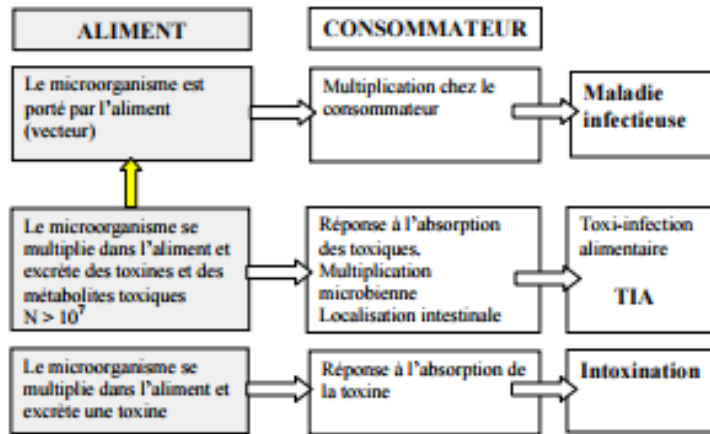


### III. LES MALADIES MICROBIENNES TRANSMISES PAR LES ALIMENTS

Les aliments peuvent être les vecteurs ou de véritables milieux de culture de microorganismes. Ils sont alors potentiellement capables de provoquer diverses affections chez le consommateur dont la gravité dépend d'abord de la nature et du nombre de microorganismes et/ou de la toxicité de leurs produits d'excrétion.

Chaque système aliment / microorganisme / consommateur est particulier. Néanmoins il est possible de schématiser les principales interactions susceptibles de se produire de la façon suivante :



Chaque système microorganisme - aliment - consommateur permet donc de définir la qualité hygiénique et une normalisation évidente en résulte. Plus le risque est grand et plus le niveau de tolérance dans l'aliment sera faible. Le pouvoir pathogène des bactéries peut dépendre de plusieurs facteurs.

Il existe des espèces à pouvoir infectieux qui agissent par envahissement de l'hôte (infection) ; des espèces à pouvoir toxigène qui libèrent des toxines dans l'aliment (intoxication); des espèces à caractère mixte qui peuvent provoquer des toxi-infections; enfin d'autres espèces qui agissent par la transformation du substrat qu'elles rendent toxique, produisant ainsi des intoxications. Les intoxications alimentaires les plus répandues sont les suivantes

Les intoxications alimentaires ; Les termes empoisonnement alimentaire ou intoxication s'appliquent aux gastro-entérites aiguës provoquées par l'ingestion d'aliments contaminés par certains pathogènes et/ou par des toxines].

Les toxi-infections sont produites par de très nombreux germes et correspondent à l'ingestion d'un produit alimentaire dans lequel la prolifération des microorganismes atteint  $10^6$  à  $10^7$  par gramme. résultent de l'ingestion des microorganismes appartenant aux genres Salmonella,

Shigella, Listeria, Brucella, Mycobacterium, Escherichia, Campylobacter, Clostridium, Yersinia, Vibrio et de l'ingestion de virus.

Ces microorganismes se comportent vis-à-vis de l'organisme comme des parasites et se multiplient en utilisant des composants de l'organisme comme nutriments. Ils sont invasifs, souvent toxigènes, et provoquent alors des lésions au niveau du tractus digestif mais aussi au niveau d'autres tissus (septicémie).

Il existe des microorganismes qui libèrent leur toxine dans l'organisme hôte tels que Clostridium perfringens avec les toxines A, B, C, D ou E produites au stade 3 de la sporulation, Shigella, Escherichia coli entérotoxigènes avec 2 types de toxines (thermostable et thermolabile), Vibrio parahaemolyticus, endotoxine de Salmonella, Shigella, etc. Ces toxines ont généralement un tropisme entérique ou sont eurotoxiques.

Les intoxications résultent de l'ingestion d'une toxine préformée dans l'aliment. Il s'agit essentiellement des intoxications botuliniques, staphylococciques et à Bacillus cereus. Les microorganismes synthétisent ces toxines de nature protéique au cours de la phase exponentielle de croissance (C. botulinum) ou en fin de cette phase (S. aureus).

Dans le cas de l'intoxication botulinique, le risque pour la santé du consommateur étant extrêmement grand, aucune norme ne peut permettre de contrôler l'inocuité du produit. Dans ce cas, il faut donc adopter des conditions de fabrication - conservation qui garantissent de façon absolue la qualité sanitaire du produit.

<b><u>Dangers d'origine microbienne</u></b>	<b>Risques</b>	<b>Moyens de maîtriser le risque</b>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<b>Majeur</b> <b>Epidémiologie d'usine</b>	Méthodes de détection normalisées Analyses rapides Identification Traçabilité Mise en évidence de la virulence Caractérisation des <i>Listeria</i> VNC (Viables Non Cultivables) - <b>Revivification</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	TIA (C) fréquente Germe ubiquitaire Entérotoxines	Détection classique (Baird Parker) – staphylslide etc Détection des toxines Détection des souches toxigènes (gène A à H). Prédiction de la toxinogénèse Traçabilité des souches (génomique) Antibiorésistance
<i>Salmonella typhi</i> <i>paratyphi A, B, C</i> <i>typhimurium</i> <i>enteritidis</i>	<b>Majeur</b>	Détection classique Identification (sérotypage) et traçabilité Recherche des <i>Salmonella</i> VNC
<i>Escherichia coli</i> <u>O<sub>157</sub> et souches vérotoxigènes</u> <u>Souches entérotoxigènes et/ou entérotoxigènes</u>	<b>Majeur</b>	Détection et caractérisation des O <sub>157</sub> H <sub>7</sub> et des VTEC Sérotypage
<i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	TIAC majeure des USA et des pays anglo-saxons	Volaille incriminée dans la plupart des cas
<i>Clostridium botulinum</i>	<b>Risque extrêmement grave</b>	Maîtrise du risque par la valeur stérilisatrice, le pH, la température, l'activité de l'eau, les nitrites
<i>Clostridium perfringens</i>	<b>TIAC</b> <b>Plats cuisinés</b> <b>Viande cuite</b>	Détection classique des souches toxigènes
<i>Yersinia enterocolytica</i>	L'animal porteur est le porc	
<b><u>Virus</u></b>	Risque avéré avec les coquillages / crustacés et poissons HAV (Hépatite A), Rotavirus, Adénovirus « Enterovirus » « Grippe aviaire H5N1 » ??	Méthodes de cultures cellulaires (caco 2 ? FR4K4) Méthodes PCR et hybridation Contrôle des rejets et effluents

### ➤ Modes de contamination microbienne des aliments

Ils dépendent de nombreux facteurs :

- les aliments d'origine végétale non conservés n'interviennent généralement que comme des vecteurs de microorganismes, ceux-ci restant à leur surface
- les aliments d'origine animale peuvent être contaminés de deux principales façons :
  - l'animal qui les a fournis était sain mais le produit a été contaminé secondairement (manipulations, entreposage, préparation ...) par contact avec un homme ou un animal malade ou porteur de germes ou encore par des microorganismes provenant du milieu extérieur (terre, air, poussière, table de travail).

- l'animal qui les a fourni était déjà atteint d'une maladie microbienne apparente ou inapparente, les microorganismes étant alors transmis au consommateur par la viande ou le lait.

Les aliments d'origine animale constituent de véritables milieux de culture pour certains germes naturellement ou accidentellement pathogènes.

### III. Principales maladies bactériennes transmises

Les connaissances actuelles sur chacune des maladies d'origine alimentaire sont très nombreuses; dans ce qui suit, nous nous limiterons à décrire et à donner quelques précisions sur les maladies les plus fréquentes en France. Les médias, quand ils se préoccupent de cette thématique déforment souvent la réalité par du sensationnel.

De très nombreux ouvrages, articles et revues sont aujourd'hui consacrés à ces microorganismes pathogènes présents dans nos aliments. Pour montrer les tendances, lors du colloque organisé par la Société Française de Microbiologie à l'Institut Pasteur en avril 1993, sur 37 communications, 13 concernaient les méthodes d'analyse rapide et la microbiologie moléculaire, 9 concernaient *Listeria*, 6 *Salmonella*, etc.

