

1998 10 ans  
afssa 2008

AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

# Bulletin Épidémiologique

N° 27-28/Mars-Juin 2008 Trimestriel  
avec enquête de satisfaction

## SOMMAIRE

Page 1

Rétrospective sur l'épizootie  
d'artérite virale équine  
de l'été 2007 en France

Page 6

Investigation d'une TIAC  
en maison de retraite :  
un cocktail de *Bacillus cereus*

Page 10

Bilan de la caractérisation  
des souches isolées  
dans le cadre du plan  
de surveillance 2006 -  
Contamination par *Listeria  
monocytogenes* des préparations  
de viandes

C. Marcillaud-Pitel<sup>(1)</sup>, E. Guix<sup>(2)</sup>, L. Legrand<sup>(3)</sup>, P.-H. Pitel<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> RESPE, Institut de pathologie du Cheval, Goustranville, 14430 Dozulé

<sup>(2)</sup> Afssa site de Dozulé - Laboratoire d'études et de recherches en pathologie équine, 14430 Goustranville

<sup>(3)</sup> Laboratoire départemental Frank Duncombe, 14053 Caen cedex 4

## Rétrospective sur l'épizootie d'artérite virale équine de l'été 2007 en France

### RÉSUMÉ

Contrairement aux souches isolées en France jusqu'à présent, qui n'avaient jamais conduit à l'apparition d'une épizootie d'artérite virale équine (AVE), la souche du virus de l'artérite virale (VAE) isolée en Normandie en juin 2007 a entraîné l'apparition de plusieurs foyers. Ce sont au total trente foyers qui ont été recensés. Les troubles observés allaient d'un syndrome fébrile à des avortements et à la mortalité de poulains. Des enquêtes épidémiologiques ont été entreprises sur le terrain afin de retracer l'évolution de cet épisode et d'essayer d'en déterminer l'origine. La détection précoce des chevaux suspects (alerte clinique déclenchée par le praticien), l'isolement des animaux malades ainsi que l'envoi de prélèvements pour confirmer la présence du virus par des analyses biologiques ont permis de limiter la crise et de gérer cette forme virulente et particulièrement contagieuse de la maladie.

**Mots clés:** Artérite virale équine, Virus, Épidémiologie, Épizootie, Normandie

### INTRODUCTION

Les virus de l'artérite virale équine isolés ces dernières années en France sur des spermes d'étalons ne présentaient pas ou peu de pouvoir pathogène. D'un point de vue phylogénétique, ils se plaçaient de façon éloignée par rapport à la souche KY84, souche réputée très pathogène depuis son isolement lors de l'épisode abortif majeur survenu aux États-Unis d'Amérique en 1984. Si la situation épidémiologique était relativement bien décrite et la surveillance

sérologique structurée chez le Pur-Sang et pour la semence exportée d'autres races, la grande majorité des autres Stud-Books n'avaient pas mis en place de protocoles standardisés de suivi. D'autre part, bien que l'artérite virale équine ait vu sa situation évoluer du statut de maladie non réglementée à celui de Maladie à Déclaration Obligatoire (MDO) (arrêté ministériel du 29 juin 2006), ce changement ne s'accompagne pas de mesures de police sanitaire organisée par l'État. Le suivi et la prise de décision ont été reportés sur les organisations professionnelles. Au cours de l'été 2007, une épizootie d'artérite virale équine est survenue en Normandie. L'objectif de cet article est de rapporter les événements du point de vue du réseau d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine (RESPE).

### CHRONOLOGIE DE L'ÉPISODE 2007 (TABLEAU 1)

Mi-juin, un vétérinaire sentinelle normand du réseau d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine (RESPE) réalise des prélèvements dans le cadre du sous réseau Syndrome Respiratoire Aigu dans un effectif de chevaux de selle confronté à un épisode fébrile aigu et très contagieux. Les recherches systématiques contre la grippe et la rhinopneumonie se révèlent négatives. Après discussion avec le laboratoire, il est décidé de mettre en place une recherche complémentaire contre l'artérite virale compte tenu des symptômes rencontrés.

La première détection du virus par des analyses biologiques a été faite le 25 juin 2007 au Laboratoire départemental Frank Duncombe



**Tableau 1:** Chronologie de l'épizootie 2007

<b>Mi-juin:</b> syndrome respiratoire aigu (SRA-RESPE) contagieux négatif en grippe et en rhinopneumonie
<b>25 juin:</b> diagnostic biologique définitif sur analyses complémentaires SRA et simultanément sur organes d'étalon mort avec orchite > Information client et DV concernés
<b>26 juin:</b> information DGAI
<b>27 juin:</b> isolement du virus en culture (< 2 J) > Premier message d'alerte RESPE
<b>28 juin:</b> typage de la souche > Suppression de l'épreuve d'élevage du Pin (réunion ADEP)
<b>9 juillet:</b> 1 <sup>re</sup> réunion des comités de suivi normand et national de l'artérite virale équine > Décision d'arrêt des épreuves d'élevage pour 1 mois > Suivi par les comités courant de juillet et août avec conseils de mesures
<b>5 août:</b> dernier cas clinique (séroconversions postérieures à cette date)
<b>21 août:</b> conseil d'allègement progressif des mesures > Limitation des zones géographiques > Reprise des concours d'élevage à partir du 01/09 sous la responsabilité des organisateurs
<b>17 septembre:</b> levée des dernières mesures – Fin « officielle » de l'épisode > 30 foyers déclarés (possible sous déclaration) > 5 départements touchés : Eure (9), Manche (6), Seine-Maritime (3), Orne (8), Calvados (4) > Sans doute plus de 200 chevaux touchés

(LDFD) par la mise en évidence concomitante du génome du VAE (signaux de RT-PCR positifs) sur les prélèvements respiratoires (écouvillons pharyngés) adressés par le vétérinaire sentinelle du RESPE, et sur les organes (testicules) d'un étalon percheron autopsié au Laboratoire d'études et de recherches en pathologie équine de l'Afssa (Dozulé). Compte tenu des symptômes observés associés parfois à la mortalité et des conditions de culture du virus *in vitro* (effet cytopathogène d'apparition rapide), il est possible d'affirmer qu'il s'agit d'une souche particulièrement virulente. Du fait du caractère réglementaire de cette maladie (MDO), les autorités sanitaires des départements concernés ainsi que la DGAI ont été averties ainsi que les vétérinaires traitants. La souche virale a été isolée par culture cellulaire 48 heures plus tard et typée génétiquement après séquençage le 28 juin 2007. Cette date marque aussi la première décision d'annulation de compétition d'élevage par les organismes socioprofessionnels. L'ensemble de la situation a ensuite été géré par un comité de suivi national et local respectivement créé à l'initiative des Haras Nationaux et du conseil des chevaux de Normandie, réunissant l'ensemble des intervenants de la filière équine. Le comité national s'est réuni pour une dernière fois le 17 septembre estimant que plus d'un mois s'était écoulé après le dernier cas clinique déclaré et que la crise était donc achevée. Ce comité a décidé de rester en veille, mobilisable en cas de besoin, se rangeant sous l'égide du RESPE en cours de refonte par l'AVEF, suite à l'épisode d'artérite virale équine, afin de mieux répondre encore à d'éventuelles crises sanitaires à venir.

## SYMPTÔMES

Juments, poulains et étalons ont été touchés avec des symptômes variés déjà décrits dans la plupart des rapports internationaux mentionnant des épisodes cliniques d'artérite virale. Ainsi ont pu être observés des avortements et des naissances prématurées chez les poulinières. Chez les poulains, des cas mortels ont été observés chez des jeunes de moins d'une semaine nés prématurément et présentant œdèmes, hyperthermie et pneumonie. Ces poulains sont en général contaminés en fin de gestation *in utero* conduisant à la naissance d'animaux infectés. Les lésions anatomopathologiques

de type artérite nécrosante au niveau hépatique et pulmonaire, ainsi qu'une inflammation interstitielle des poumons et des reins ont pu être observées (D<sup>r</sup> Le Net, Laboratoire d'anatomie pathologique vétérinaire d'Amboise).

Chez les poulains plus âgés, des symptômes respiratoires modérés ont été notés ainsi que de l'hyperthermie marquée (jusqu'à 40,5 °C), des œdèmes du fourreau chez les jeunes mâles, et rétro ombilicaux chez les jeunes femelles, mais aussi des œdèmes des salières et des membres. Deux cas de mortalité ont été rapportés dans cette classe d'âge. Chez les mâles adultes, outre les œdèmes de la sphère ORL (associés ponctuellement à des conjonctivites et des jetages séreux discrets) et l'hyperthermie, des œdèmes du fourreau et des orchites ont été observés ainsi que la présence du virus dans le sperme. Pendant la phase d'hyperthermie chez les mâles, on a noté une baisse de la fertilité par diminution de la qualité du sperme. Il semble que pendant la phase clinique, et juste après, la fertilité des juments soit altérée. Des cas présentant des éruptions cutanées de type urticaire post hyperthermique ont aussi été identifiés dans certains foyers. Cependant des cas avérés d'infection quasiment asymptomatique ont également pu être répertoriés. L'excrétion asymptomatique par les étalons (et les futurs étalons) infectés au cours de cet épisode constitue un des risques majeurs de persistance de l'infection dans les mois qui suivent cette épizootie.

