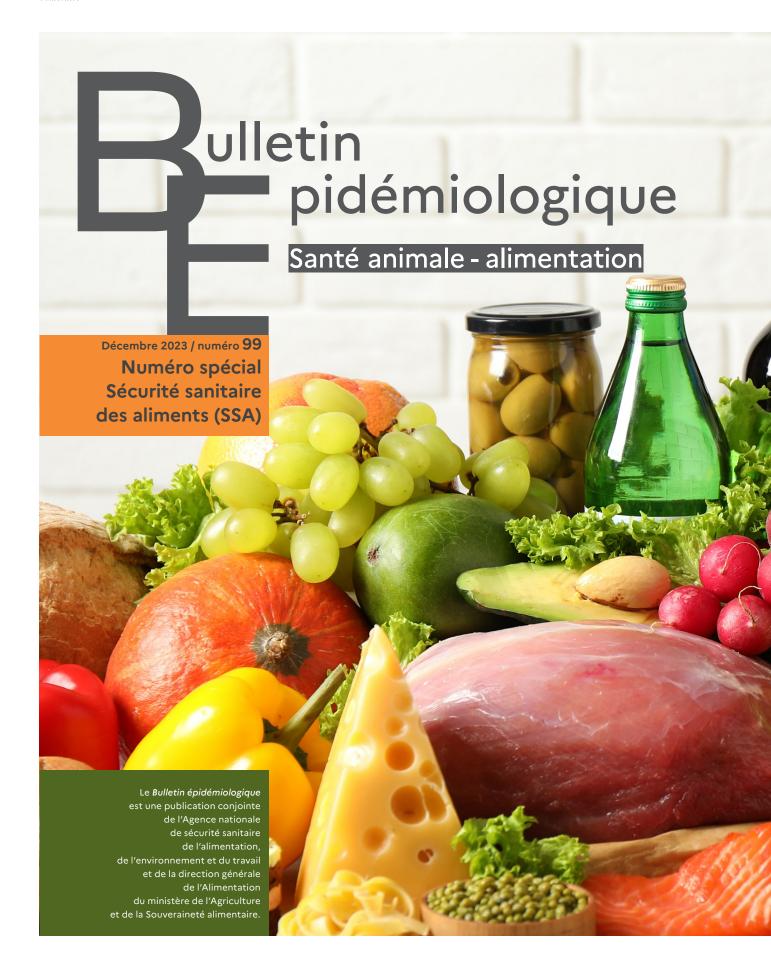


Liberté Égalité Fraternité





SOMMAIRE



Bilan des plans de surveillance des *E. coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) dans les viandes hachées et les fromages au lait cru de 2021 à 2022

ARTICLE 2

Caractérisation génomique de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer : bilan des contrôles officiels 2019-2021

ARTICLE 3

Bilan de la surveillance de *Trichinella* spp. chez les animaux de boucherie sur la période 2020 - 2022

ÉDITORIAL

Réalisé par l'Anses et la direction générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère en charge de l'Agriculture, le *Bulletin épidémiologique Santé animale - Alimentation* est un outil d'échange d'informations à destination des agents de l'Anses, de la DGAL et de l'ensemble des acteurs locaux, régionaux et nationaux œuvrant dans le champ de la santé animale et de la sécurité sanitaire des aliments.

Ce numéro spécial du *Bulletin épidémiologique* présente un bilan de l'organisation et des résultats des principaux dispositifs de surveillance des contaminants chimiques et biologiques de la chaîne alimentaire sur la période 2019-2022. Il témoigne de l'étroite collaboration dans laquelle travaillent la DGAL, l'Anses et les autres acteurs de la sécurité sanitaire à travers les personnes impliquées, d'une part, dans la surveillance, la détection et l'identification des dangers sanitaires et, d'autre part, l'investigation épidémiologique et la gestion des situations de contamination. Les regards croisés des gestionnaires, des acteurs de la surveillance et des scientifiques contribuent à une analyse et une interprétation plus fines de la situation sanitaire et des dispositifs de surveillance en place.







Bilan des plans de surveillance des *E. coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) dans les viandes hachées et les fromages au lait cru de 2021 à 2022

Christine Mazuy-Cruchaudet^{1,2}, Sophie Félix¹, Sarah Ganet^{1,2}, Léa Lusurier¹, Stéphanie Werlen¹, Sophie Belichon³, Gaëlle Lattard⁴, Delphine Novi⁵, Delphine Thevenot Sergentet^{1,2}

Auteur correspondant : delphine.sergentet@vetagro-sup.fr

¹Université de Lyon, VetAgro Sup, Laboratoire national de référence pour les *E. coli* (y compris STEC), Marcy l'Etoile, France

²Université de Lyon, Equipe Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement, UMR 5557 Ecologie Microbienne, CNRS, VetAgro Sup et Université de Lyon 1

³Direction générale de l'Alimentation, Mission des urgences sanitaires, Paris, France

⁴Direction générale de l'Alimentation, Bureau des établissements de transformation et de distribution, Paris, France

Les Escherichia coli producteurs de Shiga Toxines (STEC) sont des bactéries zoonotiques d'origine alimentaire associées à des cas d'infections sporadiques mais également des épidémies de grande envergure qui représentent un problème de santé publique de premier ordre. La consommation de viandes hachées de bœuf insuffisamment cuites et de fromages au lait cru contaminés par ces bactéries d'origine digestive d'animaux porteurs sains représente la principale voie de contamination par voie alimentaire de l'Homme en France. Les plans de surveillance menés en 2021 et 2022 avaient pour objectif d'établir les taux de contamination de viandes hachées de bœuf, et des fromages au lait cru (2022 uniquement) par les souches STEC identifiées comme les plus à risque en France. Plus globalement, ces plans permettent d'apprécier l'exposition du consommateur à ce danger ainsi que l'efficacité des mesures de prophylaxie mises en place par les professionnels.

Les résultats obtenus confirment que les taux de contamination des viandes hachées de bœuf sont faibles et du même ordre de grandeur que ceux obtenus dans les plans précédents. Les taux de contamination des fromages au lait cru sont en revanche un peu plus élevés que ceux observés lors des plans précédents, même s'ils restent faibles.

Les données obtenues indiquent que le risque d'exposition de l'Homme via la consommation des deux types d'aliments investigués dans cette étude reste limité. Des souches STEC hautement pathogènes pour l'Homme (ou EHEC Top5) ont pourtant été isolées dans un faible nombre d'échantillons analysés. Ces données rappellent donc l'importance de mettre en place des mesures de maîtrise et de surveillance de ce danger dans les filières. La sensibilisation des consommateurs au respect des conditions de cuisson et de consommation mentionnées sur l'étiquetage est également très importante.

Mots clés : STEC, surveillance, viandes hachées et fromages au lait cru

Review of monitoring plans relating to STECs in France between 2021 and 2022

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are foodborne zoonotic bacteria associated with both sporadic cases of infection and large-scale epidemics, representing a major public health problem. The consumption of undercooked minced beef and raw milk cheeses contaminated with these bacteria from the digestive tracts of healthy animals is the main route of human contamination in France. The aim of the monitoring plans carried out in 2021 and 2022 was to establish the levels of contamination of minced beef and raw milk cheese (2022 only) by the STEC strains identified as being most at risk in France. More generally, these programs make it possible to assess consumer exposure to this hazard, as well as the effectiveness of prophylactic measures put in place by professionals.

The results obtained confirm that the contamination rates for minced beef are low and of the same order of magnitude as those obtained in previous plans. Contamination levels in raw milk cheeses, on the other hand, are slightly higher than those observed in previous plans, although they remain low.

The data obtained indicate that the risk of human exposure through consumption of the two types of food investigated in this study remains limited. However, STEC strains highly pathogenic for humans (or EHEC Top5) were isolated from a small number of samples analysed. These data serve as a reminder of the importance of implementing measures to control and monitor this hazard in the food chain. It is also very important to make consumers aware of the need to comply with the cooking and consumption conditions mentioned on the labelling.

Key words: STEC, monitoring, minced beef and raw milk cheeses

⁵Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la gestion intégrée du risque, Paris, France

Les Escherichia coli producteurs de Shiga Toxines (STEC) sont des bactéries zoonotiques d'origine alimentaire associées à des cas sporadiques d'infections mais également à des épidémies de grande envergure. Elles représentent un problème de santé publique de premier ordre. Les STEC pathogènes sont très fréquemment associés à des formes sévères d'infections telles que des colites hémorragiques et des syndromes hémolytiques et urémiques (SHU). E. coli O157:H7 a été le premier sérotype identifié et pointé du doigt lors de cas d'infections humaines. Puis des souches appartenant à d'autres sérotypes ont été associées à des épidémies humaines (O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 puis O45:H2, O121:H19 et O80:H2). À l'heure actuelle, en France, les sérotypes les plus impliqués dans des infections sont par ordre décroissant O26:H11, O80:H2 et O157:H7. L'infection humaine est le plus souvent liée à l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par des fèces d'animaux porteurs sains. Ainsi la viande hachée consommée insuffisamment cuite, les fromages au lait cru, des végétaux sont régulièrement pointés du doigt dans les cas d'infections.

Les plans de surveillance STEC (application directive 2003/99/CE) conduits en 2021 et 2022 avaient pour objectif d'évaluer les taux de contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf et du fromage au lait cru (2022 uniquement) en France. Ces données permettent d'évaluer l'exposition du consommateur à ce danger et de s'assurer de l'efficacité des mesures de maîtrise du danger STEC mises en place par les professionnels en comparant les données obtenues avec celles des plans précédents.

Les caractéristiques des produits investigués en 2021 et 2022 sont détaillées dans le **tableau 1**. Par ailleurs, le protocole analytique appliqué est détaillé dans la **figure 1**.

La recherche des souches STEC d'intérêt a été réalisée selon la méthode officielle autorisée, adaptée d'une part, de la méthode ISO TS 13136:2012 et recommandée par l'Efsa (Efsa, 2009) et d'autre part, de la méthode officielle américaine MLG5B 2. Les méthodes officielles autorisées sont listées dans la note de service DGAL/SDSSA/SDPRAT/N2013-81791.

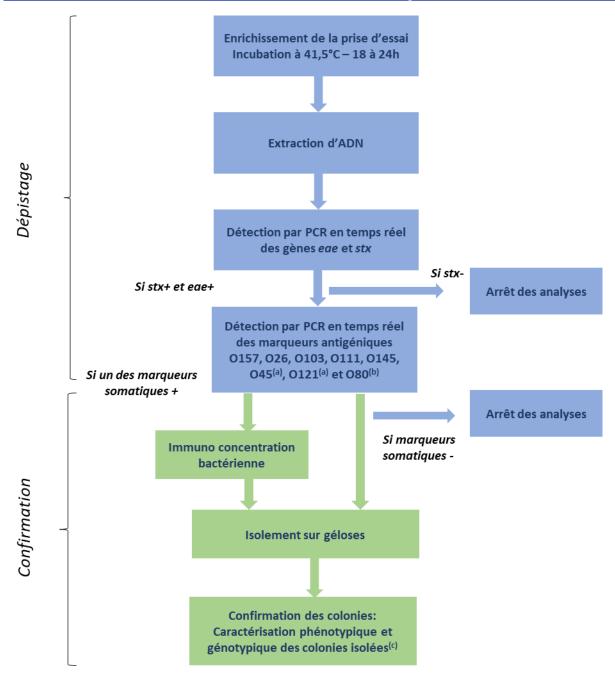
Tableau 1. Caractéristiques des échantillons analysés dans le cadre des plans de surveillance des souches STEC en 2021 et 2022 en France

Année	Type de produits investigués	Stade	No	Nombre d'échantillons		
	Type de produits investigues	State	Prévus initialement	Prélevés	Analysés	
2021	Viandes hachées de bœuf	Distribution	600	587 (97,8 %)	579 (98,6 %)	
2022	Fromages au lait cru ⁽¹⁾	Production	500	481 (96,2 %)	476 (98,9 %)	
	Viandes hachées de bœuf et préparations de viande à base de viandes hachées de bœuf	Production	600	571 (95,2 %)	570 (99,8 %)	

¹ Fromages au lait cru identifiés comme les plus à risque (fromages au lait cru hors pâtes pressées cuites) produits en France.

