

Université de Lille 2

Faculté Ingénierie et Management de la Santé (ILIS)

Master Nutrition, Sciences des Aliments : Parcours Qualité et Sécurité Alimentaires

---

**LES MALADIES VIRALES D'ORIGINE ALIMENTAIRE :**

**COMMENT OPTIMISER LA GESTION DU RISQUE ?**



**Sous la direction de Madame Caroline LANIER**

**Mémoire de fin d'études de la 2ème année de Master**

**Année Universitaire 2016-2017**

Composition du Jury :

Présidente du jury : Mme Annabelle DERAM, Maitre de Conférence

Directrice de mémoire : Mme Caroline LANIER, Responsable Master QSA

Membre invité : Mme Carine DEHAIES, Responsable Qualité, Florette

Date de soutenance : le 13 Octobre 2017 à 13H30

*Faculté Ingénierie et Management de la Santé - ILIS  
42 Rue Ambroise Paré  
59120 LOOS*

## REMERCIEMENTS

Avant tout, je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire, en m'apportant leurs conseils et leurs connaissances.

Je remercie Madame Caroline LANIER, qui en tant que directrice de mémoire a su se rendre disponible et être à l'écoute pour me guider dans mon travail.

Un grand merci à Madame Carine DEHAIES, Responsable Qualité à Florette et à l'ensemble du service Qualité. Les conseils prodigués et leur professionnalisme vont m'être d'une grande utilité.

J'adresse mes remerciements aux membres du jury, Madame Caroline LANIER, Madame Carine DEHAIES et Madame Annabelle DERAM pour le temps passé à la lecture et à l'analyse de mon mémoire.

J'exprime ma gratitude à toutes les personnes que j'ai pu rencontrer lors de mes recherches et qui ont accepté de répondre à mes questions avec un grand professionnalisme. Je pense par exemple au Docteur Thierry MORRIN.

Bien évidemment je remercie ma famille et plus particulièrement mes parents pour leur soutien tout au long de mes études. Je les remercie de m'avoir donné la force de continuer dans cette voie.

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>8</b>
<b>Contexte : L'émergence des maladies d'origine alimentaire .....</b>	<b>9</b>
<b>I/ Les virus dans les matrices alimentaires .....</b>	<b>9</b>
<b>A) Les virus entériques pathogènes.....</b>	<b>9</b>
<b>B) Les principaux facteurs de l'émergence des maladies virales d'origine alimentaire .....</b>	<b>13</b>
<b>C) Zoom sur les Norovirus et les virus de l'Hépatite A.....</b>	<b>21</b>
<b>D) Les caractères physiologiques des virus entériques .....</b>	<b>25</b>
<b>E) La pathogénicité et les modes de transmission : comparaison avec les bactéries .....</b>	<b>26</b>
<b>F) L'influence des paramètres physico-chimiques de l'environnement</b>	<b>30</b>
<b>G) Connaissances actuelles sur la gestion du risque dans les entreprises agroalimentaires .....</b>	<b>35</b>
<b>II/ Comment optimiser la gestion du risque ? .....</b>	<b>44</b>
<b>A) Prévention et Traitements d'inactivation .....</b>	<b>44</b>
<b>B) Détection des virus entériques infectieux.....</b>	<b>50</b>
<b>C) Surveillance des virus dans les aliments.....</b>	<b>53</b>
<b>III) Menaces .....</b>	<b>59</b>
<b>A) La commercialisation des insectes.....</b>	<b>59</b>
<b>B) Le comportement des consommateurs .....</b>	<b>59</b>
<b>C) L'utilisation des pesticides.....</b>	<b>60</b>
<b>D) Contexte environnemental.....</b>	<b>60</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>61</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>63</b>

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Utilisation et offre du poisson dans le monde <sup>15</sup> .....	14
Figure 2 : Proportion des TIAC selon l'agent pathogène suspecté ou confirmé - TIAC déclarées aux ARS et/ou à la DDPP en France entre 1990 et 2015 <sup>14</sup> .....	15
Figure 3 : Nombre de foyers de TIAC déclarés aux ARS et/ou à la DDPP en fonction du mois d'exposition pour les principaux agents responsables, confirmés ou suspectés - France, 2015 <sup>14</sup> .....	16
Figure 4 : Schéma du cycle de contamination virale du milieu hydrique (Schwarzbrod, 1991) <sup>26</sup> .....	19
Figure 5 : Agrégats de Norovirus observés par microscopie électronique (Kapikian, 2000) <sup>26</sup> .....	21
Figure 6: Agrégats de virus d'Hépatite A observés par microscopie électronique <sup>47</sup> .....	24
Figure 7 : Cycle de réplication des virus (ANSES, Dr Thierry MORIN) <sup>10</sup> .....	25
Figure 8 : Courbes d'inactivation des virus MS2, MNV et HAV sur une surface en bois, à différentes températures [15°C (■), 25°C (□), 32°C (●), and 40°C (○)] et des conditions d'humidité relative variables (30%, 50%, 70%).....	32
Figure 9 : Courbes d'inactivation des virus MS2, MNV et HAV sur une surface en acier, à différentes températures [15°C (■), 25°C (□), 32°C (●), and 40°C (○)] et des conditions d'humidité relative variables (30%, 50%, 70%).....	34
Figure 10 : Courbe de température des compostes débutant le 23 Octobre 2008 (Essai 1 (trial 1)) et le 5 Mai 2009 (Essai 2 (trial 2)) <sup>66</sup> .....	48
Figure 11 : Rappel de produit du 3 juillet 2017 (Picard) <sup>82.b</sup> .....	56

Tableau 1 : Bilan des 16 épisodes des TIAC virales liées à la consommation de coquillages en France 1992-2010 <sup>13</sup> .....	11
<i>Tableau 2: Nombre de foyers de TIAC déclarées aux ARS (Agence Régionale de Santé) et/ou aux DDPP (Direction Départementale de la Protection de la Population), selon le type d'aliment (incriminé ou suspecté) pour les principaux agents pathogènes (confirmés ou suspectés) - France, 2015<sup>14</sup>.....</i>	<i>13</i>
Tableau 3 : Tableau comparatif des relations dose-effet des agents pathogènes alimentaires <sup>31</sup> .....	20
Tableau 4 : Evaluation de la sensibilité comparée à la RT-PCR sur selles décongelées (Journal of Clinical Virology, 2013) <sup>46</sup> .....	23
Tableau 5 : Épidémies d'hépatite A attribuées à la consommation de coquillages, France, 1991-2011 <sup>13</sup> .....	24
Tableau 6 : Tableau comparatif des modes de transmission des principaux agents alimentaires infectieux et les symptômes associés (ANSES) <sup>47, 48, 49, 50, 51, 52</sup> .....	27
Tableau 7 : Inactivation des virus par différents traitements, dans différentes matrices alimentaires. Comparaison avec les bactéries végétatives (Source : Risques microbiologiques alimentaires, Naïtali et al, 2016 et Fiche ANSES Norovirus) <sup>31, 51</sup> .....	36
Tableau 8 : Tableau comparatif des moyens de maîtrise et de surveillance des agents pathogènes alimentaires <sup>47, 48, 49, 51, 50, 52</sup> .....	40
Tableau 9 : Inactivation du génome viral durant le compostage <sup>66</sup> .....	48
Tableau 10: Exemple de lignées cellulaire permettant de répliquer les virus entériques <sup>12</sup> ..	51
Tableau 11 : Mesures à mettre en place en fonction des résultats microbiologiques des échantillons de mollusques bivalves <sup>78</sup> .....	53

