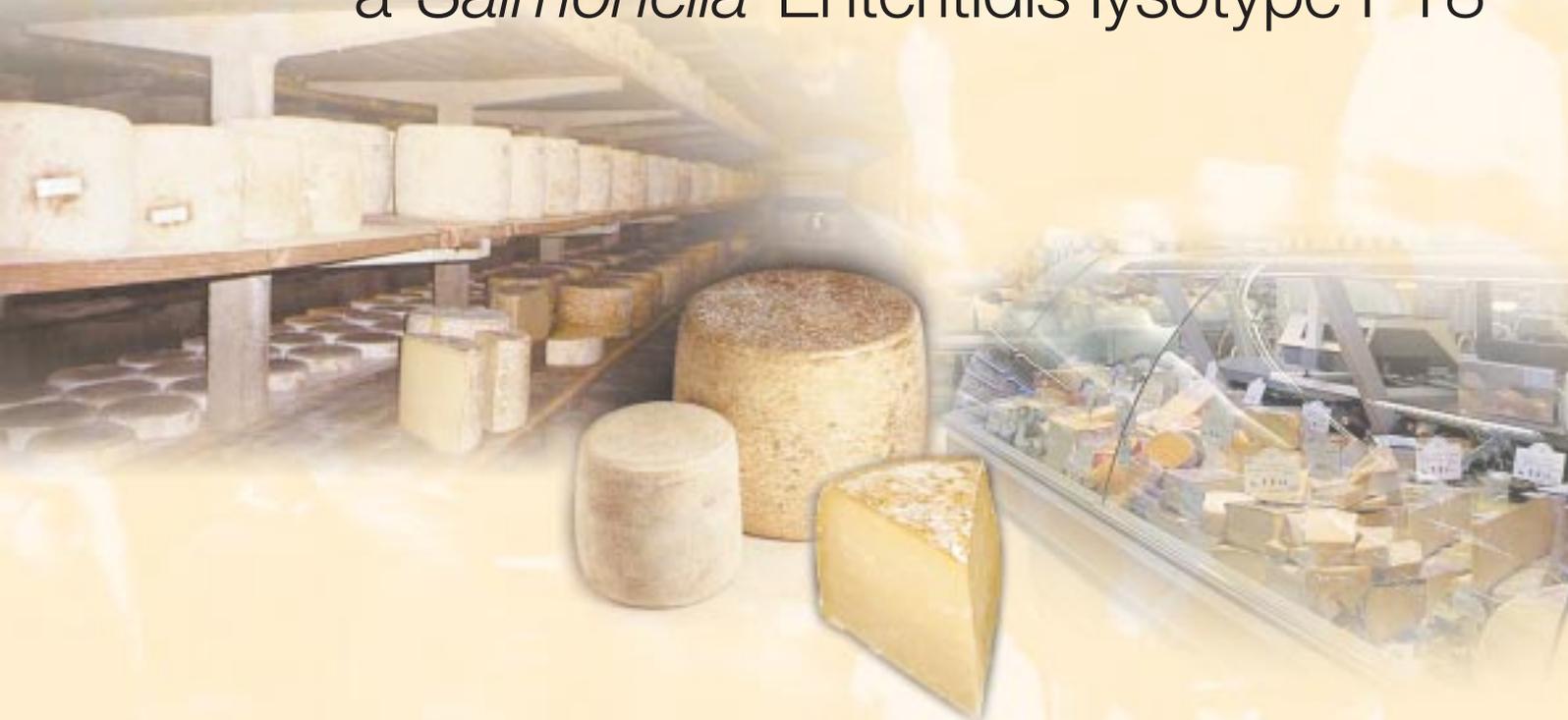


Deux épidémies de

# salmonellose

à *Salmonella* Enteritidis lysotype PT8



liées à la consommation de

**Cantal au lait cru.**

Aveyron, Cantal, Lot.

Juin - Octobre 2001





Deux épidémies de

# salmonellose

à *Salmonella* Enteritidis lysotype PT8



liées à la consommation de

## **Cantal au lait cru.**

Aveyron, Cantal, Lot.

Juin - Octobre 2001





# Institutions et personnes ayant contribué aux investigations

## **Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) de l'Aveyron**

L. Deroudille, F. Couffignal

## **Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) du Cantal**

O. Bagnis, Mme Mazet

## **Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) du Lot**

C. Hervy, F. Omez

## **Cellule Interrégionale d'Epidémiologie (CIRE) sud-ouest, Toulouse**

P. Sulem, C. Hemery

## **Direction Départementale des Services Vétérinaires (DDSV) du Cantal**

E. Vanneroy-Adenot

## **Direction Départementale des Services Vétérinaires (DDSV) de l'Aveyron**

C. Alauzet

## **Direction Départementale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DDCCRF) du Cantal**

G. Mercier

## **Direction Départementale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DDCCRF) de l'Aveyron**

N. Pouyet

## **Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella* (CNRSS), Institut Pasteur, Paris**

P. Bouvet

## **Centre National de Référence du Typage Moléculaire des Entérobactéries (CNRTME), Institut Pasteur, Paris**

F. Grimont

**Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur l'Hygiène et la Qualité des Aliments (LERQHA)  
Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments**

Brisabois, R. Lailler

**Direction Générale de l'Alimentation (DGAI.)**

F. Le Querrec, G. Charlat

**Direction Générale de Départementale de la Concurrence de la Consommation et de la  
Répression des Fraudes (DGCCRF)**

N. Quelquejeu

**Institut de Veille Sanitaire**

S. Haeghebaert, V. Vaillant, E. Espié, D. Che, H. De Valk

Rapport rédigé par : S. Haeghebaert et P. Sulem

**Remerciements** : aux médecins généralistes et hospitaliers, aux biologistes des laboratoires des départements de l'Aveyron, du Cantal et du Lot et aux familles pour leur contribution aux investigations



# Sommaire

<b>Résumé</b> .....	<b>7</b>
<b>Alerte</b> .....	<b>9</b>
<b>Méthodes</b> .....	<b>11</b>
1. Enquêtes épidémiologiques .....	11
2. Enquêtes vétérinaires et environnementales .....	12
3. Enquêtes microbiologiques .....	12
<b>Résultats</b> .....	<b>13</b>
1. Analyse descriptive .....	13
2. Enquêtes analytiques .....	15
3. Enquêtes vétérinaires et environnementales .....	18
4. Enquêtes microbiologiques .....	20
<b>Discussion</b> .....	<b>23</b>
<b>Recommandations</b> .....	<b>27</b>
<b>Références</b> .....	<b>29</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>31</b>



## Résumé

**M**i-juillet 2001, 3 biologistes et un médecin généraliste de l'Aveyron signalaient à la DDASS un nombre anormalement élevé de cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis, observés depuis le début du mois de juin 2001. Des enquêtes épidémiologiques ont été mises en œuvre afin d'identifier l'origine et la source de l'épidémie et de proposer des mesures de contrôle et de prévention adaptées.

Les cas ont été recherchés auprès des laboratoires publics et privés de l'Aveyron, du Cantal et du Lot et du Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*. Deux témoins, tirés au sort dans l'annuaire téléphonique, ont été recherchés pour chaque cas sur la même commune de résidence. Les cas et les témoins ont été interrogés par téléphone à l'aide d'un questionnaire standardisé. Les circuits d'approvisionnement des magasins où les cas avaient acheté l'aliment suspecté ont été reconstitués à partir de la liste des fournisseurs. Les souches d'origine humaine et celles isolées de l'aliment incriminé ont été caractérisées par lysotypie et comparées par la technique de macro-restriction de l'ADN.

Du 1<sup>er</sup> juin au 31 juillet 2001, 190 cas d'infection à *Salmonella* Enteritidis ont été recensés lors d'une première épidémie, dans les départements de l'Aveyron, du Cantal, du Lot, de la Corrèze et du Tarn et Garonne. Les enquêtes cas-témoins ont montré que la consommation de Cantal jeune (< 2 mois d'affinage) était significativement associée à la maladie (OR = 11,2 ; 95 % CI 2,6 - 66,2). L'analyse des circuits de distribution et d'approvisionnement des lieux d'achat des cas a permis d'identifier un producteur « A » de fromages, commun à tous les lieux d'achat des cas. Les analyses réalisées sur des fromages prélevés dans les magasins et chez le producteur « A » incriminé se sont révélées positives à *Salmonella* Enteritidis. Les souches d'origine humaine et celles isolées de fromage Cantal appartenaient au lysotype PT8 et présentaient un profil identique, en macro-restriction de l'ADN.

Une deuxième bouffée épidémique de 25 cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis est survenue du 15 au 31 octobre 2001 dans l'Aveyron. L'enquête cas-témoins a montré que seule la consommation de Cantal jeune était significativement associée à la maladie (OR = 4.1 ; 95 % CI 1.1-15). La majorité des souches d'origine humaine étudiées appartenaient au lysotype PT8 et présentaient le même profil en macro-restriction de l'ADN que les souches d'origine humaine et alimentaire isolées lors de la 1<sup>ère</sup> épidémie. L'analyse des circuits de distribution et d'approvisionnement des lieux d'achat des cas a permis d'identifier un grossiste affineur « B », commun à tous les lieux d'achat des cas. Les fromages commercialisés par le grossiste « B » provenaient de producteurs différents du producteur « A » à l'origine de la première épidémie. Cependant, au moment de la survenue de la 2<sup>ème</sup> épidémie, ce grossiste avait encore en stock dans ses caves des fromages, en attente de destruction, saisis lors de la première épidémie.

Les résultats des investigations indiquent ces deux épisodes épidémiques étaient liés à la consommation de Cantal au lait cru. La première épidémie était liée à la contamination persistante par *Salmonella* Enteritidis dans un établissement de production de Cantal. Une contamination par la souche épidémique dans un autre établissement de production de Cantal ou une contamination croisée dans la cave de l'affineur sont les deux hypothèses avancées lors de la deuxième épidémie.



## Alerte

Le 11/07/2001, deux biologistes des laboratoires des centres hospitaliers de Rodez et Decazeville et un biologiste d'un laboratoire privé de la banlieue de Rodez signalaient, simultanément et indépendamment, au Médecin Inspecteur de Santé Publique (MISP) de la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) de l'Aveyron, un nombre anormalement élevé de cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis, observés depuis le début du mois de juin 2001. Parallèlement, un médecin généraliste de la banlieue de Rodez signalait également à la DDASS, 4 cas de gastro-entérite à *Salmonella* Enteritidis survenus depuis le début du mois de juillet. L'origine de ces signalements était groupée dans le nord du département de l'Aveyron.