_

¹ http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-etreconnus-methodes-officielles-en-alimentation



- (a) Dépistage et confirmation des souches appartenant aux sérogroupes O45 et O121 dans les échantillons de viande
- (b) Dépistage et confirmation des souches appartenant au sérogroupe O80: réalisé par le
- (c) Caractérisation fine des souches: réalisé par le LNR

Figure 1. Protocole de recherche appliqué dans le cadre du dépistage et de la confirmation par isolement de souches STEC considérées comme hautement pathogènes (EHEC TOP5), des souches STEC pathogènes O45 et O121 (EHEC Top 7) (réalisé par les laboratoires agréés) et des souches STEC O80 (réalisé par le LNR) dans le cadre des plans de surveillance mis en place en France en 2021 et 2022.

Résultats:

Les nombres d'échantillons prévus et analysés au cours des plans de 2021 et 2022 sont détaillés dans le tableau 1.

Résultats de dépistage: Les résultats de l'étape de dépistage sont présentés dans la figure 2. Plus précisément, elle détaille les pourcentages de détection des gènes stx, des gènes stx et eae concomitamment et des gènes stx, eae associés aux marqueurs des sérogroupes recherchés dans les bouillons d'enrichissement des matrices viandes échantillonnées en 2021 et 2022, et des fromages au lait cru échantillonnés en 2022.

Résultats de confirmation: parmi les échantillons suspectés d'être contaminés par une souche STEC hautement pathogène pour la matrice viande, trois échantillons ont été confirmés par l'isolement de souches STEC hautement pathogènes (ou EHEC Top5) respectivement en 2021 et en 2022. Pour la matrice fromage, huit échantillons suspectés d'être contaminés par une souche STEC hautement pathogène (ou EHEC Top5) ont été confirmés par l'isolement de souches. Les caractéristiques de ces souches isolées sont détaillées dans le tableau 2. Enfin, les taux de contamination des matrices analysées figurent dans le tableau 3.

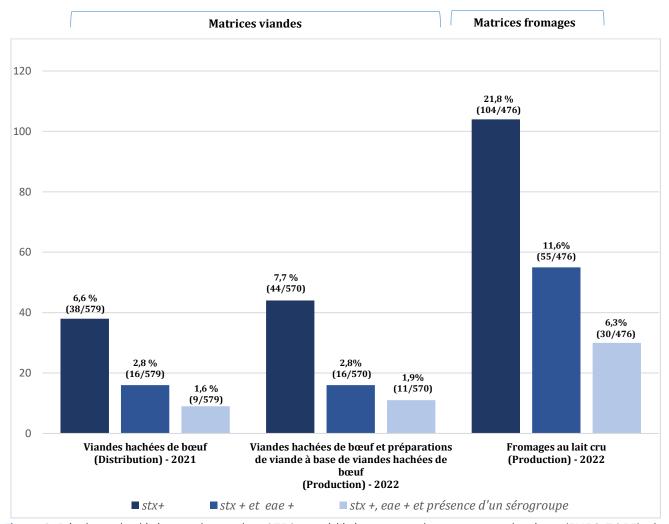


Figure 2. Résultats de dépistage de souches STEC considérées comme hautement pathogènes (EHEC TOP5), des souches STEC pathogènes O45 et O121 (EHEC Top 7) et des souches STEC O80 en France au cours des plans de surveillance de 2021 à 2022: Dépistage par PCR en temps réel des gènes de virulence stx, eae et des marqueurs de sérogroupes à partir des ADN extraits des bouillons d'enrichissement.

Tableau 2. : Caractéristiques des souches STEC hautement pathogènes (ou EHEC Top5) isolées dans le cadre des plans de surveillance de 2021 et 2022 en France.

Type de produits investigués		Sérotype	eae (variant)	stx (variant)	ehx
Viandes	Viandes hachées de bœuf	E. coli O157:H7	eae (γ)	stx2 (c)	+
	- Distribution – - 2021 -	E. coli O157:H7	eae (γ)	stx1(a), stx2 (c)	+
		E. coli O26:H11	eae (β)	stx1 (a)	+
	Viandes hachées de bœuf et préparations de viande à base de viandes hachées de bœuf - Production – - 2022 -	E. coli O157:H7	eae (γ)	stx2 (c)	+
		E. coli O45:H2	eae (γ)	stx2 (a)	+
		E. coli O157:H7	eae	stx	1
Fromages au lait cru		E. coli O26:H11	eae (β)	stx2 (a)	+
		E. coli O26:H11	eae (β)	stx1 (a)	+
		E. coli O26:H11	eae (β)	stx1 (a)	+
	Fromages au lait cru	E. coli O26:H11	eae (β)	stx2 (a)	+
	- Production – - 2022 -	E. coli O26:H11	eae (β)	stx1 (a)	+
		E. coli O103:H2	eae (ε)	stx1 (a)	+
		E. coli O26:H11	eae (β)	stx1 (a)	+
		E. coli O157:H7	eae (γ)	stx2 (c)	+

Tableau 3. Taux de contamination par les souches STEC hautement pathogènes (EHEC TOP5) et STEC pathogènes (EHEC TOP7) en France au cours des plans de surveillance de 2021 à 2022

		V	Fromages	
Type de produits investi	gués	Viandes hachées de bœuf	Viandes hachées de bœuf et préparations de viande à base de viandes hachées de bœuf	Fromages au lait cru
Année		2021	2022	2022
Stade		Distribution	Production	Production
Souches STEC hautement pathogènes et pathogènes (EHEC TOP5 et EHEC TOP7)	Taux de contamination en % (Nombre d'échantillons positifs / nombre d'échantillons analysés) Intervalle de confiance 95%	0,52 % (3/579) 0,1-1,5 %	0,53 % (3/570) 0,1-1,5 %	1,68 % (8/476) 0,7-3,3 %

Afin de tenir compte des incertitudes liées aux fluctuations d'échantillonnage, l'intervalle de confiance au sein duquel le taux de contamination réel a une probabilité de 95 % de se situer a été calculé à l'aide du logiciel R (version 3.0.1, R Core Team., 2013) (risque d'erreur α fixé à 5 %).

Discussion

Pour chacun des plans, entre 95,2% et 97,8% des échantillons initialement prévus ont été analysés. Les quelques échantillons non analysés n'ont soit pas été prélevés, soit été réceptionnés avec un défaut de conformité (fuite de l'échantillon, défaut de température etc.).

Pour les matrices viande, les résultats des plans de surveillance mis en œuvre en 2021 et 2022 indiquent des proportions de détection des gènes stx, eae et des marqueurs des sérogroupes relativement stables quel que soit le type de production (viande hachée, surgelée, les deux), le lieu de prélèvement (production ou distribution) ou l'année de production par rapport aux plans de surveillance précédents (Mazuy-Cruchaudet et al., 2021). Par ailleurs, seulement 3 souches STEC hautement pathogènes (ou EHEC Top5) ont été isolées dans les échantillons respectivement en 2021 et 2022. Ces données indiquent que les mesures de maitrise du danger STEC hautement pathogène au sein de la filière sont appliquées correctement régulièrement.

Pour les matrices fromage au lait cru, les proportions de détection des gènes stx, eae et des marqueurs des sérogroupes dans les bouillons d'enrichissement des fromages au lait cru en 2022 sont plus élevées que celles des viandes. De plus, huit souches STEC hautement pathogènes (ou EHEC Top5) ont été isolées dans les prélèvements de 2022.

Cette différence est probablement liée au fait que les bactéries se développent peu dans la matrice viande car elle est conservée à +4°C alors que les technologies de fabrication de fromages comprennent une étape de caillage à une température élevée (environ 30°C) en début de fabrication. Cette température associée au fait que l'aw du produit est élevée à cette étape favorise le développement des bactéries présentes dans certaines technologies fromagères. Par conséquent, les gènes cibles sont plus facilement détectés et les bactéries plus facilement isolées au cours des analyses.

Les données obtenues suggèrent que le risque d'exposition de l'Homme via la consommation de viande hachée de bœuf insuffisamment cuite ou de fromage au lait cru en France reste limité mais qu'il ne doit pas être négligé. En effet, les souches STEC isolées dans ces deux types de matrices possèdent les facteurs de virulence eae et stx et appartiennent aux sérotypes O26:H11, O45:H8, O157:H7 et O103:H2. Elles sont ainsi potentiellement capables d'adhérer aux entérocytes et de produire des Shiga

Toxines responsables de la destruction des cellules endothéliales capillaires coliques, rénales et cérébrales à l'origine de colites hémorragiques ou de syndrome hémolytique et urémique (Afssa, 2003).

Les résultats obtenus rappellent ainsi l'importance des mesures de maîtrise et de surveillance de ce danger mises en place par les professionnels au sein des filières viande et fromage au lait cru, de l'élevage à la distribution.

- Il est également important de rappeler aux consommateurs les recommandations relatives à la consommation de ces aliments (lien):
- (i) les viandes, et surtout la viande hachée de bœuf, mais aussi les préparations à base de viande hachée, doivent être bien cuites à cœur pour atteindre 70°C (et non pas rosées ou saignantes);
- (ii) le lait cru, les fromages à base de lait cru et les produits laitiers fabriqués à partir de lait cru ne doivent pas être consommés par les enfants de moins de 5 ans (préférez les fromages à pâte pressée cuite (type Emmental, Comté, gruyère, Beaufort), les fromages fondus à tartiner et les fromages au lait pasteurisé).

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des équipes des laboratoires agréés et du LNR *E. coli* pour leur implication dans l'obtention des données des plans de surveillance ainsi que les services des DDecPP.

Références bibliographiques

Afssa. 2010. Avis relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008, rendu le 27 mai 2010 – Saisine n° 2010-SA-0031. https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0031. pdf.

Anses. 2017. Avis de l'ANSES du 18 mai 2017 (saisine N°2016-SA-0121) relatif à la détection des STEC considérés comme hautement pathogènes dans la filière viande hachée bovine.

ISO 2019. Spécification technique ISO TS 13136:2012 « Microbiologie des aliments et aliments pour animaux – Méthode basée sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel pour la détection des microorganismes alimentaires pathogènes dans les aliments – Méthode horizontale pour la détection des *E. coli* producteurs de Shiga Toxines () et la détermination des sérogroupes O157, O26, O103, O111 et O145 ».

USDA 2023. Méthode officielle américaine MLG5B.05 « Detection and Isolation of non-O157 ShigaToxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges»

https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/documents/MLG-5C.03.pdf

Encadré 1. Caractéristiques du dispositif de surveillance

Objectifs de la surveillance

Les plans de surveillance ont pour objectif d'évaluer les taux de contamination par des souches STEC hautement pathogènes (EHEC Top5) et pathogènes (EHEC Top7) des viandes hachées de bœuf et du fromage au lait cru en France. Ces données permettent d'évaluer l'exposition du consommateur à ce danger et de s'assurer de l'efficacité des mesures de maîtrise et de surveillance mises en place par les professionnels en comparant les données obtenues avec celles de précédents plans.

Cadre de la surveillance et évolution de la règlementation

- 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.
- Instruction technique DGAL/SDPAL/2017-327 du 7 avril 2017 concernant les dispositions applicables aux réseaux de laboratoires agréés pour la réalisation d'analyses officielles de détection des *Escherichia coli* productrices de Shiga toxines (STEC) et de confirmation par isolement de la souche bactérienne STEC.
- Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produit est identifié –Version révisée du 2 juillet 2009 complétée d'une annexe XI mise à jour en 2019.
- Avis de l'ANSES relatif à la définition des souches pathogènes d'E. coli productrices de Shiga Toxines (STEC). Saisine n°2020-SA-0095. Saisine liées n)2016-SA-0121 et 2010-SA-0031.

