

Equipes de la Cellule de l'InVS en région (Cire) Aquitaine et de l'Unité des maladies entériques, d'origine alimentaire et zoonoses (EAZ) du département des maladies infectieuses (DMI) de l'InVS

## 1. Introduction

Le 22 juin 2011, l'Hôpital d'instruction des armées (HIA) Robert Picqué signale, à la Cellule de l'InVS en région (Cire) Aquitaine, l'admission de 8 adultes pour diarrhée sanglante entre le 16 et 21 juin. Parmi eux, sept étaient hospitalisés dont deux au CHU de Bordeaux après avoir développé un syndrome hémolytique et urémique (SHU).

Les résultats des investigations préliminaires auprès des patients suggéraient une toxi-infection alimentaire collective liée à une infection à *Escherichia coli* (*E. coli*) producteurs de shiga-toxines (STEC)<sup>1</sup> : six des patients avaient consommé des graines germées proposées lors d'un buffet organisé pour la journée portes-ouvertes d'un centre de loisirs accueillant des enfants à Bègles le 8 juin.

Le 24 juin, un premier cas est confirmé STEC O104:H4 par le Centre national de référence (CNR) *E. coli* et *Shigella* [1]. Les caractéristiques de cette souche, très rare, et le profil de résistance aux antibiotiques étaient apparentés à la souche responsable de l'épidémie survenue en Allemagne en mai-juin 2011. Cette épidémie de grande ampleur faisait état de 4 321 cas rapportés au 26/07/11, dont 3 469 infections à STEC et 852 SHU, et 50 décès parmi eux [2].

Des analyses microbiologiques et une enquête de traçabilité ont été réalisées sur les restes de graines et d'aliments servis lors de la journée porte-ouvertes. Une investigation épidémiologique a été mise en œuvre conjointement par les échelons national et régional de l'InVS afin de décrire cette épidémie, identifier le véhicule et la source précise de l'infection et contribuer à la mise en place de mesures de contrôle et de prévention.

Cet article présente les résultats des investigations réalisées.

<sup>1</sup> Les STEC sont responsables de manifestations cliniques variées (diarrhée banale ou sanglante) pouvant évoluer dans 5 à 8 % des cas, principalement chez le jeune l'enfant, vers une complication grave : le syndrome hémolytique et urémique (SHU).

## 2. L'investigation épidémiologique

### 2.1. Méthode

Dès le signalement, une enquête exploratoire auprès des patients a été réalisée par la Cire. Le 22 juin, les 7 patients hospitalisés ont été interrogés en face à face ou par téléphone à partir du questionnaire standard pour l'investigation de suspicion de cas groupés liés à des infections à STEC. L'objectif était de déterminer un élément commun aux différents cas, en termes d'activité, de lieu de fréquentation ou de consommation d'aliment à risque (produits carnés consommés crus ou insuffisamment cuits, produits laitiers au lait cru et végétaux consommés crus). Les éléments recueillis ont mis en évidence une zone géographique de résidence d'environ 2 km<sup>2</sup>, commune à 6 cas sur 7, et permis d'écarter le lien avec l'épisode de cas groupés de SHU survenu en juin dans le nord de la France suite à la consommation de steaks hachés surgelés [3].