Le jour même, une télécopie a été envoyée par la DDASS, à tous les laboratoires d'analyses médicales du nord de l'Aveyron, leur demandant de signaler tous les cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis, diagnostiqués depuis le 1<sup>er</sup> juin 2001.

Le 12 juillet, les réponses des laboratoires permettaient de recenser 70 cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis, survenus depuis le début du mois de juin. La DDASS a aussitôt alerté la Cellule Interrégionale d'Epidémiologie (CIRE) du sud-ouest et la Direction des Services Vétérinaires de l'Aveyron.

Le 13 juillet, la Préfecture de l'Aveyron fut informée par la DDASS d'une probable épidémie de salmonellose dans ce département et le même jour, la CIRE alertait l'Institut de Veille Sanitaire (InVS).

Consulté par l'InVS, le Centre National de Référence des *Salmonella* et des *Shigella* (CNRSS), Institut Pasteur, Paris, a confirmé, pour le département de l'Aveyron, l'augmentation du nombre des isollements de salmonelles, transmis par les laboratoires depuis le début du mois de juin, et a signalé, par ailleurs, une augmentation concomitante du nombre des souches transmises par les laboratoires des départements du Cantal et du Lot, limitrophes de l'Aveyron (28 isollements de *Salmonella* reçus de l'Aveyron en juin-juillet 2001 versus 16 souches en juin-juillet 2000, 19 isollements de *Salmonella* reçus du Cantal en juin-juillet 2001 versus 2 souches en juin-juillet 2000, 8 isollements de *Salmonella* reçus du Lot en juin-juillet 2001 versus 2 souches en juin-juillet 2000). Les DDASS du Cantal et du Lot ont aussitôt été alertées par l'InVS et un recensement des cas auprès des laboratoires a été aussitôt initié.

Depuis le début du mois de juin, aucun foyer de cas groupés ou de toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *Salmonella* Enteritidis n'avait été déclaré aux autorités sanitaires des départements de l'Aveyron ou du Cantal.

Une enquête épidémiologique a été mise en œuvre par les DDASS concernées, en collaboration avec la CIRE sud-ouest et l'InVS, afin de confirmer la nature épidémique du phénomène, d'en mesurer l'importance, de générer des hypothèses sur l'origine et la source de l'épidémie et de proposer des mesures de contrôle et de prévention adaptées.





# Méthodes

## 1. Enquêtes épidémiologiques

### *Définition de cas*

Un cas a été défini comme toute personne ayant eu, depuis le 1<sup>er</sup> juin 2001, un isolement de *Salmonella* Enteritidis, à l'occasion d'un épisode infectieux aigu (gastro-entérite ou septicémie), dans un laboratoire de l'Aveyron, du Cantal ou du Lot.

### *Recherche des cas*

Les cas ont été recherchés rétrospectivement et prospectivement auprès des laboratoires publics et privés des départements de l'Aveyron, du Cantal, du Lot et du CNRSS.

### *Enquêtes exploratoires*

Des enquêtes alimentaires exploratoires ont été réalisées auprès d'un échantillon des cas signalés (les 13 et 14 juillet) dans l'Aveyron, dans le Cantal (les 17 et 18 juillet) et dans le Lot (le 19 juillet). Les cas ont été interrogés par téléphone, à l'aide d'un questionnaire standardisé, par les épidémiologistes des DDASS et de la CIRE sud-ouest, sur leur consommation alimentaire dans les 3 jours précédant le début des signes ou à défaut sur leurs habitudes alimentaires des 15 jours précédant la salmonellose.

### *Enquêtes cas-témoins*

Des enquêtes cas-témoins ont été réalisées afin de tester les hypothèses générées par les enquêtes exploratoires. Ces enquêtes cas-témoins ont été conduites dans l'Aveyron et le Cantal (du 16 au 19 juillet) pour l'épisode épidémique survenu en juin-juillet et dans l'Aveyron pour l'épisode épidémique survenu en octobre 2001.

Les cas, inclus dans les enquêtes cas-témoins, étaient les cas de l'Aveyron et du Cantal, interrogés lors des enquêtes exploratoires et d'autres cas interrogés ultérieurement. Seuls les cas primaires (premier cas dans la famille) ou co-primaires (survenus entre 3 jours avant ou 3 après) ont été interrogés.

Deux témoins ont été recherchés pour chaque cas sur la même commune de résidence. Les témoins ont été sélectionnés par tirage au sort dans l'annuaire téléphonique. Dans chaque foyer, le témoin choisi était, dans la mesure du possible, la personne dont l'âge était le plus proche du cas correspondant. Les témoins devaient ne pas avoir présenté de gastro-entérite ou d'épisode fébrile dans le mois précédant la survenue des symptômes du cas correspondant.

Un nouveau questionnaire alimentaire, recentré en fonction des hypothèses générées par l'enquête exploratoire, a été administré par téléphone aux cas et aux témoins. Les témoins ont été interrogés sur leur habitudes alimentaires des quinze jours avant la date de survenue des symptômes du cas correspondant.

## Analyse statistique

Le taux d'attaque global et par département a été calculé à partir des données du recensement de 1999 (INSEE).

L'analyse des données a été effectuée sur Epi Info version 6.04cfr (CDC Atlanta, OMS Genève). La force de l'association entre l'aliment étudié et la maladie est donnée par l'Odds Ratio (OR), calculé par l'estimation du maximum de vraisemblance. La précision de l'OR est donnée par son intervalle de confiance à 95 % (limite exacte pour estimation du maximum de vraisemblance). La stabilité de l'association a été testée par le test du  $\chi^2$ .

## 2. Enquêtes vétérinaires et environnementales

Menée en coordination avec les enquêtes épidémiologiques, les enquêtes vétérinaires et de traçabilité ont été réalisées, par les Services Vétérinaires (DDSV) des départements de l'Aveyron et du Cantal et les services départementaux de la Consommation de la Concurrence et de la Répression des Fraudes (DDCCRF) du Cantal et de l'Aveyron. Un plan de prélèvements alimentaires dans les magasins des cas a été aussitôt mis en place par la DDCCRF de l'Aveyron et une reconstitution des circuits d'approvisionnement a été réalisée par les services vétérinaires de l'Aveyron et du Cantal, à partir de la liste des fournisseurs des magasins, cités comme lieux d'achat par les cas interrogés.

Les enquêtes visant à déterminer l'origine de la contamination ont été réalisées par les services vétérinaires du Cantal dans les établissements de production et d'affinage des fromages.

Le rappel et la gestion des lots consignés ont été organisés par les services vétérinaires du Cantal en coordination avec la Direction Générale de l'Alimentation (DGA).

Les enquêtes dans les élevages ont été menées par le Comité Interprofessionnel des Fromages (CIF) du Cantal en liaison avec les services vétérinaires.

## 3. Enquêtes microbiologiques

### Au CNRSS

Les souches d'origine humaine de *Salmonella* Enteritidis, isolées dans l'Aveyron, le Cantal et le Lot entre le 1<sup>er</sup> mai 2001 et le 26 novembre 2001 et transmises au Centre National de Référence des *Salmonella*, ont été typées au Centre National de Référence du Typage Moléculaire des Entérobactéries (CNRTME) en utilisant le système de lysotypie de Londres [1].

Les souches d'origine alimentaire, animale ou environnementale reçues des départements du Cantal et de l'Aveyron au Laboratoire de Recherches sur l'Hygiène et la Qualité des Aliments (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (LERQHA, AFSSA, Maisons-Alfort) ont été transmises pour typage au CNRTME.

### Au LERQHA (AFSSA)

Un échantillon de souches *Salmonella* Enteritidis d'origine humaine a été transmis par le CNRSS au LERQHA (AFSSA) afin d'y être comparées avec les souches d'origine alimentaire, animale et environnementale de *Salmonella* Enteritidis isolées dans le Cantal et l'Aveyron, par la technique du typage moléculaire en champ pulsé après macro restriction de l'ADN par l'enzyme Xba1 [2].

# Résultats

## 1. Analyse descriptive

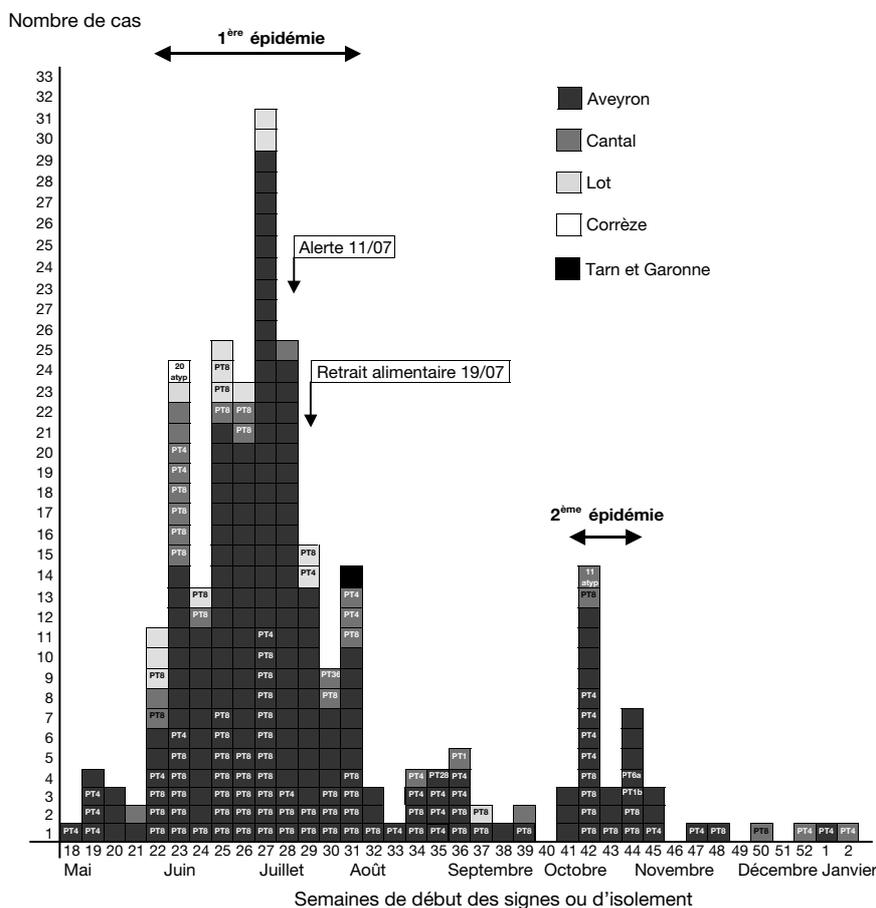
### Temps

Deux épisodes épidémiques à *Salmonella* Enteritidis ont été détectés entre le 1<sup>er</sup> juin et le 31 octobre 2001.