## GLOSSAIRE

**AFSSA** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

**ANSES** : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**ARS** : Agence Régionale de Santé

**Aw** : Activité de l'eau

**CaCV** : CaliciVirus Canins

**CGAAER** : Conseil Général de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Espaces Ruraux

**CGEDD** : Conseil Général de l'Environnement et du Développement Durable

**CNR** : Centre National de Référence

**DASS** : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales

**DDPP** : Direction Départementale de la Protection des Populations

**DDSV** : Direction Départementale des Services Vétérinaires

**DDTM** : Direction Départementale des Territoires et de la Mer

**DGAL** : Direction Générale de l'Alimentation

**DGCCRF** : Direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

**DO** : Déclaration Obligatoire

**ECDC** (European Center for Disease Prevention Control)

**EFSA** : European Food Safety Authority (=Autorité Européenne de Sécurité des Aliments)

**ELISA** : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

**Etude INCA** : Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires

**FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations

**FCD** (Fédération du Commerce et de la Distribution)

**FCV** : CaliciVirus Félin

**FEAMP** : Fonds Européens pour les Affaires Maritimes et la Pêche

**HR** : Humidité Relative

**ICPE** : Installations Classées pour la Protection de l'Environnement

**LER** : Laboratoire Environnement Ressources

**LNR** : Laboratoire National de Référence

**LM** : *Listeria Monocytogenes*

**MAFOR** : Matières Fertilisantes d'Origine Résiduaire

**MNV** : Murine Norovirus

**NASBA** : Nucleic Acid Sequence Based Amplification

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé (= World Health Organization)

**PCR** : Réaction de Polymérisation en Chaîne/ **RT-PCR** : Transcription inverse par Réaction de Polymérisation en Chaîne

**PRPDE** : Personne responsable de la production ou de la distribution d'eau

**RAE** : Réduction de l'Activité de l'Eau

**RASFF** : Rapid Alert System for Food and Feed

**REMI** : Réseau de contrôle Microbiologique

**RSD** : Règlement Sanitaire Départemental

**TIAC** : Toxi-Infection Alimentaire Collective

**VHA** : Virus de l'Hépatite A (=HAV)

**VLP** : Virus Like Particle

**VP** : Viral Protein

## INTRODUCTION

Les premières estimations mondiales de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) sur les maladies d'origine alimentaire montrent que, chaque année, une personne sur dix tombe malade en consommant des aliments contaminés par des microorganismes et que 420 000 en meurent [1]. Parmi ces microorganismes, les virus constituent une part significative (95% des cas atteints de maladies diarrhéiques sont touchés par les Norovirus dans la région des Amériques, OMS, 2015 [2]). Ces virus utilisent comme voie de transmission les aliments, l'eau et sont responsables de maladies infectieuses très fréquentes dans le monde ayant pour conséquence une déshydratation, une malnutrition et des troubles de la croissance [3]. On recense des millions d'épisodes diarrhéiques chaque année, plus particulièrement chez les enfants de moins de cinq ans.

A l'heure actuelle, aucun règlement et aucune surveillance de routine spécifiques aux virus n'existent dans aucun des aliments. Quant aux bactéries, des analyses régulières sont effectuées par les entreprises ou les laboratoires externes et elles sont soumises au règlement n°2073/2005 [4]. Les traitements d'inactivation des virus sont parfois jugés inefficaces, en raison de la capacité des virus à résister dans l'environnement, à l'opposé des bactéries où les traitements de désinfection sont beaucoup plus maîtrisés.

L'objectif de ce mémoire est de répondre à la problématique suivante : optimiser la gestion des virus dans les matrices alimentaires. Cette optimisation passe par plusieurs points, à savoir :

- La définition d'un cadre réglementaire spécifique des virus pathogènes pour l'Homme dans les matrices alimentaires.
- Une révision des méthodes préventives à l'égard des virus.
- L'utilisation de méthodes de détection caractéristiques aux virus.
- La mise en place de traitements d'inactivation des virus plus performants.

Pour répondre aux problèmes énoncés, le mémoire s'articulera selon trois axes :

Une première partie mettant en évidence l'émergence des maladies d'origine alimentaire, la position des virus, leurs caractéristiques propres et les connaissances actuelles sur la gestion du risque. Une seconde partie basée sur l'optimisation de la gestion du risque, exposant les axes d'amélioration et les solutions proposées.

Dans un dernier temps, nous concluons ce mémoire avec les menaces à venir.

## **Contexte : L'émergence des maladies d'origine alimentaire**

Les nouveaux modes de vie depuis 50 ans ont engendré un changement au niveau de la consommation des aliments et des intoxications alimentaires [5,6].

Malgré les mesures mises en place afin de garantir la sécurité des aliments, à savoir l'application d'une réglementation rigoureuse vis-à-vis de l'inspection sanitaire, les progrès en termes d'hygiène, la maîtrise de la température et l'instauration du Paquet Hygiène, le risque zéro de contamination microbiologique des aliments n'existe pas.

Une maladie émergente ne désigne pas forcément l'apparition d'une nouvelle souche bactérienne, virale ou autre, il peut s'agir de maladies qui existaient quelques siècles auparavant et qui réapparaissent soudainement ou sont véhiculées par un nouveau mode de transmission [7]. On peut citer comme exemple l'épidémie de Rotavirus qui a causé la mort de 453 000 enfants de moins de 5 ans au niveau mondial en 2008 [8] ou la Salmonellose, qui existe depuis longtemps mais dont l'incidence s'est accrue au cours des 25 dernières années.

A titre d'exemple, le sérotype Typhimurium représente la cause la plus fréquente de gastro-entérite. En 2010 on estime à 1,3 milliard le nombre de cas de gastro-entérite et à 3 millions le nombre de décès à l'échelle mondiale [9].

Nous allons voir dans un premier temps les caractéristiques des virus dans les matrices alimentaires suivis des principaux facteurs associés et conclure cette première partie avec l'implication des virus dans les TIAC (*Toxi Infection Alimentaire Collective*).

### **I/ Les virus dans les matrices alimentaires**

#### **A) Les virus entériques pathogènes**

Les virus abondent dans les aliments et dans le milieu hydrique. Or l'usage de l'eau dans les industries agroalimentaires est multiple, aussi bien dans le processus de fabrication, qu'en contact direct avec les aliments, que son utilisation pour l'hygiène du personnel. Ces agents pathogènes sont capables de provoquer des infections chez l'Homme et suscitent donc une préoccupation majeure dans le domaine de la santé publique. Leur mode de transmission *féco-orale*, les regroupent sous le nom de virus entériques [10]. Ce sont des virus responsables de gastro-entérites aiguës, d'hépatites, de méningites et d'autres maladies telles que la poliomyélite.

Les virus entériques ont une taille comprise entre 20 et 350 nm [10], soit 100 fois plus petits que les bactéries et ne sont pas visibles en microscopie optique. Ils sont divisés en trois groupes [10] :

- Le premier groupe est responsable des gastroentérites aiguës et comprend les Norovirus, Rotavirus, Adénovirus, Sapovirus, Astrovirus....
- Le deuxième groupe est constitué des virus des Hépatites A et E causant des réactions inflammatoires du foie.
- Le troisième groupe concerne les virus tels que le Poliovirus et le Coxsackievirus causant d'autres types de pathologies (méningite, paralysie, infection respiratoire...).

Entre 1996 et 2010 les virus entériques impliqués dans les TIAC à coquillages ont touché 251 foyers en France, représentant ainsi près de 54% du total de ces TIAC [11] (**Tableau 1**).

