfort, France

3/ Direction générale de l'alimentation (DGAL), Mission des urgences sanitaires, Paris, France

Résumé / Abstract

Devant le nombre croissant de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) associées à *Bacillus cereus*, une caractérisation phénotypique et génotypique des isolats provenant d'aliments suspectés a été réalisée et analysée, en lien avec les signes cliniques des cas déclarés.

Entre 2006 et 2010, 55 foyers déclarés ont été enquêtés. La combinaison des différents marqueurs recherchés (hémolysine, amidon, production de toxines Nhe et Hbl, détection des gènes *ces*, *cspA*, *cyt K1* et *cyt K2*), a permis de classer les 279 isolats analysés en 19 profils différents. Certains de ces profils ont pu être associés à l'un des sept groupes phylogénétiques précédemment décrits chez *B. cereus sensu lato*. L'ensemble de ces résultats a confirmé i) le potentiel diarrhéique ou émétique de la plupart des

Bacillus cereus food poisoning outbreaks: strain characterization results, 2006-2010

With the growing number of foodborne outbreaks associated with *Bacillus cereus*, a phenotypic and genotypic characterization of isolates from suspected food, in relation to clinical signs of reported cases, was implemented and analysed.

Between 2006 and 2010, 55 reported outbreaks were investigated. The combination of several markers (hemolysin, starch, production of Hbl and Nhe toxins, detection of *ces*, *cspA*, *cyt K1* and *cyt K2* genes), allowed to classify the 279 isolates tested into 19 different profiles. Some of these profiles

souches, ii) l'implication des groupes III et IV, V ou II dans les foyers de Tiac alors que les souches du groupe VI ne semblent pas pathogènes, iii) l'émergence de souches du groupe VII particulièrement virulentes.

Cette étude souligne l'intérêt de la caractérisation des souches en lien avec les informations épidémiologiques disponibles, afin d'améliorer la surveillance des Tiac à *Bacillus cereus*.

could be associated with one of the seven phylogenetic groups described within *B. cereus sensu lato*. All these results confirmed i) the diarrheal or emetic potential of most strains ii) the involvement of groups III and IV, V or II in foodborne outbreaks while strains of group VI do not seem to be pathogen, iii) the emergence of strains of group VII particularly virulent.

This study stresses the importance of monitoring the outbreaks potentially associated with *Bacillus cereus*, and of comparing results of strain characterization with epidemiological and clinical information.

Mots clés / Key words

Bacillus cereus, toxi-infections alimentaires, souches, caractérisation / *Bacillus cereus*, foodborne diseases, strain characterization

Contexte

Bacillus cereus

Bacillus cereus est une bactérie sporulée, aéro-anaérobie facultative et thermo-résistante ; les températures de croissance de cette bactérie peuvent varier de 5 à 50°C. Ces caractéristiques lui confèrent une résistance particulière à l'action de bactéricides, aux désinfectants, aux radiations, à la dessiccation et au cycle du froid. Sept groupes génétiques ont été définis chez *Bacillus cereus sensu lato* sur la base du séquençage du gène *panC* (pantoate-β-alanine ligase C). Les sept groupes reflètent les différentes aptitudes des souches à se développer à différentes températures, à la thermorésistance de leurs spores et à la fréquence de leur implication dans les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) (tableau 1) [1-3]. *Bacillus cereus* peut produire deux types de toxines, une toxine émétique préformée dans les aliments et résistante à une large gamme de températures et de pH, et des toxines diarrhéiques produites pendant la croissance dans l'intestin grêle après ingestion de cellules végétales ou de spores en quantité suffisante.

Le syndrome émétique est caractérisé par des nausées, des vomissements et des crampes abdominales se produisant 1 à 5 h après l'ingestion des aliments contaminés, avec rétablissement dans les 6 à 24 h. Les symptômes associés sont semblables à ceux générés par les entérotoxines staphylococciques, protéines préformées par *Staphylococcus aureus* dans les aliments. Ce type d'intoxication alimentaire est relié à la production d'un dodécadécapeptide cyclique, le céréulide, et nécessite l'ingestion de ce dernier. Le syndrome diarrhéique est attribué à des entérotoxines : l'hémolysine BL (Hbl) complexe à trois composants (Hbl B, Hbl L1 et Hbl L2), l'hémolysine Nhe elle aussi composée de trois sous-unités (NheA, NheB et Nhe C) et la cytotoxine K (CytK) [4;5]. Ces toxines sont produites dans le tube digestif de l'hôte et, pour être actives, les deux premières doivent être composées de leurs différentes sous-unités. Les temps d'incubation après ingestion des plats contaminés varient de 6 à 15 h avec rétablissement dans les 24 à 48 h. Ce type de toxi-infection alimentaire peut facilement être confondu avec celle provoquée par *Clostridium perfringens*.

Système de surveillance

Les toxi-infections alimentaires doivent obligatoirement être déclarées lorsqu'elles sont collectives. Ces toxi-infections alimentaires sont souvent bénignes et celles associées à *Bacillus cereus* peuvent être confondues avec celles provoquées respectivement par *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*. De ce fait, les Tiac à *Bacillus cereus* sont vraisemblablement sous-estimées. *Bacillus cereus* représentait entre 1996 et 2005 la 4^e cause de Tiac en France (après *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Clostridium perfringens*) avec 1 766 cas répartis sur 94 foyers confirmés et le taux de décès une augmentation du nombre de Tiac à *Bacillus cereus*, avec environ 10 Tiac entre

2000 et 2002, et environ 25 Tiac en 2003. Entre 2006 et 2010, *Bacillus cereus* représente selon les années la 4^e à la 6^e cause des foyers de Tiac en France pour lesquels l'agent est confirmé (1 156 cas répartis sur 62 foyers) et la 2^e ou 3^e cause des foyers pour lesquels l'agent est suspecté (3 058 cas répartis sur 286 foyers) (communication personnelle DGAL). On parle de foyer confirmé lorsque l'agent est isolé dans des restes alimentaires ou des repas témoins et de foyer suspecté lorsque l'agent pathogène n'a pas été confirmé ; il est alors suspecté à l'aide d'un algorithme d'orientation étiologique prenant en compte les signes cliniques, la durée médiane d'incubation et le type d'aliments consommés.