#### III - 1. Toxi-infections à *Salmonella*

Ces entérobactéries lactose -, H<sub>2</sub>S + sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes sont actuellement décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme. Quatre de ces sérotypes, correspondant aux espèces *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *B* et *C* sont à l'origine de maladies infectieuses appelées fièvres typhoïde ou paratyphoïdes. La fréquence de ces maladies a beaucoup diminué et leur traitement par antibiothérapie est bien au point (tifomycine ou chloramphénicol). De plus, il existe un vaccin (TAB-typhim) conférant une bonne protection. Si la fièvre typhoïde est peu courante en France, par contre les toxi-infections à *Salmonella* sont très fréquentes et ces germes sont les plus souvent impliqués dans les TIA.

Toutes les variétés d'aliments sont susceptibles d'être contaminées par ces microorganismes. Si les conditions de température, d'activité de l'eau, de pH le permettent, les *Salmonella* se multiplient. Les aliments les plus souvent mis en cause dans les salmonelloses sont les volailles (40 %), les viandes et plus particulièrement les viandes hachées (10 %), le lait et les produits laitiers (15 %), les œufs (5 % avec un risque élevé pour ceux de cane ou de caille), les crèmes glacées et pâtisseries (5 %), les coquillages etc.

La consommation de l'aliment dans lequel le nombre de *Salmonella* aura atteint au moins 10<sup>6</sup> germes par gramme entraînera une toxi-infection dont les signes cliniques variables en fonction de l'espèce et de l'âge et de l'état physiologique du consommateur apparaîtront entre 5 et 72 h

après l'absorption. Ils sont caractérisés par une diarrhée, des douleurs abdominales, des frissons, de la fièvre, des vomissements, un état de prostration, une anorexie, une céphalée, des malaises. Une entérite ou une infection localisée surviennent parfois. Ces signes cliniques persistent généralement quelques jours, les enfants et les personnes âgées sont particulièrement sensibles à cette toxi-infection. Une entérotoxine sécrétée au niveau intestinal par *Salmonella enteritidis* a été mise en évidence, cette entérotoxine provoquant des perturbations dans le métabolisme hydrominéral. Le diagnostic est réalisé par l'analyse microbiologique des matières fécales du malade, malade qui risque de devenir un porteur sain. La proportion de ces derniers varie de quelques pourcents dans une population saine à plus de 20 % chez des individus vivant en groupe dans de mauvaises conditions hygiéniques ou par exemple chez les ouvriers d'une usine de produits carnés. L'un des problèmes actuels de la bactériologie alimentaire concerne l'augmentation du niveau de contamination de nombreuses matières premières. Rappelons que ces bactéries sont facilement détruites par pasteurisation.

### III.1.1. Définition et habitat

Les *Salmonella* sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase. Les *Salmonella* sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n° 1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives. Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S.typhi* surtout), des aliments (ex. produits laitiers, œufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs (tortues).

### III.1.2. Classification

Les travaux récents de taxonomie, en particulier par hybridation de l'ADN, ont permis de conclure que le genre *Salmonella* ne comportait qu'une seule espèce, *Salmonella enterica*. Cette espèce comprend 7 sous-espèces différenciées par leurs biotypes. Les sous-espèces sont subdivisées en près de 2 000 sérovars sur la base de leurs antigènes O, H et de capsule. Les sérovars étaient auparavant considérés comme des espèces distinctes.

### III.1.3. Pouvoir pathogène naturel

#### A. Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes

##### a. Etiologie

Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire :

*S.Typhi*, *S.Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*. Ces salmonella sont dites majeures en raison de la gravité de la pathologie qu'elles provoquent.

## **Très souvent la fièvre typhoïde est considérée comme la maladie des mains sales !!**

En raison de la faible dose infectante de ces Salmonella, la norme concernant ces germes est de 0, ce qui justifiera une recherche en tout ou rien, souvent après une phase de revivification (pré-enrichissement) suivie d'une phase d'enrichissement sélectif. Il se pose néanmoins le problème de définir la quantité de produit à soumettre à l'analyse pour respecter cette norme

### **b. Physio-pathologie**

Les Salmonella sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (coquillages). La dose infectante serait de l'ordre de  $10^5$  bactéries. Elles traversent sans la léser la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites où elles vont se multiplier.

Une partie des Salmonella se lysent et libèrent leur endotoxine. Celle-ci provoque des signes cliniques (fièvre, tymphos, bradycardie) et biologiques (leucopénie) et une irritation des plaques de PEYER qui peut entraîner des hémorragies intestinales et des perforations. A partir des ganglions mésentériques, par le canal thoracique, des Salmonella gagnent le courant sanguin (hémoculture positive), et disséminent dans tous les organes (reins, foie, vésicule biliaire) et sont excrétées en faible nombre et de manière intermittente dans les selles (coproculture positive). Finalement, l'organisme infecté produit des anticorps contre les antigènes bactériens (sérodiagnostic positif), qui contribuent à la guérison spontanée de la maladie. Sans traitement, la mortalité est d'environ 20 %.

### **c. Diagnostic biologique**

Il repose sur la mise en évidence de la Salmonella responsable (diagnostic direct) par hémoculture et/ou par coproculture, et/ou sur la mise en évidence d'anticorps spécifiques par le sérodiagnostic (diagnostic indirect).

#### ➤ Mise en évidence de la Salmonella

- L'hémoculture est le moyen essentiel de faire le diagnostic d'une fièvre typhoïde. Comme il y a peu de Salmonella dans le courant sanguin, les hémocultures doivent être répétées. En l'absence de traitement antibiotique elles sont positives :

- dans 90 % des cas durant la première semaine de la maladie
- dans 75 % des cas durant la deuxième semaine de la maladie
- dans 40 % des cas durant la troisième semaine de la maladie
- dans 10 % des cas durant la quatrième semaine de la maladie.

La bactérie isolée sera identifiée comme Salmonella par ses caractères biochimiques. L'espèce en cause sera ensuite précisée par ses caractères antigéniques. Malgré la rareté de la résistance

acquise aux antibiotiques chez ces espèces un antibiogramme viendra compléter l'examen (sensibilité au chloramphénicol, à l'ampicilline, au cotrimoxazole, etc...).

- La coproculture se fait sur milieu sélectif, avant et après pré-culture sur milieux d'enrichissement. Etant donné le faible nombre de Salmonella excrétées dans les selles, cet examen doit être répété mais cependant reste souvent négatif. La coproculture n'est donc pas un le meilleur moyen de faire le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde. En revanche, à la fin du traitement, elle est un bon moyen de s'assurer que le malade n'est pas devenu porteur chronique de Salmonella et donc qu'il ne constitue pas une source de contamination pour son entourage

#### ➤ **Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde**

Le sérodiagnostic de WIDAL et FELIX permet de détecter la présence dans le sang d'anticorps dirigés contre les constituants des Salmonella :

- Les anticorps anti-O apparaissent vers le 7-8<sup>e</sup> jour, atteignent leur maximum vers le 14<sup>e</sup> jour, restent ensuite en plateau jusqu'à la 4<sup>e</sup> semaine puis disparaissent rapidement. Ils n'atteignent jamais un taux plus élevé que 1/200<sup>e</sup> à 1/400<sup>e</sup>.
- Les anticorps anti-H apparaissent vers le 10<sup>e</sup> jour, montent rapidement pour atteindre un maximum de 1/800<sup>e</sup> à 1/1600<sup>e</sup> vers le 14<sup>e</sup> jour, restent en plateau jusqu'à la 4<sup>e</sup> semaine et diminuent ensuite. Mais à l'inverse des anticorps anti O, ils ne disparaissent pas complètement. Ils persistent toute la vie à un taux de l'ordre de 1/200<sup>e</sup>

#### **d. Traitement**

— Le traitement curatif repose sur l'antibiothérapie. Le chloramphénicol a été longtemps l'antibiotique de choix et a été remplacé par les fluoroquinolones et le cotrimoxazole.

— Le traitement préventif repose surtout sur l'hygiène générale (qualité de l'eau potable, entretien du réseau d'égout, stations d'épuration, hygiène alimentaire, etc...) et sur la vaccination TAB (S. typhi, paratyphi A et B) des populations spécialement exposées militaires, personnel hospitalier, etc...). Un vaccin acellulaire spécifique de la fièvre typhoïde (TYPHIM) est disponible depuis 1988. Il est constitué de l'antigène capsulaire purifié de S.typhi.