Les virus entériques (notamment les Calicivirus) ont donc un impact significatif dans la survenue de TIAC, en particulier lorsqu'ils contaminent les produits issus de la mer (35,6% des TIAC sont dues aux virus entériques), les fruits et végétaux (50% des TIAC sont liées aux virus entériques) et les repas de type buffets (19,6% des TIAC sont dues aux virus entériques) : chiffres recensés en Europe [12].

Tableau 1 : Bilan des 16 épisodes des TIAC virales liées à la consommation de coquillages en France 1992-2010 [13]

Département de survenue	Année	Nombre de cas recensés	Coquillages	Mois	Virus mis en évidence	Conditions suspectées de la contamination	Origine suspectée des coquillages
Hérault	1992	61	Huîtres	Décembre	Calicivirus	Non déterminées	Etang de Thau Zone classée A
Charente-Maritime	1994	21	Palourdes	Mars	Calicivirus	Non déterminées	Inconnue
Loire-Atlantique	1995	23	Huîtres	Mars		Fortes pluies et inondations en janvier sur tout le territoire Français	Saint-Vaast-La Hougue Bouin Zone classée A
Loire Atlantique	1996	12	Huîtres	Février		Non déterminées	Pornic Pêche à pied
Gironde	1996	7	Huîtres	Février		Non déterminées	Bassin d'Arcachon Zone classée A
Loire-Atlantique	1996	23	Huîtres	Mars-Avril		Non déterminées	Inconnue
Vienne	1997	120	Huîtres	Mars	Calicivirus (2 souches) Rotavirus groupe A	Fortes pluies ayant entraîné un débordement du réseau de collecte des eaux usées en mer	Rivière de Saint-Philibert Zone classée A
Nord, Orne, Rhône	2000	Non rapporté	Huîtres	Février-Mars		Dysfonctionnement de la station d'épuration placée en amont du lieu de stockage	Rivière du Jaudy Zone classée B
Somme	2001	19	Huîtres	Janvier	Norovirusgénogroupe II	Non déterminées	Inconnue
Aude, Côte d'Or, Hérault, Paris	2002	69	Huîtres	Novembre-Décembre	Norovirus groupe II	Non déterminées	Etang de Thau, 3 sites : Marseillan, Bouzigues, Meze Zone classée A

<b>Seine-Maritime, Vendée</b>	2003	75	Huîtres	Décembre	Norovirusgénogroupe I, Rotavirus	Non déterminées	Île de Ré
<b>Hérault, Gard, Haute-Garonne, Ardèche, Alpes-Maritimes, Bouches-du-Rhône, Meurthe-et-Moselle</b>	2006	203	Huitres	Février	Norovirus, astrovirus, rotavirus, aichivirus, entérovirus	Dysfonctionnements sur les réseaux d'eaux usées littoraux lors de 2 jours de fortes précipitations pendant une période d'épidémie hivernale de gastro-entérite	Etang de Thau 3 sites : Marseillan, Bouzigues, Meze Zone classée B
<b>Vendée</b>	2008	23	Huitres	Février	Norovirus, sapovirus, aichivirus		Pêche illégale dans un port (zone interdite à la pêche)
<b>Loire-Atlantique</b>	2010	37	Huitres et Moules	Janvier	Norovirus	Non déterminées	Huitres Rivière d'Auray et Petite mer du Gâvres Zones classées A et B
<b>Hérault</b>	2010	26	Huitres	Février	Norovirus, sapovirus, astrovirus, entérovirus, virus aichi	Non déterminées	Etang de Thau, Site de Bouzigues Zone classée B

Dans la plupart des cas, les conditions de la contamination sont difficiles à déterminer et dépendent de différents paramètres :

- Les conditions météorologiques.
- La pêche illégale.
- Un dysfonctionnement d'une station d'épuration, le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène...

Il semble donc difficile de remonter à l'origine de la contamination étant donné les différents facteurs qui peuvent être impliqués.

## **B) Les principaux facteurs de l'émergence des maladies virales d'origine alimentaire**

### ***1) Le mode de vie des consommateurs***

Le changement du mode de vie des consommateurs peut avoir un impact sur la santé. Par exemple, l'activité professionnelle croissante des femmes et l'augmentation des temps de transport domicile-travail, ont conduit au recours aux produits transformés surtout ceux à base de viande, qui peuvent être porteurs de contaminants alimentaires (bactéries, virus, parasites...). Dans le tableau ci-dessous (**Tableau 2**), nous pouvons remarquer que les virus touchent une part relativement importante d'aliments tels que les coquillages (29%), les plats cuisinés ou des plats avec des aliments composés (28%) [14].

*Tableau 2: Nombre de foyers de TIAC déclarées aux ARS (Agence Régionale de Santé) et/ou aux DDPP (Direction Départementale de la Protection de la Population), selon le type d'aliment (incriminé ou suspecté) pour les principaux agents pathogènes (confirmés ou suspectés) - France, 2015 [14]*

	Salmonella		Clostridium perfringens		Bacillus cereus		Staphylococcus aureus		Virus		Autres*		Total**	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Fromage / produits laitiers	20	11%	1	2%	3	1%	29	7%	0	0%	4	2%	57	5%
Œufs / produits à base d'œufs <sup>(1)</sup>	37	20%	0	0%	11	4%	15	4%	2	2%	4	2%	69	6%
Viande	33	18%	15	24%	42	16%	72	18%	11	10%	20	11%	193	16%
Charcuterie	29	16%	3	5%	7	3%	20	5%	3	3%	4	2%	66	6%
Volaille	18	10%	8	13%	27	10%	35	9%	3	3%	12	7%	103	9%
Poissons	2	1%	1	2%	17	7%	25	6%	5	5%	64	36%	114	10%
Coquillages	0	0%	1	2%	4	2%	10	2%	31	29%	24	13%	70	6%
Crustacés	3	2%	0	0%	9	3%	4	1%	9	8%	7	4%	32	3%
Autres aliments <sup>(2)</sup>	32	17%	28	44%	121	47%	172	43%	30	28%	31	17%	414	35%
Boissons	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	1%	2	1%	3	0%
Aliments non identifiés	13	7%	6	10%	19	7%	21	5%	11	10%	7	4%	77	6%
<b>Total</b>	<b>187</b>	<b>100%</b>	<b>63</b>	<b>100%</b>	<b>260</b>	<b>100%</b>	<b>403</b>	<b>100%</b>	<b>106</b>	<b>100%</b>	<b>179</b>	<b>100%</b>	<b>1198</b>	<b>100%</b>

<sup>(1)</sup> Produits à base d'œufs : mousse au chocolat, pâtisseries, mayonnaise, etc...

<sup>(2)</sup> Plats avec des aliments composés ou plats cuisinés (pizza, salade composée, hamburger, sandwich...)

\* *Campylobacter*, Histamine, *Shigella*, *E. coli*, *C. botulinum*, toxine diarrhéique DSP, *Yersinia enterocolitica*, *Trichinella britovi*, toxique (champignons)

\*\* 1 198 foyers de TIAC où un agent pathogène a été confirmé ou suspecté

Certes le nombre de foyers touchés par les virus reste faible comparé aux autres agents pathogènes (47% des plats cuisinés sont touchés par *Bacillus cereus*, 44% par *Clostridium perfringens*) mais la menace reste présente d'autant plus que les nouveaux comportements alimentaires impliquent une augmentation de la consommation de plats cuisinés et de fruits de mer. Comme nous pouvons le constater dans le graphique ci-dessous (**Figure 1**), la consommation des produits de la mer a tendance à augmenter au niveau mondial (passant de 20 millions de tonnes en 1950 à 21 millions de tonnes en 2014), alors qu'ils constituent un des principaux vecteurs de contamination virale (Norovirus, Hépatite A...).