## GESTION DE LA CRISE

Compte tenu du statut de MDO de cette maladie, la gestion sanitaire a été reportée sur les professionnels de la filière équine. La mobilisation des uns et des autres a conduit à l'arrêt des rassemblements d'élevage de chevaux en Normandie au cours des mois de juillet et août. Des sites retenus pour certaines manifestations ont également été fermés. La restriction conseillée de déplacement d'animaux même sains vers ou à partir de foyers déclarés a globalement été bien respectée. Cette situation sanitaire a été suivie et le risque estimé chaque semaine en fonction de l'évolution des foyers par un comité de suivi national et un autre local (normand) rassemblant les principaux acteurs de la filière (représentants de races, ministère de l'agriculture, Haras Nationaux, laboratoires, AVEF, RESPE). Il est vraisemblable qu'à l'avenir la réglementation sur les contrôles sanitaires imposés lors d'insémination soit renforcée par chaque Stud-Book. Cette mesure sans conduire à une protection totale, permettrait de limiter la dissémination de l'infection par la semence d'étalons excréteurs asymptomatiques. Cet épisode relance aussi la discussion sur l'intérêt de la vaccination des étalons séronégatifs et ou des protocoles de « blanchiment » d'étalon actuellement en expérimentation.

Enfin, cet épisode « artérite virale » montre la nécessité d'une politique sanitaire concertée entre les différents acteurs de la filière équine.

## ÉPIDÉMIOLOGIE

Les enquêtes épidémiologiques, menées par le RESPE en partenariat avec les professionnels de la filière (vétérinaires, éleveurs, Haras Nationaux et laboratoires), ont permis d'identifier avec certitude 30 foyers d'artérite virale dans les 5 départements normands : Eure (9 foyers); Seine-Maritime (3 foyers); Calvados (4 foyers); Manche (6 foyers) et Orne (8 foyers). De nombreux autres foyers ont été suspectés dans plusieurs autres régions sans qu'ils ne soient confirmés. Seules des races lourdes et des chevaux de selle ont été touchés. Les premiers foyers ont été observés en élevage puis dans des structures de type mixtes « élevage/compétition » après le retour de juments suitées dans ces structures. Les contaminations ont eu lieu par voie sexuelle (vénérienne ou insémination artificielle), par voie respiratoire, mais aussi très probablement pour un cas, par voie indirecte (vecteur humain fortement suspecté). Ces différents modes de contamination ont pu coexister au sein d'une même structure.

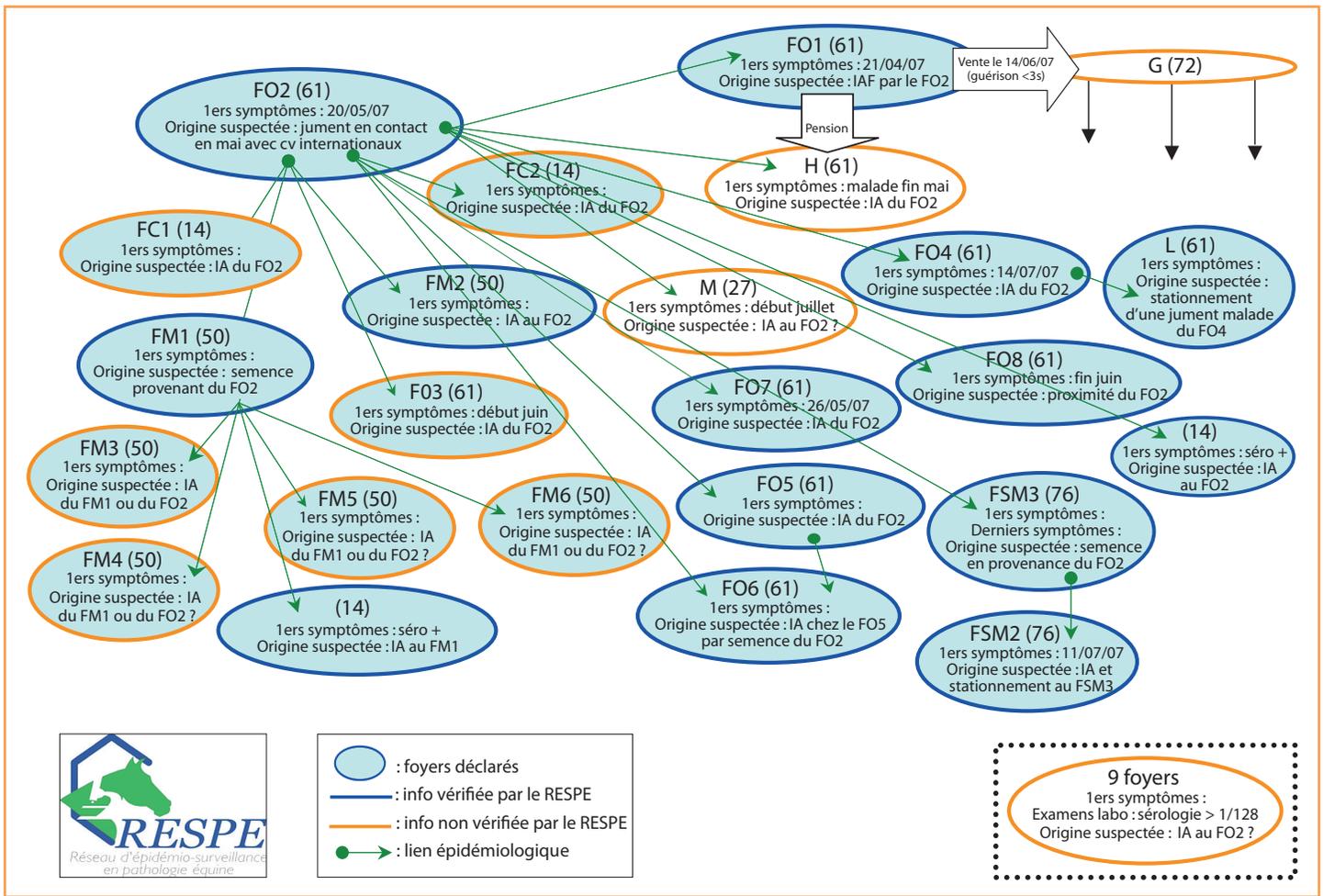


Figure 1: Logigramme épidémiologique des foyers à partir d'un foyer principal dans l'Orne.