#### **B. Gastro-entérites à Salmonella**

Les Salmonella dites « mineures » (Salmonella typhi murium, enteritidis, dublin etc...), ubiquitaires, sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (cas sporadiques) ou après contamination fécale-orale, souvent par les mains sales (épidémies de collectivités d'enfants). Il peut s'ensuivre des infections purement digestives, les gastro-entérites. Celles-ci se traduisent par de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre.

Leur évolution est en général bénigne. Certains sujets restent porteurs sains de Salmonella dans leur tube digestif et peuvent dans certaines circonstances (profession de l'alimentation)

disséminer leur souche. Le diagnostic biologique des gastro-entérites repose sur l'isolement de la Salmonella par coproculture.

Les hémocultures et le sérodiagnostic sont négatifs, la Salmonella restant purement digestive. Chez le nouveau-né, le jeune enfant, le sujet âgé, l'immuno-déprimé (ex. SIDA), les Salmonella mineures sont susceptibles de franchir la barrière intestinale et de provoquer un syndrome septicémique de type typhoïdique avec hémocultures positives. Le traitement des gastroentérites à Salmonella repose essentiellement sur la réhydratation. L'antibiothérapie per os (fluoroquinolones, cotrimoxazole) est indiquée dans les formes sévères. Le traitement antibiotique des porteurs sains de Salmonella est décevant. Le traitement préventif repose sur l'hygiène générale : hygiène alimentaire, hygiène des collectivités.

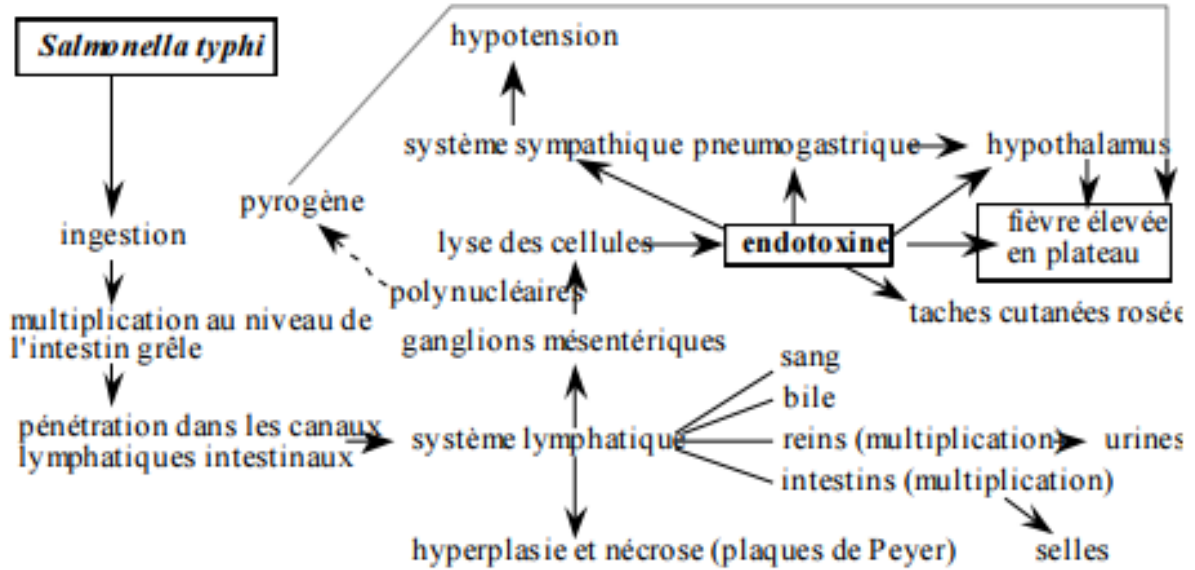
### C. Toxi-infections alimentaires collectives à Salmonella

La consommation simultanée par plusieurs personnes d'un aliment massivement contaminé par des Salmonella mineures entraîne un tableau de gastro-entérite, qui, simulant un véritable empoisonnement, est appelé toxi-infection alimentaire collective (TIAC). La période d'incubation est de 10 à 18 heures. Les troubles durent en général 2 à 5 jours.

Les complications sont rares sauf chez les sujets à faibles moyens de défense (cf. gastro-entérites). L'aliment responsable est identifié par enquête épidémiologique (enquête cas-témoin). Le diagnostic se fait par recherche de la Salmonella dans les selles des malades et dans l'aliment incriminé (s'il est encore accessible). Le traitement est le même que celui des gastro-entérites. La prévention repose essentiellement sur l'hygiène des cuisines collectives (détection des porteurs sains, techniques de préparation, techniques de conservation : « chaîne du chaud » ou « chaîne du froid », etc...).

La dose infectante avec des espèces à l'origine de maladies infectieuses graves comme Salmonella typhi, S. paratyphi A ou S. paratyphi B est de quelques cellules seulement :





### III - 2. Entérototoxicose staphylococcique

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*. L'espèce *S.aureus* sera prise comme type de description.

. Elle résulte de la consommation d'aliments contaminés par des souches de *Staphylococcus aureus* toxigènes. Six types d'entérotoxines sont actuellement connus (A, B, C, D, E et F) ; en France c'est l'entérotoxine A (65 %) qui est la plus fréquemment rencontrée, suivie de la B (20 %) et des autres types.

L'intoxication est caractérisée par une période d'incubation de courte durée (1 à 4 heures). Les symptômes de cette maladie, qualifiée parfois de maladie des banquets, sont caractéristiques : salivation abondante, nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhée abondante, sueurs, céphalée, état de prostration et quelquefois fièvre. Les symptômes disparaissent en général après 24 à 48 heures, et le malade ne développe pas de défenses immunitaires spécifiques. Il faut signaler enfin que cette intoxication n'est qu'une des manifestations possibles du pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus*.

Les entérotoxines A, B, C, D, E et F sont produits par les *Staphylococcus aureus* entérotoxinogènes et une même souche peut excréter plusieurs toxines différentes. Il existe 3 variétés de la toxine C (C1, C2 et C3) et la toxine F est impliquée dans le "toxic stock syndrom". Ces toxines sont des protéines de masse moléculaire voisine de 30 000 daltons et leur point isoélectrique varie de 6,8 (A) à 8,6 (B, C1, C2, C3). Ces protéines ne sont pas hydrolysées par les protéases digestives (pepsine, trypsine) et sont très résistantes aux traitements thermiques. Ainsi, une activité toxique (ou sérologique) persiste même après un traitement de type stérilisation (15 minutes à 121°C).

L'entérotoxine staphylococcique étant un métabolite secondaire, elle est synthétisée en fin de phase exponentielle et au cours de la phase stationnaire de croissance. Le nombre minimum de germes nécessaires à la production de suffisamment de toxine pour provoquer l'empoisonnement est évalué selon les auteurs à  $5.10^5$  ou  $5.10^6$  germes par g.

un traitement thermique du type pasteurisation ( $60^{\circ}\text{C}$ , 30 minutes) permettra de détruire les microorganismes, l'aliment restant alors très dangereux par la présence éventuelle d'une entérotoxine. Les cibles de ces entérotoxines staphylococciques sont les récepteurs sensoriels gastrointestinaux périphériques qui, après interaction, transmettent via le nerf pneumogastrique des impulsions nerveuses au centre de la motilité intestinale situé dans la région hypothalamique du cerveau. Il s'agit donc d'une neurotoxine qui induit des vomissements et une hypermotilité intestinale.

- **Diagnostic bactériologique**

Le diagnostic bactériologique de l'infection staphylococcique est uniquement direct (mise en évidence de la bactérie). Il n'y a pas de diagnostic indirect par recherche des anticorps circulants. Le diagnostic repose sur les principales étapes suivantes :

- Le prélèvement : aseptique (pour être certain que le staphylocoque que l'on va isoler n'est pas un simple commensal de la peau ou des muqueuses) et avant le début du traitement antibiotique.
- L'examen microscopique d'orientation à la recherche de cocci réguliers, à Gram positif, groupés en amas.
- La culture sur gélose ordinaire dans la majorité des cas ou sur milieu de culture sélectif, type milieu de CHAPMAN (qui contient 7 % de CINa, du mannitol et un indicateur de pH) si le prélèvement est fortement contaminé par d'autres bactéries. L'identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivants :
  - catalase (différence avec le streptocoque), fermentation du glucose en anaérobiose (différence avec le microcoque), coagulase (différence avec *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*), DNase. thermostable (qui signe l'espèce *S.aureus*).