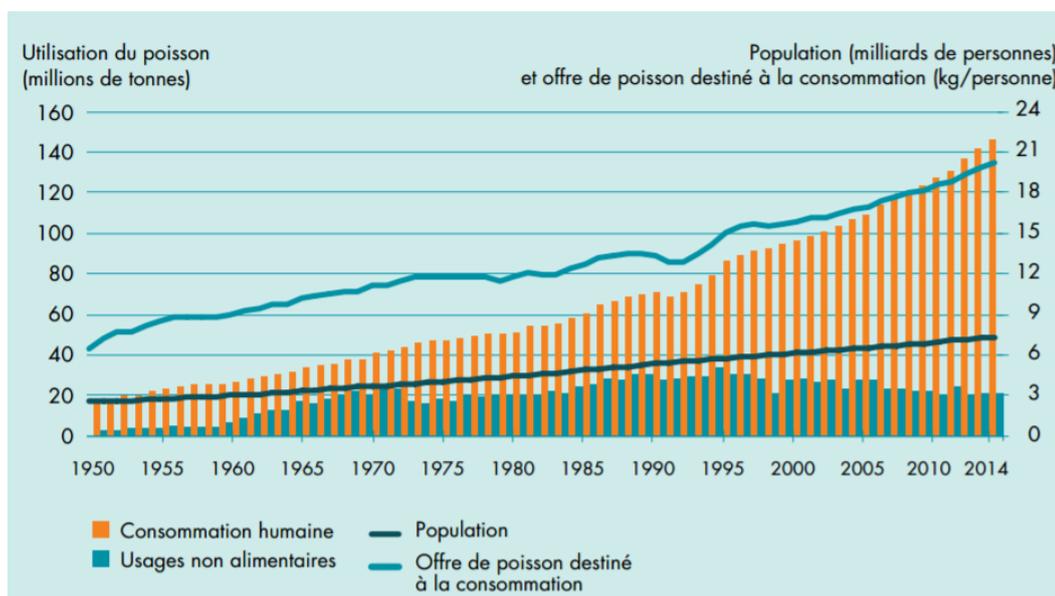


Figure 1 : Utilisation et offre du poisson dans le monde [15]

La dernière étude INCA 3 (étude *Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires*) datant de Juin 2017 [16] révèle que les nouveaux comportements alimentaires des consommateurs Français peuvent constituer un risque pour la santé, notamment un problème de sécurité microbiologique des aliments s'expliquant par:

- Une augmentation de la consommation des denrées animales crues (poisson et viande de bœuf en particulier). Or le traitement le plus efficace pour réduire la charge virale et bactérienne reste le traitement thermique.
- Parmi les aliments les plus consommés, on retrouve les poissons notamment sous forme de sushis (31%) et les mollusques (23% des adolescents et 46% des adultes), alors qu'ils constituent un des principaux vecteurs de contamination virale.
- Des temps de conservation plus longs avant la consommation de denrées périssables.
- Des dépassements plus fréquents des dates limites de consommation.

- Une température des réfrigérateurs parfois inadaptée.

Depuis l'étude INCA 2 (2006-2007), la consommation de denrées d'origine animale crues a nettement progressé avec un doublement du taux de consommateurs de poissons crus (passant de 15% à 31%). C'est une information qu'il ne faut pas négliger étant donné que le poisson constitue un des principaux vecteurs de maladies (parasites, virus, bactéries). Cette tendance aux consommations en mode cru d'aliments habituellement cuits (viandes ou poissons) amplifie le risque de contamination du fait de l'absence de traitement thermique permettant une élimination des germes [6] et peut donc expliquer l'augmentation du nombre de TIAC.

## 2) Une meilleure reconnaissance des agents infectieux

Selon une source du Ministère de l'Agriculture [6], l'incidence des maladies émergentes est liée à un meilleur signalement et non à une augmentation du risque alimentaire, qui tend à diminuer depuis cinquante ans. Ceci est notamment lié aux évolutions technologiques telles que l'élaboration et la diffusion en 2004 du logiciel WINTIAC de gestion des signalements de TIAC [17].

Comme nous pouvons le constater dans le graphique ci-dessous (**Figure 2**), le nombre de TIAC a tendance à augmenter au fil des années. Les principaux agents pathogènes impliqués sont des bactéries telles que *Bacillus cereus* (avec une augmentation soudaine entre 2010 et 2015 de 9% à 22%), *Staphylococcus aureus* (avec une croissance progressive entre 2003 et 2015, de 16% à 34%) et des virus (avec une augmentation d'environ 5% entre 2012 et 2015).

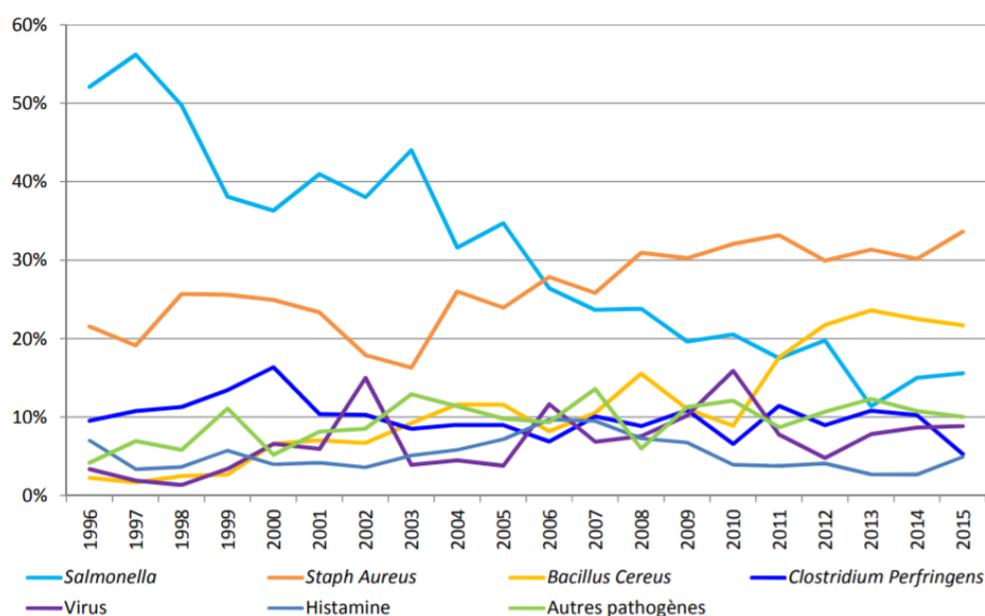


Figure 2 : Proportion des TIAC selon l'agent pathogène suspecté ou confirmé - TIAC déclarées aux ARS et/ou à la DDPP en France entre 1990 et 2015 [14]

Cependant, comme pouvons-nous être certains que cette augmentation soit liée à un meilleur signalement ?

### 3) Des conditions climatiques propices à la prolifération d'agents pathogènes

Les conditions climatiques actuelles peuvent être favorables à la survie de certains pathogènes (réchauffement climatique, température en dehors des températures normales de saison...).

En effet, la prolifération des agents infectieux est variable selon la saison, comme nous pouvons le remarquer dans le graphique ci-dessous (**Figure 3**), la part des virus entériques est plus importante durant les périodes hivernales (49% des TIAC liées aux virus sont apparues entre décembre et mars). A juste titre, le Norovirus est tellement présent l'hiver qu'il est surnommé « The wintervomiting bug » [18].

En revanche, durant les périodes estivales, les foyers sont plus touchés par les bactéries (90 à 100 foyers touchés au mois d'août par *Clostridium perfringens*, contre 60 foyers en Janvier).