Cent quatre vingt dix cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis ont été recensés lors de la première épidémie, du 1<sup>er</sup> juin au 31 juillet 2001, dans les départements de l'Aveyron, du Cantal, du Lot, de la Corrèze et du Tarn et Garonne. L'aspect de la courbe épidémique suggérait une source commune et persistante de contamination avec une augmentation brutale du nombre des cas, observée à partir de la semaine 22 (début juin), un pic épidémique correspondant à la semaine 27 (1<sup>ère</sup> semaine de juillet) et une diminution du nombre des cas à partir de la semaine 29 (fig. 1).

Une deuxième bouffée épidémique de 25 cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis est survenue du 15 au 31 octobre dans l'Aveyron et l'aspect de la courbe épidémique suggérait une source ponctuelle de contamination (fig. 1).

**FIGURE 1. Cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis selon la semaine de début des signes ou la semaine d'isolement et le lysotype. Aveyron, Cantal, Lot. Juin-octobre 2001.**

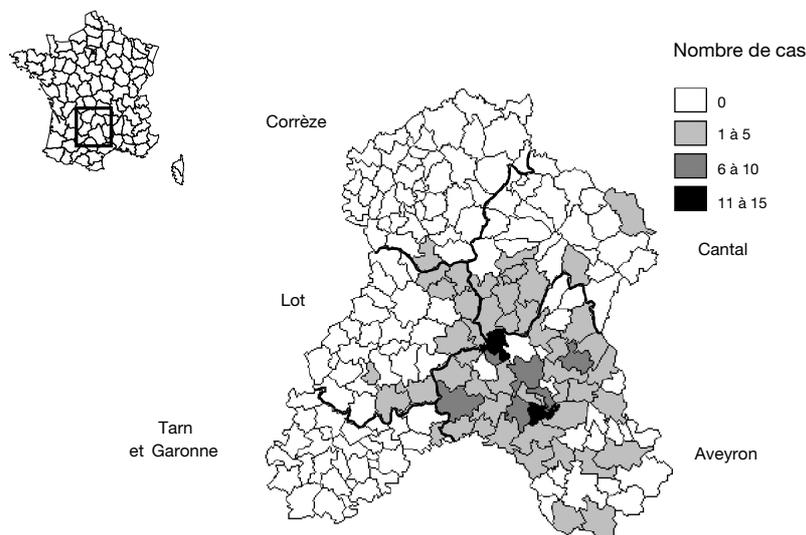


## Lieu

Parmi les 190 cas recensés lors du 1<sup>er</sup> épisode épidémique, 155 cas (81 %) ont été recensés dans l'Aveyron, 20 cas (11 %) dans le Cantal, 13 cas (7 %) dans le Lot, 1 cas (0,5 %) en Corrèze et 1 cas (0,5 %) dans le Tarn et Garonne. Les deux derniers cas dont le diagnostic de salmonellose avait été réalisé dans deux laboratoires du Lot et de l'Aveyron résidaient dans des communes de Corrèze et du Tarn et Garonne, limitrophes du Lot et de l'Aveyron. Les cas étaient regroupés dans le nord du département de l'Aveyron, le sud-ouest du Cantal et l'est du Lot (fig. 2). Le taux d'attaque calculé pour les 3 départements était globalement de 327 cas par million d'habitants. Le taux d'attaque le plus élevé a été retrouvé l'Aveyron (587 cas par million d'habitants) suivi du Cantal (132 cas par million d'habitants) et du Lot (81 cas par million d'habitants).

Lors du 2<sup>ème</sup> épisode épidémique d'octobre 2001, 22 cas ont été recensés dans l'Aveyron, 2 cas dans le Cantal et 1 cas résidant dans le département du Lot, diagnostiqué dans un laboratoire de l'Aveyron.

**FIGURE 2. Distribution géographique des cas selon la commune de résidence. *Salmonella* Enteritidis, Aveyron, Cantal, Lot, Corrèze, Tarn et Garonne. Juin-juillet et octobre 2001.**



## Personne

Le sexe ratio homme / femme des cas recensés lors des 2 épisodes épidémiques était de 1,5 (131/88).

Toutes les classes d'âge étaient concernées par des cas (min-max : 10 mois-88 ans, âge médian=34 ans). Le taux d'attaque le plus élevé a été retrouvé dans la classe d'âge des enfants âgés de 0 à 5 ans (tabl. 1).

**TABLEAU 1. Distribution des cas et taux d'attaque selon la classe d'âge. *Salmonella* Enteritidis, Aveyron, Cantal, Lot. Juin-juillet 2001.**

Classes d'âge	Nombre de cas		Population*	Taux d'attaque Pour 100 000
	N	%		
0 à 5 ans	26	24	28 063	93
6 à 14 ans	17	15	54 813	31
15 à 64 ans	43	39	352 024	12
> 65 ans	24	22	139 830	17
Total renseignés	110	100	574 730	19

\* Recensement de 1999

La symptomatologie était renseignée pour 50 cas ; il s'agissait d'un épisode de gastro-entérite fébrile, caractérisé par une fièvre supérieure à 38° (42/50=84 %), des nausées (20/49=41 %), des vomissements (18/49=37 %), des douleurs abdominales (28/35=80 %) et de la diarrhée (47/49=96 %). Un cas de diarrhée sanglante a été rapporté.

*Salmonella* Enteritidis a été isolé dans une coproculture chez 99 % des cas (212/215) et dans une hémoculture chez 1 % des cas (3/215). Les isollements ont été réalisés dans des laboratoires hospitaliers pour 34 % des cas (73/215). Vingt-cinq des 80 cas interrogés (31 %) ont été hospitalisés pour leur salmonellose et un patient fragilisé par l'âge et une pathologie sous-jacente est décédé dans l'Aveyron lors de l'épidémie de juin-juillet 2001.

Seize pour cent des cas (8/49) étaient atteints d'une affection chronique, 6 % (3/49) étaient sous traitements anti-ulcéreux, 8 % (4/48) prenaient un traitement à base de corticoïdes et 20 % des cas (10/49) ont rapporté une prise d'antibiotiques dans le mois précédant la salmonellose.

### *Cas groupés*

Lors de l'épisode épidémique de juin-juillet, 13 foyers de cas groupés (12 foyers familiaux et 1 foyer dans une maison de retraite) ont été identifiés. Seul un foyer familial (8 %) avait fait l'objet d'une déclaration à la DDASS.

Pour 6 foyers, la survenue des cas était concomitante, évoquant une origine alimentaire commune, et pour les sept autres foyers les cas étaient survenus de manière étalée sur une période de 2 semaines.

La taille de ces foyers était comprise entre 2 et 4 cas.

En octobre 2001, un seul foyer familial de 3 cas concomitants de salmonellose a été identifié. Ce foyer n'avait pas fait l'objet d'une déclaration à la DDASS.

## **2. Enquêtes analytiques**

### *Enquêtes alimentaires exploratoires*

En juillet 2001, l'enquête alimentaire exploratoire a porté sur 19 cas dans l'Aveyron, 12 cas dans le Cantal et 4 cas dans le Lot. Trois aliments avaient été consommés par au moins les 3/4 des cas interrogés : poulet (74 %), œufs (88 %) et fromage Cantal (97 %) (tabl. 2). Le poulet et les œufs consommés par les cas provenaient majoritairement de productions familiales (51 % et 54 %), ce qui rendait peu probable l'hypothèse qu'un de ces deux aliments puisse être à l'origine de l'épidémie.

En revanche, le fromage Cantal était le seul aliment consommé par la quasi-totalité des cas de l'Aveyron (95 %) et tous les cas du Lot et du Cantal.

Deux interrogatoires renforçaient cette hypothèse :

- un cas, dont les signes cliniques avaient débuté au retour d'une semaine de vacances dans un autre département, a signalé, lors de l'interrogatoire, avoir emporté pour son séjour du fromage Cantal et de la saucisse sèche, achetés dans l'Aveyron avant son départ.
- un autre cas rapportait qu'il ne consommait que des produits de sa ferme, à l'exception de fromage Cantal acheté dans le commerce.

Lors de l'épisode épidémique survenu en octobre 2001 dans l'Aveyron, l'enquête alimentaire exploratoire, menée auprès de 18 cas de l'Aveyron et un cas détecté dans le Cantal, retrouvait

3 aliments consommés par au moins les 2/3 des cas : jambon (16/19=84 %), œufs (16/19=84 %) dont 8/16 (50 %) provenaient d'élevages familiaux ou fermiers locaux et fromage de type Cantal (13/19=68 %).

**TABLEAUX 2. Fréquences de consommation des aliments des cas de l'Aveyron, du Cantal et du Lot dans les 3 jours précédant la salmonellose. *Salmonella* Enteritidis, Juin-juillet 2001.**

Aliments/Département de survenue	Aveyron		Cantal		Lot		Total	
	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%
Viande bœuf	13/19	68	8/12	67	4/4	100	25/35	71
Viande de veau	9/19	47	9/12	75	0/4	0	18/35	51
Viande de porc	10/19	53	10/11	91	1/4	25	21/34	62
Pâté	6/19	32	6/12	50	1/4	25	13/35	37
Jambon blanc	7/19	37	10/12	83	3/4	75	20/35	57
Jambon de pays	5/19	26	6/12	50	1/4	25	12/35	34
Saucisson sec	7/19	37	4/11	36	0/4	0	11/34	32
Saucisse fraîche	9/19	47	1/12	8	2/4	50	12/35	34
Poulet	15/19	79	4/8	50	4/4	100	23/31	74
Poulet production familiale	13/19	68	2/8	25	1/4	25	16/31	51
Œufs	16/19	84	11/12	92	4/4	100	31/35	88
Œufs de production familiale	9/19	47	7/10	70	2/4	50	18/33	54
Bleu	4/19	21	5/12	42	2/4	50	11/35	31
Roquefort	9/19	47	1/12	8	0/4	0	10/35	28
Gruyère râpé	10/19	53	9/12	75	3/4	75	22/35	63
Fromage de chèvre	3/19	16	2/12	17	1/4	25	6/35	17
Cantal	18/19	95	12/12	100	4/4	100	34/35	97
Cantal jeune	16/19	84	4/10	40	3/4	75	23/33	70
Cantal entre-deux	5/19	26	9/10	90	2/4	50	16/33	48
Laguiole	1/19	5	0/10	0	0/4	0	1/33	3

### Enquêtes cas-témoins

#### Epidémie juin-juillet 2001

Lors de l'épisode épidémique survenu en juin-juillet, une enquête cas-témoins a été conduite simultanément dans les départements de l'Aveyron et du Cantal. Au total, 47 cas et 68 témoins ont été inclus dans l'analyse : 33 cas et 47 témoins dans l'Aveyron, 14 cas et 21 témoins dans le Cantal.