- Le diagnostic sera toujours complété par la mesure de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) étant donné la fréquence de la résistance de *S.aureus* aux bêta-lactamines (ex. : pénicilline), aux aminosides (ex. : gentamicine) et à certains macrolides (ex. : érythromycine), notamment chez les souches hospitalières.

### III - 3. Toxi-infections à *Clostridium perfringens*

Cette bactérie est vraisemblablement le germe anaérobie le plus fréquemment rencontré dans la nature. Saprophyte du sol et des eaux, elle est présente dans de très nombreux produits naturels. Elle est commensale de l'homme et des animaux au niveau de la peau et des voies digestives et même respiratoires.

C'est grâce à sa spore que cette bactérie peut résister à des conditions particulièrement défavorables. Son caractère anaérobie strict limite cependant sa possibilité de développement dans nos aliments. Ainsi les conserves et les aliments cuits constituent d'excellents milieux de culture pour *Clostridium perfringens*, car la cuisson réduit le taux d'oxygène.

On distingue au moins 6 types de *Clostridium perfringens* en fonction de la nature des toxines qu'ils synthétisent et excrètent, les toxines étant au moins au nombre d'une douzaine. La toxi-infection résulte souvent de la prolifération de *Clostridium perfringens* A toxinogène dans la viande laissée à refroidir quelques heures à des températures voisines ou supérieures à la température ambiante, et ce à partir de spores dont la germination a été induite par la cuisson. En effet, les spores présentes sur la viande crue résistent à des cuissons de type "mijotage" de 3 ou 4 heures ou encore à des cuissons à 110°C pendant 30 minutes. Une charge microbienne au moins égale à 10<sup>8</sup> germes par g est nécessaire pour déclencher la toxi-infection.

Les symptômes de cette maladie apparaissent entre 8 et 24 heures après la consommation de l'aliment. Il s'agit essentiellement de douleurs abdominales aiguës et d'une diarrhée ; nausées, vomissements, fièvres, frissons ou prostration sont rares. Les entérotoxines d'une masse moléculaire voisine de 35000 daltons sont antigéniques et thermolabiles. Cette protéine interfère avec la production d'énergie au niveau cellulaire et affecte directement la structure et la fonction cellulaires en particulier au niveau des entérocytes.

La recherche (ou la numération) de cette bactérie est réalisée sur milieu TSC (Tryptose-sulfitecyclosérine) selon la norme ISO 7937 (avril 1997) et ses variantes (V 08-056). L'inoculum (1 mL) est ensemencé dans la masse de 12 mL de milieu recouvert de 10 mL (double couche) puis incubé 24 h à 37°C en anaérobiose. Les colonies de *Clostridium* sulfito-réducteurs sont noires.

### III. 4. Intoxination botulinique

*C. perfringens* est une bactérie très ubiquitaire largement répandue dans tout l'environnement (sol, sédiments, eaux d'égout, lisiers, cadavres, poussières, surface des végétaux, etc.). L'Homme et les animaux sains peuvent être porteurs de *C. perfringens* dans leur tube digestif. Mais le nombre de *C. perfringens* dans le contenu digestif est faible, 10 à 103 /g. *C. perfringens* est un contaminant fréquent des produits alimentaires, notamment ceux d'origine animale. Ces produits peuvent être contaminés soit lors de la phase d'éviscération à l'abattoir, soit à partir de l'environnement souillé (plan de travail, contact avec aliments souillés, poussières, etc.). Par ailleurs, *C. perfringens* cause de nombreuses maladies sévères chez les animaux notamment une entérite nécrotique des jeunes porcelets, des volailles, et plus rarement des jeunes des autres espèces, une entérotoxémie des ovins, bovins et parfois d'autres espèces, une dysenterie de l'agneau.

Les neurotoxines botuliques sont secrétées par des bactéries anaérobies sporulées du genre *Clostridium*. la libération de neuromédiateur est bloquée aux jonctions neuromusculaires, ce qui se traduit par une paralysie musculaire. Chez l'homme, le botulisme, généralement de type A, B ou E, survient par intoxication suite à la consommation d'aliments contenant de la toxine botulique, par toxi-infection alimentaire, notamment chez les nourrissons (botulisme infantile) ou suite à la contamination d'une plaie. Le traitement du botulisme est généralement symptomatique.

Cette intoxication est liée à l'ingestion de toxine botulinique synthétisée au cours de la croissance de *Clostridium botulinum* dans un aliment. Ce germe tellurique sporulé et anaérobie

strict, fait courir un très grand risque de contamination à de nombreux aliments, notamment les conserves (boîtes et bouteilles) qui subissent un traitement thermique insuffisant.

Les caractéristiques de croissance et de contrôle des *Clostridium botulinum* de types A,B, E et F sont données dans le tableau ci-après.

**Tableau 1.** Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse

Paramètres	Croissance		Entérotoxine et spores
	Optimum	Extrêmes	Stabilité
Température (°C)	40-45	10-52	Spores: conditions de sporulation pas clairement connues et variables selon les souches. Entérotoxine: thermolabile (détruite en solution saline par un chauffage de 5 min à 60 °C).
pH	6-7	5-8,3	
$a_w$		Limite inférieure: 0,95/0,97	
NaCl (%)	3	2-6,5 % concentration inhibitrice 6-8 %	

Sur la base de la spécificité sérologique de leur toxine, 6 types (A, B, C, D, E et F) de *Clostridium botulinum* ont été identifiés. Les types A, B et E sont les plus fréquemment rencontrés dans le botulisme humain. Le type E qualifié de pisciaire est rencontré chez les poissons de mer ou d'eau douce. Les types de *Clostridium botulinum* diffèrent par leur tolérance au sel et à l'activité de l'eau, leur température minimale de croissance et la résistance à la chaleur de leurs spores.

#### ➤ Nature des toxines

Les toxines botuliniques sont des protéines de masse moléculaire élevée. Ainsi la toxine de type A comprend 4 espèces moléculaires dont les masses moléculaires sont voisines de 150.000 daltons à 800 000 daltons (structure quaternaire encore mal connue).

Les toxines de 150 000 daltons de masse moléculaire possèdent un pont disulfure ; sous cette forme elles sont peu actives et sont activées par des enzymes protéolytiques endogènes à la

bactérie ou par d'autres protéases. Deux sous-unités actives de 100 000 et 50 000 daltons apparaissent alors. Après ingestion elles sont captées par le système lymphatique digestif, passent dans le sang puis se fixent sur les jonctions myoneurales des fibres cholinergiques du système nerveux périphérique où elles inhibent l'activation de l'acétylcholine. Il s'en suit des troubles nerveux tels que asthénie, céphalées, vertiges, diplopie, nausées, vomissements, crampes abdominales, constipation, sècheresse des muqueuses et de la peau, de la bouche, pupilles dilatées, dysphagie, dysphonie, troubles respiratoires avec paralysie.

Il faut noter ici que les aliments acides, de pH inférieur à 4,5, ne permettent pas le développement de la bactérie. Les aliments d'aw inférieur à 0,94 tels que de nombreux produits séchés et salés (souvent au sel nitrité) ne permettent pas la croissance et donc la synthèse de la toxine. Dans le cas de produits non acides, l'addition de nitrites permet, à partir d'une teneur de 20 ppm d'inhiber la germination et la prolifération du germe.

En raison de la gravité de l'intoxication, la qualité hygiénique des aliments ne peut reposer dans ce cas, que sur la prévention et la maîtrise de la qualité microbiologique.

Il faut signaler que les toxines botuliniques sont dénaturées donc inactivées par la chaleur. Les données varient selon les auteurs: à 80°C il faut de 8 à 90 minutes et à 100°C quelques secondes. Une cuisson de l'aliment peut donc, dans la plupart des cas, les dénaturer et rendre l'aliment non dangereux.