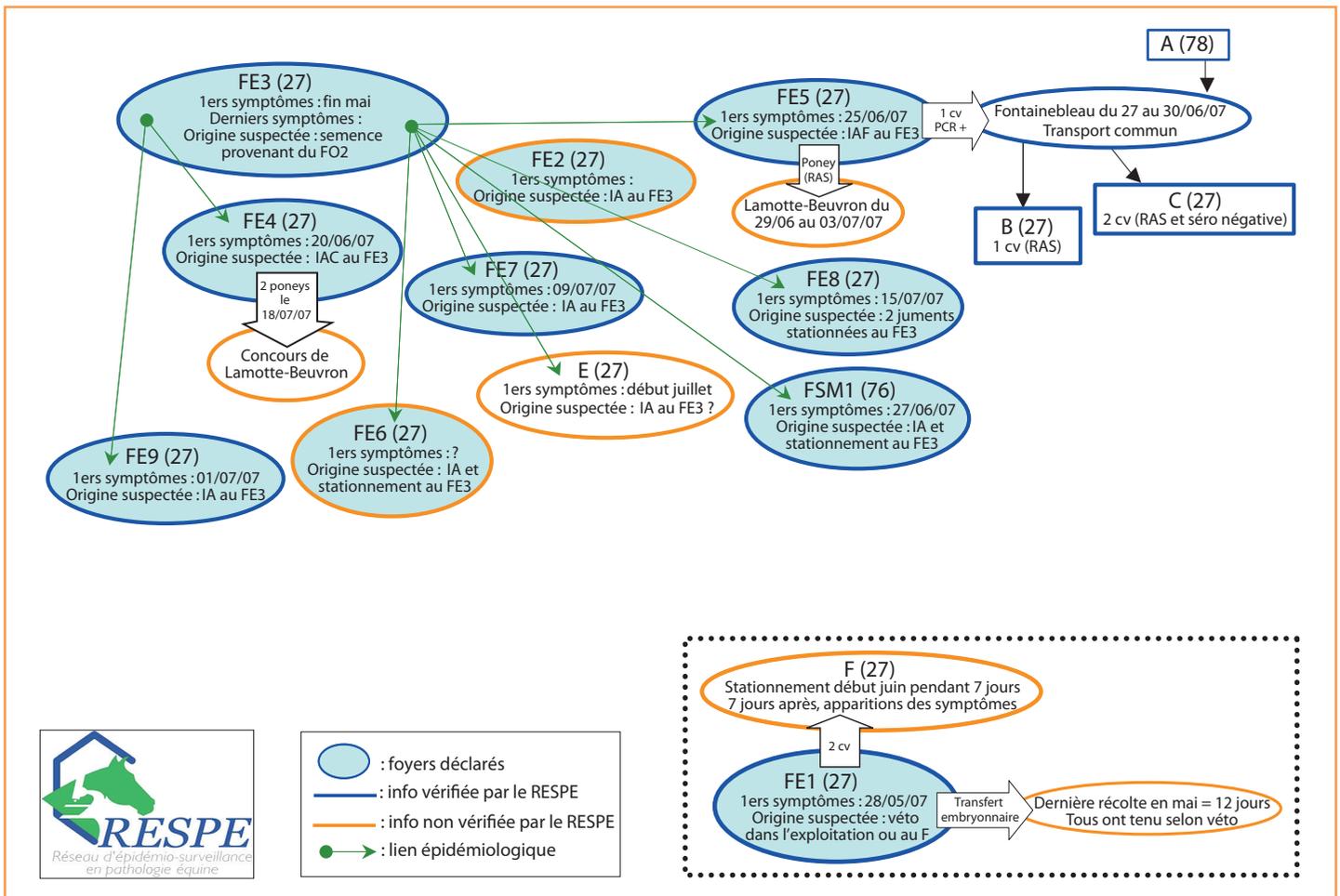


Figure 2: Logigramme épidémiologique à partir d'un foyer principal dans l'Eure.



Il existe des liens épidémiologiques identifiés entre tous les foyers (figures 1 et 2). Les logigrammes en étoile sont caractéristiques des maladies infectieuses contagieuses avec diffusion de l'agent pathogène par vecteur (ce n'est pas le cas de l'artérite virale) ou par transport d'animaux (le cas qui nous intéresse ici). Le dernier animal symptomatique identifié date du 5 août 2007 bien que des foyers aient pu être décelés par séroconversion plus tardivement. Une estimation a permis d'établir que plus de 200 chevaux ont été atteints avec au moins 5 poulains morts ou euthanasiés, un avortement confirmé et de nombreux suspectés. Il est cependant probable qu'une sous déclaration ait eu lieu tant dans les foyers répertoriés que sur l'existence de foyers.

Les enquêtes épidémiologiques et phylogénétiques n'ont pas encore permis de déterminer si l'origine des foyers est étrangère avec importation de la maladie (importation d'un animal infecté et excréteur, l'hypothèse d'importation de semence congelée contaminée ne semble pas retenue dans cette crise) ou s'il s'agit plus de l'émergence d'un nouveau variant pathogène par mutation de la souche hébergée chez un étalon excréteur asymptomatique (cas souvent décrit comme le plus probable).

## TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

Après une suspicion clinique, des examens biologiques non spécifiques peuvent être mis en œuvre comme ce fut le cas durant l'épisode 2007. Il s'agit le plus souvent d'analyses hématobiochimiques qui révèlent dans un premier temps une leucopénie avec lymphocytose qui peut ultérieurement devenir neutrophilique. Une sub-anémie hémolytique (augmentation de la bilirubine) régénérative (augmentation du VGM) modérée est fréquemment observée ainsi qu'une thrombocytopenie modérée. D'un point de vue biochimique, l'hémolyse s'accompagne d'une élévation modérée de la bilirubinémie totale (celle-ci peut aussi être associée à l'anorexie pendant le pic de fièvre). Une augmentation des marqueurs de l'inflammation (fibrinogène, SAA) a pu être notée le plus souvent. Cependant le diagnostic de certitude repose sur la mise en œuvre d'analyses biologiques spécifiques du virus de l'AVE.

On établit l'infection par le virus de l'artérite virale équine soit par la mise en évidence du virus soit par la détection des anticorps induits par ce dernier.

### Sérologie

La technique de référence reconnue par l'Office International des Epizooties est la séroneutralisation. Un cas d'infection ne peut être établi par sérologie qu'après recours à deux prises de sang espacées de 15 jours (une précoce et une tardive) afin de mettre en évidence une séroconversion : apparition ou augmentation significative (deux titres minimum, par exemple de 1/16 à 1/64) dans le sérum d'anticorps séroneutralisants dirigés contre le virus de l'AVE. Le seuil de positivité est de 1/4. Un mois environ après une infection, le taux d'anticorps des animaux atteint un plateau et ce taux restera stable pendant plusieurs mois voire plusieurs années. Il n'est donc pas possible de conclure de façon certaine à une infection par le virus de l'artérite virale équine sur la base d'une seule prise de sang ou même de deux prises de sang tardives par rapport à l'infection supposée (plus d'un mois après le début des symptômes). La technique de séroneutralisation ne permet pas de distinguer les anticorps naturels des anticorps vaccinaux. La vaccination n'est donc entreprise que chez des animaux initialement séronégatifs.

Une jument ou un poulain positif stable (titre en anticorps identique : par exemple 1/16 et 1/16, ou augmentation de moins de deux titres : par exemple passage de 1/16 à 1/32) ne présentent pas ou plus de risque de contamination par voie respiratoire pas plus que par voie vénérienne au moment du second prélèvement. Il est par contre possible que ces animaux aient présenté des symptômes et aient été contagieux dans les semaines précédant le premier prélèvement.

Les anticorps colostraux dirigés contre le virus de l'artérite virale équine peuvent être transmis via le colostrum et persister jusqu'à quelques mois chez le poulain comme toutes les immunoglobulines G sériques maternelles, ce qui rend le diagnostic sérologique difficilement utilisable chez le poulain de moins de 6 mois. Le recours à la sérologie chez le poulain nécessitera systématiquement deux prises de sang successives.

Pour les étalons, la situation est plus complexe. Un cheval mâle positif de manière stable ne présente pas de risque de contamination par voie respiratoire, par contre une recherche d'excrétion dans le sperme doit être entreprise pour connaître son statut potentiel d'excréteur asymptomatique par la semence (porteur sain).

D'autre part, ces dernières années un phénomène de cytotoxicité lors des tests de séroneutralisation est apparu, notamment lié à une survaccination contre la rhinopneumonie. Cette cytotoxicité peut gêner le recours à la sérologie. Il existe une alternative par la mise en œuvre de sérologie par méthode ELISA reconnue par certains Stud-books et certains pays étrangers et utilisée dans le cadre de transactions de droit privé ou de suivi de la monte. Très récemment, une technique de séroneutralisation alternative a été proposée. Elle permet de réduire la cytotoxicité de 7,7 % à 0,9 % des sérums examinés selon Legrand et al.

### Détection virale

Les techniques de détection virale reposent sur la mise en culture des échantillons (organes, spermes, écouvillons...) afin d'isoler la souche virale et d'observer sa vitesse de pousse, ou par des techniques de biologie moléculaire (RT-PCR). Ces dernières sont plus rapides que les techniques de culture ce qui est un avantage en cas de crise ou d'urgence sanitaire mais elles ne permettent pas d'identifier les souches ou d'observer un pouvoir pathogène *in vitro*. En cas de forme clinique, il est important de recueillir les commémoratifs du cas, car le choix des prélèvements dépendra du délai entre l'apparition des symptômes et la date de prélèvement. Pour les étalons, il est important de pouvoir récolter un éjaculat complet. La seule fraction pré spermatique risque d'entraîner des résultats faussement négatifs. L'envoi se fait dans un pot stérile (type pot à urine), sous couvert du froid (les conditions pour la culture sont les mêmes avec un délai d'acheminement réduit à 24 heures, 48 heures maximum). Pour ce qui est de la recherche sur sperme congelé, il est recommandé de soumettre à l'analyse un volume minimum de 3 paillettes (4 ou 5 sont même préférables). Compte tenu du caractère hormono-dépendant de l'excrétion virale, une analyse en période d'activité sexuelle est fortement recommandée avant de pouvoir statuer sur l'état sanitaire de l'étalon vis-à-vis de cette maladie. Ce n'est que rarement le cas pour les contrôles avant monte, cependant sur la population d'étalons excréteurs suivie au laboratoire, nous n'avons pas mis en évidence d'extinction de l'excrétion en phase de repos sexuel mais une forte baisse de la charge virale pouvant atteindre les limites de détection par les méthodes d'analyse chez certains individus. Sur les étalons excréteurs suivis par PCR dans le sperme au laboratoire depuis plusieurs saisons, quelques cas de blanchiments naturels (arrêts d'excrétion spontanés) ont été observés, soit chez des excréteurs chroniques asymptomatiques, soit après guérison d'une forme aiguë, dans des proportions précédemment décrites dans la littérature. Les autres étalons sont restés excréteurs dont certains plus de 6 ans. Des essais de blanchiment chimiques ont aussi été entrepris (molécules anti-GnRH ou « vaccins » anti-GNRH), et ont donné des résultats prometteurs tant sur leur efficacité que sur la durée.