En 2006, la Direction générale de l'alimentation (DGAL) a émis une Lettre d'ordre de service (n°0719 du 24/07/06) demandant aux Directions départementales des services vétérinaires (DDSV) (intégrées depuis dans les Directions départementales de la protection des populations) d'envoyer, pour caractérisation, les souches de *Bacillus cereus* isolées des aliments suspectés d'être à l'origine de Tiac à l'Unité Caractérisation et épidémiologie bactérienne de l'Anses, dans le cadre d'un projet de recherche visant à estimer le risque d'émergence de *Bacillus cereus* en fonction de l'évolution des procédés de transformation des aliments dans la filière agro-alimentaire [7]. Ainsi, une étude de caractérisation a pu être menée sur les souches de *Bacillus cereus* isolées des aliments et transmises par les laboratoires départementaux d'analyse vétérinaires et alimentaires. Ces souches étaient accompagnées d'une fiche de renseignements portant sur l'origine de la souche (nature de l'aliment, conditionnement, département, etc.) et les signes cliniques observés chez les malades. L'objectif de cet article est de tracer un bilan sur la caractérisation des isolats de *Bacillus cereus* associés à 55 foyers non reliés épidémiologiquement. L'originalité de ce travail porte sur la recherche de plusieurs caractères comprenant des marqueurs de virulence, non réalisée jusque-là dans les investigations de Tiac. Actuellement, l'investigation de foyers de Tiac à *Bacillus cereus* porte uniquement sur la recherche de *Bacillus cereus* dans l'aliment susceptible d'être à l'origine du foyer. Aucune souche clinique n'est habituellement isolée.

Matériel et méthodes

Données épidémiologiques

Les souches étaient accompagnées de renseignements transmis par les DDPP. Différents types d'informations ont été recensées, relatives d'une part à la souche isolée de l'aliment (nombre de *Bacillus cereus*/g, présence/absence d'autres pathogènes, nature de l'aliment, lieu de préparation et conditionnement de l'aliment, département d'isolement de la souche), et d'autre part relatives au foyer identifié (nombre de malades, signes cliniques, délais d'incubation, lieu et département de survenue). Cependant dans certains cas, les informations épidémiologiques étaient incomplètes ou manquantes.

Souches bactériennes

Durant la période d'étude, 304 isolats de *Bacillus cereus* correspondant à 60 foyers identifiés ont été reçus à l'Anses et caractérisés ; cependant, l'étude présentée ici ne portera que sur 279 isolats correspondant à 55 foyers pour lesquels un lien a pu être établi entre les données épidémiologiques cliniques indiquées sur la fiche de renseignement et les caractéristiques microbiologiques des souches.

Méthodes de caractérisation de *Bacillus cereus*

Caractérisation phénotypique

Elle comprend l'aspect des colonies sur milieu de Mossel, l'hémolyse, le test d'hydrolyse de l'amidon [8]; la production de deux entérotoxines

Tableau 1. Caractéristiques des 7 groupes génétiques chez *Bacillus cereus sensu lato* ([1]) / Table 1. Characteristics of the 7 genetic groups within *Bacillus cereus sensu lato* ([1])

Groupes	Températures de croissance (°C)	Thermorésistance	Association avec des Tiac
I	10-43	Non renseigné	-
VI	5-37	+/-	-
II	7-40	++	+
V	10-40	++	+
IV	10-45	++	++
III	15-45	+++	+++
VII	20-50	+++	+++

Tableau 2 Bilan des foyers à *Bacillus cereus* analysés de 2006 à 2010 à l'Anses, Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, France / **Table 2** Review of outbreaks associated with *Bacillus cereus* analyzed from 2006 to 2010 in the ANSES Laboratory for Food Safety in Maisons-Alfort, France

Année	Nombre de foyers de Tiac	Signes cliniques décrits par les personnes ayant consommé les aliments analysés			Nombre d'isolats de <i>Bacillus cereus</i> testés (isolés d'aliments suspects)
		Diarrhée	Syndrome émétique	Non renseigné	
2006	2	1	1	0	11
2007	7	4	2	1	39
2008	22	8	5	9	99
2009	11	2	3	6	43
2010	13	5	5	3	87
Total	55	20	16	19	279

diarrhéiques après 6 h de culture en bouillon cœur-cerveille à 37°C : NHE (kit Elisa de chez 3M™ Tecra™, France) et HBL (kit *Bacillus cereus* ET-RPLA de chez Oxoid, Thermo Scientific, France).

Caractérisation génotypique

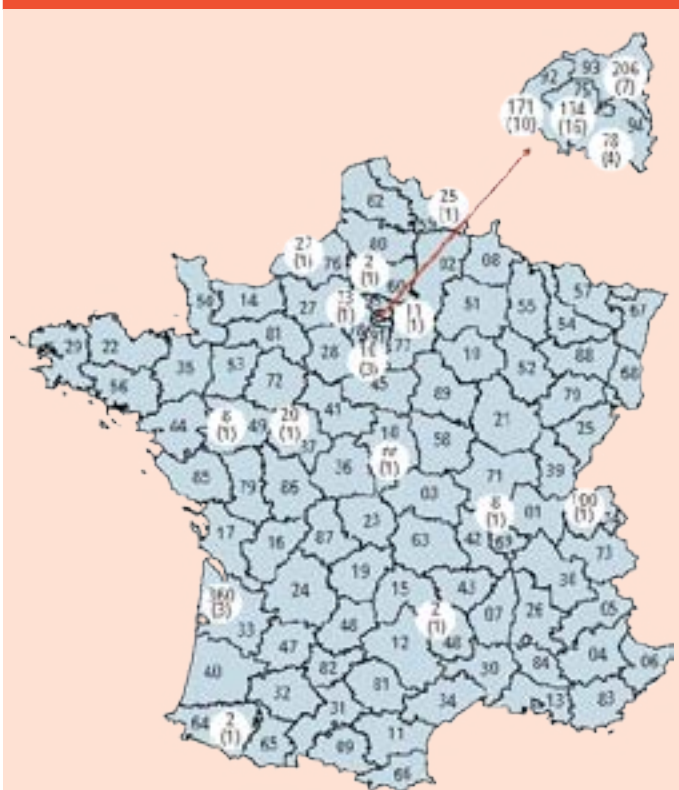
Elle s'appuie sur la recherche par PCR des gènes de virulence *cytK1/cytK2* (les deux formes de la cytotoxine K[5]) et *ces* (impliqué dans la synthèse de la toxine émétique [9]) et du gène *cspA*, marqueur de psychrotrophie [10].

Résultats

Principales caractéristiques épidémiologiques

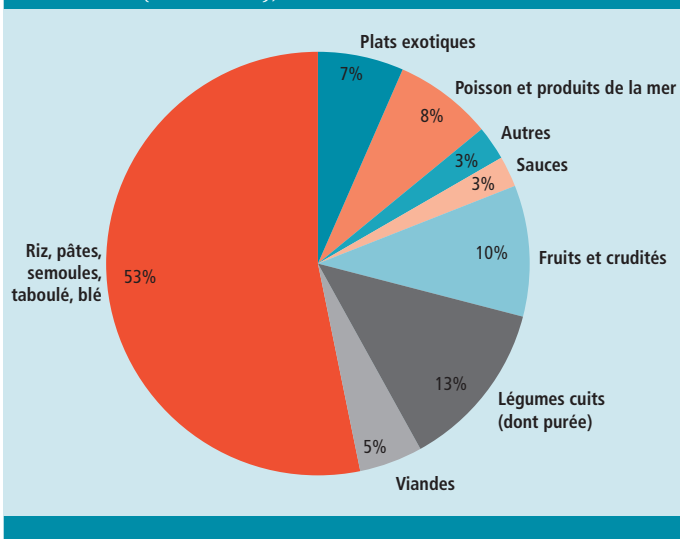
Au total, 60 foyers ont été analysés sur la période 2006 à 2010. Cependant, cet article traitera uniquement des 55 foyers (279 isolats) pour lesquels une concordance possible a été relevée. Selon les informations souvent imprécises qui nous sont parvenues concernant les symptômes, 20 des 55 foyers étaient plutôt de type diarrhéique, 16 foyers plutôt de type émétique et 19 foyers non renseignés clairement. Le délai d'incubation n'était pas précisé dans un tiers des foyers (tableau 2).