Le botulisme infantile est reconnu depuis 1976. Il est lié à l'ingestion de spores de la bactérie qui colonisent et produisent la toxine au niveau du tractus digestif. Cette pathologie pourrait être à l'origine de la mort subite des nouveaux-nés. La recherche de la toxine dans des conserves soupçonnées d'être à l'origine de la maladie peut se réaliser par la méthode des souris protégées ou par enzymo-immunologie.

Le traitement spécifique est basé sur la sérothérapie ou l'utilisation d'immunoglobulines spécifiques purifiées. La vaccination anti-botulique est efficace, mais, comme les neurotoxines botuliques sont largement utilisées en thérapeutique pour traiter des dystonies, une vaccination généralisée n'est pas envisageable.

### III - 5. Autres maladies liées à la consommation d'aliments

Autres microorganismes sont impliqués dans des maladies d'origine alimentaire. Parmi celles-ci, on peut en signaler quelques unes dont les germes responsables sont :

#### III - 5 - 1. *Vibrio cholerae* et *V. parahaemolyticus*

Maladie infectieuse épidémique; choléra due au *Vibrio cholerae* . C'est au niveau de l'intestin grêle que la contamination et la prolifération se produisent par adhésion puis colonisation des entérocytes. La toxine cholérique provoque une fuite massive d'un fluide riziforme et la déshydratation qui en résulte peut être mortelle. Cette toxine est une protéine polymérique dont la masse moléculaire est de 80 000 daltons. Au niveau des cellules de Lieberkhun de la crypte il induit une augmentation de la sécrétion d'anions tandis qu'au niveau des cellules apicales de la villosité l'absorption du chlore et du sodium est inhibée. L'eau accompagnant le transfert de ces ions est excrétée vers la lumière intestinale. L'absorption orale d'une solution saline sucrée permet de réduire la déshydratation. *Vibrio parahaemolyticus* est un vibron marin qui provoque une toxi-infection résultant de la consommation de sardines semi-séchées.



### III - 5 - 2. Bacillus cereus

Le germe *Bacillus cereus*, retrouvé de manière ubiquitaire dans le sol, est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires opportunistes, et ce dans le monde entier mais plus particulièrement en Europe. Il s'agit très souvent de l'ingestion d'aliments non réfrigérés après cuisson et après une première consommation (riz cuit par exemple). Le nombre de germes suffisant pour entraîner une intoxication est de un million de germes.

La morphologie du germe correspond à un grand bacille en forme de bâtonnet de 1 mm de large pour 3-4 mm de long, sporulé, mobile et de type respiratoire aérobie, présentant une positivité à la coloration de Gram, et synthétisant deux types de toxines : une toxine thermostable et une toxine thermolabile.

La prolifération importante du germe est toujours nécessaire pour que la toxicité se manifeste (de  $10^5$  à  $10^9$  germes par g). Le plus souvent, les purées de pommes de terre, les pâtisseries, les viandes diverses, le riz cuit à l'avance, sont à l'origine de cette maladie

L'intoxication alimentaire à *Bacillus cereus* revêt deux formes :

- la forme émétique, accompagnée de nausées et de vomissements (durée d'incubation : 1 à 5 heures).
- la forme diarrhéique, accompagnée de douleurs abdominales et d'une diarrhée (durée d'incubation : 6 à 24 heures).

Dans les deux cas, il s'agit d'une infection opportuniste bénigne à résolution spontanée, le plus souvent dans les 24 heures. Cependant, si l'intoxication survient chez un sujet immunodéprimé, il peut y avoir dissémination bactérienne avec un tableau de méningite, endocardite.

### III - 5 - 3. Listeria monocytogenes

La listériose humaine est une infection rare d'origine alimentaire, causée par l'ingestion d'aliments contaminés par la bactérie *Listeria monocytogenes*. Cette bactérie est largement répandue dans l'environnement et est également responsable d'infections chez l'animal (zoonose). Elle peut contaminer de nombreux aliments à différents stades de leur production. Elle est plus fréquente chez certaines personnes à risque, comme les sujets âgés, les femmes enceintes et leurs nouveau-nés, et les sujets immunodéprimés.

Elle se manifeste cliniquement sous différentes formes : invasives ou non-invasives. Les formes invasives sont dominées par les bactériémies, les formes neuro-méningées et les formes materno-néonatales. Les autres formes invasives sont plus rares : infections ostéo-articulaires,

vasculaires, ou sur matériel. Les listérioses non-invasives semblent rares et regroupent des gastro-entérites aiguës fébriles, des formes cutanées isolées ou d'exceptionnelles formes oculaires. La mortalité des listérioses invasives est élevée, de l'ordre de 20 à 30

### ➤ **Caractéristiques microbiologiques**

Le genre *Listeria* comporte dix espèces : *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* et subsp. *londoniensis*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi* biovar *grayi* et biovar *murrayi*, ainsi que *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii* subsp. *fleischmannii* et subsp. *coloradensis*, et *L. weihenstephanensis*, plus récemment décrites . Parmi ces dix espèces, seule *L. monocytogenes* est considérée comme pathogène pour l'homme. Elle l'est également chez les animaux (zoonose), de même que *L. ivanovii*, alors que cette dernière n'est qu'exceptionnellement incriminée en pathologie humaine .

*L. monocytogenes* est un petit bacille à Gram positif, isolé ou en chaînettes, non sporulé, aéro-anaérobie facultatif, catalase-positif et oxydase-négatif, pouvant comporter jusqu'à 5 flagelles lui conférant une mobilité particulière à 20-25 °C . C'est une bactérie peu exigeante, très résistante aux conditions de l'environnement, capable de se multiplier à différentes gammes de pH (4-9).

Sa croissance optimale se situe entre 30 et 37 °C mais elle possède la capacité de survivre et de se multiplier à basses températures (4-10 °C). Elle n'est pas totalement éliminée par la congélation à -20 °C mais est détruite par la chaleur . Elle est capable de pénétrer à l'intérieur des macrophages .

Les milieux de cultures usuels permettent aisément d'isoler *L. monocytogenes* à partir de sites habituellement stériles tels que le liquide céphalo-rachidien (LCR), le sang, le placenta ou les liquides articulaires. En revanche, les milieux habituellement utilisés pour la recherche de bactéries responsables de diarrhées à partir d'une coproculture inhibent la croissance des *Listeria*. Des milieux de croissance sélectifs de type gélose *Listeria* ont ainsi été développés afin de permettre l'isolement des *Listeria* à partir de prélèvements polybactériens (selles, aliments, environnement) . Différentes méthodes phénotypiques ou génotypiques ont été utilisées pour discriminer les souches de *L. monocytogenes* entre elles. Le sérotypage, basé sur les antigènes somatiques O et flagellaires H permet de distinguer 13 sérovars au sein de l'espèce

monocytogenes. Plus de 95 % des souches humaines de *L. monocytogenes* appartiennent aux sérotypes 1/2a, 1/2b, 1/2c et 4b.

Le sérotypage est d'intérêt limité dans le cadre des investigations épidémiologiques et depuis 2005, il est remplacé en France par une méthode de génosérogroupe par réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Cette méthode permet de distinguer 5 génosérogroupe PCR : IIa (regroupant les sérovars 1/2a et 3a), IIb (regroupant les sérovars 1/2b, 3b et 7), IIc (regroupant les sérovars 1/2c et 3c), IVb (regroupant les sérovars 4b, 4d et 4e) et L (regroupant les autres sérovars : 4a, 4ab et 4c). Parmi les autres techniques de biologie moléculaire permettant de discriminer les souches entre elles et de former des groupes de souches, l'électrophorèse en champ pulsé ou pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) est la méthode standardisée de référence internationale utilisée depuis 20 ans à des fins de surveillance épidémiologique. Après extraction de l'ADN des bactéries, l'ADN génomique est fragmenté à l'aide des enzymes de restriction *AscI* et *ApaI* et les pulsotypes sont obtenus par migration électrophorétique. Ce typage moléculaire est effectué au Centre national de référence (CNR) des *Listeria* (Institut Pasteur, Paris).