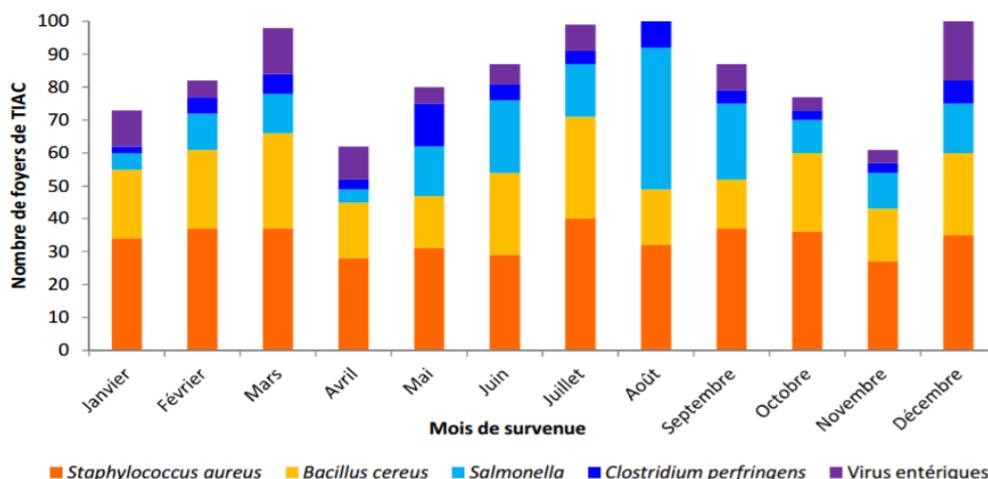


Figure 3 : Nombre de foyers de TIAC déclarés aux ARS et/ou à la DDPP en fonction du mois d'exposition pour les principaux agents responsables, confirmés ou suspectés - France, 2015 [14]

Ainsi, la contamination virale apparaît plutôt l'hiver, touchant en général les zones littorales du fait de la consommation plus importante des produits de la mer.

### 4) La zone géographique

La contamination virale varie également en fonction de la répartition géographique.

Si l'on considère le cas du virus de l'Hépatite A, trois zones géographiques sont définies selon le taux d'infection par ce virus [19]:

- Une zone à taux élevé d'infection : elle concerne les pays en développement où les conditions sanitaires et d'hygiène sont médiocres. Environ 90% des enfants ont été infectés par le VHA (Virus de l'Hépatite A), avec un taux de morbidité plutôt faible et des épidémies peu fréquentes du fait de l'immunisation des adultes et des enfants plus âgés.
- Une zone à taux intermédiaire d'infection : il s'agit des pays en développement avec une économie qui évolue et des régions aux conditions sanitaires instables. Dans ces pays, les enfants échappent souvent à l'infection et atteignent l'âge adulte sans être immunisés. Contrairement aux zones à taux élevé d'infection, ces zones aux meilleures conditions économiques et sanitaires présentent des taux de morbidité plus élevés et de grandes flambées épidémiques liés au nombre d'adultes qui n'ont jamais été infectés et qui n'ont donc pas été immunisés.
- Une zone à faible taux d'infection : il s'agit des pays développés où les conditions sanitaires et d'hygiène sont beaucoup plus maîtrisées avec des taux d'infection faibles. Le niveau d'hygiène élevé permet, face à l'introduction des virus dans ces zones, d'interrompre la transmission virale interhumaine et/ou alimentaire, ralentissant ainsi les flambées épidémiques.

Quant aux Norovirus (l'agent le plus souvent incriminé dans les TIAC) la propagation a lieu dans de nombreux pays, peu importe la situation économique du pays.

A titre d'exemple, on peut citer les Etats-Unis, une des puissances mondiales qui connaît un taux assez élevé de TIAC d'origine virale, allant de 19 millions à 21 millions de cas de gastroentérites aiguës (soit environ 6% de la population totale) provoquant jusqu'à 800 décès chaque année [20].

Cette propagation cause certes moins de dégâts dans les pays industrialisés, mais elle reste néanmoins présente et a également un impact économique non négligeable.

Selon le journal économique et financier Français *La Tribune* [21], les Norovirus représentent un fardeau de 64 milliards de dollars au niveau mondial, comprenant 4.2 milliards de dollars de coûts en soins médicaux et 60 milliards de dollars liés à la perte de productivité chaque année (publication du 27 Avril 2016). Sachant que cette perte pourrait être sous-estimée étant donné que les médecins ne font pas systématiquement des tests pour détecter le virus.

Même si les pays développés disposent des moyens nécessaires pour assurer la sécurité des aliments, les traitements actuels ne permettent pas d'éradiquer totalement le génome viral. De plus, les échanges commerciaux entre les pays industrialisés et les pays en développement peuvent constituer un risque pour la santé des consommateurs.

## 5) La mondialisation des agents infectieux

La localisation des infections virales reste compliquée à déterminer face à la mondialisation des échanges. En effet les micro-organismes ne connaissent aucune frontière et la rapidité des transports, les échanges commerciaux de plus en plus nombreux facilitent la propagation d'agents pathogènes, notamment d'origine alimentaire. La mondialisation de plus en plus pesante constitue un facteur non négligeable de contamination virale [22]. Face à ces échanges internationaux, la prévention des maladies transmissibles par l'alimentation ne peut se faire qu'au niveau national. Il est nécessaire de connaître la situation sanitaire de chaque Etat pour que les autres pays puissent agir individuellement ou collectivement (comme l'Union Européenne) et ainsi prendre des mesures lorsque l'état sanitaire n'est pas satisfaisant. L'existence d'un réseau d'alerte tel que le RASFF (*The Rapid Alert System for Food and Feed*) [23], permet de suivre les signalements liés à la contamination de denrées alimentaires pouvant mener au retrait ou rappel de ces denrées à l'échelle Européenne. Dans le rapport annuel du RASFF de 2014 [24], une augmentation significative de Norovirus dans les mollusques bivalves provenant du Vietnam a été notifiée (24 notifications). Après investigations, le Vietnam a déclaré que l'eau était la principale source de contamination et a donc pris les mesures nécessaires pour remédier à ce problème. La Commission Européenne a donc exigé la mise en place d'une cuisson suffisante pour éliminer les pathogènes (90°C/90s).

Depuis début 2017 [23], on recense 25 notifications pour aliments contaminés par des virus incriminant essentiellement des Norovirus et le virus de l'Hépatite A. Plusieurs pays peuvent être concernés par une même notification : à titre d'exemple on peut citer les fraises commercialisées en France provenant de la Pologne ou les tomates provenant de la Colombie et commercialisées en République-Tchèque [23] ([ANNEXE 1](#)). L'impact de la mondialisation est également évoqué dans un rapport de l'EFSA (European Food Safety Authority = Autorité Européenne de Sécurité des Aliments) [25] et représente un vrai challenge, étant donné que les échanges commerciaux s'amplifient, les chaînes d'approvisionnement alimentaires sont de plus en plus complexes. Il sera donc plus difficile de remonter à la source des aliments contaminés en cas d'épidémies ([ANNEXE 2](#)).

## 6) La distribution des eaux

La source d'une contamination virale est d'autant plus compliquée à déterminer sachant qu'elle peut être variée avec un potentiel zoonotique non négligeable. Comme nous pouvons remarquer, la contamination des aliments passe essentiellement par l'eau qui peut avoir diverses origines (**Figure 4**) [26] : l'eau utilisée pour irriguer les terres

agricoles, les eaux souterraines, l'eau de mer.... Ainsi, la qualité microbiologique de l'eau est un paramètre incontestable à prendre en considération. Si l'on se concentre sur les critères microbiologiques définis dans la directive 98/83/CE relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine [27], on peut constater qu'aucun critère viral n'est défini or la principale voie de contamination virale reste l'eau (**ANNEXE 3**).