Figure 1 Répartition géographique des cas déclarés dans 55 foyers de Tiac à *Bacillus cereus* rapportés en France de 2006 à 2010 / **Figure 1** Geographical distribution of the cases reported in 55 foodborne outbreaks associated with *Bacillus cereus* in France from 2006 to 2010



nr = non renseigné. (n°) = le chiffre entre parenthèses correspond au nombre de foyers. Corse : pas de données.

Figure 2 Aliment responsable ou suspecté dans les Tiac à *Bacillus cereus* analysés entre 2006 et 2010 (55 foyers) en France / **Figure 2** Food suspected in the foodborne outbreaks associated with *Bacillus cereus* between 2006 and 2010 (55 outbreaks), in France



Répartition géographique et nombre de cas

Le nombre des cas n'est pas renseigné pour 2 foyers (1 à Paris et 1 dans le Cher) sur 55. Les 53 foyers renseignés représentent 1237 cas. Quarante-deux foyers sont survenus en région Île-de-France et 13 dans sept autres régions. Dix-huit départements français ont été touchés. Au total, 360 cas sont survenus dans le département de la Gironde (33) (répartis en 3 foyers), 206 cas en Seine-Saint-Denis (93) (7 foyers), 171 cas dans les Hauts-de-Seine (92) (10 foyers), 134 cas à Paris (75) (16 foyers) et 100 cas en Haute-Savoie (74) (1 foyer). Les cas déclarés dans les autres départements varient entre 2 et 78 répartis en 1 ou 4 foyers (figure 1). La fréquence plus élevée des foyers en Île-de-France peut provenir du fait que les souches provenant de cette région ont été obtenues directement par l'intermédiaire de l'Unité LCSV (Laboratoire central des services vétérinaires) intégrée au Laboratoire de sécurité sanitaire des aliments de l'Anses.

Lieu de survenue

Soixante-sept pour cent (67%) des foyers sont survenus en restauration collective ou commerciale et 15% en milieu familial ; 14% des foyers étaient non renseignés. Les foyers en restauration collective ou commerciale ont été à l'origine de 87% des malades, dont 49% en milieu scolaire (602/1237 cas), 15% en restauration commerciale (192/1237 cas), 11% en restauration d'entreprise (143/1237 cas), 10% dans des institutions médico-sociales (121/1237 cas) et 2% dans d'autres collectivités (22/1237 cas).

Aliment responsable ou suspecté

La figure 2 illustre la répartition des aliments responsables ou suspectés. Un aliment a été considéré comme responsable si une concordance a été mise en évidence entre les caractéristiques de la souche, les isolats analysés, et les signes cliniques décrits dans les feuilles de renseignement. Un aliment a été considéré comme suspect si la concordance est possible. La responsabilité confirmée ou suspectée des produits à base de féculents (salades de riz, pâtes, taboulé, semoule et blé) a été établie dans 53% des Tiac à *Bacillus cereus*. Le riz et les pâtes cuits, parfois conservés plusieurs jours à température ambiante avant consommation, ont été responsables de 5 Tiac familiales, dont une sévère (impliquant des souches du groupe III *ces*+). La toxine émétique de *Bacillus cereus*, probablement présente dans les aliments, semble être le facteur responsable de ces intoxications.

Les légumes cuits et la purée de pomme de terre ont été impliqués dans 13% des 55 foyers. Les purées reconstituées longtemps à l'avance dans les maisons de retraite et les hôpitaux ont été impliquées dans 3 Tiac et avaient déjà été impliquées dans deux Tiac survenues avant 2006, dont une mortelle [4]. Des plats exotiques (poulet tandoori, tajine, poisson au lait de coco, etc.) et des viandes ont été impliqués respectivement dans 7 et 5% des foyers. Les épices (du fait que la dessiccation n'a aucun effet sur les spores de *Bacillus cereus*), ainsi que le non respect de la chaîne du froid pourraient être les causes de ces contaminations.

Tableau 3 Différents profils de souches de *Bacillus cereus* observés de 2006 à 2010 à l'Anses, Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, France / **Table 3** Different profiles of *Bacillus cereus* strains observed from 2006-2010 by the ANSES Laboratory for Food Safety, Maisons-Alfort, France

Profil n°	Hémolyse	Amidon	Indice NHE	Titre HBL	Gène ces	Gènes cytK	Gène cspA	Groupe génétique déduit	Nombre de souches par profil
1	+	+ ou -	<4	< 1/32	-	-	+	VI	2
2	+ ou -	-	5	-	+	-	-	III ces+	14
3	+ ou -	-	4 à 5	-	-	-	-	III	13
4	+ ou -	- ou +	4 à 5	-	-	cytK2+	-	III cytK2+	10
5	- ou +	-	1 à 2	-	-	cytK1+	-	VII	5
6	+	+	4 à 5	> 1/32	-	-	-	IV, V ou II	5
7	+	+	<4	> 1/32	-	-	-	IV, V ou II	1
8	+	+	<4	- ou < 1/32	-	cytK2+	-	IV, V ou II	8
9	+ ou -	+	<4	> 1/32	-	cytK2+	+	IV, V, II ou VI	8
10	+	+ ou -	1 à 2	- ou < 1/32	-	-	-	IV, V ou II	7
11	-	-	1 à 2	-	-	cytK2+	-	IV, V ou I	1
12	++	-	3	-	-	cytK2+	-	IV, V ou II	1
13	+ ou -	+	2	< 1/32	-	cytK2+	-	IV, V ou II	4
14	+	+	2 à 3	-	-	-	-	IV, V ou II	4
15	-	-	1 à 2	-	-	-	-	?	1
16	-	-	2	> 1/32	-	-	-	?	1
17	+	-	4	> 1/32	+	-	-	III ces+	1
18	+	+	3 à 4	> 1/32	-	cytK2+	-	IV, V ou II	11
19	-	-	1	1/32	-	cytK2+	-	IV, V ou II	2

+ : détecté ; - : non détecté ; Indice NHE fort : 4 à 5, souches fortement productrices et donc présentant un potentiel de virulence avéré. Indice NHE faible à nul : 1 à 3, souche présentant un potentiel de virulence non avéré ; ? : pas de groupe génétique déduit.