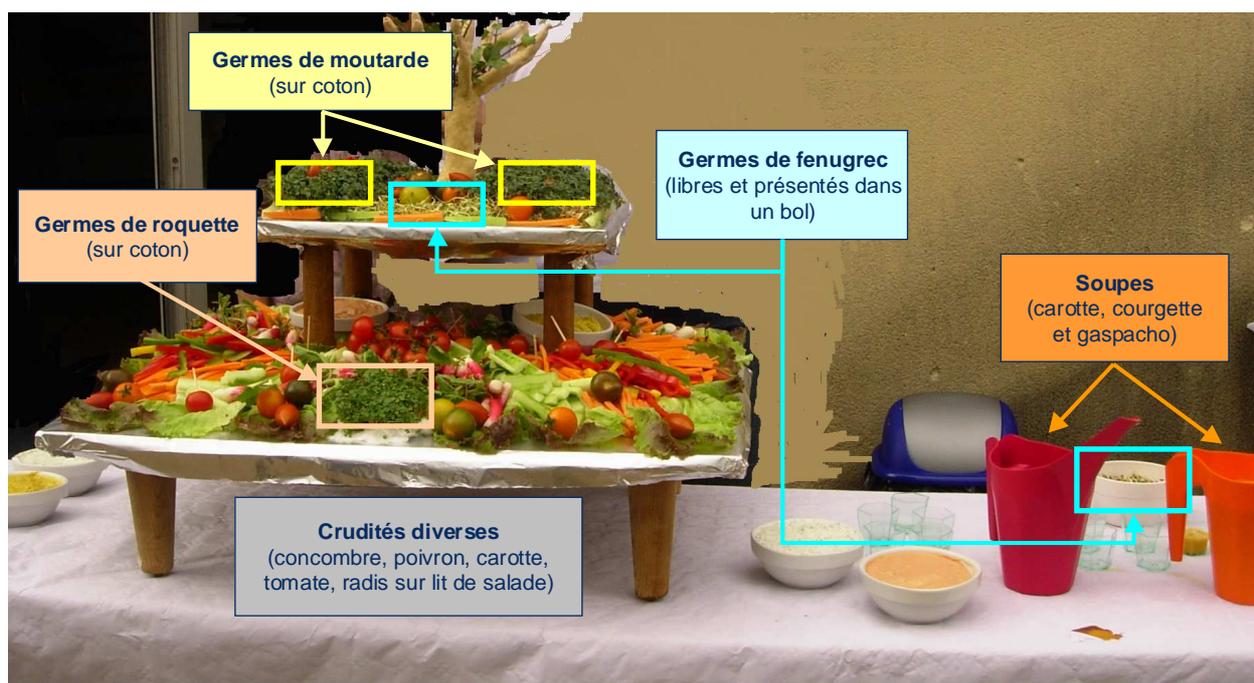
Le 23 juin, compte tenu de l'absence d'exposition commune, de la prédominance des femmes adultes parmi les cas et de l'épidémie récente d'infections à *E. coli* O104:H4 liée à la consommation de graines germées en Allemagne [4-5], un second questionnaire explorant en détail la consommation de végétaux crus dans les deux semaines précédant la maladie a été administré en face à face aux 5 patients hospitalisés en mesure d'être interrogés. La fréquentation commune d'un centre de loisirs de la ville de Bègles et la consommation de graines germées lors d'une journée portes-ouvertes le 8 juin ont alors été retrouvées comme point commun entre les cas.

Afin de s'assurer que le phénomène était localisé aux environs de la commune de Bègles, une recherche active d'autres cas de diarrhée sanglante ou SHU a été réalisée auprès de SOS Médecins, des services des urgences, de néphrologie et de soins intensifs des hôpitaux de la région. Une surveillance renforcée des cas de diarrhée sanglante ou de SHU a été mise en œuvre via le réseau de surveillance du SHU pédiatrique en France (31 établissements). Les actions menées n'ont pas permis de rapporter de nouveaux cas en lien avec cet épisode, confirmant que le phénomène était localisé sur Bègles et les communes à proximité.

### Point de vue sur « l'alerte » et la culture du signalement

Par Eric d'Andigné, chef de Service des urgences, Hôpital d'instruction des armées (HIA) Robert Picqué

« Il existe une véritable culture collective du médecin du Service de santé des armées, par nature au service d'une collectivité et de la nation. De part sa formation spécifique en épidémiologie et son exercice professionnel régulier de santé publique en milieu tropical, il est un acteur habitué au signalement. Confronté au quotidien à un flux spontané incessant de patients, l'urgentiste hospitalier est informé dès l'apparition de "cluster" et par conséquent un acteur déterminant de l'alerte. »



| Figure 1 |

Buffet proposé au centre de loisirs le 8 juin, épidémie d'infections à *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) O104:H4, Gironde, juin 2011 (Source : centre loisirs de Bègles)

Suite aux résultats de l'enquête exploratoire incriminant la consommation de graines germées lors de la journée portes-ouvertes du 8 juin du centre de loisirs, une enquête épidémiologique a été mise œuvre le 28 juin par l'InVS auprès de l'ensemble des personnes ayant participé à cette journée.

La journée du 8 juin avait été organisée à l'occasion de la fin d'année où des activités étaient organisées. Vers 16h, les parents qui venaient chercher leurs enfants se voyaient proposer un buffet froid (préparé par le centre de loisirs) composé de crudités, soupes froides et graines germées

(Figure 1). Après le buffet, en fin de journée, les personnes qui le souhaitent pouvaient amener leur pique-nique.