Quatre-vingt quatorze pour cent des cas (44/47) versus 66 % des témoins (45/68) ont rapporté la consommation de fromage de type Cantal. Le risque d'infection à *Salmonella* Enteritidis était significativement plus élevé chez les consommateurs de Cantal que chez les non consommateurs (OR=7,5 ; IC95 % : 2-41,1 ; p=0,0006). Le risque calculé pour les consommateurs exclusifs de chaque type de Cantal (Cantal jeune et Cantal entre-deux), mettait en évidence que seule la consommation de Cantal jeune était significativement associée à la maladie (OR=11,2 ; IC95 % : 2,6-66,2 ; p<0,01) (tabl. 3). Aucune autre association positive significative n'a été mise en évidence entre la survenue de la maladie et la consommation d'autres aliments.

Deux fromages de production locale (fromage de chèvre et Laguiole) ainsi que la consommation de saucisse fraîche étaient négativement associés à la maladie.

**TABLEAU 3. Fréquences de consommation et mesures d'association. *Salmonella* Enteritidis, Aveyron et Cantal, juin-juillet 2001.**

Aliments	Cas N=47		Témoins N=68		OR	IC 95 %	p
	Exposés/N (%)		Exposés/N (%)				
Pâté	21/45 (47)		45/67 (67)		0,4	0,2-1	0,03
Saucisson sec	24/44 (54)		33/67 (49)		1,2	0,5-2,8	0,6
Jambon blanc	30/45 (67)		51/67 (76)		0,6	0,2-1,6	0,3
Jambon de Pays	19/44 (43)		33/67 (49)		0,8	0,3-1,8	0,5
Saucisse fraîche	9/45 (20)		47/66 (71)		0,1	0,04-0,3	10-7
Cantal	44/47 (94)		45/68 (66)		7,5	2-41,1	0,0006
Cantal jeune	22/25 (88)		15/38 (39)		11,2	2,6-66,2	0,0001
Cantal entre-deux	9/12 (75)		21/44 (48)		3,3	0,7-20,9	0,09
Pas de Cantal	3/47 (6)		23/68 (34)		référence		
Fromage de chèvre	7/45 (15)		28/66 (42)		0,3	0,09-0,7	0,003
Roquefort	14/45 (31)		24/67 (36)		0,8	0,3-1,9	0,6
Bleu	11/45 (24)		22/67 (33)		0,7	0,2-1,7	0,3
Laguiole*	1/33 (3)		12/47 (26)		0,09	0,00-0,7	0,008

\*consommation renseignée pour les cas de l'Aveyron uniquement

La fréquence de consommation de Cantal jeune était significativement associée à une augmentation du risque de salmonellose [ $\chi^2=33,6$ ;  $p<0,01$ ] (tabl. 4).

**TABLEAU 4. Fréquences de consommation de Cantal jeune chez les cas et les témoins et mesures d'association. *Salmonella* Enteritidis, Juin-juillet 2001.**

Fréquence de consommation de Cantal jeune	Cas (N=46)	Témoin (N=65)	OR	IC 95 %	p
Non consommation	12	44	Référence		
Moins d'une fois par semaine	1	11	0,33	0,01-2,8	0,3
1 fois par semaine	5	4	4,6	0,8-27,3	0,03
Plus d'une fois par semaine	28	6	17,1	5,2-60,4	<0,01

### **Epidémie octobre 2001**

Lors du deuxième épisode épidémique détecté en octobre 2001 dans l'Aveyron, une enquête cas-témoins a été conduite par la DDASS auprès de 23 cas et 45 témoins sélectionnés dans l'Aveyron.

Soixante-cinq pour cent des cas (15/23) versus 44 % des témoins (20/45) avaient consommé du fromage de type Cantal (Cantal entre-deux ou Cantal jeune) (OR=2 ; IC95 % : 0,4-13). Seule la consommation de Cantal jeune a été trouvée significativement associée à la maladie (OR=4,1 ; IC95 % : 1,1-15,  $p=0,01$ ) (tabl. 5).

**TABLEAU 5. Fréquences de consommation et mesures d'association. *Salmonella* Enteritidis. Aveyron, octobre 2001.**

Aliments	Cas N=23		Témoins N=45		OR	IC 95 %	p
	Exposés/N (%)		Exposés/N (%)				
Lardons	8/23 (35)		18/45 (40)		0,8	0,2-2,5	0,7
Jambon	16/23 (70)		28/42 (67)		1,1	0,3-4,1	0,8
Cantal	15/23 (65)		20/45 (44)		2,3	0,7-7,7	0,1
Cantal jeune	13/21 (70)		10/35 (29)		4,1	1,1-15	0,01
Pas de Cantal	8/23 (35)		25/45 (56)		référence		

### 3. Enquêtes vétérinaires et environnementales

#### *Epidémie juin-juillet 2001*

##### Enquête vétérinaire

L'enquête, effectuée par la DDSV de l'Aveyron, a porté sur les fournisseurs de fromage de type Cantal des rayons à la coupe des lieux d'achat cités par les cas. Un grossiste, commun à tous les magasins, ayant un seul fournisseur de fromage Cantal, l'établissement « A » situé dans le Cantal, a été identifié. Une enquête a aussitôt été mise en œuvre par les services vétérinaires dans la fromagerie « A ».

Le 19 juillet, la DDSV du Cantal signalait à la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) que deux autocontrôles, effectués en juin 2001 sur des fromages de l'établissement « A », avaient été positifs à *Salmonella*. Ces résultats n'avaient pas été communiqués par le producteur aux services vétérinaires et dissimulés lors d'une visite de contrôle de l'entreprise. Les lots, correspondant à ces autocontrôles positifs, avaient été commercialisés normalement par le producteur. Les services vétérinaires ont dressé un procès verbal et informé le procureur de ces faits.

Tous les fromages en stock dans la cave du producteur « A » ont été consignés et les lots qui avaient été écoulés ont fait l'objet d'un rappel national.

Onze prélèvements ont été réalisés par la DDSV du Cantal sur des fromages, en stock chez le producteur « A », provenant des mêmes lots que ceux livrés, entre le 1<sup>er</sup> et le 15 juin 2001, au grossiste qui avait approvisionné les magasins des cas de l'Aveyron. Trois prélèvements se sont révélés positifs à *Salmonella* Enteritidis. Un plan de gestion des analyses des autres lots consignés a aussitôt été mis en place par les services vétérinaires chez le producteur « A ». Par ailleurs, des recherches ont été effectuées à deux reprises, par le producteur « A » avec l'appui technique du Comité Interprofessionnel des Fromages (CIF), chez des éleveurs approvisionnant la fromagerie « A » en laits matières premières (analyses de lait, traçabilité cuve/éleveur sur les prélèvements positifs), ainsi que sur le personnel de la fromagerie, dans l'environnement de l'atelier de fabrication et dans celui de la cave d'affinage. Les résultats des analyses sur les lots de fromages en stock dans la cave du producteur « A » ont permis d'identifier que le premier lot positif à *Salmonella* Enteritidis avait été fabriqué durant la dernière semaine d'avril 2001. Les analyses lot par lot ont permis de déterminer la destination des différents lots : filière des déchets à haut risque non valorisables pour les lots trouvés contaminés par *Salmonella*, filière de retraitement (fonte) pour les lots trouvés négatifs en salmonelles mais dont les journées de production bordaient des périodes de production de lots retrouvés contaminés et commercialisation des autres lots contrôlés négatifs en salmonelles.

Aucun lait de producteur n'a été détecté positif à ce stade de l'enquête et tous les résultats d'analyses sur des prélèvements environnementaux dans la fromagerie se sont révélés négatifs. En revanche, un des employés de la fromagerie « A » a été trouvé porteur sain de *Salmonella* Enteritidis. Néanmoins, cet employé, embauché mi-juin 2001 dans la fromagerie, ne pouvait pas être en cause dans la contamination survenue fin avril à la production.

Les souches de *Salmonella* Enteritidis d'origine alimentaire, isolées des fromages prélevés à la distribution, des autocontrôles effectués en juin par le producteur et des fromages provenant des différents lots consignés, appartenaient toutes au lysotype PT8 et présentaient le même profil en macro restriction de l'ADN que les souches d'origine humaine isolées chez les cas et chez l'employé de la fromagerie « A ».

## Mesures de contrôle

Le 19 juillet 2001, les fromages en stock dans la cave de la fromagerie « A » ont été consignés et les lots qui avaient été écoulés ont fait l'objet d'un rappel national. La fromagerie a cessé la fabrication le 21 juillet et le lait des producteurs fournissant l'établissement « A » ont été envoyés dans une autre laiterie pour y être pasteurisés en attendant les résultats de l'enquête sur l'origine de la contamination.

Le 27 août 2001, les différentes pistes explorées n'ayant pas permis d'identifier l'origine de la contamination, après accord des services vétérinaires, l'établissement « A » a pu reprendre la fabrication sous réserve d'effectuer des contrôles salmonelles sur chaque lot produit à différents stades de la production (depuis le lait des différentes tournées jusqu'aux fromages affinés).

Fin septembre 2001, deux tournées ont été trouvées positives en salmonelles. Le lait de ces tournées a alors été envoyé dans une autre entreprise pour y être traité thermiquement et chaque producteur laitier, correspondant à ces deux tournées, a fait l'objet d'analyses individuelles. Quatre laits de producteurs se sont révélés positifs en salmonelles. Ils ont été écartés de la production de fromages au lait cru et soumis à pasteurisation dans un établissement de traitement du lait.

Dans un des élevages positifs identifiés, les souches de *Salmonella* Enteritidis, isolées des filtres à lait et d'eau d'un abreuvoir, appartenaient au lysotype PT8 et présentaient le même profil en macro restriction de l'ADN que les souches épidémiques des cas humain et celles isolées des fromages Cantal.

## Epidémie octobre 2001

### Enquête vétérinaire

Le 15 novembre 2001, les services vétérinaires de l'Aveyron ont été avertis par la DDASS de la survenue, depuis mi-octobre 2001, d'un nouvel épisode de cas groupés de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis dans le département. L'enquête épidémiologique retrouvait un risque significatif associé à la consommation de cantal jeune acheté à la coupe dans plusieurs magasins appartenant à des enseignes différentes. La majorité des souches de *Salmonella* Enteritidis isolées chez les malades appartenaient au lysotype PT8.