### Typage génétique des souches

Des outils de biologie moléculaire disponibles en France ont aussi permis de rapidement typer génétiquement les souches identifiées au cours de l'épizootie de l'été 2007 et de les replacer et comparer par rapport aux souches isolées dans d'autres pays (Figure 3). Cette



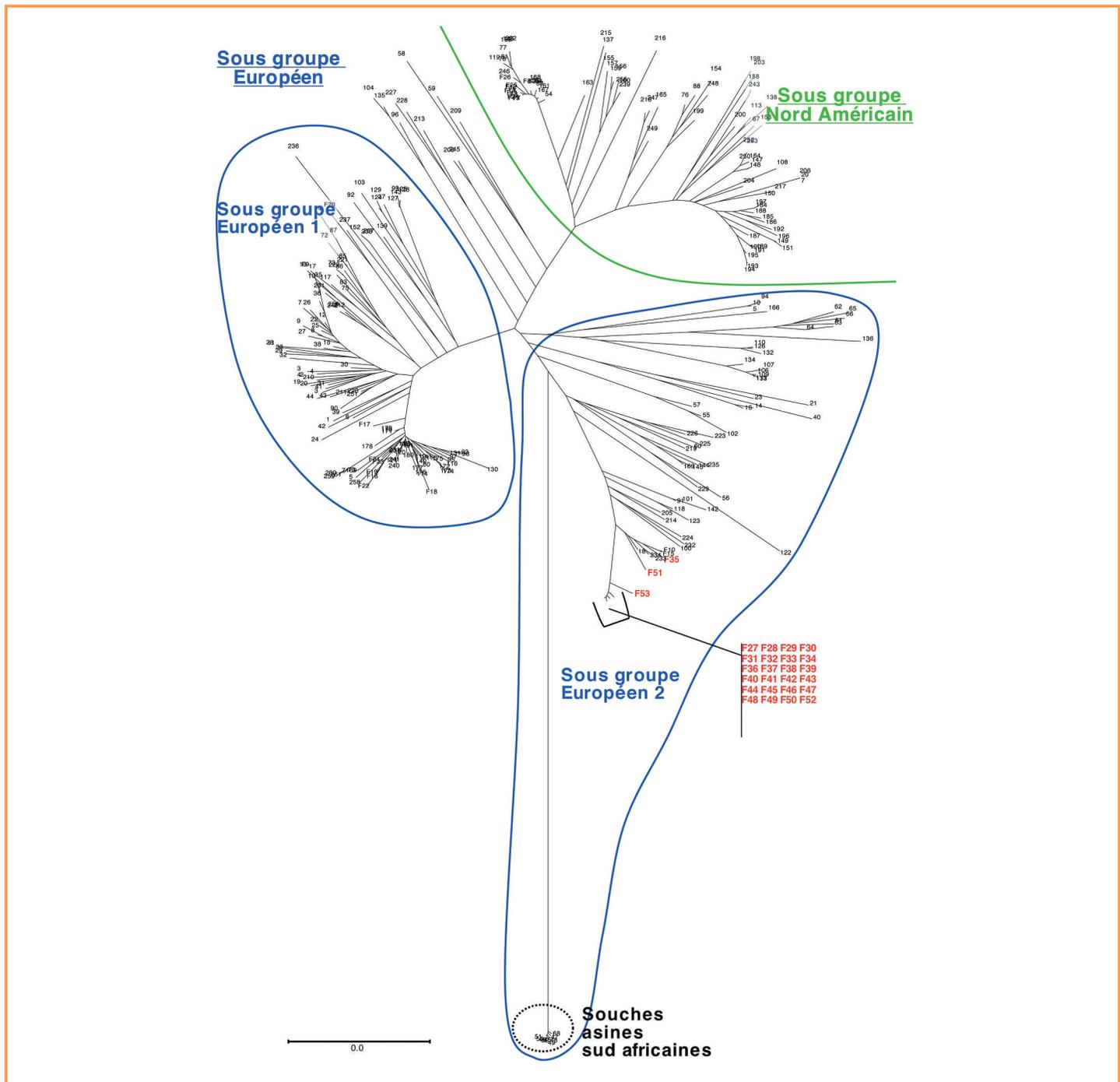


Figure 3: Analyse phylogénétique de 308 souches de virus de l'artérite virale équine. Analyse effectuée sur une séquence partielle (518 paires de base) de l'ORF5 de 47 isolats français (F5 à F53) incluant 27 souches isolées durant l'épisode français 2007 (F27 à F53).

analyse phylogénétique montre que cette souche appartient au Type Européen, sous type 2, et présente des similitudes avec des souches isolées en Allemagne en 1994 et en Pologne en 2006, ainsi qu'avec deux souches avirulentes isolées en France en 2001 et 2003 (Figure 3). Si le typage permet de comparer génétiquement des souches entre elles, ou l'évolution génétique d'une souche dans le temps, elle ne donne qu'une approche partielle de son pouvoir pathogène. Celui-ci ne peut malheureusement être appréhendé dans sa totalité que par l'analyse génomique complète de la souche, son comportement *in vitro* et surtout son agressivité *in vivo* (intensité des symptômes, pouvoir contagieux, lésions macroscopiques et histologiques induites).

### CONCLUSION

Si la circulation, l'identification du virus et le typage moléculaire des souches de l'épisode d'artérite virale survenu en Normandie au cours de l'été 2007 sont bien décrits, il reste encore à déterminer l'origine de ce virus (mutation spontanée à partir d'un excréteur

chronique ou souche d'origine étrangère). Cette crise a montré que la filière équine dans son ensemble avait les capacités à gérer un tel phénomène même si sensibilisation, circulation de l'information et qualité de la collecte d'information sont toujours perfectibles. Elle a par ailleurs témoigné de l'importance d'un maillage de vétérinaires sanitaires praticiens prompts à se mobiliser. Dans ce contexte, l'existence d'un réseau d'épidémiosurveillance structuré tel que le RESPE représente un atout. Ainsi, dès le début du mois de juillet, il a été décidé en collaboration avec les laboratoires partenaires d'inclure systématiquement la recherche de l'artérite virale dans le protocole de surveillance du syndrome respiratoire aigu. Le suivi de ce virus dans les avortements sera bientôt renforcé par la mise en place, au RESPE, d'un protocole « avortements ».

**Remerciements:** Vétérinaires sentinelles (et notamment les D<sup>rs</sup> Hamon, Defline, Glingani et Barbazange) et éleveurs qui nous ont ouvert les portes de leur structure, avec qui les contacts ont permis de suivre au mieux cet épisode, les Haras Nationaux et France Galop pour son soutien financier dans la réalisation des génotypages.



## Investigation d'une TIAC en maison de retraite : un cocktail de *Bacillus cereus*

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à *Bacillus cereus* sont plus fréquemment rapportées qu'il y a 20 ans en France. Elles représentent 5 847 cas et 290 foyers confirmés ou suspectés (soit 7 % des cas et 5 % des foyers déclarés) de 1996 à 2005 [2]. Cependant, seules deux TIAC à *B. cereus* survenues en France ont fait l'objet de descriptions détaillées, l'une atypique et difficile à confirmer [12], l'autre, responsable de 3 décès en 1998 [10]. Cet article décrit une TIAC médiatisée, survenue dans une maison de retraite pour personnes âgées atteintes de pathologies psychiatriques, en septembre 2004, dans l'Essonne [11]. L'enquête alimentaire a été délicate en raison des difficultés à obtenir des renseignements précis sur les conditions de préparation, de conservation et de consommation des repas. Les apports et limites de l'enquête épidémiologique et les questions soulevées par les résultats de l'investigation microbiologique sont également présentés.

### MÉTHODES

#### Investigations environnementales (établissement, aliments et eau)

Elles ont été réalisées par les services officiels: Direction départementale des services vétérinaires (DDSV), Direction départementale de la concurrence de la consommation et de la répression des fraudes (DDCCRF) et Direction départementale de l'action sanitaire et sociale (DDASS) [11].

#### Investigations médicales du personnel de l'établissement

Des visites médicales avec prélèvements de gorge et coprocultures ont été organisées par la DDASS.

#### Enquête épidémiologique auprès des malades

Une enquête de cohorte rétrospective a été réalisée par la DDASS à l'aide du logiciel WinTiac.

#### Investigations microbiologiques

Ont été réalisées:

- des coprocultures de malades dans différents hôpitaux: recherche de bactéries pathogènes, transmission au Centre national de référence pour les Norovirus de Dijon pour recherche de quatre types de virus;
- une analyse d'eau de la cuisine par le laboratoire d'analyses agréé par le ministère chargé de la santé (SGS);
- une analyse de plats témoins au Laboratoire national vétérinaire de Rungis: recherche de quatre flores indicatrices d'hygiène (flore aérobie mésophile, coliformes totaux, coliformes fécaux, *Escherichia coli*) et de quatre bactéries pathogènes (staphylocoques à coagulase positive, *Clostridium perfringens*, *B. cereus*, salmonelles);
- une caractérisation des isolats de *B. cereus* au Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires de l'Afssa et à l'Unité de sécurité et qualité des produits d'origine végétale de l'Inra:  
**phénotype:** aspect des colonies sur milieu de Mossel, hémolyse, mobilité, test d'hydrolyse de l'amidon, croissance à 43 °C, 10 °C et 7 °C [1]; production de 2 entérotoxines en bouillon cœur-cerveille:

Nhe (kit *Bacillus* diarrheal enterotoxin visual immunoassay, Tecra) après 6 h à 37 °C et HBL après 24 h à 37 °C (kit *B. cereus* enterotoxin reverse passive latex agglutination, Oxoid),

#### génotype:

- recherche par PCR (Polymerase Chain Reaction) des gènes de virulence *cytK-1/cytK-2* [8], *ces* (gène impliqué dans la synthèse de la toxine émétique [3]), et du marqueur de psychrotrophie présent sur le gène *cspA* [4]
- typage par la technique RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) « M13-PCR » [7].