L'ensemble des personnes identifiées comme ayant participé à cette journée (organiseurs de la journée, enfants et parents ou personnes autorisées à venir chercher les enfants) ont été informés de la réalisation de l'enquête par un courrier de l'Agence régionale de santé (ARS) distribué le 28 juin par la mairie de Bègles. Le nombre de participants à la journée avait été estimé à environ 200 selon la liste fournie par la direction du centre de loisirs.

Du 29 juin au 1<sup>er</sup> juillet, des épidémiologistes de l'InVS ont administré par téléphone (en face à face pour les cas hospitalisés) un questionnaire portant sur les caractéristiques sociodémographiques, la consommation alimentaire, la participation aux différentes activités proposées lors de la journée ainsi que la survenue de symptômes digestifs.

Un cas primaire a été défini comme toute personne ayant participé à la journée portes-ouvertes ET ayant présenté un SHU ou une diarrhée sanglante ou un épisode de diarrhée (plus de 3 selles par jour ou de durée d'au moins 2 jours) entre le 8 et le 23 juin 2011. Un cas a été considéré comme confirmé lorsqu'une infection à STEC O104 a été mise en évidence par sérologie ou par isolement d'une souche de STEC O104:H4 dans les selles.

Un cas secondaire a été défini comme une personne ayant eu des contacts avec un cas primaire ET ayant présenté des diarrhées ou un SHU après au moins 1 jour après un cas ET qui n'a pas consommé de graines germées du buffet.

Une description de l'ensemble de la population participante a été réalisée (description des signes cliniques, taux d'attaque par âge et par sexe). Afin d'étudier l'association entre l'aliment consommé et la survenue de la maladie, les analyses ont concerné les adultes uniquement. Les enfants, qui n'avaient normalement pas accès au buffet s'ils n'étaient pas accompagnés, ont été exclus étant donné le manque de fiabilité de l'information sur leur consommation. Les adultes ayant présenté des signes digestifs mineurs ne correspondant pas à la définition de cas ont été également exclus. L'association a été mesurée par un risque relatif (RR) et son intervalle de confiance (IC) à 95 % à partir d'un modèle de régression de Poisson. La variable « sexe » a été conservée dans le modèle en tant que variable d'ajustement.

## 2.2. Résultats

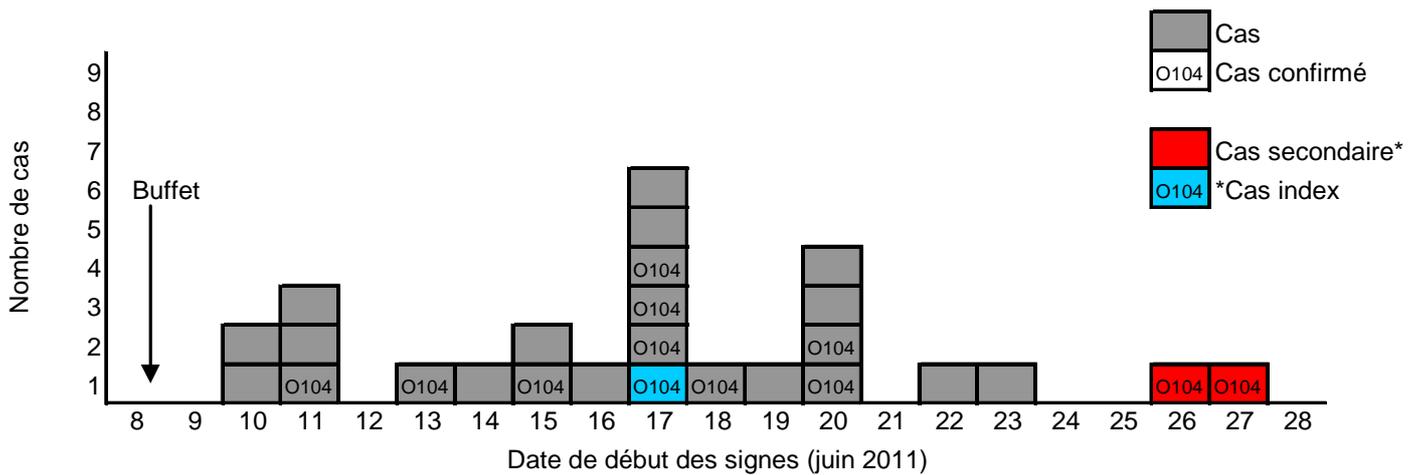
Sur les 96 foyers identifiés dans la liste fournie, 93 ont été contactés. Au total, 169 personnes ayant participé à la journée ont été interrogées dont 24 organisateurs ; 60 % (n=102) étaient des femmes, 48 % (n=81) des enfants âgés en moyenne de 4,6 ans et 52 % (n=88) des adultes âgés en moyenne de 38,8 ans.