L'enquête des services vétérinaires de l'Aveyron, portant sur les fournisseurs de fromages de type Cantal des rayons à la coupe des lieux d'achat cités par les cas, a mis en évidence qu'un même grossiste affineur « B », situé dans le département du Cantal, avait approvisionné tous les lieux d'achat des cas aveyronnais en fromages de type Cantal provenant de 3 producteurs de Cantal au lait cru, différents du producteur « A » impliqué dans l'épidémie survenue en juin-juillet 2001.

Les résultats des analyses pour recherche de salmonelles sur des fromages, prélevés au moment de l'enquête par les services vétérinaires chez les différents producteurs, se sont tous révélés négatifs pour le critère salmonelles.

Le grossiste affineur « B », qui avait été approvisionné auparavant par la fromagerie « A » à l'origine l'épidémie de juin-juillet 2001, avait encore en stock dans ses caves, le jour de l'inspection des services vétérinaires du Cantal, des fromages en attente de destruction, saisis lors de la première épidémie. C'est pourquoi des fromages stockés à proximité des ces derniers et dont les origines correspondaient aux livraisons des magasins aveyronnais pendant la période critique, ont été prélevés pour recherches de salmonelles. Des prélèvements de surfaces ont également été effectués sur les planches d'affinage où été stockés les fromages

de la fromagerie « A », à proximité de ces planches et au niveau d'un évaporateur. Tous les prélèvements se sont révélés négatifs en salmonelle.

En conclusion, les enquêtes réalisées n'ont pas permis d'identifier avec certitude l'origine de la deuxième épidémie. Les résultats des investigations suggèrent que la consommation de fromages Cantal jeunes provenant d'un producteur différent de la fromagerie « A » est à l'origine de la deuxième épidémie. Deux hypothèses sur l'origine de la contamination des fromages ont été avancées : les fromages ont pu être contaminés à la production par la souche épidémique avant leur mise en cave d'affinage ou ils ont pu être contaminés dans la cave de l'affineur « B » du fait de leur stockage à proximité des fromages responsables de la première épidémie, en attente de destruction. Aucune de ces hypothèses n'a pu être confirmée car les analyses alimentaires et environnementales effectuées dans la cave du grossiste affineur et sur les fromages en stock provenant de différents producteurs étaient toutes négatives pour *Salmonella*.

#### 4. Enquêtes microbiologiques

Cent-huit souches de *Salmonella* Enteritidis d'origine humaine, isolées entre le 30 avril et le 26 novembre 2001 dans les départements de l'Aveyron, du Cantal et du Lot, ont été lysotypées au CNRTME.

Soixante-neuf pour cent (74/108) des souches appartenaient au lysotype PT8, 22 % (27/108) au lysotype PT4, 2 % (2/108) au lysotype PT1 et 7 % (5/108) aux lysotypes PT36, PT20, PT6, PT11, PT28. Le lysotype PT8 était prédominant parmi les souches de *Salmonella* Enteritidis isolées chez les malades des 3 départements alors que ce lysotype représente seulement 5 % des souches de *Salmonella* Enteritidis étudiées au CNRTME en 2000. La proportion de souches de *Salmonella* Enteritidis appartenant au lysotype PT8 variait selon les périodes et le lysotype PT8 était prédominant parmi les souches de *Salmonella* Enteritidis isolées pendant les deux périodes épidémiques de juin-juillet (84 %) et durant les deux dernières semaines d'octobre 2001 (53 %) (tabl.6).

**TABLEAU 6. Distribution selon le lysotype et selon la période des souches de *Salmonella* Enteritidis d'origine humaine étudiées. Aveyron, Cantal, Lot, 2001.**

Lysotypes/ périodes	PT8	PT4	PT1	PT36	PT20	PT6	PT11	PT28	Total
1 <sup>ère</sup> épidémie : 01/06-05/08	58 (84 %)	9 (13 %)	0	1 (1,5 %)	1 (1,5 %)	0	0	0	69
2 <sup>ème</sup> épidémie : 14/10-04/11	8 (53 %)	4 (27 %)	1 (6,6 %)	0	0	1 (6,6 %)	1 (6,6 %)	0	15
Hors épidémies :	8 (33 %)	14 (58 %)	1 (4,5 %)	0	0	0	0	1 (4,5 %)	24
30/04-26/11	74 (69 %)	27 (25 %)	2 (2 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	108

Par ailleurs, 24 souches de *Salmonella* Enteritidis d'origine animale, alimentaire ou environnementale, isolées de juin à novembre 2001 dans les départements du Cantal et de l'Aveyron ont été transmises pour typage par le LERQHA AFSSA au CNRTME. Il s'agissait de :

- 2 souches isolées de coprocultures de bovins dans l'Aveyron en juin 2001 et dans le Cantal en octobre 2001,
- 1 souche isolée d'une coproculture d'ovin en juin 2001 dans l'Aveyron,
- 18 souches, isolées de fromages Cantal au lait cru de juin à octobre 2001, chez un producteur « A » de fromages dans le Cantal et à la distribution en juillet 2001 dans l'Aveyron (1 souche),
- 1 souche isolée, en juillet 2001, de fromage Cantal jeune provenant du producteur « A » prélevé à la distribution dans l'Aveyron,

- 2 souches isolées de filtres à lait en octobre 2001 dans le Cantal,
- 1 souche isolée d'eau d'abreuvoir dans un élevage bovin en octobre 2001 dans le Cantal.

Seule la souche isolée en juin 2001 d'une coproculture de bovin dans l'Aveyron appartenait au lysotype PT4b. Toutes les autres souches appartenaient au lysotype PT8.

Un typage moléculaire par électrophorèse en champ pulsé après macro restriction de l'ADN par l'enzyme XBa1 a été réalisé au LERQHA (AFSSA) sur un échantillon de souches de *Salmonella* Enteritidis PT8 d'origine humaine, alimentaire et environnementale isolées lors des épidémies de juin-juillet et d'octobre 2001. Toutes les souches de *Salmonella* Enteritidis appartenant au lysotype PT8 avaient un profil identique (SE4) (fig 3). La souche de *Salmonella* Enteritidis PT8 isolée d'une coproculture d'ovin en juin 2001 dans l'Aveyron avait aussi le même profil que les souches épidémiques.

Un échantillon des souches épidémiques d'origine humaine et alimentaire de *Salmonella* Enteritidis PT8 a été comparé par la même technique à des souches de *Salmonella* Enteritidis PT4 isolées chez des malades dans le cadre d'une autre épidémie survenue en juin 2001 dans le département de l'Ariège : 5 électrophorétypes distincts ont été identifiés par la technique (SE1, SE4, SE4b, SE5, SE9). Les profils des souches de *Salmonella* Enteritidis PT4 et PT4b se sont révélés différents du profil des souches de *Salmonella* Enteritidis PT8 (fig 4).

**FIGURE 3. Résultat du typage moléculaire en champ pulsé après macro restriction de l'ADN des souches d'origine humaine, alimentaire et environnementale de *Salmonella* Enteritidis PT8. Aveyron, Cantal, 2001.**

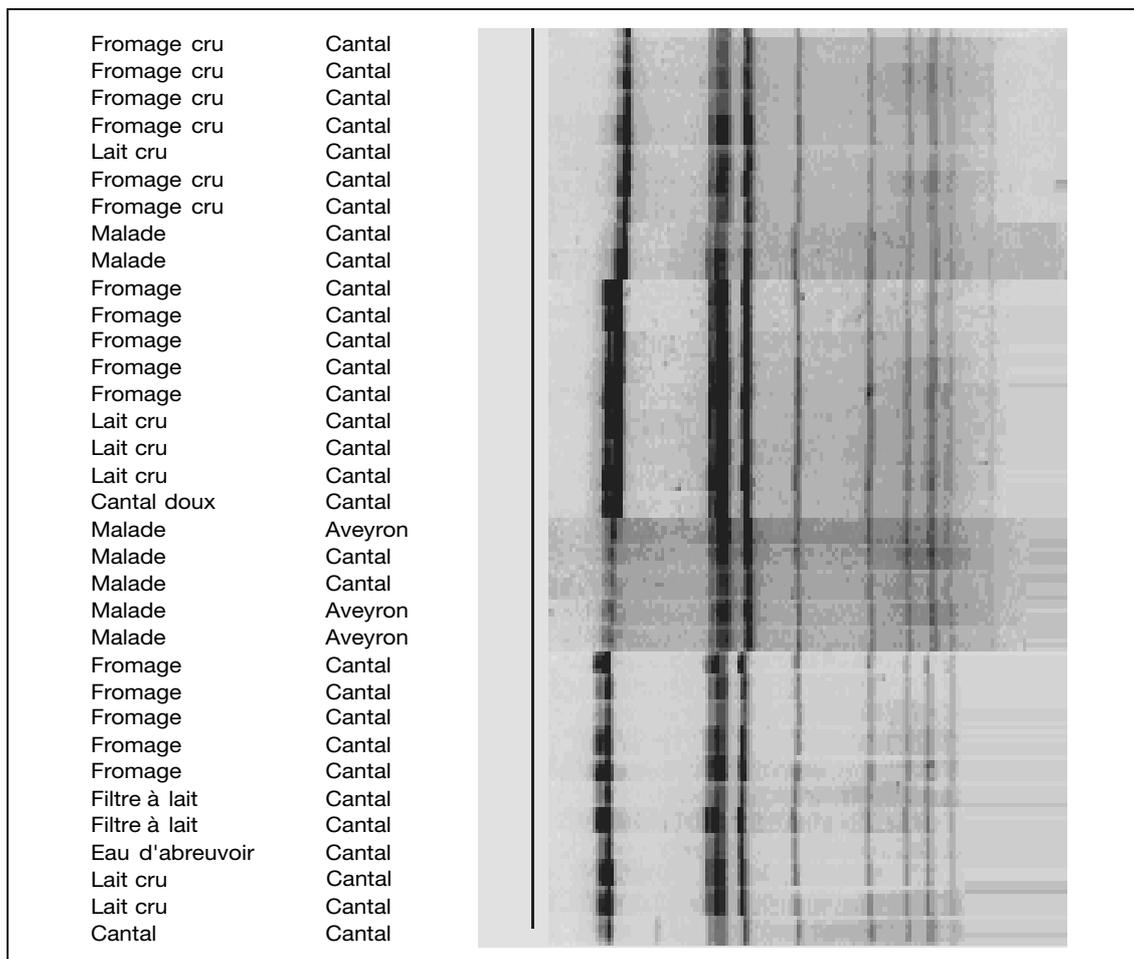
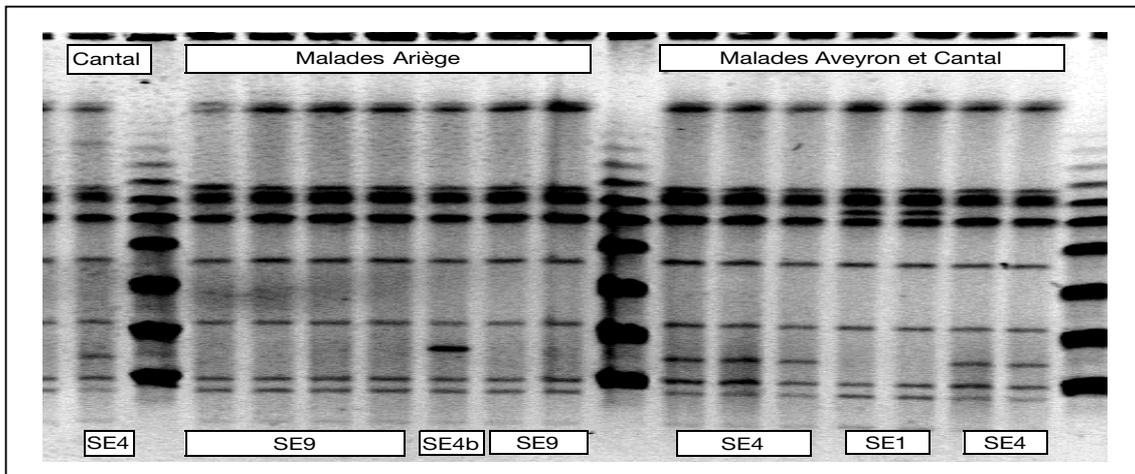