## RÉSULTATS

#### Manifestations cliniques

40 personnes ont été malades (âge moyen: 78 ans) sur 70 exposées, soit un taux d'attaque de 57 %. 39 ont été hospitalisées dans huit hôpitaux. Les symptômes ont été principalement de diarrhées (100 %) accompagnées de vomissements (22 %), de douleurs abdominales (15 %), de fièvre (7 %) et de nausées (5 %). L'évolution a été favorable en 24 h sauf pour deux cas restés 15 jours en service de soins intensifs.

#### Enquête épidémiologique

Elle a été réalisée dans un contexte très difficile:

- les menus étaient diversifiés avec 3 types de texture, normale, mixée ou semi-liquide (pour certaines textures mixées ou semi-liquides, il est de coutume de rajouter de la purée issue de préparations industrielles en flocons). Par ailleurs, de la purée de pomme de terre était proposée à tous les repas en plus des plats habituels;
- les malades ne pouvaient fournir des indications sur leurs consommations;
- le personnel soignant a répondu avec plus ou moins de précision sur les types de repas servis aux malades.

Dans le cadre de l'enquête de cohorte de type rétrospectif, les investigations alimentaires ont porté sur les repas des services (midi et soir) précédant les manifestations cliniques: la veille de la TIAC (J1) et le jour d'apparition des premières manifestations de la TIAC (J2). L'enquête alimentaire n'a pas porté sur la consommation réelle de chaque malade et chaque « non-malade », mais sur les types de repas ou régimes effectivement présentés aux résidents.

Le taux d'attaque s'est montré plus élevé chez les personnes ayant consommé des repas à texture modifiée, mixée ou semi-liquide. Le risque relatif était plus élevé (RR: 3,25) pour le repas de J2 midi que pour les autres repas (RR: 2,00).

Parmi les aliments du repas de J2 midi apparaissant les plus à risque, seul le pâté de foie a été analysé, le steak haché mouliné avec de la purée n'a pas pu être récupéré.

L'hypothèse émise est celle d'une TIAC de type diarrhéique à *C. perfringens* ou à *B. cereus*. Un seul repas est en cause au vu de la courbe épidémique. Celui de J2 midi correspondrait à la durée d'incubation médiane de 14 h (mini 7 h, maxi 47 h), la plus compatible avec ces bactéries (Tableau 1).

Tableau 1 : Durée d'incubation selon le repas mis en cause

Repas	Durée médiane	Durée mini-maxi moins les 3 cas tardifs	Durée mini-maxi avec les 3 cas tardifs
J2 soir	8 h	1h-17h	1h-41h
J2 midi	14 h	7h-23h	7h-47h
J1 soir	32 h	25h-41h	25h-65h
J1 midi	38 h	31h-47h	31h-71h

### Investigations environnementales et microbiologiques

- L'inspection approfondie réalisée par la DDSV et la DDCCRF a mis en évidence des non-conformités des locaux, l'absence d'étiquetage sur certains produits, ainsi que la présence de torchons étalés sur tous les plans de travail pour faciliter leur nettoyage ultérieur. Par ailleurs, il a été observé une gestion inappropriée des repas témoins: quantité et représentativité insuffisantes, conservation à + 10 °C au lieu des + 3 °C prescrits.
- Les examens des quatre membres du personnel de cuisine ainsi que les coprocultures réalisées chez 14 malades n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de germes pathogènes.
- Les résultats des analyses d'eau étaient conformes.
- 17 échantillons de plats témoins issus de 3 des 4 repas précédant la TIAC ont été analysés. Le repas de J1 soir n'a pas été analysé. Les résultats ont été très satisfaisants pour les indicateurs d'hygiène sauf pour un échantillon de pâté de foie (flore aérobie mésophile: 8,3 10<sup>6</sup> ufc/g). Aucun pathogène n'a été détecté dans 11 échantillons dont le pâté de foie. La présence de *B. cereus* a été observée à des niveaux divers (10<sup>2</sup> à 10<sup>4</sup> ufc/g) dans 3 échantillons servis à J1 (petits pois-carottes, purée de légumes verts, purée)

et 3 échantillons servis à J2 (steak haché, purée, purée-haricots verts). Les échantillons trouvés les plus contaminés, petits pois-carottes et purée de légumes verts, ont été servis au repas de J1 midi (Tableau 2).

### Caractérisation des isolats de *B. cereus*

Douze isolats présentant des colonies d'aspect caractéristique sur milieu de Mossel et répondant positivement aux tests de confirmation (hémolyse et mobilité) ont été retenus comme étant des *B. cereus* et soumis à analyse complémentaire.

L'analyse des 12 isolats indique la présence de 11 souches distinctes (Tableaux 2 et 3). Les souches sont différentes d'un échantillon à l'autre. Deux souches présentent des caractères psychrotrophes caractéristiques de *B. weihenstephanensis* (espèce non pathogène proche de *B. cereus*, classée dans le groupe VI [9]) et ont donc été considérées comme non suspectes. Cinq souches (n<sup>os</sup> 2, 8, 11, 12, 15) présentent des caractères génétiques (groupes II à V) et des caractères de virulence (forte production d'entérotoxine Nhe) compatibles avec une implication dans une TIAC de type diarrhéique.

Tableau 2 : Origine et répartition des 12 isolats de *B. cereus* en type RAPD (M13-PCR) et groupes génétiques

Repas	Régime	Aliment	Nombre d'ufc/g	Isolat n°	Profil RAPD	Groupe génétique <sup>a</sup>
J1 midi	normal et mixé	petits pois-carottes	1 300	13	C	VI
				14	G	III
				15	E2c	III
J1 midi	semi-liquide	purée légumes verts	65 000	1	A	VI
				3 <sup>b</sup>	E1	III
				4 <sup>b</sup>	E1	III
				2	E2a	III
J1	?	purée	400	11	F	IV
				12	B	V
J2 midi	normal	steak haché	100	9	D	II
J2 midi	tous	purée	400	10	E2b	III
J2 soir	mixé et semi-liquide	purée haricots verts	100	8	E2d	III

a : attribué d'après les caractères des souches [9], cf. tableau 3.

b : deux isolats correspondant au même profil RAPD, donc probablement à la même souche.

Tableau 3 : Caractéristiques des isolats de *B. cereus* regroupés par profil et groupe génétique

Isolat n°	Hémolyse	Amidon	Nhe <sup>a</sup>	HBL <sup>a</sup>	gène <i>cytK-2</i> <sup>b</sup>	gène <i>ces</i>	gène <i>cspA</i>	Croissance à :			Profil RAPD	Groupe génétique <sup>c</sup>
								43°C	10°C	7°C		
13	+/-	+	3	2	-	-	+	-	ntd	+	C	VI
1	+++	+	1	2	-	-	+	-	nt	+	A	VI
9	+++	+	3	2	+	-	-	-	nt	+	D	II
12	++	+	4	64	-	-	-	-	nt	-	B	V
11	+	+	4	64	+	-	-	+	+/-	nt	F	IV
3	++	-	1	0	+	-	-	++	-	nt	E1	III
4	++	-	1	0	+	-	-	++	-	nt	E1	III
2	+	-	5	0	-	+	-	++	-	nt	E2a	III
10	+	-	3	0	-	-	-	+	-	nt	E2b	III
8	++	-	4	0	+	-	-	++	-	nt	E2d	III
15	+	-	5	0	-	-	-	++	-	nt	E2c	III
14	-	+	1	0	-	-	-	+	-	nt	G	III

a : Indice de production d'entérotoxine Nhe fort si  $\geq 4$  ; Indice de production d'entérotoxine HBL fort si  $\geq 64$ .

b : aucun des isolats ne porte le gène *cytK-1*.

c : groupe génétique VI non impliqué dans des TIAC, les autres groupes ont été impliqués dans des TIAC [9].

d : nt = non testé.

## DISCUSSION

### Les résultats des coprocultures ont été négatifs, ce qui ne permet ni de confirmer ni d'infirmar l'étiologie à *B. cereus*

Le personnel et l'eau du réseau ne se sont pas révélés sources de contaminations.