Vingt-quatre cas primaires ont été identifiés, dont 10 confirmés, soit un taux d'attaque de 14,2 %. Parmi eux, 2 étaient des enfants âgés de 6 et 7 ans, et 22 des adultes âgés de 24 à 65 ans. Le taux d'attaque était plus élevé chez les femmes que chez les hommes (17,6 % vs 8,9 %). Parmi les cas, 7 ont développé un SHU, 5 présentaient des diarrhées sanglantes et 12 des épisodes de diarrhée ; 8 ont été hospitalisés (7 adultes avec un SHU et 1 enfant avec épisode de diarrhée). Le premier cas a présenté des signes le 10 juin et le dernier le 23 juin, le pic épidémique ayant été observé le 17 juin (Figure 2). Le délai médian d'incubation était de 9 jours (min-max : 2-15). L'intervalle médian entre la date de début des diarrhées et la date de SHU, qui a pu être calculé pour 7 cas, était de 6 jours (min-max : 3-10).

### Point de vue sur la prise en charge en milieu libéral

Par Bertrand Tisné, médecin généraliste de la ville de Bègles

« Comment savoir dès les premiers cas isolés qu'il s'agit d'une affection collective grave ? Un retour rapide de l'information de l'hôpital vers le médecin généraliste, comme cela a été le cas ici, est indispensable. Ceci plaide pour l'utilisation de la codification des consultations par le médecin généraliste s'il est informatisé. Un logiciel adapté permettrait un recensement et un dépistage rétrospectif des tous premiers cas. »



| Figure 2 |

**Courbe épidémique des cas selon la date de début des signes (26 cas dont 2 secondaires), épidémie d'infections à *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) O104:H4, Gironde, juin 2011**

Deux cas secondaires (transmission de personne à personne) dans un seul foyer ont été rapportés dans le cadre de cette épidémie. En effet, ils ont développé des symptômes 9 et 10 jours après la date de début des signes du cas index (en bleu sur la figure 2), et plus de 15 jours après la journée portes-ouvertes. Ces cas ont développé un SHU. Une infection à STEC O104:H4 a été confirmée pour ces 2 patients, élevant le nombre total de cas confirmés à 12. Une description complète de ces cas et de cette transmission est présentée dans le second article de ce BVS et a été publié par ailleurs [6].

Parmi les 88 adultes interrogés, l'analyse univariée de la relation entre la consommation de chaque aliment lors du buffet et la survenue de cas n'a pas fait ressortir un aliment en particulier. De nombreux aliments étaient significatifs mais l'association avec la maladie était plus forte pour les graines germées avec le risque relatif le plus important (RR=6,4 ; IC 95 % : 2,6-15,7). L'analyse multivariée a permis de mettre en évidence une association forte et significative liée à la consommation d'un seul aliment, les graines, avec un RR de 4,2 (IC 95 % : 1,7-10,0) (Tableau 1). La consommation des autres aliments et la participation aux activités proposées lors de la journée n'étaient pas significativement associées à la maladie.

| Tableau 1 |

**Résultats de l'analyse multivariée (n=64), épidémie d'infections à *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) O104:H4, Gironde, juin 2011**

Variable	RR <sup>1</sup>	IC 95 % <sup>2</sup>	p-value
Graines germées (sans précision sur le type)	4,2	1,7-10,0	0,001
Gaspacho	2,4	0,9-6,4	0,082
Carotte	2,3	0,8-7,1	0,135
Eau bouteille	2,0	0,8-5,2	0,139
Mayonnaise	1,7	0,8-3,3	0,145
Poivron vert	0,4	0,1-1,3	0,151
Sexe	1,1	0,4-3,3	0,809

<sup>1</sup> RR : Risque relatif ; <sup>2</sup> IC 95 % : Intervalle de confiance à 95 %

Afin de distinguer les trois types de graines germées consommés, un modèle supplémentaire a été construit ; seules les graines de fenugrec bio étaient significativement associées à la survenue des cas (RR=5,1 ; IC 95 % : 2,3-11,1). Par ailleurs, le taux d'attaque chez les 21 adultes ayant consommé du fenugrec bio était similaire chez les hommes (57 %) et chez les femmes (64 %), sans différence significative. Enfin, aucune des personnes ayant pris part aux préparatifs du buffet n'a rapporté de diarrhée dans le mois précédant l'événement et n'avait récemment voyagé en Allemagne ou eu de contacts avec une personne malade ayant séjourné en Allemagne.