Protocoles de surveillance

Bactéries recherchées

- Souches STEC hautement pathogènes pour l'Homme (ou EHEC Top5). Il s'agit des souches possédant les gènes de virulence stx et eae et appartenant à l'un des cinq sérotypes O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 ou O111:H8: pour les matrices viande et fromage au lait cru.
- Souches STEC pathogènes (ou EHEC Top7) i.e. possédant les gènes de virulence stx et eae et appartenant au sérogroupe O45 ou O121: pour les matrices viande.
- Souches STEC appartenant au sérogroupe O80 : pour les matrices viande et fromage au lait cru.

Productions concernées:

- viandes de bœuf hachées surgelées, réfrigérées ou les deux, à la distribution et la production en 2021 et 2022 et les préparations de viande à base de viandes hachées de bœuf en 2022.
- Fromage au lait cru à la production en 2022.

Modalités analytiques

La prise d'essai (25g) a été analysée selon les méthodes officielles adaptées de la spécification technique ISO TS 13136 : 2012.

Souches isolées

- Plan viandes 2021: 1 souche STEC O157 (eae et stx2), 1 souche STEC O157:H7 (eae et stx1 et 2) et 1 souche STEC O26:H11 (eae et stx1)
- Plan viandes 2022: 1 souche STEC O157 (eae et stx2), 1 souche STEC O45:H2 (eae et stx2) et 1 souche STEC O157:H7 (eae et stx)
- Plan fromage au lait cru 2022: 4 souches STEC O26:H11 (eae et stx1), 2 souches STEC O26:H11 (eae et stx2), 1 souche STEC O103:H2 (eae et stx1) et 1 souches STEC O157:H7 (eae et stx2).

Références Règlementaires

- Le règlement (CE) n°178/2002du 28 janvier 2002 (Paquet Hygiène), établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires, article 14 du règlement (CE) n°178/2002
- Directive 2003/99/CE du parlement Européen et du conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques
 - Règlement (CE) n°2073/2005 fixant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

Pour citer cet article:

Mazuy-Cruchaudet C., Félix S., Ganet S., Lusurier L., Werlen S., Belichon S., Lattard G., Novi D., Thevenot D. et Sergentet D. 2023. « Bilan des plans de surveillance des *E. coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) dans les viandes hachées et les fromages au lait cru de 2021 à 2022 » Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 99 (1): 1-8.

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est une publication conjointe de la Direction générale de l'alimentation et de l'Anses.

Directeur de publication : Benoît Vallet
Directeur associé : Maud Faipoux
Directrice de rédaction : Emilie Gay
Rédacteur en chef : Julien Cauchard
Rédacteurs adjoints : Hélène Amar, JeanPhilippe Amat, Céline Dupuy, Viviane Hénaux,
Renaud Lailler, Célia Locquet

Comité de rédaction : Anne Brisabois, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Pauline Kooh, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard

Secrétaire de rédaction : Virginie Eymard Responsable d'édition :

Fabrice Coutureau Vicaire
Assistante d'édition :
Flore Mathurin

Anses - www.anses.fr 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel: bulletin.epidemio@anses.fr

Sous dépôt légal : CC BY-NC-ND

ISSN: 1769-7166







Caractérisation génomique de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer : bilan des contrôles officiels 2019-2021

Claire Yvon¹, Marie Vesselle¹, Alexandre Leclercq², Vincent Leclerc¹, Delphine Fert¹,

Lena Barre¹, Corinne Danan¹

Auteur correspondant: claire.yvon@anses.fr

- ¹ Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Unité Salmonella et Listeria, LNR *Listeria monocytogenes*, Maisons-Alfort, France
- ² Institut Pasteur, Centre national de référence *Listeria*, Paris

Résumé

Listeria monocytogenes (Lm) est une bactérie pathogène responsable de la listériose, dont la voie de contamination est principalement alimentaire. La caractérisation des souches isolées de la chaîne agroalimentaire contribue à mieux connaître leur écologie et à évaluer les risques sanitaires liés aux aliments. Dans cette perspective, le Laboratoire National de Référence pour Listeria monocytogenes (LNR) s'est engagé depuis 2019 dans la caractérisation génomique systématique des souches isolées des contrôles officiels. Cet article décrit l'organisation mise en place pour cette caractérisation et présente les résultats obtenus sur la période 2019-2021. Sur six grandes catégories d'aliments, les souches se répartissent en quatre sérotypes et 83 complexes clonaux (CC). Ces résultats descriptifs montrent que les CC121 et CC9 sont majoritairement isolés, comme cela est décrit dans la littérature pour des souches d'origine alimentaire. Ils ont également permis d'identifier des clusters génomiques suggérant une persistance de souches de Lm ou la réintroduction par un intrant, dans certains lieux de transformation ou de stockage, ainsi que la présence de souches associées à une hypervirulence dans différents types de denrées alimentaires prêtes à consommer d'origine végétale ou animale. Les conclusions mettent en avant des axes d'optimisation du dispositif de surveillance génomique des Lm dans les aliments, impliquant le réseau de laboratoires officiels supervisé par le LNR et souligne l'intérêt des interactions avec le Centre National de Référence Listeria (CNR) en charge des alertes et de la surveillance des cas de listériose humaine pour une vision la plus exhaustive possible compatible avec la gestion des risques.

Mots clés: Contrôles officiels, plans de surveillance, plans de contrôle, *Listeria monocytogenes*, aliments, WGS, génomique

Abstract

Genomic characterization of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods - Results of official controls 2019-2021

Listeria monocytogenes (Lm) is a pathogenic bacteria responsible for listeriosis, which is transmitted mainly via the food chain. The characterization of strains isolated from the agri-food chain contributes to a better understanding of their ecology, and to the assessment of food-related health risks. In this frame, the National Reference Laboratory for Listeria monocytogenes (NRL) has been committed since 2019 to the systematic genomic characterization of strains isolated from official controls. This article describes the organization set up for this characterization and presents the results obtained over the 2019-2021 period. Out of six major food categories, the strains are divided into four serotypes and 83 clonal complexes (CC). These descriptive results show that CC121 and CC9 are predominantly isolated, as described in the literature for food-borne strains. They also identified genomic clusters suggesting the persistence of Lm strains in certain processing or storage sites, as well as the presence of strains associated with hypervirulence in different types of ready-to-eat foods of plant or animal origin.

The conclusions highlight areas for optimizing the genomic surveillance of *Lm* in foodstuffs, involving the network of official laboratories supervised by the NRL, and underline the importance of interactions with the National Reference Centre *Listeria* (NRC) in charge of alerts and surveillance of cases of human listeriosis, to ensure the most exhaustive possible view compatible with risk management.

Keywords: Official controls, surveillance plans, control plans, *Listeria monocytogenes*, food, WGS, genomics

Listeria monocytogenes (Lm) est une bactérie pathogène pour l'Homme et l'animal, responsable de la listériose, dont la voie de contamination est principalement alimentaire. Cette maladie est à déclaration obligatoire depuis 1998 chez l'Homme. Elle est rare, mais est l'une des plus sévères infections d'origine alimentaire, avec un taux de létalité rapporté au niveau européen de l'ordre de 18% et un taux d'hospitalisation supérieur à 90% (European Food Safety Authority et European Centre for Disease Prevention and Control 2021: 2022). Dans la majorité des cas, les symptômes initiaux de la listériose se présentent sous des formes non-invasives asymptomatiques ou avec de faibles symptômes peu spécifiques et variables selon les individus (états grippaux ou diarrhée modérée). La majorité des personnes, chez qui le diagnostic est confirmé, ont une forme dite « invasive » de la maladie (bactériémies, infections neurologiques, infections materno-néonatales). Les facteurs de risque d'infection comprennent les âges extrêmes (nouveau-nés et personnes âgées), l'alcoolisme, tumeurs les malignes, corticothérapie, l'immunosuppression, le diabète sucré, les maladies hépatiques ou rénales et la surcharge en fer (Brouwer et Beek 2017). Chaque année, en France, 400 à 450 cas de formes invasives de listériose sont recensés.

Lm est ubiquitaire du fait de sa capacité à se multiplier selon un large spectre de conditions physico-chimiques et de températures. Ses propriétés psychrophiles la définissent, par ailleurs, comme un danger microbiologique à surveiller plus particulièrement dans les aliments réfrigérés prêts à être consommés et dans leur environnement de production. Dans ce contexte, la maîtrise des risques de listériose repose sur un ensemble de mesures de surveillance et de contrôle et de gestion des alertes mis en œuvre à chaque étape de la chaîne agro-alimentaire par les exploitants et les autorités de contrôle, et complété par les bonnes pratiques des consommateurs (Danan et Calavas 2016).

Par ailleurs, les souches de *Lm* se répartissent en 5 génosérogroupes PCR et présentent une grande diversité caractérisée par différentes approches de typage moléculaire (PCR, MLST ou cgMLST). Certaines souches sont particulièrement associées aux cas humains (génosérogroupe IVb) (Maury et al. 2016; Chenal-Francisque et al. 2011; Kurpas et al. 2020; Félix et al. 2018; Maury et al. 2019).

La caractérisation des souches isolées de la chaîne agro-alimentaire contribue à mieux connaitre la diversité des souches selon leur niche écologique et à l'évaluer les risques sanitaires liés aux aliments. Dans cette perspective, le LNR (Anses, Maisons-Alfort) s'est engagé dans la caractérisation génomique systématique des souches isolées des contrôles officiels. Cette activité contribue à :

- mettre à disposition des autorités compétentes et des organismes en charge de la santé publique, des données destinées à mieux comprendre les origines et la diffusion des contaminations. En complément aux informations épidémiologiques décrivant le prélèvement, ces données peuvent être exploitées en collaboration avec le CNR (Institut Pasteur, Paris), la Direction Générale de l'Alimentation, et Santé publique France (SpF, Paris), en cas d'investigation de cas humains;
- acquérir de nouvelles données alimentant les activités d'appui à la surveillance du LNR auprès des autorités compétentes ou d'autres gestionnaires de dispositifs de surveillance (article L. 201-14 du Code rural et de la pêche maritime);
- constituer un patrimoine biologique mis à disposition de la communauté scientifique pour les travaux d'évaluation du risque, de développement méthodologique et/ou de recherche.

Les objectifs de cette étude sont de décrire l'organisation mise en place par le LNR pour la caractérisation des souches de *Lm* isolées d'aliments dans le cadre des contrôles officiels et les résultats obtenus sur la période 2019-2021. Les conclusions permettent également d'émettre des recommandations pour l'optimisation globale du dispositif national de surveillance de *Lm* dans les aliments.

Matériel et méthodes

Dispositifs de surveillance ou de contrôle

La surveillance microbiologique des aliments repose sur des critères réglementaires relatifs à des catégories d'aliments considérés comme les plus à risque pour le consommateur¹ complété, pour les autres aliments, par l'article 14 du règlement EC

¹ Règlement (CE) N°2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

N°178/2002² relatif à la sécurité des denrées alimentaire mises sur le marché. Les critères concernant *Lm* tiennent compte des caractéristiques physico-chimiques des denrées alimentaires, des catégories de consommateurs à risque, de la capacité de croissance de *Lm* dans l'aliment et du stade de la chaîne alimentaire où est réalisé le prélèvement. En première intention, les exploitants doivent intégrer ces critères dans leurs

plans de maîtrise sanitaire et les autorités sanitaires vérifient le respect des principes généraux de la législation alimentaire en maintenant un système de contrôles officiels de second niveau. La figure 1 schématise les contextes de surveillance de *Lm* aux différentes étapes de la chaîne alimentaire, de la production primaire jusqu'à l'étape de distribution aux consommateurs.