FIGURE 4. Résultat du typage moléculaire en champ pulsé après macro restriction de l'ADN des souches d'origine humaine et alimentaire de *Salmonella* Enteritidis. Aveyron, Cantal, Ariège, 2001.



# Discussion

## ***Epidémie de juin-juillet 2001***

Les signalements, émanant de biologistes et d'un médecin généraliste, à la DDASS de l'Aveyron, concernant une augmentation des cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis observés dans la communauté, ont permis de détecter une épidémie de grande ampleur. Parallèlement, la surveillance des salmonelles, réalisée au CNRSS, a confirmé le phénomène épidémique observé dans l'Aveyron et a permis de détecter un excès concomitant de cas de salmonellose dans les départements du Cantal et du Lot, où aucune alerte n'avait été transmise aux autorités sanitaires par les cliniciens ou les laboratoires.

Les résultats des investigations épidémiologique, vétérinaire et microbiologique indiquent que cette épidémie est attribuable à la consommation de fromage Cantal jeune au lait cru, provenant d'un producteur unique « A », situé dans le Cantal. Les arguments en faveur sont :

- les résultats de l'enquête cas-témoins, mettant en évidence une association statistique significative entre la consommation de Cantal jeune et la survenue de la maladie ;
- la concordance entre les lieux d'achat des cas et la liste des magasins approvisionnés en fromages par le producteur « A » ;
- la concordance entre les dates de commercialisation des lots contaminés et le début de l'épidémie ;
- l'efficacité des mesures de contrôle (arrêt de la production et rappel de lots) sur l'infléchissement du nombre de cas ;
- l'isolement de *Salmonella* Enteritidis PT8 dans des échantillons de fromages lors d'un autocontrôle réalisé en juin 2001 par le producteur et dans les fromages prélevés à la distribution et ceux consignés dans la cave du producteur ;
- la similitude des profils des souches d'origine humaine, alimentaire et environnementale en lysotypie et en macro restriction de l'ADN.

Un élevage bovin excréteur de *Salmonella* Enteritidis PT8 a été identifié comme étant potentiellement à l'origine de la contamination dans la fromagerie « A » et le lait provenant de cet élevage a été écarté de la production de Cantal au lait cru. L'alliance de l'épidémiologie descriptive et analytique, des enquêtes vétérinaires et de la microbiologie moléculaire ont permis de reconstituer la chaîne de contamination.

La rapidité de la mise en œuvre, dès l'alerte, des enquêtes coordonnées épidémiologiques et vétérinaires a permis d'identifier rapidement le véhicule et la source de cette épidémie, de mettre en place des mesures de contrôle adaptées et de renforcer la surveillance autour des sites connus ou possibles de survenue des cas.

Alors que plusieurs foyers familiaux de toxi-infection alimentaire collective (TIAC) et un épisode de cas groupés dans une institution médico-sociale, ont identifiés lors des investigations, seule une TIAC familiale sur 13 identifiées a été déclarée à la DDASS du département de survenue, contribuant ainsi à la détection tardive de cette épidémie (6 semaines après la survenue du 1<sup>er</sup> cas). Le taux de déclaration des TIAC familiales (8 %), retrouvé dans cette épidémie, était

très faible et du même ordre que celui (12 %) retrouvé lors d'une estimation, réalisée par la méthode capture-recapture, de l'exhaustivité de la déclaration obligatoire des TIAC familiales à salmonelles déclarées en 1995 [3].

En conséquence, la détection tardive de l'épidémie et la contamination persistante dans la fromagerie «A» (plusieurs semaines), aggravée par le non signalement par le producteur aux autorités sanitaires des résultats positifs des autocontrôles effectués en juin 2001 et surtout la non mise en œuvre de mesures correctives dans la fromagerie ont contribué à la durée et à l'ampleur de cette épidémie. Cette dernière est d'ailleurs probablement sous-estimée au regard de l'importance de la production de la fromagerie « A » et du large circuit de distribution du producteur, dépassant le cadre des 3 départements où l'épidémie a été détectée. En effet, la fréquence élevée en France des infections à *Salmonella* Enteritidis, leur recrudescence estivale et l'absence de lysotypie en routine des souches de *Salmonella* Enteritidis transmises au CNRTME rendaient difficile la détection et l'investigation des cas qui ont pu survenir dans d'autres départements.

Cette épidémie était caractérisée par un taux d'attaque global très élevé et le taux d'isolement de *Salmonella* Enteritidis (330 cas par million d'habitants) dans les 3 départements était du même ordre que celui (439 par million d'habitants) retrouvé lors d'une précédente épidémie communautaire à *Salmonella* Typhimurium, survenue en 1997 dans le Jura qui était liée à la consommation d'un fromage au lait cru (Morbier) [4].

### **Epidémie d'octobre 2001**

Après l'épidémie survenue en juin-juillet, la vigilance renforcée des laboratoires, a permis de détecter rapidement une deuxième bouffée épidémique survenue dans le département de l'Aveyron durant la deuxième quinzaine d'octobre 2001.

Les résultats des investigations épidémiologiques et vétérinaires suggèrent que la consommation de fromage de type Cantal jeune, provenant d'un autre producteur que la fromagerie « A », serait à l'origine de ce second épisode. Cette fois, en revanche, les enquêtes vétérinaires n'ont pas permis de confirmer l'origine et la source de l'épidémie car aucune des hypothèses sur l'origine de la contamination des fromages n'a été confirmée par les analyses alimentaires et environnementales réalisées dans la cave du grossiste affineur et sur des fromages provenant de différents producteurs.

Le petit nombre de cas recensés et la durée brève de l'épidémie sont néanmoins des arguments en faveur d'une contamination faible et ponctuelle.

La particularité des épisodes décrits dans ce rapport réside dans le fait que le sérotype Enteritidis, en cause dans les deux épidémies, est un sérotype essentiellement aviaire, trouvé le plus souvent associé, en France, à la consommation de produits à base d'œufs crus ou insuffisamment cuits [5,6]. En effet, la revue des TIAC, déclarées en France depuis 1995, montre que les épisodes de TIAC dus au sérotype Enteritidis et liés à la consommation de produits laitiers sont rares (seuls 3 foyers de TIAC déclarés de 1995 à 2000). En conséquence, les arguments épidémiologiques, générés par les enquêtes cas-témoins, mettant en évidence une association entre la consommation de Cantal et la maladie, se sont donc avérés essentiels pour orienter les enquêtes vétérinaires au stade initial des investigations.

Le sérotype Enteritidis étant le plus fréquemment impliqué dans les cas de salmonellose survenant en France, la lysotypie et l'épidémiologie moléculaire ont permis de caractériser les souches de *Salmonella* Enteritidis isolées dans les 3 départements facilitant ainsi l'investigation de ces deux épisodes épidémiques et permettant d'étayer les hypothèses épidémiologiques et de reconstituer la chaîne de la contamination notamment lors du premier épisode.

En effet, l'analyse des lysotypes des souches d'origine humaine de *Salmonella* Enteritidis, isolées dans les 3 départements pendant les deux périodes épidémiques, montrait que la souche épidémique appartenait au lysotype PT8. Ce lysotype est minoritaire en France où, contrairement à la situation observée en Amérique du Nord [7], il représente moins de 5 % des souches de *Salmonella* Enteritidis étudiées au CNRTME [8]. La lysotypie s'est donc révélée être un outil discriminant pour *Salmonella* Enteritidis. En revanche, la caractérisation des souches épidémiques et non épidémiques par électrophorèse en champ pulsé après macro restriction de l'ADN par l'enzyme Xba1 s'est révélée peu discriminante pour différencier les souches appartenant au lysotype PT8. Cette observation est concordante avec les résultats d'études réalisées par les Espagnols et les Canadiens.

L'étude espagnole, portant sur des souches de *Salmonella* Enteritidis isolées entre 1983 et 1997 en Espagne, au Danemark et en Angleterre, avait montré que les souches de *Salmonella* Enteritidis appartenant au lysotype PT8 appartenaient au même clone et, en raison de l'homogénéité génétique des souches circulant dans les 3 pays, cette étude recommandait, l'utilisation combinée de 3 enzymes Xba1, Bln1 et Spe1 afin d'augmenter le pouvoir discriminant de la caractérisation génotypique des souches par la méthode d'électrophorèse en champ pulsé après macro restriction de l'ADN [9].

L'étude canadienne, réalisée dans le cadre de l'investigation d'une épidémie à *Salmonella* Enteritidis PT8 de grande ampleur liée à la consommation d'un fromage contaminé, visait à différencier les cas épidémiques des cas non épidémiques, dans un contexte de prédominance du lysotype PT8 en Amérique du Nord. La lysotypie et la caractérisation des souches par électrophorèse en champ pulsé après macro restriction de l'ADN s'étant révélées non discriminantes, la différenciation avait été réalisée in fine par biotypage basé sur la fermentation du mélibiose [10].