Caractérisation des souches de *Bacillus cereus*

Identification des profils et potentiel de virulence associé

Selon les différentes combinaisons des caractères phénotypiques et génotypiques étudiés, les 279 isolats de *Bacillus cereus* se sont répartis en 19 profils distincts (tableau 3). Plusieurs isolats ont été analysés pour un même foyer et le dédoublement basé sur l'identité de profil de souche pour un même foyer a permis de sélectionner 99 souches non reliées épidémiologiquement se répartissant dans les 19 profils décrits. Certains profils permettent de classer les souches dans un groupe génétique dont le potentiel de virulence est connu. Le profil 2 présente le gène *ces*, attribué aux souches du sous-groupe émétique du groupe III. Les profils 3 et 4 sont attribués aussi au groupe III dont le potentiel de virulence est élevé (forte production de NHE, indice égal à 4 ou 5), pouvant être de type émétique ou diarrhéique. Le profil 5 porte la signature *cytK1*, attribué au groupe VII, un groupe peu fréquemment identifié, mais qui a déjà été associé à plusieurs Tiac de type diarrhéique dont la première décrite, survenue en France en 1998, a été mortelle [4]. Enfin, le profil 1 porte la signature *cspA* attribuée aux souches du groupe VI jusque-là non associées à des Tiac et considérées comme non pathogènes.

Les autres profils ne permettent pas une attribution à un seul groupe. Mais ceux qui présentent des caractères de virulence avérés (forte production de NHE et/ou de HBL) peuvent être impliqués dans des Tiac de type diarrhéique. Enfin, nous avons observé quelques profils inattendus (n°9) (gène *cspA*+) ou rares (n°11,12,16,17), ou ne comprenant aucun caractère de virulence connu (n°10,15).

Le gène *cytK2* est présent dans plusieurs profils. Cependant, la cytotoxine K2 étant considérée comme moins virulente que la cytotoxine K1, son incidence sur la pathogénicité des souches reste méconnue.

Définition de trois catégories de foyers et identification des profils de *Bacillus cereus* associés

Il est possible de distinguer trois catégories : (1) les foyers où un seul profil de *Bacillus cereus* est retrouvé, en l'absence d'autres pathogènes ; (2) les

Tableau 4 Foyers de Tiac attribués à un seul profil de *Bacillus cereus* de 2006 à 2010 à l'Anses, Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, France / **Table 4** Foodborne outbreaks classified in a single profile of *Bacillus cereus* from 2006-2010 by the ANSES Laboratory for Food Safety, Maisons-Alfort, France

Année	Localisation	Département	Nombre de cas	Aliment suspecté ou confirmé	Nombre de <i>B. cereus</i> /g	Profil n°	Groupe génétique potentiel
2006	Maison d'arrêt	93	40	Tagine	4x10 ³	2	III ces+
2007	nr*	75	5	Semoule	1,2x10 ⁷	2	III ces+
2008	Restaurant	75	4	Semoule et agneau	5,5x10 ⁴ et 1x10 ³	2	III ces+
2008	Restaurant interentreprises	93	70	Salade de fruits	6,3x10 ³	2	III ces+
2009	Familial	64	2	Riz cantonais	1,6x10 ⁵	2	III ces+
2009	Restaurant	92	15	Sauce poulet	5x10 ²	2	III ces+
2010	Familial	60	2	Gratin de pâtes	1,5x10 ⁷	2	III ces+
2010	Familial	48	2	Bœuf cuit	>3x10 ⁵	2	III ces+
2010	Familial	69	8	2 salades riz, et saucisse cuite	1,7x10 ⁷ , 5,4x10 ⁵ , 3x10 ³	2	III ces+
2007	nr	59	25	Bœuf bourguignon	1x10 ²	3	III ces-
2007	nr	75	12	Crevettes cuites	6,8x10 ⁴	3	III ces-
2010	Hôpital	93	19	Purée légumes et purée pomme de terre	1,2x10 ⁴ et 7,8x10 ³	3	III ces-
2009	Restaurant	92	2	Poisson au lait de coco	1,1x10 ⁴	3	III ces-
2007	nr	75	4	Tomates	7x10 ²	4	III cytK2+
2008	Restaurant	93	15	Tiramisu	8 x10 ²	4	III cytK2+
2008	Lycée	33	341	Semoule	1 x10 ⁴	5	VII
2008	Maison de retraite	94	28	Purée pomme de terre	1,9 x10 ⁴	5	VII
2009	École	94	24	Purée pomme de terre	<4 x10 ²	5	VII
2010	Lycée	75	44	Salade verte	1x10 ³	8	IV, V ou II
2010	Centre Médical	76	27	Paëlla	2,8 x10 ⁴	8	IV, V ou II
2010	Familial	18	nr	Salade de riz au thon	3,2, x10 ⁷	8	IV, V ou II
2010	Hôpital	75	11	Taboulé	4 x10 ³	8	IV, V ou II
2008	nr	75	nr	Taboulé/ bœuf haché	5 x10 ³ et 1,3 x10 ³	9	IV, V ou II
2008	Cuisine commerciale	93	2	Salade composée	1,9 x10 ³	9	IV, V ou II
2009	Restaurant	75	7	Petits pois (semoule)	2x10 ⁷ (2,4x10 ⁵)	9 (14)	IV, V ou II
2007	Restaurant interentreprises	93	13	Sauce béarnaise	1 x10 ²	18	IV, V ou II
2008	Restauration d'hôtellerie	75	13	Salade de riz	2 x10 ³	18	IV, V ou II
2008	Restaurant	75	10	Poulet tandoori	4,6 x10 ³	18	IV, V ou II
2006	Restaurant	92	18	Gâteau de riz	2,2 x10 ³	18 (7)	IV, V ou II
2008	Restaurant	75	11	Saumon fumé	3 x10 ³	18	IV, V ou II
2008	Restaurant	92	2	Riz cuit	7,5 x10 ³	10	IV, V ou II
2008	Restaurant	92	40	Semoule	1,2 x10 ³	10	IV, V ou II
2009	Restaurant	91	3	Encornet en sauce	2,1 x10 ⁵	10	IV, V ou II

*nr : non renseigné.

foyers où plusieurs profils de *Bacillus cereus* sont retrouvés, en l'absence d'autres pathogènes ; et (3) les foyers à un ou plusieurs types de *Bacillus cereus*, en présence d'autres pathogènes.

La **catégorie 1** représente 27 foyers et 116 isolats analysés au total (pour 9 foyers, un seul isolat a été testé) permettant d'identifier huit profils différents dont le plus fréquent est le n°2 émétique.

La **catégorie 2** représente 13 foyers et 94 isolats analysés. Deux à cinq profils différents de *Bacillus cereus* sont observés par foyer. Le plus grand nombre de profils (n=5) a été identifié dans une Tiac pour laquelle les aliments impliqués étaient de la semoule, trois mélanges d'épices et des herbes de Provence. Au total, 17 profils différents, la plupart à potentiel diarrhéique avéré ou possible, ont été observés, dont les plus fréquents sont les profils n°4 et 18.