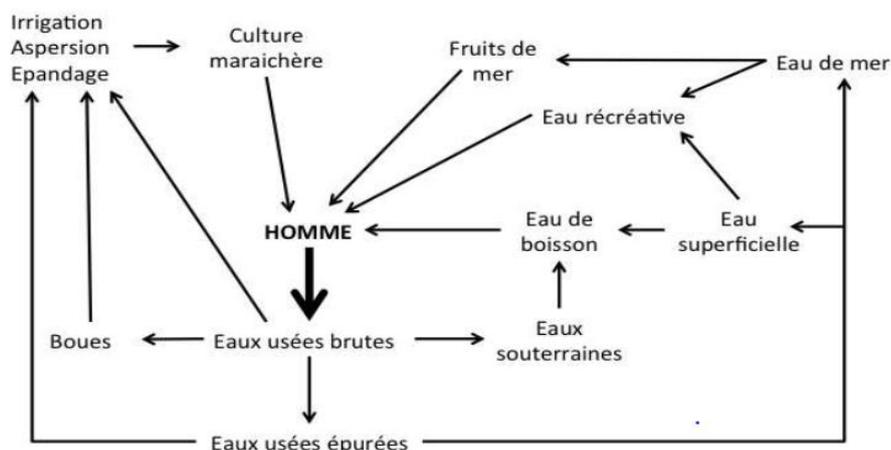


Figure 4 : Schéma du cycle de contamination virale du milieu hydrique (Schwarzbrod, 1991) [26]

### 7) La virulence et la résistance des souches

La virulence se traduit par la capacité pour un microorganisme de pénétrer dans un organisme hôte et à utiliser les ressources pour produire des particules virales infectieuses appelées des « virions », ayant pour conséquence le développement d'une maladie (Rodriguez et al., 2009) [28]. Le caractère virulent d'une souche est difficile à établir au vu de la variabilité génétique, il peut dépendre de l'expression de certains gènes (ex : la protéine VP4 joue un rôle majeur dans l'attachement cellulaire et la virulence Jayaram et al., 2004) [29]. Le risque d'émergence de nouvelles souches est toujours présent, même si la circulation des souches d'origine animale ou des combinaisons de génotypes inhabituels restent faibles en France et en Europe. Par exemple les Norovirus du génogroupe II et du génotype 4 (GII.4) possèdent une étonnante capacité évolutive marquée par l'apparition de nouveaux variants à l'origine de nouvelles épidémies [26]. La résistance des virus entériques et la faible dose infectieuse compliquent la prévention des maladies types gastroentérites par simple application des précautions standard d'hygiène. Les virus entériques peuvent survivre plusieurs heures sur les mains, jusqu'à neuf jours dans les aérosols et plusieurs dizaines de jours dans une eau à 20°C [30]. La relation dose-effet devient donc difficile à établir et dépend des caractéristiques variées des aliments contaminés (effet protecteur, pouvoir tampon...), de la virulence des souches et de la sensibilité de l'hôte. Comme nous pouvons le constater dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3**) :

- Les doses associées pour *E.coli* O157:H7 et les Norovirus concernent uniquement des cas isolés (enfant de moins de 5 ans et des individus sensibles Se+) et ne permettent pas de savoir si cet effet est valable pour l'ensemble de la population.
- On remarque également un écart relativement élevé entre la dose minimale et la dose maximale pour les Norovirus et Trichinella, ne permettant pas de déterminer un seuil limite.

Tableau 3 : Tableau comparatif des relations dose-effet des agents pathogènes alimentaires [31]

Microorganismes	Population cible	Effet	Probabilité de l'effet	Dose associée	Référence
<b>E.coli O157:H7</b>	Enfants de moins de 5 ans	SHU (syndrome hémolytique et urémique)	$8.10^{-5}$	1 UFC	Delignette-Muller et Cornu (2008) [32]
<b>L.monocytogenes</b>	Population générale < 65 ans	Listeriose invasive	$8,8.10^{-11}$		Pouillot et al. (2015) [33]
	Population générale > 65 ans		$1,5.10^{-9}$		
	Femmes enceintes		$2,5.10^{-8}$		
Personnes immunodépressives	$9,5.10^{-8}$				
<b>Clostridium perfringens</b>	Population générale	$P_{mal}^*$	0,5	$10^8$ UFC	Jaloustre (2011) [34]
<b>Salmonella</b>	Population générale	Salmonellose	0,5	36 UFC	Teunis et al. (2010) [35]
<b>Trichinellaspp.</b>	Population générale	$P_{inf}^{**}$	0,5 0,01	260 larves 5 larves	Teunis et al. (2012) [36]
<b>Norovirus (groupe I)</b>	Population générale sensible (statut Se+)	$P_{inf}$ $P_{mal}$	0,5 0,5	7 copies génomes 32 copies génomes	Thebaulta et al. (2013) [37]

\*Pmal : probabilité de maladie / \*\*Pinf : probabilité d'infection

Ainsi, la dose associée est complexe à déterminer pour les virus entériques, puisqu'ils sont difficilement cultivables et nécessitent d'infecter une cellule hôte pour se répliquer. Or la culture cellulaire reste l'unique méthode permettant d'analyser le caractère infectieux des virus.

En plus de cela, la sensibilité de l'hôte aux virus varie selon l'expression ou non de certains antigènes et leurs concentrations ne peuvent être exprimées qu'en copies de génome ce qui explique la difficulté à établir des critères virologiques. « *Une très faible dose de virus alimentaires ou entériques est généralement capable d'induire une pathologie chez l'homme. La question de la dose ne se pose donc généralement pas pour ce type de pathogènes.* » (Dr Thierry MORIN, Docteur en Virologie et Immunologie, ANSES).

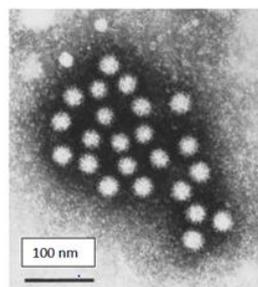
Tous les virus ne sont pas forcément infectieux et il arrive parfois que le génome viral persiste plus longtemps que le caractère infectieux, ce qui rend plus complexe la détermination d'une dose infectieuse [30].

La sécurité sanitaire des aliments est une préoccupation majeure des pouvoirs publics et l'émergence des TIAC peut avoir plusieurs origines. Lors de la réunion d'experts de la FAO/OMS sur les virus dans les aliments, il a été démontré que les virus les plus préoccupants du point de vue de l'hygiène alimentaire sont les Norovirus (12% à 47%) et le virus de l'Hépatite (5%) [38]. Il est donc nécessaire de maîtriser les risques en amont de la chaîne, de la fourche à la fourchette. Cette maîtrise implique entre autre une connaissance tangible des virus entériques.

### **C) Zoom sur les Norovirus et les virus de l'Hépatite A**

#### **➤ Norovirus**

La dénomination Norovirus ou virus de Norwalk (**Figure 5**) fait référence à la ville de Norwalk dans l'Ohio aux Etats-Unis suite à une épidémie de gastroentérites en 1968. C'est en 1972 que les particules virales ont été clairement identifiées dans les échantillons d'aliments contaminés par ce virus [26].



*Figure 5 : Agrégats de Norovirus observés par microscopie électronique (Kapikian, 2000) [26]*

Le Norovirus est la cause la plus commune de gastroentérites et est responsable d'au moins 50% des épidémies. C'est un virus très stable dans l'environnement et ne peut être cultivé *in vitro*. Ils sont subdivisés en cinq génogroupes ([ANNEXE 4](#)) dont le génogroupe II constitue 80% des infections [[10](#)].