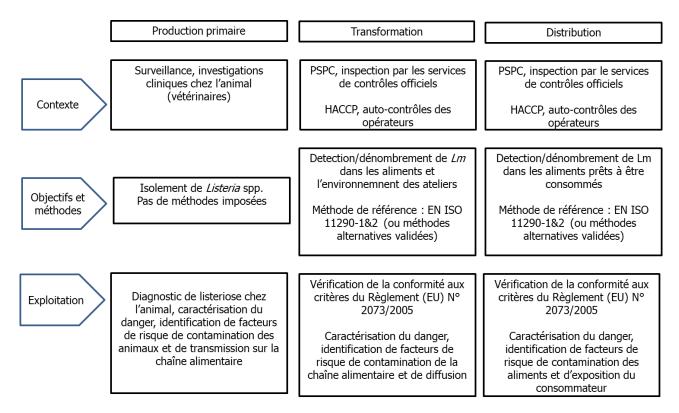


Figure 1 : Contexte général de la surveillance de *Lm* sur la chaîne agro-alimentaire (adaptée du rapport annuel sur la surveillance des zoonoses en Europe: https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/7666)

Sur la période de cette étude, avant la mise en place en 2023, d'un pilotage unique de la police en charge de la sécurité sanitaire des aliments³, la surveillance officielle de *Lm* dans les aliments reposait chaque année sur des plans de surveillance (PS) de la Direction générale de l'alimentation (DGAL), et des plans de contrôle (PC) de la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF).

Chaque année, les orientations et le dimensionnement des PS/PC sont programmés à l'avance après échange entre les autorités compétentes, les LNR, les évaluateurs des risques (Direction d'évaluation des risques de l'Anses) et de Santé publique France, afin d'identifier les priorités

en termes de surveillance et de contrôle. Ces PS/PC présentent des stratégies distinctes d'échantillonnage conformément à leurs objectifs spécifiques (Bordier 2015).

Les PS visent à évaluer le niveau de contamination prévisible d'une « population » d'aliments, à un stade de la production ou de la distribution. Le plan d'échantillonnage (nombre de prélèvements, nature des aliments, zones géographiques) est défini et programmé à l'avance. L'échantillonnage des prélèvements est organisé de sorte à assurer la représentativité de cette « population ». Ainsi, lorsque l'objectif est d'évaluer un niveau de contamination à un stade de la production, le PS vise les entreprises fabriquant les plus gros volumes

procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires

² Règlement (CE) n° 178/2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des

³ Sécurité sanitaire des aliments : une police unique pour protéger le consommateur | Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire

de l'aliment concerné au niveau national et le nombre d'échantillons prélevés dans chaque entreprise est fonction du tonnage produit. Lorsque l'objectif final est d'évaluer l'exposition du consommateur, les prélèvements sont organisés à la distribution, selon la répartition de la population dans les différents départements.

Les PC ont vocation principale à identifier des situations présentant un risque accru pour le consommateur. Pour des questions d'organisation et de gestion, le volume global des analyses et la nature des aliments à contrôler sont fixés à l'avance, mais leur mise en œuvre se fait en temps réel, en fonction des situations rencontrées sur le terrain. Les PC concernant Lm organisés par la DGCCRF visent exclusivement le stade de la distribution et concernent toutes les régions. Les critères de ciblage reposent sur la connaissance des situations de terrain par les services officiels, notamment dans le cas de suspicion d'une perte de maîtrise sanitaire par l'opérateur, ou d'investigation avec contrôles renforcés liée à des aliments contaminés.

Ces deux types de dispositifs s'appuient, pour les prélèvements, sur les services déconcentrés des Directions Départementales (de l'emploi, du travail, des Solidarités) de la Protection des Populations (DD(ETS)PP), et pour les analyses, sur des réseaux de laboratoires officiels composés de plus de 60 laboratoires agréés par la DGAL (agrément A), et quatre laboratoires du service commun des laboratoires au service de la DGCCRF⁴.

Contexte du typage des souches

En complément des exigences réglementaires, une caractérisation des souches de Lm s'est mise en place au niveau national pour alimenter l'évaluation des risques et participer à l'investigation de cas de listériose humaine. Dans ce dispositif, le CNR est l'interlocuteur principal des autorités de santé; il reçoit les souches de Lm associées aux « alertes produits » impliquant, selon les cas, un retrait voire un rappel de produits non conformes, et la mise en place d'actions correctives, tel que prévu dans le guide national de gestion des alertes alimentaires⁵, et celles prélevées autour d'un ou de cas humains... En parallèle, le LNR reçoit des laboratoires officiels, les souches isolées des aliments prélevés dans le cadre des PS/PC, quel que soit le niveau de contamination détecté dans l'aliment. instructions prévoient qu'une souche par prélèvement contaminé soit envoyée au LNR, accompagnée d'une fiche descriptive prélèvement.

La caractérisation génomique systématique des souches de PS/PC, méthode de typage du CNR depuis 2017, a été mise en œuvre par le LNR courant 2019. Cet article présente les résultats obtenus sur la période 2019- 2021 à partir des plans listés dans le tableau 1. Sur la période, 183 et 51 souches ont été reçues respectivement des PC et des PS, à raison d'une souche par échantillon positif.

Tableau 1. Plans de contrôle et de surveillance mis en œuvre sur la période 2019-2021

Plan	Année	Nom du plan	Analyte	Stade de prélèvement	Nombre de prélèvement	Nombre de souches reçues au LNR
Plan de	2019	TN*32(LA, LB, LC, LHA)	Matrices	Distribution	Inconnu	81
contrôle	2020	TN32(MA, MB, MC)	alimentaires	Distribution	Inconnu	57
(PC)	2021	TN32(NA, NB, NC)	variées	Distribution	Inconnu	45
Plan de	2019	2019-846	Sandwich et salades composées	Production et distribution	300	7
surveillance	2020	2020-63	Produits de la	Distribution	440	19
(PS)	2021	2020-819	pêche fumés et crustacés cuits	Distribution	440	25

^{*:} TN « Tache Nationale »: instructions décrivant les modalités de contrôles annuelles de la conformité sanitaire des aliments par les services d'inspections déconcentrés de la DGCCRF; chaque plan est référencé par un code interne à l'administration. Tableau 1

⁴ Laboratoires officiels et reconnus en alimentation | Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire

⁵ Comment fonctionne le système d'alerte alimentaire ? | Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire

Méthodes de caractérisation génomique des souches

Les souches ont été caractérisées par séquençage complet du génome (WGS) par la technologie Illumina.

Les préparations des librairies et le séquençage ont été sous-traités à l'Institut du Cerveau (ICM, Paris) de 2019 à août 2022, puis à partir de septembre 2022 à Eurofins (Allemagne).

Le contrôle qualité, la normalisation des données de séquençage et l'assemblage ont été réalisés à l'aide d'outils développés en interne à l'Anses:

- ARtWORK (Felten 2020) pour la période 2019 à juin 2022;
- Bac'Flow développé par le Service Partagé d'Appui à l'Analyse des Données (SPAAD) (détection des contaminations par Kraken2 et Confidr et assemblage Shovill) à partir de juillet 2022. La profondeur de couverture minimale utilisée suit les recommandations techniques de l'EFSA (EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA BIOHAZ) et al. 2019), celle-ci est acceptée dès 30X.

Les analyses génomiques ont été effectuées à l'aide de la plateforme BIGSdb-Lm (Moura et al. 2016), version 1.42.0, hébergée et gérée par le CNR/CCOMS *Listeria*, sous un projet commun privé LNR-CNR. L'exhaustivité des souches isolées des PS/PC est ainsi assurée par le dépôt des séquences génomiques de toutes les souches isolées de PS/PC.

La plateforme BIGSdb-Lm permet l'analyse WGS, donc la détermination des éléments suivants, du moins au plus discriminant :

- le sérotype moléculaire (Hyden et al. 2016) comparable à la méthode de biologie moléculaire anciennement utilisée par l'Anses (Doumith et al. 2004);
- les lignées et sous-lignées, groupes de souches en fonction de leur génosérogroupes PCR, aussi appelé sérotype. La lignée génétique I contient les génosérogroupes PCR IIb et IVb, tout en se référant aux génosérogroupes PCR IIa et IIc en tant que lignée II (Moura et al. 2016).
- les complexes clonaux (CC), groupes de souches partageant au moins six allèles identiques parmi les sept gènes de ménage (Ragon et al. 2008). Cette classification repose sur un schéma public souvent utilisé au niveau Européen ou mondial pour permettre d'utiliser un même typage;
- le Sequence Type (ST), correspondant à l'analyse de sept gènes de ménage par le schéma Multi

Locus Sequence Type (MLST) (Ragon et al. 2008). Son intérêt réside dans le fait que la méthode utilise une nomenclature internationale harmonisée;

- le cgMLST Type (CT), correspondant à l'analyse de 1748 gènes de ménage à l'aide du schéma coregénome MLST (cgMLST) développé par l'Institut Pasteur (Moura et al. 2016). Les CT obtenus sont spécifiques des algorithmes utilisés et donc des bases de données utilisées pour l'analyse. La comparaison des profils cgMLST permet de déterminer si les souches sont proches génétiquement ou non. Un cluster de souches est ainsi défini par la mise en évidence d'au moins deux souches ayant au plus 7 allèles de différence d'un même CT, après avoir éliminé les doublons (souches de même CT isolées d'un même lot de prélèvement).

L'ensemble des analyses est réalisé sous assurance qualité (ISO/CEI 17025:2017).

Résultats

Collecte des souches

La figure 2 illustre la répartition géographique des prélèvements desquels ont été isolées les souches transmises au LNR pour les PC ou les PS. Sur la période 2019-2021, 183 et 51 souches ont été reçues respectivement des PC et des PS. La distribution des prélèvements est cohérente à l'organisation des plans: répartition des prélèvements à l'initiative des services de contrôle sur l'ensemble du territoire dans les cas des PC, et répartition des prélèvements encadrée par les instructions dans les cas de PS. Cette observation est un indicateur de la bonne mobilisation des laboratoires dans la transmission des souches au LNR.

En termes de réactivité du dispositif, la majorité des souches est réceptionnée sous 50 jours. Le nombre de jours médian entre le prélèvement de l'aliment et la réception de la souche est, toutes années confondues, de 98 jours pour les PC et 37 jours pour les PS. Une partie des souches semble être envoyée par lots en cours d'année voire au cours de l'année suivante jusqu'à 531 jours après le prélèvement, indépendamment de leur date d'isolement, voire, pour quelques-unes, après la clôture des plans annuels. Cependant, l'année 2020 a été marquée par la crise liée au Covid-19 et les délais ont été rallongés dû au contexte sanitaire.

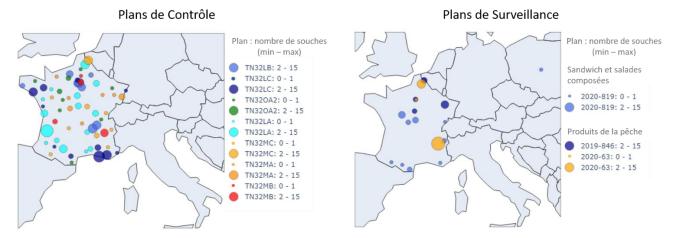


Figure 2. Répartition du nombre de souches en fonction de la provenance géographique des prélèvements alimentaires positifs d'où ont été isolées les souches et en fonction du contexte PS ou PC (années 2019, 2020 et 2021)

Typage des souches

Au total, 227 sur 234 souches reçues ont été intégrées dans ce bilan, tous plans confondus. Six souches issues de PC réceptionnées en début d'année 2019 n'ont pas été analysées avec les nouveaux outils génomiques ultérieurement mis en place. Une souche reçue de PC en 2019 n'a pas pu être analysée du fait d'une contamination importante rendant l'isolement de *Lm* impossible. Les 227 souches se répartissent en quatre génosérogroupes PCR: IIa, IIb, IIc et IVb. La majorité des souches (68% des souches) appartient au génosérogroupe PCR IIa (PC: 114/176 souches et PS: 40/51 souches). Ce génosérogroupe PCR est principalement retrouvé pour les souches isolées du PS « produits de la pêche fumés et crustacés cuits » et des PC sur des « produits carnés » et « produits de la pêche ». Les génosérogroupes PCR IVb, IIb et Ilc représentent respectivement (12%, 11% et 9% des souches reçues). Ils sont retrouvés dans diverses matrices: « produits carnés », « produits de la pêche », « plats cuisinés » et « produits végétaux » (figure 3). Le génosérogroupe PCR IVb a été majoritairement retrouvé pour les souches isolées de « produits végétaux » dans le cadre des PC.