Ces outils de caractérisation des souches, utilisés dans certains pays industrialisés à des fins de surveillance et d'investigation, ne sont pas utilisés en routine en France où ces techniques ne sont mises en œuvre, au CNRTME (Institut Pasteur, Paris) et au LERQHA (AFSSA), que lors d'investigations d'épidémies dues notamment à des sérotypes fréquents. Leur utilisation plus large pour l'étude et la surveillance des sérotypes de salmonelles circulant en France permettrait probablement de détecter plus de phénomène de cas groupés notamment lorsque des sérotypes fréquents sont impliqués. Il est prévu, grâce à un renforcement des moyens du Centre National de Référence des *Salmonella*, que ces techniques soient mises en œuvre dans un avenir proche pour les sérotypes Enteritidis et Typhimurium qui sont, dans notre pays, les deux sérotypes prédominant en santé humaine et animale.

Ces deux nouveaux épisodes de salmonellose portent à 7 le nombre d'épidémies de salmonellose liées à la consommation de fromages au lait cru décrites en France depuis 1993 :

- 1993 : 1 épidémie nationale liée à la consommation de fromages de chèvre au lait cru contaminés par *Salmonella* Paratyphi B [11] ;
- 1995 et 1996 : deux épidémies nationales liées à la consommation de fromages de vache au lait cru contaminés par *Salmonella* Dublin [12,13] ;
- 1997 : 1 épidémie régionale liée à la consommation de fromages de vache au lait cru contaminés par *Salmonella* Typhimurium [4] ;
- 2001 : 1 épidémie régionale liée à la consommation de fromages de chèvre au lait cru contaminés par *Salmonella* Newport (non publiée).

Ces épidémies illustrent la variété des sérotypes de salmonelles et des types de production fromagère qui peuvent être en cause.

Avec une consommation moyenne de fromage de 23,7 kg par personne et par an (source CNIEL : « L'économie laitière en chiffres »), la France est au premier rang européen et mondial.

La production fromagère au lait cru, avec 191 110 tonnes produites en 1999 (source : <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/>), représentait 17 % de la production fromagère française. Quel que soit le pathogène en cause, les épidémies attribuables à des fromages au lait cru demeurent relativement rares en France [4,11,12,13,14,15,16,17,18], au regard de la quantité importante de fromages au lait cru consommée. Cependant leur survenue doit être prise en considération car leur impact en santé publique n'est pas négligeable. En effet, plus de 700 cas confirmés de salmonellose ont été recensés lors de ces épidémies et le nombre réel de cas qu'elles ont généré était probablement bien supérieur mais difficile à estimer car seuls 1/3 des laboratoires envoient leurs souches au CNRSS et seulement 6 % des cas de diarrhée font l'objet d'une prescription de coproculture [20]. Le taux d'hospitalisation variait de 11 % à 70 % et la létalité de 0,4 % à 20 % selon les épidémies et le sérotype de salmonelle en cause. Les taux d'hospitalisation et de létalité les plus élevés avaient été observés lors d'une épidémie due à *Salmonella* Dublin survenue en 1995 [12].

Depuis 1993, 6 épidémies de salmonellose et de listériose liées à la consommation de fromages au lait cru [11,13,16,17,18] et 1 épidémie de listériose liée à la consommation d'un produit de charcuterie [19] sont survenues en France alors que des résultats positifs d'autocontrôles, réalisés à la production, étaient connus des établissements producteurs. Ces résultats n'avaient pas été communiqués aux autorités sanitaires alors que le rappel des produits contaminés et la mise en place de mesures de contrôle dans ces établissements auraient pu limiter l'ampleur de ces épidémies voire prévenir leur survenue.

Pour des raisons culturelles, sociales et économiques, il n'est pas envisagé de proposer, en France, une pasteurisation des fromages au lait cru. La pasteurisation ne garantit d'ailleurs pas un risque nul d'infections alimentaires et des épidémies de salmonellose [21] et de listériose [22] dues à des produits pasteurisés ont été décrites. En conséquence, des stratégies pour prévenir les infections liées à la consommation de fromages au lait cru doivent être développées sur la base des recommandations énoncées ci-dessous.

# Recommandations

## *Surveillance*

La déclaration des TIAC doit être stimulée afin d'améliorer son exhaustivité et un effort doit être particulièrement réalisé pour la déclaration et l'investigation des TIAC familiales. Ces déclarations doivent être faites aux autorités sanitaires départementales (DDASS ou DDSV), le plus rapidement possible après la survenue des premiers cas, afin que les enquêtes épidémiologiques et vétérinaires soient réalisées dans les meilleurs délais et que la survenue de nouveaux cas soient prévenue par le retrait précoce de la distribution d'un produit contaminé. La déclaration des TIAC et leurs investigations réactives par les DDASS et les DDSV participent à la détection des épidémies communautaires dont elles peuvent faciliter les investigations. Il est probable que l'importance réelle de ces épidémies soient méconnues ou sous-estimées par la non déclaration ou l'absence d'investigation de certains foyers.

## *Prévention individuelle*

Les consommateurs et en particulier les plus sensibles aux maladies infectieuses (immunodéprimés, sujets âgés, jeunes enfants, femmes enceintes) doivent être informés qu'un risque nul ne peut être garanti pour les produits au lait cru et la consommation de ces produits devrait même être déconseillée aux sujets les plus susceptibles.

La réalisation de cette recommandation suppose, au préalable, que l'étiquetage de ces produits indique clairement qu'ils sont réalisés à base de lait cru, ce qui n'est pas toujours le cas actuellement.

## *Prévention collective*

Elle doit s'exercer à 3 niveaux :

- Contrôle de l'infection dans les élevages, en particulier si leur production est destinée à la fabrication de produits au lait cru.
- Développement et application stricte, au niveau de la production, des procédures de contrôle (démarche Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) adaptées aux produits au lait cru). Dans cette procédure, chaque lot de fromage au lait cru devrait être contrôlé pour la présence de micro-organismes bactériens et ne devrait pas être distribué avant d'avoir eu la certitude qu'il est non contaminé. Par ailleurs, les résultats d'autocontrôles trouvés positifs au niveau du produit fini doivent faire l'objet d'une déclaration systématique et obligatoire aux autorités sanitaires de la part des producteurs et des laboratoires effectuant les analyses.
- Renforcement des mesures d'hygiène à la distribution (respect de la chaîne du froid, prévention des contaminations croisées...).



## Références

1. WARD LR, DE SA JDH, ROWE B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidem. Infect.* 1987. 99: 291-294.
2. LAILLER R, GRIMONT F, JONES Y, SANDERS P and BRISABOIS A. Subtyping of *Salmonella* Typhimurium by pulsed field gel electrophoresis and comparison with phage types and resistance type. *Pathologie Biologie* (sous presse).
3. A GALLAY, V VAILLANT, P BOUVET, PAD GRIMONT, JC DESENCLOS. How many foodborne outbreaks of *Salmonella* infection occurred in France in 1995? *Am J Epidemiol* 2000; 152 (2): 171-177.
4. H DE VALK, E DELAROCQUE, G COLOMB, S SPLE, E GODARD, V VAILLANT, S HAEGHEBAERT, P BOUVET, F GRIMONT, P GRIMONT, JC DESENCLOS. A community-wide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection associated with eating a raw milk soft cheese in France. *Epidemiol. Infect.* (2000); 124: 1-7.
5. E DELAROCQUE-ASTAGNEAU, JC DESENCLOS, P BOUVET, PAD. Grimont. Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* infections in children in France : a national case-control study. *Epidemiol. Infect.* (1998); 121: 561-567.
6. S HAEGHEBAERT, F LE QUERREC, A GALLAY, P BOUVET, M GOMEZ, V VAILLANT. Les Toxi-Infections Alimentaires Collectives en France en 1999 et 2000. *BEH* n° 23/2002: 106-109.
7. HICKMAN-BRENNER FW, STUBBS AD, FARMER JJ 3rd. Phage typing of *Salmonella enteritidis* in the United States. *J Clin Microbiol* 1991 Dec; 29(12): 2817-23.
8. PAD GRIMONT, F GRIMONT. Rapport d'activité 2000 du Centre National de Référence pour le typage moléculaire des Entérobactéries. Institut Pasteur, Paris.
9. LACONCHA I, BAGGESEN DL, REMENTERIA A, GARAIZAR J. Genotypic characterisation by PFGE of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage types 1, 4, 6, and 8 isolated from animal and human sources in three European countries. *Vet Microbiol* 2000 Jul; 75 (2): 155-65.
10. AHMED R, SOULE G, DEMCZUK WH, CLARK C, KHAKHIRIA R, RATMAN S and all. Epidemiologic typing of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in a Canada-wide outbreak of gastroenteritis due to contaminated cheese. *J. Clin. Microbiol*, June 2000; vol 38(6): 2403-2406.
11. DESENCLOS JC, BOUVET P, BENZ-LEMOINE E, GRIMONT F, DESQUEYROUX H, REBIÈRE I *et al.* Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype *paratyphi B* infection caused by a goats' milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *Br Med J* 1995; **311**: 91-4.

12. V VAILLANT, S HAEGHEBAERT, JC DESENCLOS, P BOUVET, PAD GRIMONT, AP BURNENS. Outbreak of *Salmonella* dublin infection in France, November-December 1995. *Eurosurveillance* vol. 1 n° 2: 9-10.
13. VAILLANT V, HAEGHEBAERT S, INFUSO A, BOUVET P, GRIMONT F, BURNENS A, DESENCLOS JC. Deux épidémies de salmonellose à *Salmonella* sérotype Dublin. France, novembre - décembre 1995, novembre - décembre 1996. Ploufragan, France, Proceedings *Salmonella* and Salmonellosis, May 20/21/22 1997.
14. CASENAVE C, DESENCLOS JC, MAILLOT E, BENOIT S, DESCHENES G, BARON S. Ecllosion de Syndrome hémolytique et urémique (SHU) dans une communauté rurale du Cher. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* 1993; **48**: 222-4.
15. GOULET V, JACQUET C, VAILLANT V, REBIÈRE I, MOURET E, LORENTE C *et al.* Listeriosis consumption of raw-milk cheese. *Lancet* 1995; **345**: 1881-2.
16. V GOULET, C JACQUET, V VAILLANT, I REBIÈRE, E MOURET, C LORENTE, F STAINER, J ROCOURT. Listeriosis from consumption of raw-milk cheese. *Lancet* (1995); 345(8964): 1581-2.
17. Epidémie de listériose liée à la consommation de Pont l'Evêque. France, 1997. Réseau National de Santé Publique. Non Publiée.
18. Epidémie de listériose liée à la consommation d'Epoisse. France, 1999. Institut de Veille Sanitaire. Non Publiée.
19. V GOULET, P MARTIN, C JACQUET. Cluster of listeriosis cases in France. *Eurosurveillance Weekly*: Thursday 4 July 2002. Volume 6, Issue 27. <http://www.eurosurveillance.org/>
20. CHAUVIN P, DIAZ C, GARNERIN P, GUIGUET M, MASSARI V, SAIDI Y *et al.* Réseau National Télé-informatique de surveillance et d'information sur les maladies transmissibles : bilan de la surveillance épidémiologique des médecins sentinelles en 1992. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* 1993; **48**: 222-4.
21. HENESSY TW, HEDBERG CW, SLUTSKER L *et al.* A national outbreak of *Salmonella* enteritidis infections from ice cream. *N Engl J Med* 1996; **334**: 1281-6.
22. FLEMING DW, COCHI SL, MACDONALD KL *et al.* Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N Engl J Med* 1985; **312**: 404-7.