#### ➤ **Habitat et listériose animale**

*L. monocytogenes* est une bactérie ubiquitaire, largement présente dans l'environnement notamment les environnements hydriques ou telluriques tels que les sols ou les végétaux en décomposition. Les ensilages, méthode de fermentation lactique anaérobie utilisée pour la conservation des fourrages et l'alimentation des animaux peuvent contenir des *Listeria* et être à l'origine de la contamination des ruminants. *L. monocytogenes* peut infecter de très nombreuses espèces animales, notamment des mammifères, des poissons, des oiseaux, des crustacés. Si la plupart des animaux infectés sont porteurs asymptomatiques, la listériose est principalement symptomatique chez les ruminants, notamment les bovins, les ovins et les caprins. Chez ces animaux, la maladie peut se manifester par une encéphalite, une bactériémie, ou des avortements.

Des infections oculaires ont également été décrites chez le mouton, ainsi que des mammites chez les bovins, pouvant être à l'origine de la contamination du lait. Les animaux infectés peuvent excréter des *Listeria* pendant de longues périodes, et ainsi contaminer à leur tour leur environnement. *L. monocytogenes* possède la capacité de persister dans les environnements

qu'elle colonise, parfois de façon prolongée. Les chaînes de productions agroalimentaires, qu'elles soient artisanales ou industrielles, peuvent être contaminées directement ou à partir de matières premières animales ou végétales contaminées. La contamination des chaînes de production est à l'origine de la contamination secondaire des aliments produits.

### ➤ **Transmission**

Chez l'homme, la listériose se transmet quasi exclusivement par voie alimentaire, par l'ingestion d'aliments contaminés. *L. monocytogenes* peut virtuellement contaminer tout type d'aliment et a été retrouvée dans une grande variété d'entre eux. Son ingestion au cours de la vie est fréquente. Les aliments les plus à risque sont ceux consommés crus ou peu cuits tels que les produits de charcuterie, les poissons fumés, le lait cru ou les fromages au lait cru, ainsi que les aliments subissant une cuisson au cours de leur préparation, mais pouvant être contaminés après cette étape. En cas d'infection en cours de grossesse, il existe un risque de transmission verticale de la mère à l'enfant. La contamination materno-néonatale peut survenir soit in utero, par passage transplacentaire de *L. monocytogenes* à l'occasion d'une bactériémie chez la mère, soit au moment de l'accouchement, par contact avec des sécrétions maternelles contaminées lors du passage du nouveau-né dans la filière génitale. La dose infectante n'est pas connue. S'il existe vraisemblablement une relation dose-effet, la survenue d'une listériose est multifactorielle et dépend notamment de la dose ingérée, de l'état immunitaire de l'hôte et de la virulence de la souche. Toutes les souches de *L. monocytogenes* sont actuellement considérées comme pathogènes mais il existe en réalité un polymorphisme au sein des souches par rapport à leur virulence

### ➤ **Manifestations cliniques**

La durée d'incubation de la listériose est classiquement variable, de 4 à 60 jours. Elle varie en réalité selon la forme clinique : les bactériémies et les formes neuroméningées ont une durée d'incubation plus courte, le plus souvent inférieure à 15 jours, que les formes materno-néonatales pour lesquelles elle peut aller jusqu'à 2 mois . La listériose touche préférentiellement les sujets âgés, les femmes enceintes et leurs nouveau-nés, et les sujets dont l'immunité innée et/ou cellulaire est diminuée.

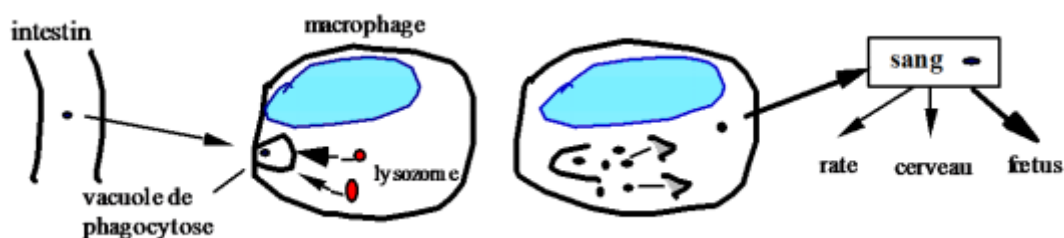
Les formes invasives sont dominées par les bactériémies, les formes neuro-méningées et les formes materno-néonatales. Les autres formes invasives sont plus rares : infections ostéo-

articulaires, vasculaires. La mortalité des listérioses invasives est élevée, de l'ordre de 20 à 30 %. L'incidence des listérioses non-invasives n'est pas connue ; ces formes paucisymptomatiques sont vraisemblablement sous-diagnostiquées ; elles semblent rares et regroupent des gastro-entérites aiguës fébriles, des formes cutanées isolées ou d'exceptionnelles formes oculaires.

Simultanément à cette phase la bactérie synthétise des filaments d'actine qui forment une structure en « comète », ce qui engendre une force motrice nécessaire au mouvement de la bactérie (gène ActA). Les *Listeria* progressent dans le cytoplasme à 0,3mm/s et au contact de la membrane cellulaire induisent une invagination qui conduit à la pénétration dans une nouvelle cellule hôte avec une vésicule entourée de deux membranes plasmiques. Ces membranes sont lysées par une lécithinase (gènes PicB et mpl) . Cette transmission de cellule à cellule permet à la bactérie de contourner les défenses de l'hôte (anticorps circulants, complément)

#### 4.1. Bactériémie

Les symptômes ne sont pas spécifiques et associent fièvre, frissons et parfois myalgies. La fièvre peut être précédée d'un épisode diarrhéique mais celui-ci est le plus souvent absent. Les *Listeria* vivantes produisent une listériolysine O (en une trentaine de minutes), protéine de 529 acides aminés, qui détruit la membrane du phagosome. Les *Listeria* entrent alors au contact du cytoplasme du macrophage et se multiplient à nouveau, le macrophage étant détruit par ses propres lysosomes. Les *Listeria* se retrouvent dans le sang puis le foie, la rate et même le cerveau.



## 4.2. Infection du système nerveux central

L'infection du système nerveux central par *L. monocytogenes* peut se traduire par une méningite isolée, une encéphalite, une rhombencéphalite, ou un abcès cérébral. *L. monocytogenes* est la troisième cause de méningite bactérienne de l'adulte, après *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis*. Le LCR est classiquement clair et à prédominance lymphocytaire mais la formule est en pratique souvent panachée.

À la différence des autres bactéries habituellement responsables de méningites, *L. monocytogenes* s'accompagne fréquemment d'une atteinte du parenchyme cérébral. Elle est responsable de 10 % des encéphalites en France, après le virus de l'herpès simplex, le virus de la varicelle et du zona, et *Mycobacterium tuberculosis*. Le tableau clinique est alors dominé par les troubles de la conscience et l'altération des fonctions supérieures. La rhombencéphalite constitue une entité à part, avec atteinte des nerfs crâniens et signes cérébelleux. Un abcès cérébral peut être observé dans près de 10 % des atteintes neuroméningées à *L. monocytogenes* mais est rarement isolé et est le plus souvent associé à présence de bactéries dans le LCR ou les hémocultures. La présence de signes cliniques suggérant une atteinte méningo-encéphalitique doit faire réaliser une imagerie par résonance magnétique.

### ➤ Autres formes invasives

Les autres formes invasives sont plus rares : infections ostéo-articulaires (le plus souvent chez des patients âgés ou immunodéprimés porteurs de prothèses articulaires) [32], endocardites, infection de liquide d'ascite, myosites.

## 4.5. Gastro-entérites

Les gastro-entérites à *Listeria* surviennent en général chez l'immunocompétent, 24 heures après l'ingestion d'un important inoculum bactérien, et dure habituellement 1 à 3 jours (jusqu'à 1 semaine). Elles associent fièvre, diarrhée aiguë aqueuse, nausées, céphalées, arthralgies et myalgies. Le taux de bactériémie lors de ces gastro-entérites à *Listeria* n'est pas véritablement documenté, mais vraisemblablement faible (environ 2,5 %). *L. monocytogenes* peut-être présente dans les selles de porteurs humains asymptomatiques. La bactérie a été isolée dans

environ 5 % des prélèvements de selles chez des sujets asymptomatiques et plus fréquemment encore chez des cas-contact de sujets présentant une listériose clinique.