La figure 3 présente six catégories d'aliments desquelles les souches ont été prélevées: les « produits végétaux », les « « produits carnés, les « aliments à multiples composants », les « produits de la pêche », le « chocolat, produits de pâtisserie et confiserie » et enfin les « produits laitiers ». Les « produits végétaux » regroupent tous les légumes seuls ou en mélange. Ensuite, la catégorie « produits

carnés » contient les viandes à l'état non transformé (poulet, veau, porc, bœuf), ainsi que transformées (charcuterie, farce, saucisserie). Il en est de même avec les «produits de la pêche» contenant des poissons (saumon, notamment) fumés ou non, ainsi que des produits transformés tels que les sushis et tarama. La catégorie des « aliments à multiples composants » contient majoritairement des sandwichs et des salades. La catégorie «chocolat, produits de pâtisserie et confiserie» contient une seule pâtisserie. La dernière catégorie « produits laitiers » se résume à un prélèvement de fromage.

La figure 4 présente six catégories d'aliments desquelles les souches ont été prélevées: les « produits végétaux », les « « produits carnés, les « aliments à multiples composants », les « produits de la pêche », le « chocolat, produits de pâtisserie et confiserie » et enfin les « produits laitiers ». Les « produits végétaux » regroupent tous les légumes seuls ou en mélange. Ensuite, la catégorie « produits carnés » contient les viandes à l'état non transformé (poulet, veau, porc, bœuf), ainsi que transformées (charcuterie, farce, saucisserie). Il en est de même avec les «produits de la pêche» contenant des poissons (saumon, notamment) fumés ou non, ainsi que des produits transformés tels que les sushis et tarama. La catégorie des « aliments à multiples composants » contient majoritairement des sandwichs et des salades. La catégorie «chocolat, produits de pâtisserie et confiserie» contient une seule pâtisserie. La dernière catégorie « produits laitiers » se résume à un prélèvement de fromage.

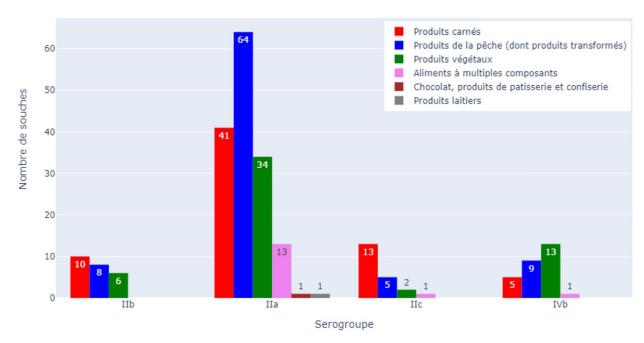


Figure 3. Répartition des matrices en fonction des sérotypes des souches isolées de ces matrices.

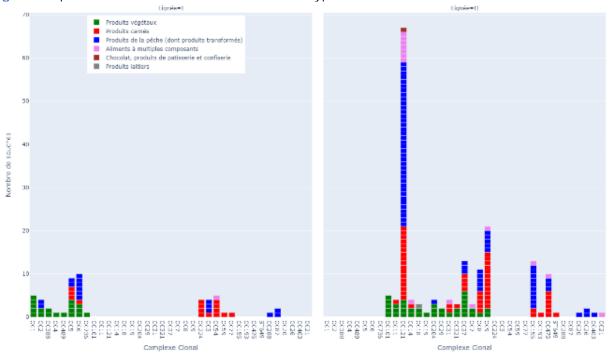


Figure 4. Répartition des CC des souches en fonction des matrices prélevées.

Tous plans confondus, les 227 souches se répartissent en 38 CC. Vingt-deux CC ont été identifiés dans des produits végétaux (n=54 souches), 18 CC dans des produits carnés (n = 69 souches), 17 CC dans les produits de la pêche (n=87 souches), et neuf CC dans des produits composés (n = 15 souches). Les CC majoritaires sont les CC121 (30 % des souches reçues), suivi des CC9 (9 %), CC155 (6 %), CC37 (6 %) et CC475 (4 %) (figure 4) (génosérogroupes PCR IIa et IIc).

Les CC1, CC2, CC4 et CC6 connus pour être associés à une hypervirulence chez l'Homme (génosérogroupe PCR IVb), sont retrouvés

principalement dans des produits végétaux: champignons de Paris (PC 2019: 3 CC1 et 1 CC6; PC2020:1 CC1), épinards (PC 2019:1 CC4; PC2020: 1 CC6), choux de Bruxelles (PC 2021: 1 CC1), mélange de légumes vapeur (PC 2021: 1 CC6) et fruits (PC 2019: 1 CC2). Le CC6 a également été isolé dans de la truite fumée (PS 2021) et du jambon blanc (PC 2020), et le CC2 dans des poissons (PC 2019).

Analyse de proximités génomiques de souches

Pour cette analyse, un total de 241 génomes a été analysé par cgMLST dont les 227 génomes issus de

souches appartenant à la collection du LNR, auxquels ont été ajoutés quatorze génomes appartenant à celle du CNR (souches alimentaires). Les souches du CNR sont des souches isolées d'« alertes produits » sur la période 2019-2021. Les produits concernés étaient principalement des saumons fumés ou des produits transformés à base de viande. Les 241 séquences se répartissent en 141 CT à partir desquels une étude de la proximité génomique peut permettre d'identifier des clusters. Trente-six clusters regroupant au moins deux souches avec le même CT ont été obtenus. Parmi ceux-ci, 26 clusters ont deux génomes (identifiés par des zones vertes dans la figure 5) et dix clusters ont de trois à 17 génomes. Dix comprennent plus de deux génomes (identifiés par des zones vertes dans la figure 5).

Certains clusters regroupent des souches des PS et du CNR.

Ainsi, le cluster (L2-SL155-ST155-CT5098, génosérogroupe PCR IIa) qui regroupe dix génomes de dix souches isolées de saumon fumé prélevé dans la cadre du PS 2020 a été complété par cinq génomes de la même année collectés par le CNR.

L'autre cluster (L2-SL9-ST9-CT597, génosérogroupe PCR IIc) regroupe trois génomes de souches isolées dans le cadre du PS 2021, et un génome de 2020 du CNR, toutes sont issues de saumon fumé également.

Le cluster (L1-SL6-ST6-CT461, génosérogroupe PCR IVb) regroupe quant à lui six génomes de souches toutes isolées de truites fumées prélevées dans le cadre du PS 2021 suggérant un lien épidémiologique contrairement au cluster (L2-SL121-ST121-CT903, génosérogroupe PCR IIa) dont les génomes sont majoritairement issus de souches isolées de prélèvements de crevettes, l'attribution du CT y associe deux génomes non épidémiologiquement, ayant plus de 7 différences alléliques. Ce cas nécessiterait une investigation plus poussée. Le cluster (L2-SL475-ST504-CT941, génosérogroupe PCR IIa) est majoritairement issu de souches isolées de viande de poulet et de sandwichs à base de viande. Dans ce cluster, est retrouvée une souche provenant d'un prélèvement issu de saucisse séchée tranchée, indiquant qu'elle est également proche génétiquement proches des autres souches. Il serait intéressant de connaître les lieux et processus de transformations industriels pour savoir si elles ont un réel lien épidémiologique.

Quatorze clusters concernent des souches isolées de matrices cohérentes sur plusieurs années de prélèvements (identifiés en bleu ou avec une étoile bleue dans la figure 6). Cela pourrait indiquer une persistance de ces souches dans les usines de production ou de transformation de ce type de matrice. Par exemple, le cluster (L2-SL121-ST121-CT10083, génosérogroupe PCR IIa), le plus important en nombre de génomes (dix-sept génomes), est lié à des souches isolées de sushi industriels, prélevés sur trois années au stade de la distribution.

Discussion

Les résultats de cette étude descriptive permettent d'apprécier la diversité des souches de *Lm* isolées d'aliments prélevés dans le cadre des PS/PC. Sur six grandes catégories d'aliments, les souches se répartissent en quatre génosérogroupes PCR et 83 CC

Vingt et un CC ont été identifiés dans des produits végétaux, dix-huit CC dans des produits carnés, dix-sept CC dans les produits de la pêche et neuf dans des produits composés.

Ces résultats sont cohérents avec la revue de la littérature, notamment les CC121 et (génosérogroupe PCR IIa et IIc) majoritairement isolés, qui sont décrits dans la littérature nationale, européenne et internationale comme souches prépondérantes dans les aliments (Chenal-Francisque et al. 2011; Kurpas et al. 2020; Maury et al. 2016; Félix et al. 2018; Maury et al. 2019). Il faut cependant garder à l'esprit qu'au niveau international, certains CC peuvent avoir un tropisme particulier en fonction des zones géographiques. Le CC9 est principalement isolé de produits carnés, comme décrit par Felix et col. (Félix et al. 2018) pour la filière porcine en France. La fréquence d'isolement relativement élevée du CC155 isolé dans du saumon fumé, doit être interprétée avec prudence. Ce CC a été retrouvé dans le cadre du PS 2020 qui, par définition, vise à déterminer la représentativité de la contamination d'une filière, à un stade de la chaîne alimentaire. Néanmoins, il conviendrait de vérifier que ces résultats n'aient pas été biaisés par des doublons de prélèvement sur des lots identiques, comme cela peut être le cas dans un contexte d'investigation. Ce CC n'est par ailleurs pas retrouvé dans le cadre des PC mais a en revanche été décrit, principalement dans les produits de la mer, dans une étude menée en 2019 (Maury et al. 2019). Cependant ce CC155 n'est pas décrit dans une étude descriptive portant sur près de 700 souches de Lm isolées du secteur de production de saumons et de truites en France (Brauge et al. 2023). Dans la configuration actuelle du dispositif, les données épidémiologiques communiquées au LNR sont insuffisantes pour écarter, en temps réel, ces biais de prélèvement.

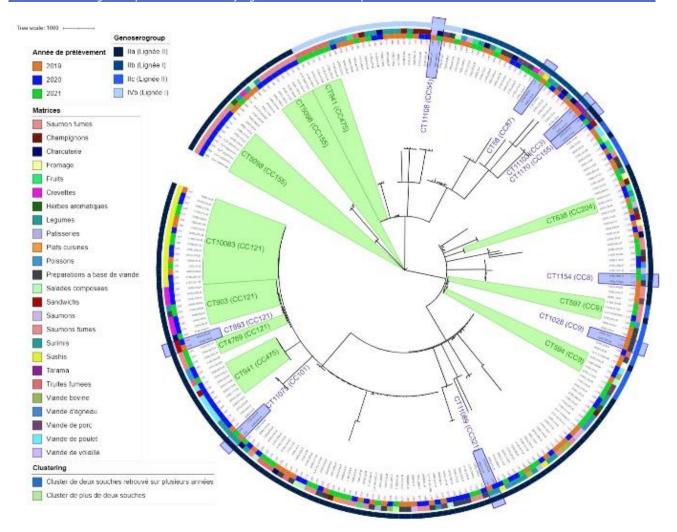


Figure 5. Arbre phylogénétique obtenu avec l'outil GrapeTree obtenu via les profils générés par BIGSdb-Lm et annoté avec iTol

Certains des clusters génomiques identifiés mettent en évidence la proximité génétique de souches isolées sur deux ou trois années de prélèvements. L'hypothèse d'une persistance de souches de Lm, ou d'une réintroduction par un intrant, serait à explorer dans certains lieux de transformation ou de stockage. L'analyse des clusters nécessiterait également de vérifier l'absence de doublons de prélèvements (mêmes matrices prélevées par un même laboratoire à des jours identiques ou très proches) pour étudier les réels entre des souches proches génétiquement. Il serait intéressant de poursuivre les études épidémiologiques pour étudier les liens éventuels géographiques ou contextuels au niveau du processus de production. Des prélèvements et analyses génomiques complémentaires sur les sites concernés pourraient permettre notamment de mettre en évidence des gènes d'intérêt pour la maitrise du risque (lien avec la résistance aux biocides ou la production de biofilms).