La **catégorie 3** représente 15 foyers. *S. aureus* a été détecté en plus de *Bacillus cereus* dans 8 foyers et *C. perfringens* a été détecté en plus de *Bacillus cereus* dans 6 foyers. Ces trois pathogènes ont été détectés ensemble dans un foyer. Soixante-neuf isolats ont été analysés. Au sein de cette catégorie, 13 profils de *Bacillus cereus* ont été observés, dont les plus fréquents étaient le n°3 et 2 à potentiel diarrhéique ou émétique.

Le tableau 4 regroupe les informations concernant les foyers pour lesquels un seul profil de *Bacillus cereus* pouvait être retenu comme responsable de la Tiac. Ils représentent 33 foyers comprenant à la fois les 27 foyers de la première catégorie à un seul profil de *Bacillus cereus*, quatre foyers de la catégorie 2 pour lesquels plusieurs profils de *Bacillus cereus* ont été observés mais un seul a été considéré être responsable du foyer, et deux foyers de la catégorie 3 pour lesquels *Bacillus cereus* est considéré plus compatible avec les symptômes que l'autre pathogène détecté. Ces 33 foyers ont présenté 10 profils différents de *Bacillus cereus* dont les plus fréquents sont le n°2 émétique, et le n°18 diarrhéique. Ces deux profils sont associés aux souches des groupes génétiques III, IV, V ou II. Dans le groupe III, 9 souches portaient le gène *ces* et étaient effectivement associées à des foyers de type émétique. Les 6 autres souches du groupe III ne portaient pas le gène *ces* (deux d'entre elles portent le gène *cyk2*) mais étaient associées à des foyers émétiques, ce qui pourrait suggérer l'existence d'autres formes de toxines émétiques. Les 15 foyers reliés aux souches du groupe IV, V ou II étaient de type diarrhéique (n=10) ou non renseignés (n=5). Il est à remarquer que trois souches du profil n°10 ont été impliquées alors qu'elles ne présentaient pas de caractères de virulence connus, ce qui pourrait suggérer l'existence d'autres formes de toxines diarrhéiques. Enfin, 3 foyers sont reliés à des souches du groupe VII isolées dans des aliments déshydratés reconstitués.

Conclusions

Le schéma de caractérisation utilisé a permis de progresser dans la connaissance des souches de *Bacillus cereus* associées à des Tiac, par 1/ la mise en évidence pour chaque isolat d'un potentiel émétique ou diarrhéique associé aux caractères de virulence étudiés ; 2/ l'implication confirmée des groupes III et IV, V ou II dans les toxi-infections alimentaires ; 3/ l'élimination de souches présumées non pathogènes du groupe VI ; et 4/ l'émergence du groupe VII retrouvé dans des aliments déshydratés reconstitués (comme les purées de pomme de terre et les semoules) qui devrait constituer une nouvelle espèce, *B. cytotoxicus*, au sein des groupes génétiques chez *Bacillus cereus sensu lato* [1;2].

Cette étude a également montré la possibilité d'isolement de *Bacillus cereus* en présence d'un autre pathogène, *S. aureus* ou *C. perfringens*.

Le schéma présenté constitue une base solide, qu'il conviendrait de compléter par la détermination précise du groupe phylogénétique par le séquençage du gène *panC*, en particulier pour les souches associées aux groupes IV, V et II [2]. L'objectif de l'étude étant de déterminer les marqueurs de virulence pour les isolats issus d'aliments à l'origine de Tiac, le schéma présenté ici devrait également être complété par l'adjonction de nouveaux marqueurs de virulence récemment décrits tels que le gène *hlyII* (codant pour l'hémolysine II) [12], ou d'autres marqueurs de pathogénicité restant à découvrir. Enfin, en perspective, un typage moléculaire (RAPD, PFGE, ou autre) permettrait d'identifier préalablement la diversité des souches au sein d'un échantillon avant de les caractériser plus finement.

Recommandations

Cette étude a contribué à identifier le danger et à alerter sur le danger réel pour la santé publique de la présence de *Bacillus cereus* associée à de mauvaises pratiques de conservation des aliments cuits, dont la consommation est différée. En effet, une conservation prolongée des aliments cuits à une température élevée permet de sélectionner des souches particulièrement pathogènes de *Bacillus cereus* parmi les multiples souches pouvant être observées dans les aliments. Ainsi, plus la température remonte, plus les souches des groupes III et VII s'approchent des plages de température qui leurs sont favorables, c'est-à-dire de 15 à 45°C pour le groupe III et de 20 à 50°C pour le groupe VII [1]. Or, ces deux groupes renferment des souches particulièrement virulentes.

Cette étude permet ainsi de renforcer les recommandations de l'Anses au sujet de *Bacillus cereus* [3]. Elle montre l'importance de bien renseigner les fiches accompagnant les souches. Ainsi, il serait souhaitable d'obtenir des informations cliniques plus précises pour pouvoir départager les foyers de type émétique de ceux de type diarrhéique. De plus, il faut rappeler l'intérêt d'obtenir des souches cliniques, ce qui n'est pas fait actuellement, pour confirmer la Tiac. Cette étude souligne combien la caractérisation des souches de *Bacillus cereus* en lien avec les informations épidémiologiques peut contribuer à l'amélioration de la surveillance des Tiac.

Remerciements

Les auteurs tiennent à souligner que cette étude a été partiellement financée dans le cadre du projet ANR-05-PNRA-013-08 et remercient les Laboratoires vétérinaires départementaux et le Laboratoire central des services vétérinaires qui ont transmis les isolats et les informations relatives aux isolements de *Bacillus cereus* au Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses.