## 5. Diagnostic

Le diagnostic microbiologique de certitude repose sur l'isolement de *L. monocytogenes* à partir d'un site normalement stérile (sang, LCR, placenta, liquide amniotique, liquide articulaire, liquide d'ascite) ou de prélèvements périnataux. La réalisation d'hémocultures devant toute fièvre inexpliquée en cours de grossesse doit être systématique. *L. monocytogenes* peut parfois prendre un aspect coccobacillaire pouvant à tort orienter vers une corynébactérie.

Seul l'isolement de *L. monocytogenes* permet le typage moléculaire de la souche et la détection de cas groupés. La mise en évidence de *L. monocytogenes* à partir de coprocultures requiert une demande spécifique du clinicien, l'utilisation de milieux de croissance sélectifs et n'est pas réalisée en routine. Les tests sérologiques basés sur la détection d'anticorps spécifiques manquent de validation complète (sensibilité et spécificité). Ils ne peuvent être retenus comme tests diagnostiques et doivent toujours être interprétés en fonction du contexte clinique.

### ➤ Epidémiologie

Depuis 1998, la listériose humaine est à déclaration obligatoire. La surveillance est menée conjointement par l'Institut de veille sanitaire (InVS) au moyen de la déclaration obligatoire qui permet de recueillir les caractéristiques cliniques des cas, et par le CNR des *Listeria* qui centralise et caractérise les souches de *L. monocytogenes* isolées chez l'homme dans les laboratoires de microbiologie. L'exhaustivité de la surveillance microbiologique est excellente et chaque année, entre 98 et 100 % des souches isolées chez les patients ayant fait l'objet d'une déclaration de listériose sont réceptionnées au CNR des *Listeria*.

Une enquête alimentaire portant sur les aliments consommés dans les 2 mois précédant le diagnostic est par ailleurs réalisée systématiquement par les agents des Agences régionales de santé pour tout cas de listériose et transmise à l'InVS. Depuis 2001, pour les formes neuroméningées, des prélèvements alimentaires sont effectués au domicile du patient par les agents des Directions départementales en charge de la protection des populations (DDecPP).

La durée d'incubation des formes neuroméningées étant courte, la probabilité de retrouver des aliments contaminés dans l'entourage immédiat du cas est en effet plus élevée pour ces formes

cliniques que pour les autres. Enfin, en cas de listériose neuroméningée ou de bactériémie chez un patient hospitalisé depuis plus de 15 jours, des prélèvements environnementaux sont systématiquement réalisés dans les cuisines de l'hôpital afin de rechercher une possible origine nosocomiale. La déclaration obligatoire dont la fiche est téléchargeable sur le site de l'InVS permet le suivi des tendances évolutives de la maladie.

La surveillance microbiologique a pour objectif principal la détection de cas groupés, par comparaison des caractéristiques microbiologiques des souches (génosérogroupe PCR, profils PFGE AscI/ ApaI). L'enquête alimentaire systématique des cas et les prélèvements dans l'entourage ont pour but l'identification d'une source de contamination. En cas d'identification par le CNR des *Listeria* d'un nombre déterminé de souches de mêmes caractéristiques microbiologiques, un signalement de suspicion de cas groupés est transmis à l'InVS et une investigation épidémiologique est menée à la recherche d'une même source de contamination. En cas de suspicion d'un aliment contaminé la « Cellule *Listeria* » à laquelle participent l'InVS, le CNR des *Listeria*, le Département des urgences sanitaires de la Direction générale de la santé (DGS), la Mission des urgences sanitaires de la Direction générale de l'alimentation (DGAl), la Direction générale de la consommation, de la concurrence, et de la répression des fraudes (DGCCRF), et l'Agence nationale de sécurité sanitaire des aliments (Anses, Laboratoire national de référence des *L. monocytogenes*) peut être activée. La coordination de ces agences permet la mise en œuvre des mesures nécessaires (inspection d'une usine, prélèvement de la chaîne alimentaire, retrait ou rappel de lots, etc.). Une douzaine de signalements sont ainsi explorés chaque année par l'InVS, le CNR des *Listeria*, et les autres membres de la Cellule *Listeria*.

En 2012 et 2013, ont ainsi été identifiées deux épidémies nationales respectivement liées à la consommation de brie au lait cru et à la consommation de quenelles, ainsi que les sources de contamination de plusieurs cas groupés dont une toxi-infection alimentaire collective. La contamination prolongée d'une cuisine hospitalière, responsable de plusieurs cas de listériose sur une période de plus de 2 ans et liés à une même souche a également été identifiée. Estimée à près de 12 cas par millions d'habitants au début des années 80, l'incidence de la listériose en France a nettement diminué depuis la fin des années 80, principalement grâce à la prise en compte du danger *Listeria* par les opérateurs agro-alimentaires dans leur plan de maîtrise de la contamination biologique. Entre 1999 et 2005, l'incidence de la maladie est passée de 4,5 à 3,5



cas par million d'habitants. Depuis 2006, elle a augmenté pour atteindre 5,6 cas par million d'habitants en 2013 (figure 1). En 2013, 369 cas de listériose et 64 décès sont survenus en France (létalité 17 %) (figure 2). Cette augmentation d'incidence est surtout observée chez les sujets très âgés et ceux présentant des comorbidités, et a également été constatée dans d'autres pays européens [38, 39]. Par ailleurs, l'augmentation du nombre de cas de listériose concerne surtout les formes bactériémiques (figure 3). Les raisons de cette augmentation ne sont pas clairement établies, mais elle semble davantage liée à une augmentation de la population susceptible qu'à une circulation accrue de produits contaminés. Les plans de surveillance et de contrôle de la contamination des denrées alimentaires par *L. monocytogenes* suggèrent en effet, d'après l'échantillonnage effectué, une amélioration constante de la qualité microbiologique des aliments depuis 1993

Tableau 1 – Epidémies nationales et internationales de listériose, 1981-2013.

Pays	Année	Nb de cas	Aliment incriminé
Canada	1981	41	Coqueaux
USA	1982	49	Lait pasteurisé
Suisse	1983-87	122	Vacherin Mont d'Or
USA	1985	142	Fromage mexicain
Royaume-Uni	1987-89	266	Pâtis
USA	1988	10	Crevettes
Danemark	1988	26	Siou
France	1992	279	Langue de porc en gelée
France	1992	26	Rillettes
Italie	1992	18	Salade de riz
France	1995	36	Siou
France	1997	14	Port-Lévisque
USA	1998	128	Hut dogs
France	1998	4	Epaisse
Finlande	1998	25	Beurre
France	2000	30	Langue de porc en gelée
Nouvelle-Zélande	2000	30	Jambon
France	2000	10	Rillettes
USA	2000	30	Charcuterie de volaille
USA	2000	13	Fromage mexicain
Suède	2001	48	Fromage
France	2002	11	Terrinette
USA	2002	54	Charcuterie de dinde
Canada	2002	17	Fromage au lait cru
France	2003	4	Mortadelle
USA	2003	12	Fromage mexicain
USA	2006	128	Saucisses
USA	2011	147	Melons
USA	2012	30	Ricotta
France	2012	10	Siou
France	2012	10	Quenelles

### ➤ Traitement

La prise en charge d'une listériose nécessite le plus souvent une hospitalisation. Le traitement antibiotique de référence de la listériose repose sur l'utilisation d'amoxicilline, associé ou non à un aminoside. En cas d'allergie, l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole est recommandée. À ce jour, si pour ce dernier antibiotique une souche résistante a été détectée en

France, il n'y a pas de résistance du micro-organisme au traitement de référence. Chez la femme enceinte allergique à la pénicilline, la vancomycine est une alternative.

Les doses prescrites sont élevées et la durée de traitement prolongée : 3 semaines pour les formes neuroméningées, voire plus en cas d'abcès, d'endocardite ou d'infection sur matériel. *L. monocytogenes* est naturellement résistante aux céphalosporines, à l'oxacilline, à la fosfomycine et à l'aztréonam qui ne doivent donc pas être utilisés. Enfin, il n'est pas recommandé de traiter un sujet asymptomatique ayant consommé un aliment révélé a posteriori contaminé par *L. monocytogenes*. Compte tenu de la faible probabilité de développer une listériose clinique dans une telle situation, l'avis du 29 juin 1999 du Conseil supérieur d'hygiène publique de France recommande en effet aux personnes ayant consommé un aliment contaminé par *L. monocytogenes* de surveiller l'apparition d'éventuels symptômes et de consulter sans délai en cas de fièvre survenant dans les 2 mois suivant la consommation de cet aliment, en mentionnant cette consommation à leur médecin.