*B. cereus* est le seul pathogène retrouvé dans les échantillons des trois repas examinés. Les symptômes tendent à décrire une TIAC à *B. cereus* de type diarrhéique. Onze génotypes (profils M13-PCR) ont été mis en évidence dont cinq à potentiel diarrhéique compatible avec les symptômes. La diversité des souches peut suggérer l'implication de plusieurs d'entre elles. Les souches n°s 2 et 15 semblent particulièrement suspectes car (i) elles appartiennent au groupe III, le groupe le plus souvent associé aux TIAC, (ii) elles sont fortement productrices d'entérotoxine Nhe, caractère le plus fréquemment rencontré parmi les souches impliquées dans des TIAC [6], (iii) leur niveau de contamination pourrait être compatible avec le développement d'une TIAC. En particulier, la souche n° 2 a été isolée à un niveau supérieur à  $6 \cdot 10^4$  ufc/g dans la purée de légumes verts.

Il n'y a pas eu de contamination croisée entre les six échantillons contaminés car les souches sont différentes d'un échantillon à l'autre. De plus, cette étude met en évidence la présence de plusieurs souches dans un même échantillon. Cette diversité a déjà été soulignée chez *B. cereus*, notamment dans des aliments à base de légumes mais également dans des ingrédients alimen-

taires (protéines de lait, amidon, poivre, herbes), ce qui contribue à la multiplicité des souches retrouvées dans les produits finis [7].

L'utilisation de torchons, étalés sur les plans de travail pendant la préparation des repas, est à proscrire car ils peuvent constituer un moyen de transmission de germes ambiants. Les effets de cette pratique sur la contamination des aliments par *B. cereus* n'ont cependant pas été investigués.

L'absence d'échantillons correspondant aux différents menus proposés soulève la question de la représentativité des repas témoins conservés. Certains aliments susceptibles d'avoir été soumis à des erreurs de préparation (re-mixés) n'ont pu être analysés. Bien que les menus soient très diversifiés dans les maisons de retraite, les échantillons de plats témoins auraient dû être recueillis au moment du service pour être représentatifs de leur état au moment où ils sont consommés. En effet, une conservation prolongée à une température élevée peut sélectionner des souches particulièrement pathogènes parmi la multiplicité observée: plus la température remonte, plus les souches du groupe III seraient compétitives dans les plages de température qui leurs sont favorables (de 15 à 45 °C) [9]. En revanche, la conservation des plats témoins à une température de l'ordre de 10 °C n'a pu entraîner qu'une croissance réduite de souches psychrotrophes et aucune croissance des souches du groupe III en 48 h.

Les deux souches bactériennes les plus suspectes mettent en cause les petits pois-carottes du régime normal et mixé et la purée de légumes verts du régime semi-liquide. Ces deux aliments

proviennent du même repas, servi J1 midi. La purée de légumes est un produit qui a déjà été responsable de TIAC à *B. cereus* [10]. Les flocons de pommes de terre déshydratés servant à préparer la purée peuvent être contaminés par des spores de *B. cereus*. Le processus de fabrication de la purée en poudre ne détruit pas toutes les spores et les traitements thermiques drastiques appliqués sélectionnent les souches les plus thermorésistantes qui présentent le plus fort potentiel pathogène [9]. Les pratiques inappropriées (produits moulinsés conservés trop longtemps à température ambiante) constituent autant de facteurs qui favorisent le développement de tels germes et donc l'apparition des TIAC, en particulier dans les collectivités hébergeant des personnes à risques. Cependant, s'il s'agit en l'occurrence des aliments responsables, la durée d'incubation (minimum 31 h, maximum 47 à 71 h, médiane 38 h) est beaucoup plus longue que celle habituellement décrite qui est de 8 h minimum et rarement supérieure à 24 h [5]. Par ailleurs, la purée de légumes verts consommée par 20 personnes sur 70, ne peut constituer le seul aliment mis en cause. Les petits pois-carottes ont, quant à eux, été proposés à 50 personnes sur 70.

Le niveau de contamination des quatre autres échantillons (< 400 cfu/g) n'est pas très élevé, ce qui n'est pas en faveur de leur implication dans la TIAC. Comme déjà souligné par Talarmin *et al.* [12], seule la confrontation de données cliniques, microbiologiques et épidémiologiques permet d'incriminer un produit de manière sûre. Dans la présente investigation, l'aliment ciblé par l'enquête de cohorte n'a pu être analysé et les coprocultures n'ont pas permis d'isoler de germes suspects susceptibles d'être comparés à ceux isolés des aliments analysés.

## CONCLUSION

Les arguments sont en faveur d'une TIAC à *B. cereus* de type diarrhéique dont les aliments responsables n'ont pu être identifiés. La purée de légumes verts et les petits-pois carottes apparaissent suspects mais au vu des données de consommation et des durées d'incubation les concernant, il semble difficile de les incriminer. Cependant, ces deux plats sont révélateurs d'éventuels problèmes survenus pour d'autres préparations non analysées telles que le steak haché mouliné avec de la purée, ciblé par l'enquête de cohorte. En tout état de cause, on relève que plusieurs aliments suspects contenaient de la purée de pomme de terre. L'ajout de purée déshydratée dans un produit mouliné et conservé dans des conditions inadéquates de durée et de température constitue un facteur de risque. Cela souligne les précautions hygiéniques qui doivent être prises dans les établissements hébergeant des personnes sensibles lors de la reconstitution de produits liquides ou semi-liquides à partir de produits déshydratés.

Une partie des travaux présentés dans cet article a été effectuée dans le cadre d'un programme PNRA « *B. cereus* » 2006- 2009 cofinancé par l'ANR, dont l'un des principaux objectifs est d'améliorer la caractérisation des *B. cereus* responsables de TIAC. À cette fin, nous rappelons que vous pouvez envoyer vos souches suspectes à l'unité CEB du Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires de l'Afssa (contact : m.debuysier@afssa.fr), comme indiqué dans la lettre-ordre de service n°0719 du 24 07 06 de la DGAL.

## RÉFÉRENCES

- [1] Claus D, Berkeley RCW (1986). Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174<sup>AL</sup>. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, and Holt JG (eds). Baltimore, Md: Williams & Wilkins, pp. 1105-1139.
- [2] Delmas G, Gally A, Espié E, Haeghebaert S, Pihier N, Weill F-X, De Valk H, Vaillant V, Desenclos JC (2006). Les Toxi-Infections Alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005. BEH 51/52: 418-422.
- [3] Ehling-Schulz M, Vukov N, Schulz A, Shaheen R, et al. (2005). Identification and partial characterization of the nonribosomal peptide synthetase gene responsible for cereulide production in emetic *Bacillus cereus*. Appl. Env. Microbiol. 71:105-113.
- [4] Francis KP, Mayr R, von Stetten F, Stewart G, and Scherer S. (1998) Discrimination of psychrotrophic and mesophilic strains of the *Bacillus cereus* group by PCR targeting of major cold shock protein genes. Appl. Environ. Microbiol. 64: 3525-3529.
- [5] Granum PE, Lund T (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol. Lett. 157:223-228.
- [6] Guinebretière MH, Broussolle V, Nguyen-The C (2002). Enterotoxigenic profiles of food-poisoning and food-borne *Bacillus cereus* strains. J Clin Microbiol 40:3053-3056.
- [7] Guinebretière MH, Nguyen-The C (2003). Sources of *Bacillus cereus* contamination in a pasteurized zucchini puree processing line, differentiated by two PCR-based methods. FEMS Microbiol. Ecol. 43: 207-21.
- [8] Guinebretière MH, Fagerlund A, Granum PE, Nguyen-The C (2006). Rapid discrimination of *cytK-1* and *cytK-2* genes in *Bacillus cereus* strains by a novel duplex PCR system. FEMS Microbiol. Lett. 259:74-80.
- [9] Guinebretière MH, Fabiano LT, Sorokin A, Normand P et al. (2007). Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. Env. Microbiol. 10: 851-865.
- [10] Lund T, De Buysier ML, Granum PE (2000). A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. Mol. Microbiol. 38:254-261.
- [11] Rapport de synthèse de la DDASS de l'Essonne (2004). Investigation de la TIAC survenue le 30.09.2004 dans une maison de retraite.
- [12] Talarmin A, Nicand E, Doucet M, Fermandian C, Baylac P, Buisson Y (1993). Toxi-infection alimentaire collective à *Bacillus cereus*. B.E.H. 33 : 154-155.