Références

- [1] Guinebretière MH, Thompson FL, Sorokin A, Normand P, Dawyndt P, Ehling-Schulz M, *et al.* Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environ Microbiol.* 2008;10:851-65.
- [2] Guinebretière MH, Velge P, Couvert O, Carlin F, De Buyser ML, Nguyen-The C. Ability of *Bacillus cereus* group strains to cause food poisoning varies according to phylogenetic affiliation (groups I to VII) rather than species affiliation. *J Clin Microbiol.* 2010;48:3388-91. Disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2937725/pdf/0921-10.pdf>
- [3] Afssa. Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus* (révisée en 2011).
- [4] Lund T, De Buyser ML, Granum PE. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Mol Microbiol.* 2000;38:254-61. Disponible à : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2958.2000.02147.x/pdf>
- [5] Guinebretière MH, Fagerlund A, Granum PE, Nguyen-The C. Rapid discrimination of *cytK-1* and *cytK-2* genes in *Bacillus cereus* strains by a novel duplex PCR system. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;259:74-80. Disponible à : <http://aem.asm.org/cgi/reprint/71/1/105>
- [6] Delmas G, Galloway A, Espié E, Haeghebaert S, Pihier N, Weill F-X, *et al.* Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005. *Bull Epidémiol Hebd.* 2006;(51-52):418-22.
- [7] Albert I, Couvert O, De Buyser ML, Catherine D, Faille C, Gohar M, *et al.* Étude de l'émergence d'une bactérie pathogène dans les filières alimentaires. Le cas de *Bacillus cereus* dans les produits non stériles traités thermiquement. *Bull Soc Fr Microbiol.* 2009;24:506-13.
- [8] Claus D, Berkeley RCW. Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174^{Al}. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, and Holt JG (eds). Baltimore, Md: Williams & Wilkins, 1986; pp. 1105-39.
- [9] Ehling-Schulz M, Vukov N, Schulz A, Shaheen R, Andersson M, Märklbauer E, *et al.* Identification and partial characterization of the nonribosomal peptide synthetase gene responsible for cereulide production in emetic *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71:105-13. Disponible à : <http://aem.asm.org/cgi/reprint/71/1/105>
- [10] Francis KP, Mayr R, von Stetten F, Stewart G, Scherer S. Discrimination of psychrotrophic and mesophilic strains of the *Bacillus cereus* group by PCR targeting of major cold shock protein genes. *Appl Environ Microbiol.* 1998;64:3525-9. Disponible à : <http://aem.asm.org/cgi/reprint/64/9/3525>
- [11] Guinebretière MH, Nguyen-The C. Sources of *Bacillus cereus* contamination in a pasteurized zucchini puree processing line, differentiated by two PCR-based methods. *FEMS Microbiol Ecol.* 2003;43:207-21. Disponible à : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01060.x/pdf>
- [12] Cadot C, Tran S, Vignaud ML, De Buyser ML, Brisabois A, Nguyen-the C, *et al.* *InhA1*, *NprA* and *HlyII* as candidates to differentiate pathogenic from non-pathogenic *Bacillus cereus* strains. *J Clin Microbiol.* 2010;48:1358-65. Disponible à : <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/48/4/1358>

Épidémiologie de *Yersinia enterocolitica* chez le porc, réservoir animal de souches pathogènes pour l'Homme

Martine Denis (martine.denis@anses.fr)¹, Brice Minvielle², Carole Feuerer², Marie-Hélène Desmonts³, Elisabeth Carniel⁴

1/ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, France

2/ Ifip-Institut du porc, Paris, France

3/ Aériol, Illkirch, France

4/ Institut Pasteur, Centre national de référence de la peste et autres yersinioses, Centre collaborateur de l'OMS de référence et de recherche pour les *Yersinia*, Paris, France

Résumé / Abstract

Yersinia enterocolitica est un agent zoonotique responsable de gastro-entérites dans les pays tempérés et froids, incluant la France. Les symptômes sont principalement la diarrhée, la fièvre et les douleurs abdominales. *Y. enterocolitica* est transmissible par la voie oro-fécale et ses principaux réservoirs sont les animaux. Le porc est considéré comme le principal réservoir de biotypes pathogènes pour l'Homme. Les porcs ne développent pas de signes cliniques, mais ils portent *Y. enterocolitica* dans leur cavité orale, sur la langue et les amygdales, ainsi que dans les nœuds lymphatiques, et ils excrètent ce germe dans les fèces. Au niveau des élevages, *Y. enterocolitica* peut persister sur les amygdales des porcs même après l'arrêt de l'excrétion fécale de la bactérie. À l'abattoir, l'ablation de la langue et des amygdales en même temps que l'ensemble trachée-poumons-foie-cœur, suivie de la fente de la carcasse et de l'enlèvement de la tête, favorise la contamination de la carcasse et des organes. Il est préférable de laisser la tête intacte avec la langue à l'intérieur jusqu'à la fin du processus de découpe. En raison de leur nature psychrotrophe, les souches pathogènes de *Y. enterocolitica* présentes dans la viande et les sous-produits peuvent se multiplier pendant leur conservation.

Mots-clés / Key words

Yersinia enterocolitica, porc, prévalence, amygdales, France / *Yersinia enterocolitica*, pig, prevalence, tonsils, France

Yersinia enterocolitica est une entérobactérie Gram négatif appartenant au genre *Yersinia*. L'espèce *enterocolitica* est subdivisée en cinq biotypes pathogènes 1B, 2, 3, 4 et 5, alors que le biotype 1A est non-pathogène pour l'Homme et fréquemment retrouvé dans l'environnement. En France et dans de nombreux autres pays, le biotype 4 est celui le plus fréquemment isolé chez les cas humains (69%), suivi par le biotype 2 (30%) et le biotype 3 (1%) [1].

Y. enterocolitica infecte l'Homme par voie orale et provoque des lésions au niveau de la partie terminale de l'iléon, qui se traduisent cliniquement par une diarrhée, une fièvre, des douleurs abdominales et parfois des vomissements. Les symptômes peuvent durer une à plusieurs semaines, mais cette maladie est généralement de courte durée. Des formes intestinales plus sévères, dont les symptômes sont évocateurs de l'appendicite, sont quelquefois observées. Cette bactérie reste généralement localisée dans le tractus intestinal mais peut envahir l'hôte, causant des abcès dans des organes internes et une septicémie chez les patients déjà fragiles.

En 2009 et ce pour la sixième année consécutive, les yersinioses ont été la troisième zoonose rapportée en terme de fréquence chez l'Homme au sein de l'Union européenne, avec un total de 7 595 cas confirmés [2]. On reste cependant très loin de l'impact des zoonoses alimentaires dues à *Campylobacter* et *Salmonella*. Dans 98,3% des cas de yersinioses, c'est l'espèce *enterocolitica* qui est mise en évidence.

Y. enterocolitica est transmissible par la voie oro-fécale et ses principaux réservoirs sont les animaux. Le porc est considéré comme le principal réservoir de biotypes pathogènes pour l'Homme, bien que d'autres espèces animales, comme les bovins, les ovins, les daims, les petits rongeurs, les chats

Epidemiology of *Yersinia enterocolitica* in pig, animal reservoir of pathogenic strains for humans

Y. enterocolitica is a common cause of acute enteritis in temperate and cold countries worldwide, including France. The main symptoms of human yersiniosis are diarrhea, fever and abdominal pain. Pigs are considered the principal reservoir for the types of *Y. enterocolitica* pathogenic to humans. Pigs do not develop clinical signs, but they do carry *Y. enterocolitica* in the oral cavity, on tongue and tonsils, and in lymph nodes, and they excrete this bacterium in their feces. Even after fecal shedding has stopped, *Y. enterocolitica* has been shown to persist in the tonsils. In the standard slaughter procedure, which involves the removal of the tongue with the tonsils attached, together with pluck set (trachea, lungs, liver and heart), followed by carcass splitting and head removal, the carcass and the pluck set may readily become contaminated with bacteria from the tonsils. Leaving the tongue in the unsplit head until the end of the process is recommended. Due to the psychrotrophic nature of *Y. enterocolitica*, pathogenic strains present in meat and meat products can multiply during storage.

et chiens, puissent aussi être porteuses de souches de biotypes pathogènes. Outre la viande de porc, les données européennes fournies par l'Autorité européenne de sécurité sanitaire des aliments (EFSA) indiquent la présence de la bactérie dans des viandes bovines et de volaille (tableau 1). Elle est plus élevée dans les produits de volaille en raison peut-être de la présence de la peau. La bactérie a également été identifiée dans des légumes, du lait, du poisson et sur des coquilles d'œuf de poule.