#### ➤ **Prévention**

*Listeria monocytogenes* étant une bactérie fréquemment isolée de l'environnement et des aliments et la listériose touchant préférentiellement certains groupes à risque (sujets âgés, femmes enceintes et nouveau-nés, patients immunodéprimés), la prévention de la listériose est fondamentale pour ces patients et repose sur l'éviction de certains aliments ainsi que sur le respect de certaines règles d'hygiène lors de la manipulation et la préparation des aliments (tableau II)

### III - 5 - 4. *Escherichia coli*

Les *Escherichia coli* font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des hôtes communs de la microflore intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). La majorité des souches d'*E. coli* sont commensales, mais certaines ont toutefois été associées à des pathologies intestinales (Levine, 1987) ou extra-intestinales (Pohl, 1993). Parmi celles-ci, les *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) sont considérés comme des pathogènes émergents importants en santé publique. Ils peuvent être à l'origine de diarrhées souvent sanglantes.

Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques particulières, permettant de les différencier (Grimont, 1987).

**Tableau 1** : Principaux caractères permettant la différenciation des espèces du genre *Escherichia* (*E. coli*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. fergusonii*).

Caractéristiques	<i>E. coli</i> non O157:H7	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. hermanii</i>	<i>E. vulneris</i>	<i>E. fergusonii</i>
Indole	+	+	+	-	+
Pigment jaune	-	-	+	(+)	-
LDC	(+)	(+)	-	+	+
ODC	+/-	+/-	+	-	+
$\beta$ -xylosidase	-	-	-	+	-
$\beta$ -glucuronidase	(+)	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	+	-
Adonitol	-	-	-	-	+

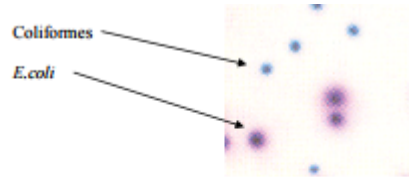
*Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie fréquente du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La plupart des souches de *E. coli* sont sans danger. Certaines souches, cependant, comme les souches entérohémorragiques (ECEH), peuvent être à l'origine de toxi-infections

alimentaires (TIA) graves qui peuvent provoquer des troubles digestifs : ce sont les *Escherichia coli* entéropathogènes. Leur implication a été démontrée dans certaines gastro-entérites, notamment dans les diarrhées infantiles et dans la “diarrhée des voyageurs” ou « tourista ». Si les *Escherichia coli* des diarrhées infantiles (*Escherichia coli* G.E.I.) étaient bien connus depuis 1940, ce n'est qu'une trentaine d'années plus tard qu'ils seront reconnus responsables de diarrhées sévères et de toxi-infections chez l'homme. La transmission à l'homme se fait par la consommation d'aliments contaminés, viande hachée crue ou mal cuite et lait cru par exemple. Son importance pour la santé publique est apparue en 1982, à la suite d'une flambée de TIA aux Etats-Unis d'Amérique.

ECEH fabrique des toxines, connues sous le nom de verotoxines ou de toxines de type Shiga en raison de leur ressemblance avec les toxines élaborées par *Shigella dysenteriae*. ECEH se multiplie dans une fourchette de température de 7°C à 50°C, la température optimale étant de 37°C. Certaines souches de ECEH peuvent se développer dans des aliments acides, jusqu'à pH 4,4, ainsi que dans des aliments dont l'activité de l'eau est au minimum de 0,95. La cuisson détruit ECEH quand toutes les parties de l'aliment atteignent au moins 70°C.

*E.coli* O157:H7 isolé à partir de nombreux produits alimentaires provoque une colite hémorragique sévère. Cet *E. coli* vérotoxino-gène a été trouvé dans la viande mal cuite et certains produits laitiers. Depuis une dizaine d'années un nombre croissant d'épidémies ou endémies associées à des *Escherichia coli* vérotoxino-gènes est décrit en Amérique du Nord (Etats-Unis et Canada) et en Grande Bretagne. Dans un village de ce pays la bactérie a été à l'origine d'une vingtaine de cas dont certains mortels par suite de consommation de viande issue d'une même boucherie. Le sérotype O157 :H7 y est fréquemment identifié et on estime à plus de 20000 par an le nombre de personnes contaminées dans ces trois pays. Au Japon une épidémie a affecté 10000 personnes durant l'été 1996 ; elle a fait plus de 10 victimes. La recherche de ces bactéries passe par leur isolement suivi d'un sérotypage « classique » par agglutination sur lame. Les milieux d'isolement font aujourd'hui appel à la mise en évidence simultanée d'activités enzymatiques ( $\square$ -D glucuronidase et  $\square$  -D galactosidase) à partir de substrat adaptés libérant au cours de leur hydrolyse un composé chromogène. *E. coli* possède à 44°C ces deux activités.

Les réponses obtenues sur le milieu Rapid *E.coli* de Biorad à 44°C sont présentées ci-dessous :



### III - 5 - 5. *Yersinia enterocolytica*

L'infection causée par cette bactérie est qualifiée de yersiniose : la forme la plus commune est une gastroentérite et ce sont les enfants qui sont plus sévèrement affectés avec des douleurs abdominales intenses, diarrhée, vomissement et fièvre (pseudo-appendicite). Des syndromes plus sérieux comme une septicémie, une méningite, une polyarthrite ou une adénite, peuvent subvenir. La mortalité reste rare et les signes cliniques disparaissent généralement au bout de 48 heures. Le plus souvent ce sont des aliments, et en particulier le lait, les produits laitiers, les coquillages, les viandes et les volailles qui sont impliqués dans cette maladie. Seules certaines souches sont pathogènes. Ce microorganisme psychrophile est très sensible à la chaleur et est facilement détruit par cuisson ou pasteurisation. Dans un milieu entreposé à 7°C, une centaine de cellules contaminantes donnent après 10 jours 10<sup>7</sup> germes par g.

### III - 5 - 6. *Campylobacter jejuni* (ou *Vibrio fetus*)

La campylobactériose est une maladie d'origine alimentaire très répandue. Aux Etats-Unis, cette maladie est plus fréquente que salmonellose et shigellose réunies. Les symptômes vont de l'entérite insignifiante à l'entérocolite grave associée parfois à une méningite ou une arthrite. Cette infection d'une durée moyenne de 2 à 3 jours peut parfois persister plusieurs semaines. Cette bactérie est un hôte intestinal normal de très nombreux animaux ; Ainsi environ 30 % des volailles non cuites, et jusqu'à 10 % des viandes crues sont contaminées par ce germe ou par *Campylobacter coli*. De la sorte, ce sont des aliments d'origine animale mal cuits qui sont le plus souvent mis en cause dans l'infection humaine. Ce genre sensible aux traitements thermiques ne se multiplie pas en dessous de 30°C.

### . *Shigella dysenteriae* , *S. sonnei* , *S. flexneri* , *S. boydii*

La dose infectante est de quelques dizaines de cellules et l'eau reste le vecteur primaire.

*Shigella dysenteriae* est un hôte de l'intestin de l'homme et des primates. Elle provoque une maladie infectieuse caractérisée par une invasion de la muqueuse du colon sans atteinte du tissu sous-muqueux. Deux entérotoxines sont excrétées par *Shigella dysenteriae* et *S. flexneri*, ces toxines étant cytotoxiques pour l'entérocyte. Les différentes étapes de cette physiopathologie sont bien connues :

- 1) adhésion : reconnaissance de structures entérocytaires réceptrices par les adhésines microbiennes
- 2) invasion : les structures protéiques bactériennes ou invasives sont analogues à certaines protéines de surface. Parfois c'est une même protéine qui joue ces deux rôles.
- 3) croissance intracellulaire : si deux à trois *Shigella* ont pénétré dans une cellule, elles se multiplient sans phase de latence et au bout de 4 heures leur nombre est voisin de 400. A titre de comparaison un phénomène de pénétration de deux *Salmonella typhimurium* ne se traduit, au bout de 5 heures, que par une multiplication intracellulaire aboutissant à la formation de 10 bactéries par cellule.