Ces résultats ont également mis en évidence 20 souches d'origine alimentaire, 16 isolées par le LNR et quatre par le CNR, présentant un CC associé à

une hypervirulence (CC1, CC2, CC4 et CC6). Ces souches appartiennent au génosérogroupe PCR IVb et sont associées principalement à des végétaux, mais aussi à du saumon fumé ou de la viande de porc. Deux souches concernent des champignons prélevés sur plusieurs années dans le cadre d'un PC. Ces aliments étant susceptibles d'être consommés crus; une vigilance particulière pourrait être recommandée en matière de maîtrise sanitaire et de surveillance pour ce type de production.

Dans une perspective d'amélioration de la surveillance sanitaire nationale des aliments, à partir des PS/PC en appui aux autorités de contrôle, des axes d'améliorations sont identifiés pour l'organisation générale.

En termes de représentativité, les instructions prévoient depuis 2020, de n'envoyer qu'une souche par prélèvement de PS/PC contaminé pour éviter les doublons d'un même type de souche dans un aliment ; il convient de sensibiliser les laboratoires au respect de cette règle. De la même manière, la réalisation des prélèvements des PS doit respecter cette

indépendance des prélèvements, mais pour ce qui relève des fraudes, cette information reste confidentielle et relève des situations rencontrées sur le terrain. Ce dédoublonnage est également un gage de rationalisation des coûts associés aux analyses génomiques. Il représente néanmoins une limite dans la connaissance d'une éventuelle diversité de la contamination d'un même aliment.

- En termes d'exhaustivité, toutes les souches de Lm sont à transmettre à l'Anses dans le cadre des PS/PC, quel que soit le niveau de contamination dυ prélèvement. particularité distingue l'activité du LNR, des activités du laboratoire officiel responsable de conformité l'interprétation de la prélèvement. Les laboratoires s'assureront également que les autres espèces de Listeria ne soient pas transmises. Cette exhaustivité permettrait de connaitre le taux de contamination des différentes matrices par type de souche. Dans cette perspective d'optimisation, le LNR s'est engagé, en 2023, dans le projet QUALIPLAN piloté par l'Anses. En relation étroite avec les laboratoires et les services de contrôle, le LNR supervisera au fil de l'eau la bonne application des différentes instructions de la DGAL et la qualité des données rapportées. Pour les PC, le nombre de prélèvements réalisés chaque année est une information confidentielle des services des fraudes ne permettant pas cette estimation, et qui ne représenterait par ailleurs que des situations à risque plus élevé, représentatives des aliments mis sur le marché.
- Il est également indispensable que les informations épidémiologiques décrivant le prélèvement soient exhaustives et précises pour permettre toute interprétation des résultats analytiques (numéro de plan, origine géographique par ex.). La transmission au LNR du Document d'accompagnement des prélèvements (DAP) des PS devrait être demandée dans les prochaines campagnes.
- En termes de réactivité, la fréquence d'envoi des souches par les laboratoires devrait être

- réduite globalement. Deux situations sont cependant à distinguer :
- i) lorsque la souche génère une « alerte produit », le dispositif de centralisation des données et de caractérisation au CNR doit permettre de mettre à disposition des services sanitaires, les informations dans un temps compatible avec les actions de gestion
- ii) lorsque la souche ne génère pas « d'alerte produit », il peut être recommandé que les souches soient transmises le plus régulièrement possible au LNR au cours de l'année civile, par groupe de dix souches si beaucoup de souches sont isolées. Pour dynamiser le dispositif, là encore, le rôle d'animateur du LNR est primordial. La transmission plus rapide des souches au LNR conduirait, de fait, à l'obtention et à un partage plus rapide de résultats avec le CNR pour leur intégration dans la surveillance nationale et une protection du consommateur.
- D'un point de vue analytique, les résultats de surveillance sur les clusters génomiques pourraient être complétés par une activité de recherche sur les gènes d'intérêt (virulence, persistance aux biocides) qui, à termes et sous réserve de validation, pourrait aider les industriels à mieux comprendre leurs contaminations et les accompagner dans les mesures à mettre en place.
- En termes de santé publique, le partage des résultats de caractérisation génomique des souches obtenus par le LNR ou le CNR, via la plateforme BIGSdb-Lm, se poursuivront afin de renforcer un niveau de vigilance nationale, en identifiant le maximum de contaminations susceptibles de représenter un risque pour le consommateur. Au niveau européen, ces données peuvent être partagées par le LNR, dans la base européenne «One Health WGS system », depuis juillet 20226. Ce dispositif conjoint EFSA/ECDC, repose sur le volontariat des Etats membres à partager leurs données. Son objectif est de détecter rapidement les épidémies d'origine alimentaire impliquant plusieurs pays. Actuellement, en France, ce partage est ponctuel et n'est effectué que sur demande des autorités sanitaires.

_

⁶ WGS Portal (europa.eu)

En conclusion, cette étude établit un bilan original de la caractérisation génomique des souches de Lm isolées d'aliments visés par les PS/PC des autorités sanitaires nationales. Elle souligne l'importance du rôle du LNR dans l'animation du réseau de laboratoires officiels et de l'importance des échanges réguliers avec le CNR pour une vision la plus exhaustive possible de la situation dans des temps compatibles avec la gestion des risques. Ces résultats sont complémentaires des bilans publiés par l'administration sur leurs activités officielles (« Plans de surveillance et de contrôle » 2022). Ils permettent d'identifier des points d'optimisation du fonctionnement du dispositif sanitaire pour le rendre encore plus réactif et exhaustif, ainsi que des secteurs de production associés à un risque plus élevé. Il convient cependant de souligner qu'ils ne préjugent pas de la conformité des aliments mis sur le marché, ni des mesures de gestion mises en place pour les aliments détectés non conformes.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les bureaux des autorités de contrôle pour les échanges entre les activités scientifiques du LNR et les activités officielles des laboratoires d'analyse, les laboratoires officiels et les équipes de bio-informatiques de l'Anses, dont M^{me} Virginie CHESNAIS (SPAAD, ANSES LSA Maisons-Alfort) et M. Arnaud FELTEN (GVB – ANSES Ploufragan), pour le développement et le maintien des pipelines ayant permis l'analyse des reads bruts. L'équipe du LNR remercie également Marc LECUIT, responsable du CNR Listeria et Alexandra MOURA chercheuse au CNR pour les échanges scientifiques et techniques ayant permis ce bilan.

Références bibliographiques

Bordier, M. 2015. « Brève. Les plans de surveillance et les plans de contrôle au service de la vigilance sanitaire des aliments ». Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation, 68.

Brauge, T., Leleu G., Hanin A., Capitaine K., Felix B., et Midelet G. 2023. « Genetic Population Structure of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Salmon and Trout Sectors in France ». SSRN Scholarly Paper. Rochester, NY. https://doi.org/10.2139/ssrn.4441241.

Brouwer, M. C. et van de Beek M. 2017. « MONALISA: a grim picture of listeriosis ». The Lancet Infectious Diseases 17 (5): 464-66. https://doi.org/10.1016/S1473-3099 (17)30054-3.

Chenal-Francisque V., Lopez J., Cantinelli T., Caro V., Tran , Leclercq A., Lecuit M., et Brisse S.. 2011. « Worldwide distribution of major clones of *Listeria monocytogenes* ». Emerging Infectious Diseases 17

(6) : 1110-12. https://doi.org/10.3201/eid/1706. 101778.

Danan, C., et Calavas D. 2016. « Réflexions autour de la surveillance épidémiologique des aliments ». Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation, no 77. https://be.anses.fr/sites/default/files/SSA01final.pdf.

Doumith, Michel, Carmen Buchrieser, Philippe Glaser, Christine Jacquet, et Paul Martin. 2004. « Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR ». Journal of Clinical Microbiology 42 (8): 3819-22. https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004.

EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA BIOHAZ), Kostas Koutsoumanis, Ana Allende, Avelino Alvarez-Ordóñez, Declan Bolton, Sara Bover-Cid, Marianne Chemaly, et al. 2019. « Whole genome sequencing and metagenomics for outbreak investigation, source attribution and risk assessment of food-borne microorganisms ». EFSA Journal 17 (12): e05898. https://doi.org/10.2903/j. efsa. 2019.5898.

European Food Safety Authority et European Centre for Disease Prevention and Control. 2021. « The European Union One Health 2020 Zoonoses Report | EFSA ». https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2021.6971.

European Food Safety Authority. 2022. « The European Union One Health 2021 Zoonoses Report | EFSA ». Consulté le 5 janvier 2024. https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/76

Félix, Benjamin, Carole Feurer, Aurelien Maillet, Laurent Guillier, Evelyne Boscher, Annaëlle Kerouanton, Martine Denis, et Sophie Roussel. 2018. « Population Genetic Structure of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated From the Pig and Pork Production Chain in France ». Frontiers in Microbiology 9: 684. https://doi.org/10.3389/fmicb. 2018.00684.

Felten, Arnaud. 2020. « Github - afelten-Anses/ARtWORK ». GitHub. 2020. https://github.com/afelten-Anses/ARtWORK.

Hyden, Patrick, Ariane Pietzka, Anna Lennkh, Andrea Murer, Burkhard Springer, Marion Blaschitz, Alexander Indra, et al. 2016. « Whole genome sequence-based serogrouping of *Listeria monocytogenes* isolates ». Journal of Biotechnology 235 (octobre): 181-86. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.06.005.

Kurpas, Monika, Jacek Osek, Alexandra Moura, Alexandre Leclercq, Marc Lecuit, et Kinga Wieczorek. 2020. « Genomic Characterization of Listeria monocytogenes Isolated From Ready-to-Eat Meat and Meat Processing Environments in Poland ». Frontiers in Microbiology 11: 1412. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01412.

« Laboratoires officiels et reconnus en alimentation ». s. d. Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire. Consulté le 6 juillet 2023. https://agriculture.gouv.fr/laboratoires-officiels-et-reconnus-en-alimentation.

Maury, Mylène M., Hélène Bracq-Dieye, Lei Huang, Guillaume Vales, Morgane Lavina, Pierre Thouvenot, Olivier Disson, Alexandre Leclercq, Sylvain Brisse, et Marc Lecuit. 2019. « Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products ». Nature Communications 10 (juin): 2488. https://doi.org/10.1038/s41467-019-10380-0.

Maury, Mylène M., Yu-Huan Tsai, Caroline Charlier, Marie Touchon, Viviane Chenal-Francisque, Alexandre Leclercq, Alexis Criscuolo, et al. 2016. « Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity ». Nature Genetics 48 (3): 308-13. https://doi.org/10.1038/ng.3501.

Moura, Alexandra, Alexis Criscuolo, Hannes Pouseele, Mylène M. Maury, Alexandre Leclercq, Cheryl Tarr, Jonas T. Björkman, et al. 2016. « Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes* ». Nature Microbiology 2 (octobre): 16185. https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016. 185.

Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire. 2022. « Plans de surveillance et de contrôle ». 16 novembre 2022. https://agriculture.gouv.fr/plans-de-surveillance-et-de-controle.

Ragon, Marie, Thierry Wirth, Florian Hollandt, Rachel Lavenir, Marc Lecuit, Alban Le Monnier, et Sylvain Brisse. 2008. « A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution ». PLoS pathogens 4 (9): e1000146.

https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000146.

Pour citer cet article:

Yvon C., Vesselle M., Leclercq A., Leclerc V., Fert D, Barre L., Danan C. 2023. « Caractérisation génomique de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer : bilan des contrôles officiels 2019-2021 » Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 99 (2) : 1-12.

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est une publication conjointe de la Direction générale de l'alimentation et de l'Anses.