L'Homme peut se contaminer par contact avec des animaux infectés, par ingestion d'eau contaminée par des matières fécales ou par consommation de légumes arrosés par des eaux contaminées. Des infections par le biotype 1B ont eu pour origine la consommation d'eau de boisson contaminée [3]. L'infection a généralement comme origine l'ingestion de viande contaminée, consommée crue ou mal cuite. Des études cas-témoins en Norvège et en Finlande [3;4] ont révélé un lien entre les infections à *Y. enterocolitica* et la consommation de produits issus de porcs ou de saucisses mal cuites ainsi qu'avec la consommation d'eau non traitée.

Épidémiologie de *Yersinia enterocolitica* chez le porc

Les porcs ne développent pas de signes cliniques, mais ils portent *Y. enterocolitica* dans leur cavité orale, sur la langue et les amygdales, ainsi que dans les nœuds lymphatiques, et ils excrètent ce germe dans les fèces. Le biosérotype 4/O:3 est le plus fréquemment isolé chez le porc en France [5] et dans les autres pays européens.

Les prévalences de *Y. enterocolitica* chez le porc varient fortement selon les pays, les matrices considérées (fèces, amygdales, sérum, carcasses...) (tableau 2) et les méthodes utilisées pour détecter la présence de la bactérie (méthodes bactériologiques, sérologiques ou de biologie moléculaire). En France, la bactérie a été détectée par bactériologie classique au niveau des amygdales chez 14% des porcs à l'abattoir [5].

Au niveau des élevages, il a été démontré que *Y. enterocolitica* persistait sur les amygdales après l'arrêt de l'excrétion fécale de la bactérie. La bactérie peut se retrouver dans plusieurs lots successifs d'animaux d'un même élevage, avec une variabilité importante entre les lots. Comme pour d'autres agents zoonotiques, la variabilité inter-élevage est attribuée aux différences de conditions d'élevage et d'hygiène. La contamination directe entre

Tableau 1 Prévalence de *Yersinia enterocolitica* dans la viande fraîche de bœuf et de poulet à l'étal selon l'année et le pays (données EFSA) / Table 1 Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fresh meat of beef and chicken at retail according year and countries (EFSA data)

Origine animale	Année d'analyse, pays, prévalence	
Bœuf	2004, Italie, 0,70%	2005, Espagne, 4,34%
	2005, Italie, 0,48%	2006, Italie, 3,6%
Poulet	2004, Allemagne, 5,17%	2006, Espagne, 10,4%
	2005, Espagne, 7,55%	

Tableau 2 Prévalence à l'abattoir et à l'étal de *Y. enterocolitica* chez le porc rapportée par différents pays selon la matrice considérée / **Table 2** Prevalence of *Y. enterocolitica* at slaughterhouse and retail in pig in different countries from various samples

Échantillons	Année de publication des données, pays, prévalence	
Fèces	1998, États-Unis, 28% (lot)	2003, Norvège, 17%
	1999, États-Unis, 70% (lot)	2004, Royaume-Uni, 26%
	1999, Canada, 21%	2006, Allemagne, 11%
Contenu intestinal	2003, Italie, 4%	2008, Royaume-Uni, 23,4%
Nœuds lymphatiques	2001, Allemagne, 30%	2006, Allemagne, 7%
	2005, Allemagne, 3,8%	
Langue	1999, Finlande, 78%	2008, Royaume-Uni, 41%
Amygdales	1998, États-Unis, 25%	2006, Allemagne, 22%
	1999, États-Unis, 13%	2007, Suisse, 34%
	2001, Allemagne, 60%	2008, Allemagne, 67%
	2003, Italie, 14,7%	2008, France, 11%
	2004, Finlande, 56%	2010, France, 14%
	2005, Allemagne, 38,4%	
Carcasses	2005, Allemagne, 0,3%	2003, Norvège, 3,1%
Produits à l'étal	1999, Finlande, 78% langue	2005, Suède, 10% viande
	2001, États-Unis, 2% andouilles	de porc crue
	2001, États-Unis, 0% viande de porc hachée	2004, Suède, 8 à 25% viande de porc crue
	2001, Allemagne, 12% viande de porc hachée	2007, Suède, 11% saucisses fumées

animaux, notamment des truies aux porcelets, ainsi que par l'environnement sont évoquées [6], mais les sources et la dynamique de contamination des animaux ne sont pas clairement établies. Cependant, une étude allemande et une américaine indiquent qu'aucun porcelet n'était porteur de *Y. enterocolitica* dans ses fèces durant la période allant de la naissance à la nurserie, et que la prévalence augmentait ensuite au cours de leur croissance [7;8].

Des facteurs de risque de contamination, au niveau du lot ou individuel, ont été identifiés pour *Y. enterocolitica* : la présence d'animaux domestiques sur l'exploitation, l'engraissement sur paille, ainsi que le mélange de porcs de différents lots, une alimentation à base de farine animale, ou l'utilisation du camion de la ferme pour le transport des porcs à l'abattoir [9;10].

Le transport à l'abattoir constitue un facteur de risque significatif pour la contamination par *Y. enterocolitica* [11] comme pour d'autres agents pathogènes. À l'abattoir, les prévalences rapportées sur les amygdales sont plus importantes que sur les autres prélèvements (langue, fèces, contenu intestinal, nœuds lymphatiques, abats ou surface de la carcasse) [12;13].

Les carcasses et les abats peuvent être contaminés durant le processus d'abattage, particulièrement à cause des contaminations fécales durant l'éviscération et, plus généralement, par les contaminations croisées dues à l'équipement, le personnel et l'environnement de l'abattoir. Des souches d'*Y. enterocolitica* pathogènes ont été isolées dans plusieurs études à de nombreux endroits tout au long du trajet de la carcasse dans l'abattoir, que ce soit sur l'équipement ou les structures.

L'ablation de la langue et des amygdales en même temps que l'ensemble trachée-poumons-foie-cœur, suivie de la fente de la carcasse et de l'enlèvement de la tête, favorise la contamination de la carcasse et des organes [14]. Des procédures alternatives de préparation de la carcasse ont depuis longtemps été proposées pour éviter ou limiter la contamination : l'ensachage du rectum, assez répandu dans les pays du Nord de l'Europe, ou de laisser la tête intacte avec la langue à l'intérieur jusqu'à la fin du processus de découpe [15], ce qui est réalisé de manière fréquente dans les abattoirs français mais pas dans les autres pays européens.

Les contaminations par *Y. enterocolitica* peuvent avoir lieu pendant les opérations ultérieures de la découpe, de la transformation et de la distribution lors de la vente de la viande ou des abats. L'incorporation des muscles de la tête et des muqueuses pharyngées du porc dans la viande hachée est identifiée comme un facteur de risque pour le consommateur, surtout si cette viande est par la suite consommée crue ou insuffisamment cuite [16].