Le genre *Norovirus* appartient à la famille des *Caliciviridae*. Il possède une capsidie constituée d'une protéine majoritaire (VP1 : Viral Protein 1, présente en 180 copies) et d'une protéine minoritaire (VP2).

Trois caractéristiques interviennent dans la transmission de ces virus :

- Leur grande résistance dans l'environnement (D'Souza et al, 2006) [[39](#)].
- Leur faible dose infectieuse : ( $\leq 18$  particules virales : Hall AJ, 2012) [[40](#)].
- La diversité des souches (Yang et al. 2012) [[41](#)].

Selon les données de TIAC à coquillages pour les années 1996 à 2010, les Norovirus représentent la première cause de TIAC à coquillages avec 31% des cas atteints en France (Vaillant et al., 2012 [[13](#)]), comme nous avons pu le constater dans le (**Tableau 1**).

Chaque année, on recense 21 millions de personnes infectées par le Norovirus aux Etats-Unis et 200 000 morts dans le monde (Zhanlong et al., 2017) [[42](#)]. Les principaux symptômes sont des gastro-entérites (nausées, vomissements, fièvre, crampes abdominales, céphalées...) (Kohli et al., 2005 [[43](#)] ; Patel et al., 2009 [[44](#)]).

Les ravages causés par le Norovirus ainsi que l'absence de vaccination liée à sa grande variété antigénique et l'absence de médicaments font qu'il constitue une maladie à déclaration obligatoire (DO) [[31](#)].

Cependant de récentes recherches étudient la possibilité de développer un vaccin contre les Norovirus de génogroupe II.4 (Bernstein et al., 2015) [[45](#)], malgré tout, la mise sur le marché d'un vaccin contre les Norovirus est loin de voir le jour étant donné la spécificité de cet agent pathogène et le fait que l'étude soit menée sur des virus de substitution, appelés Virus LikeParticle (VLP).

La recherche de Norovirus chez un individu infecté par cet agent, peut être effectuée rapidement par immunochromatographie à partir d'un échantillon de selles (résultat communiqué dans la journée).

Il existe 5 tests d'immunochromatographie pour la détection des Norovirus actuellement disponibles sur le marché Français. Ces tests ont été évalués par le CNR (Centre National de Recherche) des virus entériques de Dijon [[46](#)].

Tableau 4 : Evaluation de la sensibilité comparée à la RT-PCR sur selles décongelées (Journal of ClinicalVirology, 2013) [46]

Nom du kit	RidaQuick Norovirus	Immunocard STAT Norovirus	Norotop	SD Bioline Norovirus	actim Noro					
Fabricant	R-Biopharm AG. (Allemagne)	Denka Seiken Co. Ltd. (Japan)	Biosynex Immunodiagnostic (France)	Standard Diagnostics Inc. (Corée)	Oy Medix Biochemica Ab. (Finlande)					
Distributeur	R-Biopharm AG	Meridian Bioscience Europe	All Diag SA	Alere	Fumouze Diagnostics					
SENSIBILITE % (nombre de positifs / nombre d'échantillons testés)										
Globale	52%	(113/218)	35%	(62/175)	51%	(76/148)	41%	(78/189)	56%	(45/80)
Génogroupe I	17%	(10/58)	22%	(13/49)	52%	(32/61)	23%	(19/81)	43%	(13/30)
Génogroupe II	64%	(103/160)	39%	(49/126)	50%	(44/87)	54%	(59/108)	64%	(32/50)
Génotype GII.4	78%	(60/77)	59%	(32/54)	61%	(17/28)	67%	(22/33)	73%	(11/15)

Comme nous pouvons le constater dans le **Tableau 4**, ces tests sont plus ou moins fiables, la sensibilité peut varier de 17% (Génotype I avec le kit RidaQuickNorovirus) à 78% (Génotype II.4 avec le même kit). Ces kits sont spécifiques des Norovirus de génogroupes I et II et s'effectuent sur des échantillons de selles congelées.

La recherche d'un Norovirus de génotype II.4 semble être efficace avec ce kit, en revanche le test est moins sensible au génotype I, or dans les cas d'épidémies d'origine hydrique ou alimentaire, nous pouvons être face à d'autres génotypes de Norovirus (cas des coquillages) : « *Il existe des kits rapides Rotavirus, Adenovirus, et Norovirus qui sont spécifiques pour la recherche sur des selles. Le seul moyen pour faire le génotypage est de réaliser la PCR multiplex Norovirus I et II* » (Dr Yahia MEKKI, Biologiste, virologue au Laboratoire de virologie à Lyon).

### ➤ Hépatite A

A l'heure actuelle, six types de virus d'Hépatites ont été identifiés : A, B, C, D, E et G. Nous allons nous intéresser au virus de l'Hépatite A, qui représente 50% des Hépatites au niveau mondial, mais également le deuxième virus impliqué dans les TIAC (après les Norovirus) [26]. Parmi les six épidémies d'Hépatite A attribuées à la consommation de coquillages (**Tableau 5**), toutes sauf une sont apparues en période hivernale. Période où la consommation de coquillages est la plus intense. Cet agent pathogène touche un nombre de personne non négligeable, entre 1991 et 2007 on recense 1258 cas, avec des variabilités au niveau génotypique.

Tableau 5 : Épidémies d'hépatite A attribuées à la consommation de coquillages, France, 1991-2011 [13]

Période	Lieu	Nombre de cas recensés	Coquillage incriminé ou suspecté	Imputabilité <sup>1</sup>	Génotype viral
Décembre 1991-mars 1992	Loire-Atlantique	402	Coquillages crus, huîtres Origine suspectée : Baie de la Vilaine	+/-	1A 1B
Décembre 1991-mars 1992	Morbihan	469	Coquillages crus, huîtres Origine inconnue	+/-	
Décembre 1996-mai 1997	Midi-Pyrénées	205	Huîtres Origine inconnue	+	
Février-mars 1999	Côtes d'Armor	33	Huîtres Origine : Baie de Paimpol Problème de traitement des eaux usées	+	
Décembre 1997-avril 1998	Hérault	45	Huîtres/moules Origine : Étang de Thau	++	1A 1B 3
Août-septembre 2007	Côtes d'Armor	104	Coquillages crus (majoritairement huîtres) Origine : Baie de Paimpol	+	3

Imputabilité : +/- : basée sur enquête épidémiologique descriptive; + : basée sur enquête épidémiologique analytique ; ++ : basée sur enquête épidémiologique et mise en évidence du VHA dans les coquillages.

L'hépatite A appartient à la famille des *Picornaviridae* et est classée en six génotypes:

- Les génotypes I, II et III, touchent les humains et sont subdivisés en sous-types A et B. Le génotype I reste le plus répandu.

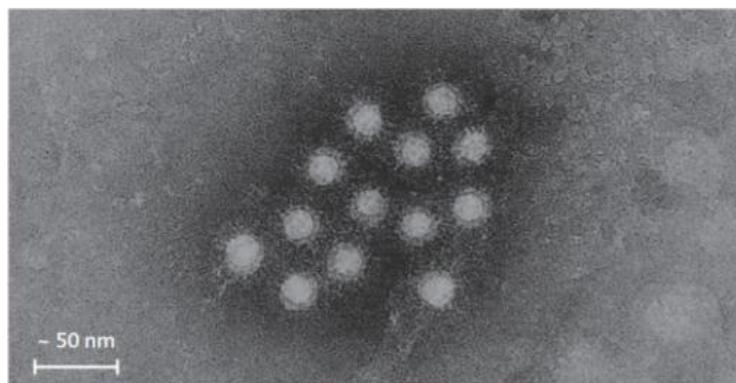


Figure 6: Agrégats de virus d'Hépatite A observés par microscopie électronique [47]

C'est un virus hautement contagieux, pour preuve, l'épidémie survenue en 1988 à Shanghai a touché près de 300 000 personnes suite à une contamination de l'eau ou des aliments [19]. Depuis 2005, l'Hépatite A est une maladie à déclaration obligatoire [12].