# Annexes

19-07-2001 15:03 DE DGS PSS

A 0-0141796769

P. 03/03



PREFECTURE DE L'AVEYRON

Cabinet de la Préfète  
SIRP

Rodez le 18 juillet 2001

## COMMUNIQUE DE PRESSE

Des cas de gastro-entérites ont été diagnostiqués récemment dans le département du Cantal et celui de l'Aveyron.

Ils sont dus à une bactérie du genre salmonella.

La maladie se caractérise par de violents maux de ventre, une diarrhée profuse et de la fièvre qui suivent de 24 à 48 heures l'ingestion d'un aliment contaminant. Les symptômes durent de 3 à 5 jours.

Les services des DDASS des deux départements ont aussitôt interrogé tous les laboratoires des deux départements afin de recenser tous les cas ayant fait l'objet d'une analyse et procéder à une enquête épidémiologique pour tenter de déterminer le ou les aliments en cause.

Cette enquête se réalise actuellement avec l'appui méthodologique et l'aide de la cellule interrégionale d'épidémiologie de Toulouse et en étroite relation avec la direction départementale des services vétérinaires et les services départementaux de la consommation de la concurrence et de la répression des fraudes.

Elle consiste à interroger les personnes qui ont été atteintes de salmonellose et des personnes non malades prises au hasard dans la population sur leurs habitudes alimentaires.

La confrontation des données permettra d'orienter utilement les prélèvements bactériologiques qui seront effectués, éventuellement sur les restes d'aliments non consommés chez les malades et dans le circuit de distribution alimentaire.

Les premiers résultats devraient être connus dans les prochains jours.

  
Anne-Marie ESCOFFIER

BOITE POSTALE 1033 - 12007 RODEZ CEDEX - TELEPHONE : 03 45 73 73 71 - TELECOPIE : 03 45 73 02 07

18/07 '01 19:39

N° TI/RI 7264

P01

TOTAL PAGE(S) 03



0471462359



PRÉFECTURE DU CANTAL

**LA CELLULE DE VEILLE SANITAIRE DU CANTAL COMMUNIQUE :**  
**COMPLEMENT D'INFORMATION, A 18H00**

Le 19 juillet 2001

À la suite de la constatation par les services de la DDASS d'une augmentation anormale des cas de salmonellose dans le département de l'Aveyron (et du Cantal) depuis le début du mois de juin 2001, une enquête épidémiologique a été immédiatement diligentée par les services de l'Etat (DDASS, DSV, DDCCRF).

Cette enquête a permis de suspecter une origine alimentaire. Un certain nombre d'éléments concordants, recueillis dans le cadre des investigations menées, permet à ce jour de penser que cette contamination serait liée à une consommation de fromage de type Cantal fabriqué par la COOPERATIVE LAITIÈRE DE SAINT BONNET DE SALERS, portant le numéro d'identifiant vétérinaire 15-174-01. Il s'agit de cantal au lait cru en unité de 40kg, vendu à la coupe, avec le numéro de plaque A.O.C. : CA 1SEP, qui peut être étiqueté « I.F. SAINT-BONNET ».

La totalité des produits suspects a été immédiatement retirée du marché dans l'attente de résultats d'analyses complémentaires. Les consommateurs qui détiendraient les produits concernés sont invités à ne pas les consommer.

Les toxi-infections alimentaires causées par les salmonelles se traduisent par des troubles gastro-intestinaux souvent accompagnés de fièvre ; ces symptômes peuvent être aggravés chez les jeunes enfants, les sujets immunodéprimés et les personnes âgées.



Mi-juillet 2001, 3 biologistes et un médecin généraliste de l'Aveyron signalaient à la DDASS un nombre anormalement élevé de cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis, observés depuis le début du mois de juin 2001. Des enquêtes épidémiologiques ont été mises en œuvre afin d'identifier l'origine et la source de l'épidémie et de proposer des mesures de contrôle et de prévention adaptées.

Les cas ont été recherchés auprès des laboratoires publics et privés de l'Aveyron, du Cantal et du Lot et du Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*. Deux témoins, tirés au sort dans l'annuaire téléphonique, ont été recherchés pour chaque cas sur la même commune de résidence. Les cas et les témoins ont été interrogés par téléphone à l'aide d'un questionnaire standardisé. Les circuits d'approvisionnement des magasins où les cas avaient acheté l'aliment suspecté ont été reconstitués à partir de la liste des fournisseurs. Les souches d'origine humaine et celles isolées de l'aliment incriminé ont été caractérisées par lysotypie et comparées par la technique de macro-restriction de l'ADN.

En juin et juillet 2001, 190 cas d'infection à *Salmonella* Enteritidis ont été recensés lors d'une première épidémie, dans les départements de l'Aveyron, du Cantal et du Lot. La consommation de Cantal jeune (< 2 mois d'affinage) a été trouvée significativement associée à la maladie (OR = 11,2 ; 95% IC 2,6 - 66,2). L'enquête a permis d'identifier un producteur "A" de fromages, commun à tous les lieux d'achat des cas. Les analyses réalisées sur des fromages prélevés dans les magasins et chez le producteur "A" incriminé se sont révélées positives à *Salmonella* Enteritidis. Les souches d'origine humaine et celles isolées de fromage Cantal appartenaient au lysotype PT8 et présentaient un profil identique, en macro-restriction de l'ADN.

Une deuxième épidémie de 25 cas de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis est survenue fin octobre 2001 dans l'Aveyron. La consommation de Cantal jeune a été retrouvée significativement associée à la maladie (OR = 4,1 ; 95% IC 1,1-15). La majorité des souches d'origine humaine étudiées appartenaient au lysotype PT8 et présentaient le même profil en macro-restriction de l'ADN que les souches d'origine humaine et alimentaire isolées lors de la 1<sup>ère</sup> épidémie. L'enquête a permis d'identifier un grossiste affineur "B", commun à tous les lieux d'achat des cas. Les fromages commercialisés par ce grossiste provenaient de producteurs différents du producteur "A" à l'origine de la première épidémie. Cependant, au moment de la survenue de la 2<sup>ème</sup> épidémie, ce grossiste avait encore en stock dans ses caves des fromages, en attente de destruction, saisis lors de la première épidémie.

Les résultats des investigations indiquent ces deux épisodes épidémiques étaient liés à la consommation de Cantal au lait cru. La première épidémie était liée à la contamination persistante par *Salmonella* Enteritidis dans un établissement de production de Cantal. Une contamination par la souche épidémique dans un autre établissement de production de Cantal ou une contamination croisée dans la cave de l'affineur sont les deux hypothèses avancées lors de la deuxième épidémie.

In mid July 2001, microbiologists from 3 medical laboratories and a general practitioner alerted the health office of Aveyron to an increase of cases with *Salmonella* Enteritidis infection. To identify the vehicle and source of the outbreak, we conducted descriptive exploratory studies followed by 2 case-control studies.

Cases were identified by contacting the public and private medical laboratories in the 3 districts and the National Reference Centre for *Salmonella* and *Shigella*. Controls were randomly selected from the telephone directory of the places of residence of the cases. Cases and controls were interviewed by telephone using a standard questionnaire. The supply channels of the stores where cases had purchased the incriminated product were investigated in order to identify a common supplier. The *Salmonella* strains isolated from the patients were compared to each other and to those isolated from incriminated foodstuff by using phagetyping method and DNA macro restriction analysis.

A total of 190 cases with date of onset of symptoms between 1<sup>st</sup> of June to 31<sup>st</sup> of July were identified as part of an outbreak that occurred in the 3 districts (Aveyron, Cantal and Lot). Cases were more likely than controls to have eaten young raw milk Cantal cheese (OR = 11.2 ; 95% CI 2.6-66.2).

The analysis of distribution channels incriminated a single common processing plant "A" and *Salmonella* Enteritidis strains were subsequently isolated from several batches of the incriminated Cantal cheese at the production site and at retail outlets. The isolates from Cantal and patients were of phagetype 8 and had the same PFGE pattern.

In October 2001, the health authorities in Aveyron district were alerted to a second increase of cases with *Salmonella* Enteritidis infection. 25 cases with date of onset of symptoms between 15<sup>th</sup> and 31<sup>st</sup> of October 2001 were identified. The epidemic curve suggested a common and point source of contamination. The results of the case control study showed that consumption of young raw milk Cantal cheese was the only risk factor associated with illness (OR = 4.1 ; 95% CI 1.1-15). The majority of human isolates were of phagetype 8 and had the same PFGE pattern as the first outbreak strain.

The analysis of the distribution channels incriminated cheeses from a single wholesaler "B". At the time of outbreak 2, wholesaler "B" commercialised cheeses purchased from producers other than producer "A" but had still Cantal cheeses from producer "A" in stock awaiting destruction.

The results of the investigations indicate that outbreak 1 was caused by raw milk Cantal cheese from a single processing plant where contamination in the cheese production unit had lasted several weeks. Either subsequent cross-contamination of Cantal cheeses from other producers during storage or contamination of another cheese production unit by the same outbreak strain are suspected to be at the origin of outbreak 2.



ISBN : 2-11-093278-3  
Tirage : 1400 exemplaires  
Prix : **5,82 €**  
Imprimé par Maulde & Renou  
Dépot légal : Décembre 2002



INSTITUT DE  
VEILLE SANITAIRE

Département Maladies Infectieuses

12, rue du Val d'Osne - 94415 Saint-Maurice cedex  
Tél. : 33 (0) 1 41 79 67 00 - Fax : 33 (0) 1 41 79 67 87  
<http://www.invs.sante.fr>