

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.

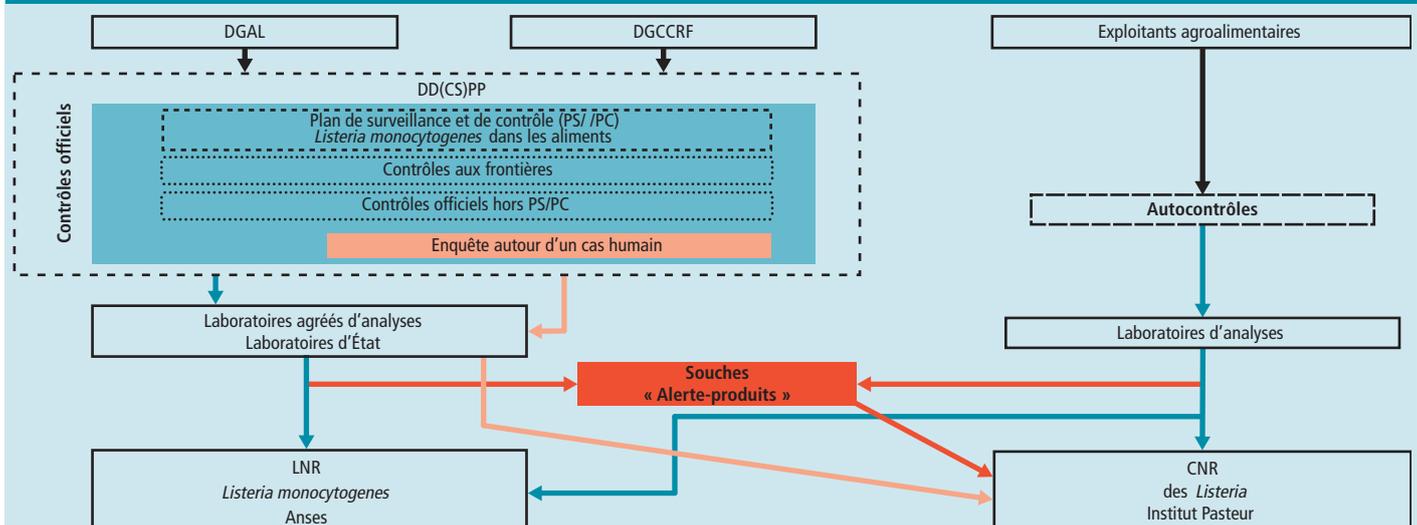
Mots-clés / Key words

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

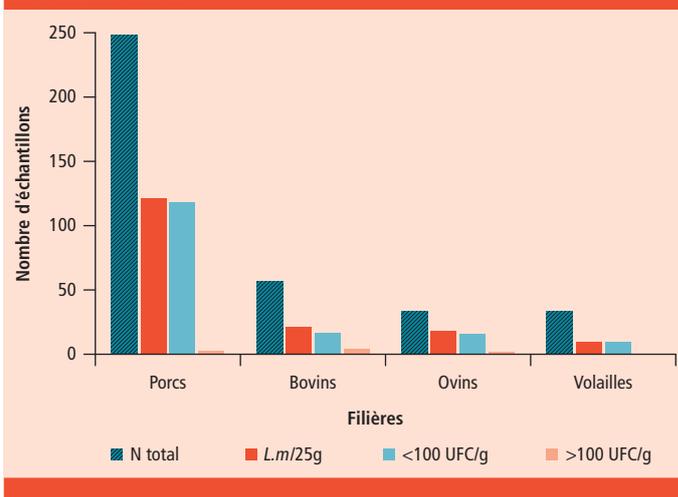
Plan de surveillance communautaire harmonisé (Baseline Survey)

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 sérovars 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 Genosero-group 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 de 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