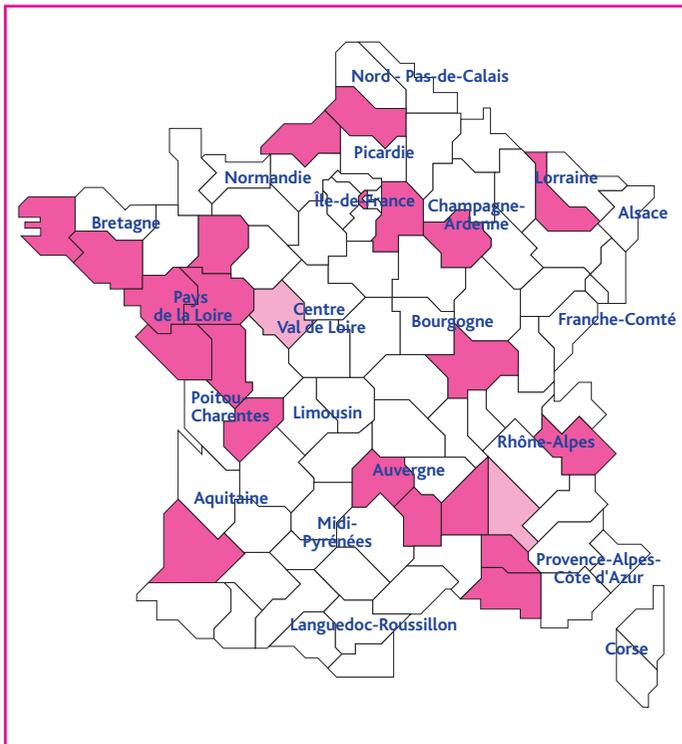
# Bilan de la caractérisation des souches isolées dans le cadre du plan de surveillance 2006 - Contamination par *Listeria monocytogenes* des préparations de viandes

## CONTEXTE

L'objectif de ce travail était de réaliser la caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Listeria monocytogenes* isolées dans le cadre d'un plan de surveillance piloté par la DGAL en 2006. Ce plan de surveillance avait été mis en place pour estimer la prévalence et le niveau des contaminations par *L. monocytogenes* de certaines préparations de viande et produits assimilés, au stade de la fabrication des produits, dans les établissements agréés. Les prélèvements de préparations de viande ont été réalisés au niveau national, dans 24 départements tirés au sort, comportant des établissements agréés pour la fabrication de ces produits. Les produits à prélever étaient des préparations de viande de type saucisse (chipolatas, merguez, saucisses de volailles...) ou de type chair à saucisses.

## MÉTHODES

Les souches de *L. monocytogenes*: Les laboratoires d'analyses alimentaires de 22 départements (Figure 1) ont fait parvenir au total 156 isolats de *L. monocytogenes*. Les souches ont été caractérisées d'une part par sérotypage et d'autre part, par électrophorèse en champ pulsé ou PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis). L'ensemble des analyses a été réalisé sous assurance qualité.



**Figure 1 :** Départements participant (en rose) au plan de surveillance 2006 (ceux présentés en rose foncé ont transmis des souches de *L. monocytogenes* au Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires de l'Afssa).

Le sérotypage a été réalisé soit de manière classique, par agglutination, selon une méthode interne accréditée COFRAC avec des sérums fabriqués au Japon (Deiken) commercialisés par la société Eurobio (Les Ulis, France), soit par sérotypage moléculaire en

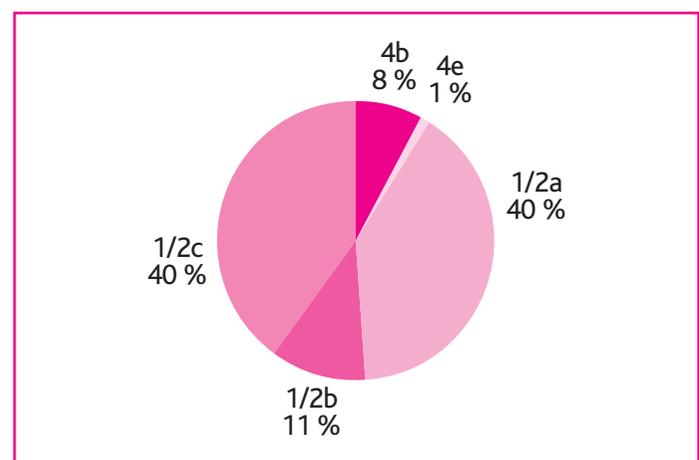
utilisant une méthode de PCR multiplex adaptée de celle publiée en 2004 par Doumith et collaborateurs [1]. Par souci de simplification, les résultats sont exprimés avec les noms de sérovars tels qu'ils sont décrits classiquement.

Le PFGE consiste à extraire de l'ADN total et à le digérer par l'enzyme *Apal* d'une part et par l'enzyme *Ascl* d'autre part, suivant un protocole standardisé et développé spécifiquement pour ce pathogène (Graves and Swaminathan, 2005 (2); protocole accessible sur le site du CDC: [http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/pulsenet\\_listeria\\_protocol%20.pdf](http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/pulsenet_listeria_protocol%20.pdf)).

Après migration électrophorétique de l'ADN restreint, les fragments d'ADN sont révélés au bromure d'éthidium. L'analyse des profils génomiques est réalisée à l'aide du logiciel BioNumerics et la comparaison des profils se fait par la construction d'un dendrogramme obtenu après comparaison des coefficients de Dice, de chaque profil différent, avec la méthode UPGMA. À chaque profil différent est attribué un numéro selon une nomenclature propre au laboratoire.

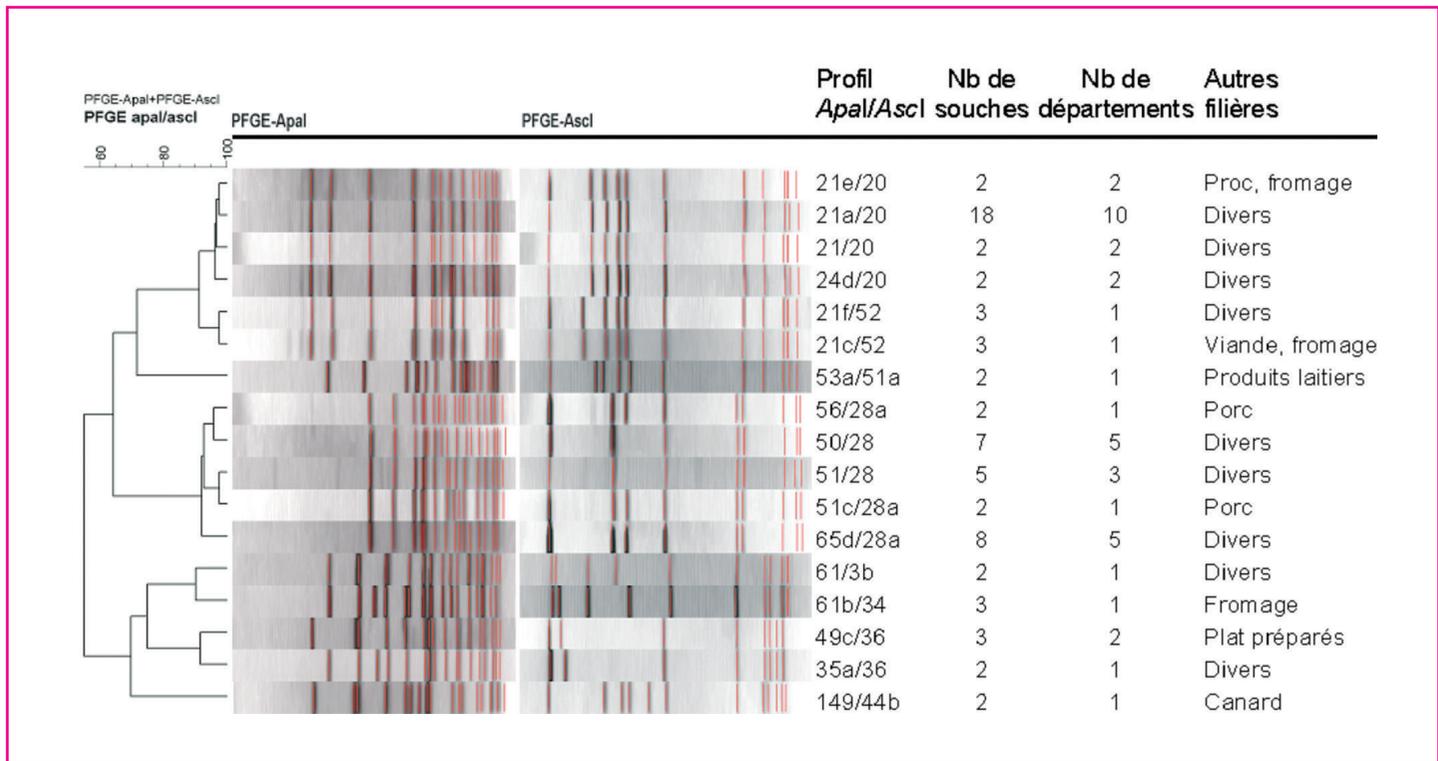
## RÉSULTATS

Les 156 souches de *L. monocytogenes* se sont réparties en 5 sérogroupes (Figure 2). Les deux sérovars majoritaires étaient le sérovar 1/2c (63 souches) et le sérovar 1/2a (62 souches). Par ailleurs, 17 souches 1/2b, 13 souches 4b et une souche 4e ont été identifiées. Le sérovar 1/2c a été plus fréquemment observé (40 %) par rapport aux souches habituellement analysées au laboratoire. En effet, parmi les 3000 souches de toutes origines alimentaires et environnementales caractérisées depuis 2001 au laboratoire, nous avons enregistré environ 65 % de souches de sérovar 1/2a et 10 % de souches de sérovar 1/2c.