### 3. Analyses microbiologiques de la souche épidémique

Des prélèvements de selles et de sérums ont été envoyés et analysés par le CNR *E. coli* et *Shigella* et son laboratoire associé. La présence des gènes codant pour les facteurs de virulence des STEC et les facteurs de virulence de la forme enteroaggregative d'*E. coli* ont été recherchés par PCR. Une infection à STEC O104 a été confirmée chez 12 cas dont 11 cas avec une souche de STEC O104:H4. La comparaison génomique des souches épidémiques des foyers français et allemand liés à STEC O104:H4, en 2011, a montré que ces souches étaient génétiquement liées [7].

### 4. Investigation environnementale et traçabilité des aliments

#### 4.1. Prélèvements d'eau

Le 23 juin, lendemain du signalement, la délégation territoriale de Gironde à l'ARS a été sollicitée pour réaliser une analyse du réseau d'adduction d'eau publique où résidaient les premiers cas identifiés. Cinq prélèvements ont été réalisés pour analyse bactériologique. Des prélèvements ont également été réalisés le 27 juin au niveau du centre de loisirs (eau du puits, eau du récupérateur et eau du robinet). Les analyses du Laboratoire national de référence (LNR) de l'école vétérinaire de Lyon n'ont pas mis en évidence de STEC.

#### 4.2. Enquête de traçabilité des aliments

Les enquêtes de traçabilité des aliments servis lors du buffet ont débuté le 24 juin avec des prélèvements de graines au centre de loisirs et dans la jardinerie d'achat par la Direction départementale de la protection de la population de Gironde. Des restes de graines (roquette, betterave rouge, adzuki, oignon) et de gaspacho (servi avec graines germées) prélevés

au centre de loisirs ont été envoyés pour analyse au LNR. En suivant, des prélèvements de graines (roquette, fenugrec bio et moutarde) ont été réalisés dans la jardinerie d'achat et dans une autre jardinerie de même enseigne. Au 7 juillet, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) rapportait que tous les prélèvements effectués étaient négatifs à STEC O104:H4 [8]. Les graines vendues dans la jardinerie d'achat provenaient d'un distributeur britannique, lui-même approvisionné par un grossiste allemand se fournissant en Egypte. Les investigations de traçabilité ont permis de mettre en évidence que ce grossiste était le même que celui qui avait fourni les graines impliquées en Allemagne [8]. L'European food safety authority (EFSA) confirmera que le lot de graines de fenugrec est le lien le plus probable entre les deux épidémies [9].

#### Point de vue sur la traçabilité des graines

Par Yves Charles, directeur de la Direction départementale de la protection des populations de Gironde

*« L'action de la DDPP, action de terrain dans la recherche des causes d'une toxi-infection alimentaire collective, n'est possible que si les recherches en amont sont rapides et efficaces. La DDPP est le plus souvent, dans cette phase d'investigation, le dernier maillon de la chaîne de veille, elle dépend donc très étroitement des autres services. Dans l'épisode épidémique de juin 2011, la qualité des informations recueillies lors de l'enquête épidémiologique menée in situ et les informations en provenance d'Allemagne, ont permis d'identifier rapidement le facteur déclenchant « graine germée » et ont permis à la DDPP locale de remonter rapidement jusqu'aux fournisseurs ou producteurs, permettant ainsi la mise en place de mesures générales d'interdiction de mise en marché des produits susceptibles d'être porteurs de la bactérie *E. coli* O104. »*

### 5. Mesures de contrôle et de prévention

La commission européenne a recommandé le retrait du marché des états-membres des lots de graines de fenugrec importés entre 2009 et 2011 par un exportateur égyptien et de suspendre jusqu'au 31 mars 2012 les importations de graines et de fèves égyptiennes destinées à la germination [10]. Le 12 juillet, la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) a émis un arrêté relatif aux mesures d'urgence applicables aux graines de fenugrec et à certaines graines et fèves importées d'Egypte [11].