En raison de leur nature psychrotrophe, les souches pathogènes de *Y. enterocolitica* présentes dans la viande et les sous-produits peuvent se multiplier pendant leur conservation. Le ressuage, la découpe et le stockage à basse température fournissent des conditions idéales pour la multiplication de *Y. enterocolitica*. Les souches de *Y. enterocolitica* pathogènes peuvent ainsi survivre dans la viande de porc pendant cinq semaines à 2°C, que la viande soit ou non conservée sous vide [17].

Conclusion

Il n'y a pas actuellement de réglementation pour une recherche systématique de *Yersinia enterocolitica* à partir de matrices alimentaires. Seule la directive 2003/99/EC prévoit la surveillance de *Y. enterocolitica* dans les filières animales. L'EFSA a ainsi proposé tout d'abord un meilleur suivi des infections humaines à *Yersinia enterocolitica* [18] puis une enquête de prévalence sur amygdales de porc dans les abattoirs des différents pays européens selon un protocole harmonisé [19]. Cette enquête de prévalence permettrait de mesurer l'impact des différents processus d'abattage pouvant exister en Europe sur la diffusion de la bactérie sur la carcasse.

Références

- [1] Savin C, Carniel E. Les diarrhées d'origine bactérienne : le cas de *Yersinia enterocolitica*. Revue Francophone des Laboratoires. 2008;38(400):49-58.
- [2] European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. EFSA Journal. 2011 ;9(3) :2090 [378 p]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2090.htm>
- [3] Ostroff SM, Kapperud G, Hutwagner LC, Nesbakken T, Bean NH, Lassen J, et al. Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case-control study. Epidemiol Infect. 1994;112(1):133-41.
- [4] Huovinen E, Sihvonen LM, Virtanen MJ, Haukka K, Siitonen A, Kuusi M. Symptoms and sources of *Yersinia enterocolitica*-infection: a case-control study. BMC Infect Dis. 2010;10:122.
- [5] Fondrevéz M, Labbé A, Houard E, Fravallo P, Madec F, Denis M. A simplified method for detecting pathogenic *Yersinia enterocolitica* in slaughtered pig tonsils. J Microbiol Methods. 2010;83(2):244-9.
- [6] Pilon J, Higgins R, Quessy S. Epidemiological study of *Yersinia enterocolitica* in swine herds in Québec. Can Vet J. 2000;41(5):383-7.
- [7] Gürtler M, Alter T, Kasimir S, Linnebur M, Fehlhaber K. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs. J Food Prot. 2005;68(4):850-4.
- [8] Bowman AS, Glendening C, Wittum TE, LeJeune JT, Stich RW, Funk JA. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in different phases of production on swine farms. J Food Prot. 2007;70(1):11-6.
- [9] Skjerve E, Lium B, Nielsen B, Nesbakken T. (1998) Control of *Yersinia enterocolitica* in pigs at herd level. Int J Food Microbiol. 1998;45(3):195-203.
- [10] Wesley IV, Bhaduri S, Bush E. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in market weight hogs in the United States. J Food Prot. 2008;71(6):1162-8.
- [11] Nowak B, Mueffling TV, Caspari K, Hartung J. Validation of a method for the detection of virulent *Yersinia enterocolitica* and their distribution in slaughter pigs from conventional and alternative housing systems. Vet Microbiol. 2006;117(2-4):219-28.
- [12] Desmonts MH, Fassel C, Hézard B. (2011) *Yersinia enterocolitica* prevalence and diversity in a French pig slaughterhouse. SafePork 2011 (9th International Conference in the Epidemiology and Control of biological, chemical and physical hazards in pigs and pork). 19-22 June 2011, Maastricht (The Netherlands). Proceedings Book. p258. Disponible à : http://www.safepork.org/upload/SP026_PROCEEDINGSBOOK_A4_290611_DEF_lowres.pdf
- [13] Feurer C, Piaudel G, Le Roux A, Minvielle B. Pig fecal and tonsil contamination of *Yersinia enterocolitica* in one French slaughterhouse. SafePork 2011 (9th International Conference in the Epidemiology and Control of biological, chemical and physical hazards in pigs and pork). 19-22 June 2011, Maastricht (The Netherlands). Proceedings Book. p294. Disponible à : http://www.safepork.org/upload/SP026_PROCEEDINGSBOOK_A4_290611_DEF_lowres.pdf
- [14] Fredriksson-Ahomaa M, Bucher M, Hank C, Stolle A, Korkeala H. High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4:O3 on pig offal in southern Germany: a slaughtering technique problem. Syst Appl Microbiol. 2001;24(3):457-63.
- [15] Christensen H, Lüthje H. Reduced spread of pathogens as a result of changed pluck removal technique. 40th International Congress of Meat Science and Technology. 28 August-2 September 1994, The Hague (The Netherlands). S-III.06.
- [16] Tauxe RV, Vandepitte J, Wauters G, Martin SM, Goossens V, De Mol P, et al. *Yersinia enterocolitica* infections and pork: the missing link. Lancet. 1987;1(8542):1129-32.
- [17] Hayashidani H, Iwata T, Yamaguchi S, Hara-Kudo Y, Okatani TA, Watanabe M, et al. Survival of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in vacuum-packed or non-vacuum-packed pork at low temperature. Biocontrol Sci. 2008;13(4):139-44.
- [18] European Food Safety Authority. Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. Scientific opinion of the Panel on Biological Hazards. EFSA Journal. 2007;595 :1-30. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/595.htm>
- [19] European Food Safety Authority. Technical specifications for harmonised national surveys on *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig. EFSA Journal. 2009;7(11):1374 [23 p]. Disponible à : <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1374.htm>

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Ce numéro est le fruit d'une collaboration entre le Bulletin Épidémiologique, santé animale et hygiène alimentaire, édité par l'Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses) et la Direction générale de l'alimentation (DGAL) du Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche - <http://www.anses.fr/PN7501.htm> -, et le BEH : il paraît simultanément dans les deux supports.



MINISTÈRE
DE L'ALIMENTATION
DE L'AGRICULTURE
ET DE LA PÊCHE

La publication d'un article dans le BEH n'empêche pas sa publication ailleurs. Les articles sont publiés sous la seule responsabilité de leur(s) auteur(s) et peuvent être reproduits sans copyright avec citation exacte de la source.

Retrouvez ce numéro ainsi que les archives du Bulletin épidémiologique hebdomadaire sur <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/BEH-Bulletin-epidemiologique-hebdomadaire>

Directrice de la publication : Dr Françoise Weber, directrice générale de l'InVS
Rédactrice en chef : Judith Benrekassa, InVS, redactionBEH@invs.sante.fr
Rédactrice en chef adjointe : Laetitia Gouffé-Benadiba
Secrétaire de rédaction : Farida Mihoub

Institut de veille sanitaire - Site Internet : <http://www.invs.sante.fr>

Préresse : Imprimerie Centrale, 15, rue du Commerce, L-1351 Luxembourg
N° INPI : 00 300 1836 - ISSN 0245-7466