**Figure 2 :** Répartition des 156 souches de *L. monocytogenes* par sérovar.

Lorsque plusieurs souches d'un même échantillon ont été reçues, un dédoublement a été réalisé de façon à n'étudier qu'une seule souche par PFGE quand toutes les souches d'un même échantillon présentaient le même sérovar. Au préalable, il avait été vérifié que toutes les souches provenant d'un même échantillon et de même sérovar présentaient systématiquement un seul et même profil PFGE avec les deux enzymes *Apal* et *Ascl*. Dans le cas où deux



**Figure 3 :** Profils PFGE combinés Apal/Ascl les plus fréquemment identifiés suite à l'étude des souches isolées dans le cadre du plan de surveillance; tous ces profils étaient déjà présents dans la base de données initiale des profils PFGE de l'Afssa - Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires.

sérovars différents étaient observés dans un même échantillon, une souche représentative de chaque sérovar a été étudiée par PFGE. Par ailleurs, certains laboratoires nous ont fait parvenir des souches suite au dénombrement réalisé sur un échantillon et suite à la recherche de *L. monocytogenes* sur ce même échantillon. Dans ce cas les souches issues de l'isolement et du dénombrement ont été étudiées par PFGE. Au total, 135 souches ont été caractérisées par PFGE.

Les souches étudiées par PFGE se sont réparties en 52 profils Apal et 44 profils Ascl. La combinaison des résultats obtenus avec les deux enzymes de restrictions permet de différencier les 135 souches en 65 profils distincts, dont 38 ne sont observés qu'une seule fois (58,5 %). Parmi les 27 profils observés pour au moins 2 souches, 13 d'entre eux étaient communs à des souches isolées de différents départements. Le profil le plus fréquent: 21a/20, relié à des souches de sérovar 1/2c, généralement moins polymorphes, a été mis en évidence pour 18 souches isolées de prélèvements réalisés dans 10 départements différents (figure 3). La comparaison des souches isolées lors du dénombrement avec celles isolées lors de la recherche de *L. monocytogenes* dans un même prélèvement, a montré la présence des mêmes profils PFGE dans 4 cas sur 5. Il est à noter également que les profils les plus fréquemment observés sont associés à des souches isolées dans des produits variés (saucisses, merguez, farces, chipolatas...).

La base de données de profils PFGE du laboratoire est représentée par plus de 2700 souches, correspondant à plus de 350 profils-types en Apal et 300 profils-types en Ascl. La comparaison des profils du plan de surveillance avec l'ensemble des profils de cette base du laboratoire a montré l'existence de nombreux profils déjà mis en évidence lors de précédentes études ou lors du typage de surveillance réalisés au Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires. Les profils déjà identifiés correspondaient à des souches d'origine variable: souches isolées de plats préparés, ou isolées de différentes filières (lait et fromage, saumon fumé, porc). À l'inverse, d'autres profils ont été nouvellement identifiés à la suite de ce plan de surveillance.

## CONCLUSION

Les 156 souches de *L. monocytogenes* isolées à partir de préparations de viande dans le cadre de ce plan de surveillance ont présenté une diversité génétique importante. Elles se sont réparties en 5 sérovars correspondant à ceux généralement associés aux souches alimentaires. La proportion de souches de sérovar 1/2c a été cependant plus importante que pour l'ensemble des souches déjà reçues dans l'unité CEB du LERQAP (40 % dans cette étude contre 10 %). Les souches de sérovar 1/2a sont à l'inverse, moins nombreuses qu'habituellement (40 % contre 65 %). La caractérisation PFGE a porté sur 135 souches. Elle a permis de différencier les souches en 65 profils combinés Apal/Ascl. Quelques rares profils se sont montrés plus particulièrement spécifiques de souches isolées dans un département alors que d'autres étaient mis en évidence pour des souches isolées dans différents départements. Les profils les plus représentés ont été observés pour des souches d'origines diverses et aucun profil n'a pu être spécifiquement associé à un type précis de préparation de viande.

## RÉFÉRENCES

- [1] Doumith, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C., Martin, P. (2004) Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, 42(8): p. 3819-22.
- [2] Graves, L.M. and B. Swaminathan. 2005. PulseNet's Step-by-Step laboratory protocol for Molecular Subtyping of listeria monocytogenes by macrorestriction and Pulsed-field Electrophoresis. *Methods in Biotechnology*. Vol 21: Food-Borne Pathogens: Methods and Protocols. pp 57-70. Ed: C.C. Adley, Humana Press Inc, Totowa, NJ.



# Bulletin épidémiologique au 15 mars 2008

## Situation des principales maladies réglementées

Maladies	Nombre de foyers <sup>(1)</sup>			Foyers déclarés en 2008		Date du dernier foyer
	2005	2006	2007	Nombre	Départements touchés	
Fièvre aphteuse	0	0	0	0	-	23/03/01
Fièvre catarrhale	6	6	14 802	3 672	01-02-03-08-10-14-15-16-17-18-19-21-23-24-25-26-27-28-35-36-37-38-39-40-41-42-43-44-45-46-49-50-51-52-53-54-55-57-58-59-60-61-62-63-64-67-68-70-71-72-76-77-78-79-80-85-86-87-88-89-90-91-95	Présent
Encéphalopathie spongiforme bovine	31	8	9	2	23, 56	Présent
Tremblante	56 <sup>(2)</sup>	342 <sup>(2)</sup>	218 <sup>(2)</sup>	10	4, 12, 23, 36, 43, 46, 56, 86	Présent
Fièvre charbonneuse	2	3	5	0	-	octobre 07
Tuberculose bovine	88	102	63 <sup>(2)</sup>	13 <sup>(2)</sup>	2B, 21, 24, 34, 85	Présent
Brucellose bovine	0	0	0	0	-	2003
Brucellose ovine	0	0	0	0	-	2003
Brucellose caprine	0	0	0	0	-	2003
Brucellose porcine	7	2	0	1	50	janvier 08
Maladie d'Aujeszky	0	0	0	0	-	mars 04
Peste porcine classique (suidés domestiques)	0	0	0	0	-	29/04/02
Peste porcine classique (suidés sauvages) <sup>(3)</sup>	28	6	2	0	-	mai 08
Anémie infectieuse des équidés	4	0	10	0	-	03/12/07
Méningoencéphalomyélites virales	0	5 <sup>(4)</sup>	0	0	-	02/10/06
Rage	3 <sup>(5)</sup>	3 <sup>(5)</sup>	1 <sup>(6)</sup>	1 <sup>(8)</sup>	77	26/02/08
Maladie de Newcastle	3	1	0	0	-	29/09/06
Influenza aviaire hautement pathogène (oiseaux captifs - volailles)	0	18	0	0	-	23/02/06
Influenza aviaire hautement pathogène (oiseaux sauvages)	0	658	3 <sup>(7)</sup>	0	-	09/08/07
Septicémie hémorragique virale	5	0	3	1	62	28/02/08
Nécrose hématoïétique infectieuse	2	2	1	2	25, 74	21/02/08

(1) Cumul des cheptels infectés le 1<sup>er</sup> janvier et de ceux infectés au cours de l'année.

(2) Nombre de nouveaux foyers (foyers réurgents compris).

(3) Foyer chez les sangliers sauvages dans les Vosges du Nord (départements 57 et 67).

(4) Nombre de cas cliniques.

(5) Cas sur chauve-souris autochtones.

(6) Atteinte d'un chat par un EBL 1.

(7) Virus A de l'influenza aviaire hautement pathogène de sous-type H5N1.

(8) Cas suite à une importation illégale d'un chien.

### Enquête de satisfaction

Le *Bulletin épidémiologique* Afssa-Dgal a maintenant 7 ans d'existence. Il est actuellement diffusé à 9 000 exemplaires. Afin de recueillir l'avis de ses lecteurs, un questionnaire d'enquête de satisfaction a été inséré dans ce numéro. L'analyse de cette enquête de satisfaction sera un élément important dans la réflexion que nous avons entamée pour que le BE réponde au mieux à la mission d'information qui lui est dévolue. L'analyse des résultats sera publiée dans un prochain numéro.

Le Comité de rédaction

**Directeur de publication:** Pascale Briand  
**Directeur associé:** Jean-Marc Bournigal  
**Comité de rédaction:** Anne Brisabois, Anne Bronner, Didier Calavas, Yves Douzal, Sébastien La Vieille, François Moutou, Nathalie Pihier, Carole Thomann  
**Ont participé à ce numéro:** Marc Savey, Stephan Ziantara  
 Afssa - www.afssa.fr  
 27-31, avenue du Général Leclerc, 94701 Maisons-Alfort Cedex  
 Email: bulletin@afssa.fr  
 Conception et réalisation: Parimage

**Impression:** BIALEC - D.L. n° 69741  
 65, boulevard d'Austrasie, 54000 Nancy  
**Tirage:** 9 000 exemplaires  
**Dépôt légal à parution**  
 ISSN 1630-8018  
**Abonnement:** La documentation française  
 124, rue Henri-Barbusse, 93308 Aubervilliers Cedex - Fax: 01 40 15 68 00  
 www.ladocumentationfrancaise.fr  
 Prix abonnement France: 26,20 € TTC par an