Directeur de publication : Benoît Vallet
Directeur associé : Maud Faipoux
Directrice de rédaction : Emilie Gay
Rédacteur en chef : Julien Cauchard
Rédacteurs adjoints : Hélène Amar, JeanPhilippe Amat, Céline Dupuy, Viviane Hénaux,
Renaud Lailler, Célia Locquet

Comité de rédaction : Anne Brisabois, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Pauline Kooh, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard Secrétaire de rédaction : Virginie Eymard

Responsable d'édition :

Fabrice Coutureau Vicaire
Assistante d'édition:
Flore Mathurin

Anses - www.anses.fr 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel: bulletin.epidemio@anses.fr

Sous dépôt légal : CC BY-NC-ND

ISSN: 1769-7166







Bilan de la surveillance de *Trichinella* spp. chez les animaux de boucherie sur la période 2020 - 2022

Isabelle Vallée¹, Amandine Blaizot¹, Aurélie Chevillot¹, Laura Lucia Estevez¹, Mélanie Goulinet², Nicolas Holleville²

Auteur correspondant : isabelle.vallee@anses.fr

¹Anses, Laboratoire de Santé Animale, LNR Parasites transmis par les Aliments, Maisons-Alfort, France ²Direction Générale de l'Alimentation (DGAL), Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire, Bureau des établissements d'abattage et de découpe, Paris, France.

Résumé

Trichinella spp. est un parasite zoonotique soumis à une règlementation Européenne imposant un contrôle des animaux sensibles destinés à la consommation humaine. En France, cette surveillance concerne les porcs, les chevaux et les sangliers.

Le bilan de la période 2020-2022, s'inscrit dans la continuité des années précédentes avec une endémicité de *T. britovi* en Corse chez les populations de porcs domestiques et la circulation de *T. britovi* chez les sangliers dans le Sud de la France. Un événement nouveau sur cette période concerne la détection de *T. spiralis* chez deux sangliers dans les Pyrénées Orientales. Ces deux animaux ont été détectés après la survenue de cas humains, l'analyse officielle n'ayant pas été faite avant consommation. Ainsi, la circulation de *Trichinella* spp. chez ces animaux à risque rappelle aux consommateurs de gibier la nécessité d'effectuer les contrôles sanitaires permettant de garantir l'absence de larves dans les viandes.

Mots-clés

Trichinella, zoonoses, surveillance

Abstract

Review of surveillance of Trichinella spp. in slaughter animals over the period 2020 - 2022

Trichinella spp. is a zoonotic parasite subjected to European regulations requiring the control of susceptible animals intended for human consumption. In France, this surveillance concerns pigs, horses and wild boars.

The results for the period 2020-2022 are in line with those of previous years, with endemicity of *T. britovi* in Corsica in domestic pig populations, and *T. britovi* circulation in wild boar in South of France. A new event during this period was the detection of *T. spiralis* in two wild boars in the Pyrénées Orientales department. These two animals were detected after the occurrence of human cases, since official analysis had not been carried out prior to consumption. The circulation of *Trichinella* spp. in these high-risk animals reminds game consumers of the need to carry out official analysis to guarantee the absence of larvae in meat.

Keywords
Trichinella, zoonosis, monitoring

Trichinella spp est un ver rond, parasite zoonotique, transmis aux humains par la consommation d'une viande infestée consommée crue ou peu cuite. Alors que l'infection par Trichinella spp est asymptomatique chez les animaux, elle provoque chez les humains infestés une maladie dont la pathogénicité est variable en fonction de l'espèce infestante, de la dose ingérée et de l'état physiologique de l'individu contaminé (Anses, 2011 -Yéra et al, 2023). Dans ce contexte, les carcasses d'animaux sensibles et destinées consommation humaine sont soumises à une détection par les services vétérinaires afin d'éviter tout risque de contamination.

Nous décrivons dans cet article, un point de situation de la surveillance de ce parasite en France sur les trois dernières années (2020 à 2022), à travers une présentation de l'évolution de la réglementation et les résultats de cette surveillance. Trois articles ont été précédemment publiés dans le *Bulletin Epidémiologique sur* ce sujet avec notamment une description détaillée du dispositif de surveillance pour ce parasite en France sur les animaux de boucherie (Vallée et al., 2017), un bilan de l'année 2016 (Vallée et al., 2019) et de la période 2017-2019 (Vallée et al., 2021).

Evolution de la réglementation

Le règlement d'exécution (UE) 2015/1375 de la Commission du 10 Août 2015¹, fixant les règles s'appliquant spécifiquement aux contrôles officiels relatif à la détection de *Trichinella* spp. dans les viandes destinées aux consommateurs, a été modifié par le règlement d'exécution (UE) 2020/1478 de la Commission du 14 octobre 2020², par le règlement d'exécution (UE) 2021/519³ et par le règlement d'exécution (UE) 2022/1418⁴. Ces révisions introduisent comme principal changement l'application de la méthode de digestion artificielle décrite dans la norme ISO

18743:2015⁵ comme la méthode de référence pour la détection des larves de *Trichinella* dans la matrice carnée. En France, cette norme est entrée en vigueur en novembre 2020 dans tous les laboratoires d'analyses vétérinaires départementaux, agréés par la DGAL, réalisant les analyses de première intention pour le contrôle officiel des viandes destinées à la consommation humaine. Une révision de la norme ISO18743: 2015 a été publiée en août 2023. Les laboratoires agréés par la DGAL sont tous accrédités par le Cofrac selon cette norme.

Comme décrit précédemment (Vallée et al., 2019), la règlementation impose le contrôle des viandes d'équins et de porcins (incluant les sangliers). L'organisation et la réalisation des prélèvements sur les carcasses à inspecter de porcins (incluant les sangliers) et d'équins sont précisées dans le règlement d'exécution (UE) 2015/1375 modifié, complété par un arrêté ministériel du 18 décembre 2009⁶ modifié (une révision de l'arrêté ministériel est en cours) et par l'instruction technique DGAL/SDSSA/2018-551, publiée le 23 juillet 20187 révision de l'instruction technique DGAL/SDSSA/2018-551 est en cours). dérogations possibles concernent les porcs charcutiers issus d'élevages reconnus comme les conditions d'hébergement appliquant contrôlées vis-à-vis du risque de contamination par Trichinella spp (HRT). Depuis 2018, la France différencie les porcs dits HRT des porcs dits HNRT (issus d'élevages reconnus comme n'appliquant pas les conditions d'hébergement contrôlés vis-à-vis du risque de contamination par Trichinella spp) pour la réalisation des analyses. Les porcs HNRT sont soumis au contrôle systématique et individuel, comme les porcs reproducteurs et/ou les porcs plein-air. Les porcs HRT sont quant à eux, contrôlés à raison de 1/1000, par sondage, afin de maintenir la surveillance dans les élevages HRT. Les sangliers font l'objet d'un contrôle systématique dès lors qu'ils sont conduits à l'abattoir ou en établissement

¹ Règlement d'exécution (UE) 2015/1375 de la Commission du 10 aout 2015 fixant les règles spécifiques applicables aux contrôles officiels concernant la présence de *Trichinella* dans les viandes. JO L212, 7-34.

² <u>Règlement d'exécution (UE) 2020/1478</u> de la Commission du 14 octobre 2020 modifiant le règlement (UE) 2015/1375 en ce qui concerne le prélèvement d'échantillons, la méthode de détection de référence et les conditions d'importation relatifs à la lutte contre les *Trichinella*.

³ <u>Règlement d'exécution (UE) 2021/519</u> de la Commission du 24 mars 2021 modifiant le règlement d'exécution (UE) 2015/1375 en ce qui concerne les tests de détection de *Trichinella* chez les solipèdes et la dérogation aux tests de détection de *Trichinella* chez les porcins domestiques appliquée par le Royaume-Uni.

⁴ <u>Règlement d'exécution (UE) 2022/</u>1418 de la Commission du 22 août 2022 modifiant le règlement d'exécution (UE) 2015/1375 en ce qui concerne la lutte contre *Trichinella* en liaison avec la découpe de carcasses et les méthodes d'analyse de remplacement.

⁵ Norme ISO 18743:2015, Microbiologie de la chaîne alimentaire – Recherche des larves de *Trichinella* dans la viande par une méthode de digestion artificielle. Première édition 2015-09-15.

⁶ <u>Arrêté ministériel du 18 décembre 2009 modifié</u> relatif aux règles sanitaires applicables aux produits d'origine animale et aux denrées alimentaires en contenant.

⁷ Instruction technique <u>DGAL/SDSSA/2018-551</u>, du 23 juillet 2018. Mise en œuvre par les services vétérinaires d'inspection des règles applicables aux contrôles officiels concernant la présence de Trichinella dans les viandes.

de traitement du gibier sauvage. En revanche, l'analyse trichine est recommandée ou obligatoire lors de la fourniture directe de sangliers par le chasseur au consommateur final ou au commerce de détail local. Enfin, les chevaux doivent systématiquement faire l'objet d'une analyse pour la recherche de larves de trichine.

Résultats de la surveillance

Le bilan de la surveillance est présenté dans le tableau 1 en respectant la catégorisation des porcs en fonction de leur type d'hébergement (HRT / HNRT / plein air) et leur statut de porcs charcutiers versus reproducteurs. Les porcs classés dans la catégorie «élevage mixte» sont soit des porcs charcutiers, soit des porcs reproducteurs, leur statut n'ayant pas été identifié à l'abattoir. Cette dernière catégorie inclut les porcs abattus en Corse. Les sangliers sont quant à eux classés selon qu'ils proviennent d'un élevage ou qu'ils sont sauvages.

Chez les porcs

Selon les données du service de la statistique et de la prospective du ministère chargé de l'agriculture, le nombre de porcs abattus en France a diminué de près de 1,5 % entre 2020 et 2022. Cependant, le nombre de prélèvements réalisé sur les porcs abattus en abattoir reste stable. Près de 4 % des porcins domestiques abattus en abattoir font

l'objet d'un examen en vue de la recherche de larves de trichine.

La France n'a pas identifié de porcs positifs en élevages déclarés HRT depuis la reconnaissance de ces élevages en 2018 et, au-delà depuis 2007 pour les porcs hors-sol (avant mise en place des statuts HRT). La surveillance par sondage de ces porcs à raison de 1/1000 permet de maintenir ce statut, en l'absence de tests sérologiques fiables pour les porcs. Les données françaises sont comparables aux données rapportées à l'EFSA par l'ensemble des états membres. En effet, il n'y a pas de porcs positifs dans les élevages HRT depuis la reconnaissance de ce statut. Cela confirme bien que la prévention de l'infection des porcs par Trichinella spp. nécessite le respect de conditions d'élevage assurant une barrière physique avec des animaux sensibles de la faune sauvage et l'accès à une alimentation exempte de larves.

Les seuls porcs positifs identifiés en France proviennent d'élevage extensifs en Corse. Alors que l'île était indemne de *Trichinella* spp chez les animaux jusqu'en 2004, *T. britovi* a fait son apparition en Corse du Sud, dans un élevage de la Vallée du Haut Taravo (La Rosa et al., 2018). Depuis, des porcs sont régulièrement identifiés dans ce département, où l'on peut considérer que le parasite s'est installé et demeure endémique. Sur la période 2020-2022, six porcs ont été identifiés dont trois en 2020, un en 2021 et deux en 2022.