## 6. Discussion - Conclusion

Cette épidémie d'infections à STEC O104:H4 survenue sur la ville de Bègles en Gironde en juin 2011 a concerné 26 personnes. Douze d'entre elles ont été confirmées à STEC O104. Les graines germées de type fenugrec bio, consommées lors d'une journée portes-ouvertes d'un centre de loisirs de la ville de Bègles le 8 juin, ont été identifiées comme étant à l'origine de l'épidémie. Cette épidémie partage les mêmes caractéristiques épidémiologiques, cliniques et microbiologiques que celle survenue en Allemagne en mai-juin 2011 [8]. Les similitudes portent notamment sur la souche

STEC O104:H4, la prédominance des adultes parmi les cas, une proportion anormalement élevée de cas de SHU (35 %, 9 cas sur 26), une période d'incubation médiane plus longue (9 jours) que dans les épidémies d'infection à STEC en général. Bien que les analyses de graines n'aient pas retrouvé de STEC O104:H4, l'enquête de traçabilité a mis en évidence un lot de graines de fenugrec importées d'un même producteur Egyptien comme source de contamination commune entre les épisodes de Bègles et en Allemagne. Concernant l'origine de la contamination, plusieurs hypothèses peuvent être avancées mais une contamination des graines lors de leur production ou conditionnement en Egypte est la plus probable [8].

### Bilan de l'épidémie d'infections à STEC O104:H4, Gironde, juin 2011

- 26 cas dont 9 cas de SHU (35 %)
  - 24 cas primaires dont 7 cas de SHU
    - 22 adultes (âgés de 24 à 65 ans) et 2 enfants (âgés de 6 et 7 ans)
    - Sexe ratio femme/homme : 3
  - 2 cas secondaires de SHU : 1 adulte et 1 enfant au sein d'un même foyer
- 12 cas confirmés STEC O104 dont 11 avec une souche STEC O104:H4 (souche génétiquement reliée à l'épidémie d'Allemagne en mai-juin 2011)
- Consommation de graines fenugrec associée à la maladie
- Lot de graines de fenugrec bio importé d'Egypte commun aux épidémies de Gironde et d'Allemagne

## 7. Références

[1] Gault G, Weill FX, Mariani-Kurkdjian, et al. Outbreak of haemolytic uraemic syndrome and bloody diarrhoea due to *Escherichia coli* O104:H4, south-west France, June 2011. *Euro Surv* 2011; 16: pii=19905. Disponible sur <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19905>

[2] Buchholz U, Bernard H, Werber D, et al. German Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with Sprouts. *N Engl J Med*. 26 Oct 2011 [Epub ahead of print]. doi:10.1056/nejmoa1106482.

[3] Cas groupés de syndrome hémolytique et urémique (SHU) Nord, juin 2011 - Point au 8 juillet 2011. Disponible sur <http://www.invs.sante.fr/>

[4] Frank C, Faber MS, Askar M, et al. Large and ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome, Germany, May 2011. *Euro Surveill*. 2011;16(21):pii=19878. Disponible sur <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19878>

[5] Frank C, Werber D, Cramer JP, et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 22 Jun 2011 [Epub ahead of print]. doi:10.1056/nejmoa1106483.

[6] Aldabe B, Delmas Y, Gault G, et al. Household transmission of haemolytic uraemic syndrome associated with *Escherichia coli* O104:H4, south-western France, June 2011.

*Euro Surv* 2011; 16: pii=19934. Disponible sur <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19934>

[7] Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, Gault G, Jourdan-Da Silva N, Weill FX. *Escherichia coli* O104:H4 south-west France, June 2011. *Lancet Infect Dis* 2011. In publication.

[8] Avis du 7/07/11 de l'Anses relatif à l'état des connaissances scientifiques et aux informations disponibles permettant de formuler des recommandations, suite à la survenue de plusieurs cas de SHU observés en France en juin 2011, suspectés d'être liés à la consommation de graines germées. Disponible sur <http://www.anses.fr/Documents/MIC2011sa0158.pdf>

[9] European Food Safety Association. Tracing seeds, in particular fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds, in relation to the STEC O104:H4 2011 Outbreaks in Germany and France. Technical report of EFSA 2011. Disponible sur <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/176e.pdf>

[10] Europa press releases rapid. Disponible sur <http://europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=MEX/11/1018&format=HTML&aged=0&language=EN&guiLanguage=en>

[11] Arrêté du 12/07/11 relatif aux mesures d'urgence applicables aux graines de fenugrec et à certaines graines et fèves importées d'Egypte. Disponible sur <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT00024358240>