Tableau 1. Synthèse (2020-2022) des analyses officielles réalisées en test direct en fonction du statut des animaux. Les animaux confirmés positifs lors de l'analyse de recherche de larves de *Trichinella* spp. sont mentionnés entre parenthèse

Animaux	Conditions d'élevage ou statut		Contrôle	Nombre d'animaux contrôlés (positifs)		
Allillaux			par test direct	2020	2021	2022
	Porcs charcutiers (HRT)		Par sondage (1/1000)	18371	25734	132406
	Porcs charcutiers (HNRT)		Systématique	486158	502744	576125
Porcs	Reproducteurs (HRT)		Systématique	301244	308567	191166
	Reproducteurs (HNRT)		Systématique	138756	14380	12854
	Elevage mixte		Systématique	20454 (3)	21832 (1)	15897 (2)
Equins			Systématique	6090	3815	2408
	Élevage	Abattoirs	Systématique	335	455	327
Sangliers	Sauvage	Fourniture directe par le chasseur au consommateur final ou au commerce de détail	Recommandé ou obligatoire	18371	25734	132406
		Etablissement de traitement du gibier sauvage	Systématique	486158	502744	576125

Chez les sangliers

Seuls des sangliers sauvages ont été détectés positifs en 2021 et 2022. Il s'agissait de sangliers de chasse en provenance des départements de la Lozère, des Pyrénées Orientales et de l'Ariège. Il est important de souligner que les sangliers chassés dans les Pyrénées Orientales étaient porteurs de larves de T. spiralis, espèce qui ne circulait pas jusqu'à présent chez les sangliers autochtones français. Il est à craindre que ces animaux aient migré depuis l'Espagne où des sangliers sont régulièrement identifiés positifs pour T. spiralis (Diaz et al, 2021). Ces deux sangliers ont malheureusement été confirmés par le LNR après que les consommateurs aient déclaré une trichinellose. Ils avaient consommé de la viande directement fournie par le chasseur sans que les carcasses n'aient fait l'objet d'une recherche de larves de trichines.

En 2022, moins de 5 % des sangliers tués par action de chasse ont fait l'objet d'une analyse trichine.

Chez les chevaux

Le nombre de chevaux abattus en France ne cesse de diminuer au fil des années. Alors que 9057 animaux ont été contrôlés en 2018 (Vallée et al., 2021), nous comptons un total de 2408 chevaux pour l'année 2022. Ces chiffres sont en accord avec données publiées par FranceAgriMer, rapportant une diminution de la consommation française de viande chevaline observée ces dernières années⁸. Chez les chevaux, la présence de larves de Trichinella spp. reste un événement rare mais compte tenu de l'impact sévère de la maladie en termes de santé publique, il est impératif de maintenir ce contrôle systématique comme l'impose la règlementation Européenne et internationale (OMSA, Codex alimentarius). Aucun cheval n'a été identifié positif sur ces trois dernières années, ni en France, ni même en Europe (Rapport EFSA).

Discussion - Conclusion

Au bilan, les analyses officielles de recherche de larves de trichine effectuées en France par les laboratoires agréés sur la période 2020-2022, ont permis d'identifier six porcs positifs pour *T. britovi* en Corse du Sud, et deux sangliers positifs pour *T. britovi*, l'un en Lozère, l'autre en Ariège. La circulation de *T. spiralis* chez les sangliers dans les Pyrénées Orientales est un élément nouveau confirmé suite à deux cas humains en décembre 2020. Un autre sanglier sauvage provenant de ce

département français a été identifié porteur de larves de *T. spiralis* par un laboratoire Suisse. La viande de ce sanglier avait été partagée par des consommateurs Suisses et Français sans passage préalable par un établissement de traitement du gibier sauvage agréé dans lequel des prélèvements auraient été réalisés. Pour ce dernier sanglier, 22 cas de trichinellose sont à déplorer; la viande ayant été consommée crue sans contrôle. Ces cas sont comparables aux six cas humains (trois confirmés, trois suspects) survenus dans une même famille dans les Alpes en 2022 alors qu'ils avaient consommé de la viande crue d'un sanglier n'ayant pas fait l'objet d'une recherche de larves de trichine (Peju et al, 2023).

Ces résultats rappellent la nécessité d'effectuer les analyses des viandes d'animaux sensibles et potentiellement exposés aυ risque contamination par *Trichinella*. La consommation de viande crue ou insuffisamment cuite de gibiers présente un risque particulièrement important puisque ces animaux sont exposés au cours de leur vie à des proies ou des carcasses d'animaux infestés présents dans leur environnement. Les contrôles effectués par les laboratoires agréés sont efficaces et permettent d'éviter des cas de trichinellose humaine. A défaut de contrôles, il est nécessaire de cuire la viande grise à cœur afin d'inactiver les larves de Trichinella (Anses, 2011).

Références bibliographiques

Diaz A., Tejedor M., Padrosa A., Quilez J. 2021. « Prevalence of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in wild boars in the northeast of Spain. » *European Journal of Wildlife Research* 67:20.

La Rosa G., Vallée I., Marucci G., Casabianca F., Bandino E., Galati F., Boireau P., Pozio E. 2018. « Multilocus genotype analysis outlines distinct histories for *Trichinella britovi* in the neighboring Mediterranean islands of Corsica and Sardinia. » *Parasite Vectors.* 11(1):353.

Péju M., Granier B, Garnaud C., Brenier-Pinchart M-P., Vallée I., Chevillot A., Merel C., Chereau F., Deher M., Rogeaux O., Yéra H. 2023. « *Trichinella britovi* outbreak in the Northern Alps of France: investigation by a local survey network. » *Parasite*. 30: 14.

Vallée I., Zanella G., Goulinet M., Laborieux J., Boireau P. 2019. « Bilan de surveillance de *Trichinella* spp chez les animaux de boucherie en 2016. » *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation.* 89 (5): 1-3.

^{8 &}lt;u>www.franceagrimer.fr/Actualite/Filieres/Viandes-rouges/2023/Le-marche-de-la-viande-chevaline-en-2022</u>

Vallée I., Zanella G., Boireau P. 2017. « Bilan de surveillance de *Trichinella* spp. chez les animaux de boucherie en France. » *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. Numéro spécial – Surveillance sanitaire des aliments. 77 : 28-32.

Vallée I., Blaizot A., Heckmann A., Chevillot A., Karadjian G., Zanella G., Laborieux J., Goulinet M. 2021. « Bilan de surveillance de *Trichinella* spp chez les animaux de boucherie sur la période 2017–2019 :

évolution de la règlementation. » Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 93 (2): 1-3.

Yéra H., Karadjian G., Vallée I., Boireau P. « Trichinelloses. » In Encyclopédie Médico-Chirurgicale, chap Maladies Infectieuses. 2023. Ed Elsevier Masson SAS, Paris. Doi : 10.1016/S1166-8598(22)44962-3.

Encadré 1. Surveillance et police sanitaire de la maladie

Objectif de la surveillance

Détection des larves musculaires de *Trichinella* spp. dans les carcasses des animaux sensibles et destinées à la consommation humaine.

Population surveillée

Les porcs domestiques, les chevaux et les sangliers.

Champ de surveillance

Toutes espèces de Trichinella.

Modalités de la surveillance

Surveillance programmée

La surveillance cible tous les porcs domestiques sauf les porcs charcutiers issus d'élevages reconnus comme appliquant les conditions d'hébergement contrôlées vis-à-vis du risque de contamination par *Trichinella* (porcs HRT) pour lesquels une surveillance à raison d'1/1000 est appliquée pour une surveillance du statut de ces élevages HRT.

La surveillance cible également tous les chevaux et les sangliers dès lors que ces derniers sont conduits à l'abattoir ou en établissement du gibier sauvage.

La surveillance cible également les sangliers tués par action de chasse et destinés à la consommation humaine mais non acheminés jusqu'à un établissement de traitement du gibier sauvage agréé.

Définition du cas

Un animal est considéré comme infecté dès lors qu'au moins une larve de Trichinella a été identifiée et confirmée par le LNR.

Police sanitaire et mesures en cas de foyer confirmé

L'élevage de porcs est placé sous arrêté préfectoral de mise sous surveillance (APMS) dès lors qu'un animal est confirmé positif. Tous les animaux sensibles issus de l'élevage feront l'objet d'un contrôle individuel systématique à l'abattoir. Une enquête épidémiologique est mise en place s'il s'agit d'un élevage HRT avec capture des rongeurs et analyse Trichine. De plus la reconnaissance officielle de l'exploitation est retirée.

Si l'animal est un sanglier sauvage, alors la surveillance des sangliers est accrue avec information de la fédération départementale de chasse concernée et sensibilisation des chasseurs afin d'inciter au maximum à l'analyse des animaux abattus et destinés à la consommation. En vertu de l'arrêté du 13 avril 2007 relatif à des mesures de gestion des cas de trichinellose chez les porcins, le préfet peut définir une zone autour du cas détecté dans laquelle la recherche de larves de trichine est rendue obligatoire sur toute carcasse de sanglier sauvage cédée en vue d'une mise sur le marché, y compris celles remises directement par le chasseur au consommateur final.

La carcasse et le cœur dont les résultats aux analyses sont positifs pour *Trichinella* spp. font l'objet d'une saisie sanitaire.

Référence(s) réglementaire(s)

Règlement d'exécution (UE) 2015/1375 de la Commission du 10 aout 2015 fixant les règles spécifiques applicables aux contrôles officiels concernant la présence de Trichinella dans les viandes. JO L212, 7-34.

Règlement d'exécution (UE) 2020/1478 de la Commission du 14 octobre 2020 modifiant le règlement (UE) 2015/1375 en ce qui concerne le prélèvement d'échantillons, la méthode de détection de référence et les conditions d'importation relatifs à la lutte contre les Trichinella.

Règlement d'exécution (UE) 2021/519 de la Commission du 24 mars 2021 modifiant le règlement d'exécution (UE) 2015/1375 en ce qui concerne les tests de détection de Trichinella chez les solipèdes et la dérogation aux tests de détection de Trichinella chez les porcins domestiques appliquée par le Royaume-Uni.

Règlement d'exécution (UE) 2022/1418 de la Commission du 22 août 2022 modifiant le règlement d'exécution (UE) 2015/1375 en ce qui concerne la lutte contre Trichinella en liaison avec la découpe de carcasses et les méthodes d'analyse de remplacement.

Norme ISO 18743:2015, Microbiologie de la chaîne alimentaire – Recherche des larves de Trichinella dans la viande par une méthode de digestion artificielle. Première édition 2015-09-15.

Arrêté ministériel du 18 décembre 2009 modifié relatif aux règles sanitaires applicables aux produits d'origine animale et aux denrées alimentaires en contenant.

<u>Instruction technique</u> DGAL/SDSSA/2018-551, du 23 juillet 2018. Mise en œuvre par les services vétérinaires d'inspection des règles applicables aux contrôles officiels concernant la présence de Trichinella dans les viandes.

Pour citer cet article:

Vallée I., Blaizot A., Chevillot A., Estevez L-L, Goulinet M., Holleville N.. 2023. « Bilan de la surveillance de *Trichinella* spp. chez les animaux de boucherie sur la période 2020 - 2022 » *Bulletin épidémiologique, santé animale* et alimentation 99 (3): 1-6.

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est une publication conjointe de la Direction générale de l'alimentation et de l'Anses.

Directeur de publication : Benoît Vallet
Directeur associé : Maud Faipoux
Directrice de rédaction : Emilie Gay
Rédacteur en chef : Julien Cauchard
Rédacteurs adjoints : Hélène Amar, JeanPhilippe Amat, Céline Dupuy, Viviane Hénaux,
Renaud Lailler, Célia Locquet

Comité de rédaction : Anne Brisabois, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Pauline Kooh, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard Secrétaire de rédaction : Virginie Eymard

Responsable d'édition:
Fabrice Coutureau Vicaire
Assistante d'édition:
Flore Mathurin

Anses - www.anses.fr 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel: bullet in.epidemio@anses.fr

Sous dépôt légal : CC BY-NC-ND

ISSN: 1769-7166

Directeur de publication : Roger Genet Directeur associé : Bruno Ferreira Directice de rédaction : Emilie Gay Rédacteur en chef : Julien Cauchard Rédacteurs adjoints : Hélène Amar, Jean-Philippe Amat, Céline Dupuy, Viviane Hénaux, Renaud Lailler, Yves Lambert Comité de rédaction : Anne Brisabois, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Elisabeth Repérant, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard Secrétaire de rédaction : Isabelle Stubljar Responsable d'édition: Fabrice Coutureau Vicaire Assistante d'édition: Flore Mathurin

Anses - www.anses.fr 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex Courriel: bulletin.epidemio@anses.fr Conception et réalisation: Parimage Crédits photos: Anses, 123RF

Dépôt légal : Décembre 2022 / ISSN 1630-8018