De nouveau, la relation dose-réponse pour l'ensemble des virus entériques est difficile à établir en raison d'une extrapolation des données collectées à partir d'autres virus entériques : dans le cas de l'Hépatite A par exemple, le taux de morbidité est estimé à  $9 \times 10^{-3}$ , chez une personne consommant 60 g de coquillages crus (poids de mollusque) contaminés par moins de 10 virus infectieux [47].

Les symptômes liés à cette maladie peuvent être bénins ou graves et peuvent se traduire par : une diarrhée, de la fièvre, un mauvais état général, une perte d'appétit, des nausées....

Contrairement aux adultes, l'infection chez les enfants est plutôt asymptomatique et la sévérité des symptômes s'amplifie avec l'âge [19].

A ce jour, aucun traitement efficace ne permet d'éliminer totalement l'Hépatite A et la gestion du risque est essentiellement basée sur de la prévention, à savoir :

- La vaccination.
- Le respect des bonnes pratiques d'hygiène.
- L'approvisionnement en eau potable.
- L'amélioration des installations d'assainissement....

L'Hépatite A fait partie des virus entériques qui ont la capacité de traverser la barrière gastrique, d'infecter les cellules de la muqueuse intestinale et de se diffuser pour infecter d'autres organes (foie, système nerveux central...).

#### **D) Les caractères physiologiques des virus entériques**

Les virus sont des particules microscopiques infectieuses possédant un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) et ne peuvent se répliquer qu'en pénétrant dans une cellule et utiliser sa machinerie. On les qualifie de « Parasite intracellulaire obligatoire » [31]

La plupart des virus entériques sont des virus à ARN, dont l'infection se déroule de la manière suivant (**Figure 7**) [10] :

- a) Le virus reconnaît les récepteurs situés sur la membrane de la cellule hôte et fusionne avec afin d'injecter son ARN.
- b) L'ARN est transcrit en ADN pour s'insérer dans le génome de la cellule hôte (dans le cas d'un

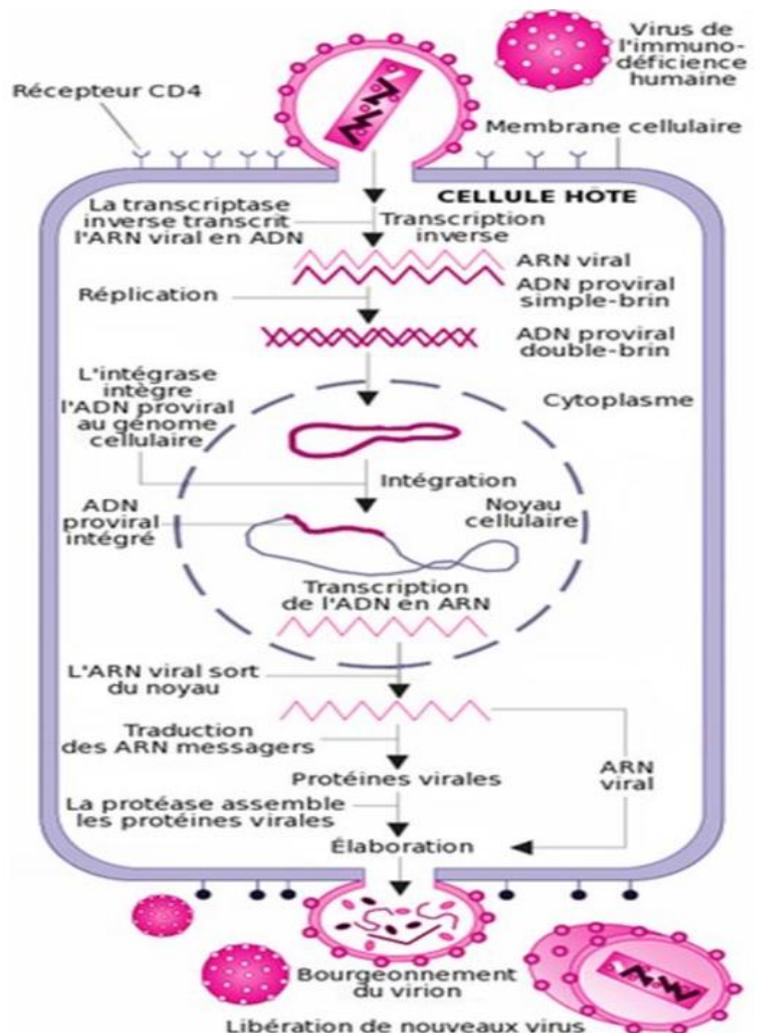


Figure 7 : Cycle de répllication des virus (ANSES, Dr Thierry MORIN) [10] 25

- virus à ADN, il n'y a pas de transcription).
- c) L'ADN est ensuite transcrit en ARN viral pour être à son tour traduit en protéines.
  - d) Après une phase d'assemblage des protéines virales, de nouveaux virus sont libérés de la cellule hôte et peuvent infecter d'autres cellules.

### **E) La pathogénicité et les modes de transmission : comparaison avec les bactéries**

Les maladies humaines causées par les virus entériques ainsi que la sévérité des symptômes associés sont variées. La pathologie la plus fréquente liée à une infection par un virus entérique reste la gastro-entérite (vomissements et/ou diarrhées). Toutefois, d'autres pathologies peuvent être déclarées selon la souche virale, telles que l'hépatite, des atteintes respiratoires, une infection du système nerveux central.

Les modes de transmission sont variables selon les matrices alimentaires, étant donné que les microorganismes sont très sensibles aux conditions physico-chimiques (pH, température, aw...). Le réservoir et les voies de contamination des aliments par les microorganismes sont variables, on peut être face à un microorganisme qui contamine un aliment inhabituel ou passe par une nouvelle voie de transmission à l'Homme. Ces changements peuvent être le fruit de l'évolution des pratiques agricoles (élevage à grande échelle, le regroupement au même endroit de nombreux animaux), les changements climatiques, des modes de production différents (une modification mineure dans un procédé de fabrication peut avoir des conséquences sanitaires considérables : par exemple aux Etats-Unis, dans les années 1950, une modification du procédé de salaison des jambons cuits a provoqué un nombre important de TIAC) [31].

Les données indiquées dans le tableau suivant (**Tableau 6**), permettent d'établir une comparaison entre les bactéries et les virus ayant comme vecteur commun de transmission les aliments. Trois paramètres sont mis en parallèle à savoir :

- Les symptômes et la période d'incubation : les durées d'incubation sont relativement longues concernant la *Listeria* (jusqu'à 88 jours) et l'Hépatite A (jusqu'à 50 jours), ce qui signifie qu'en cas de TIAC, il sera extrêmement complexe de remonter à l'origine de la contamination.
- Les matrices alimentaires les plus touchées.
- Les causes de la transmission.

Tableau 6 : Tableau comparatif des modes de transmission des principaux agents alimentaires infectieux et les symptômes associés (ANSES) [47, 48, 49, 50, 51, 52]

Microorganismes	Incubations	Symptômes	Les matrices alimentaires les plus touchées	Les causes de la transmission
<b>BACTERIES</b>				
<b><i>E.coli</i></b> <b>entérohémorragique</b>	3-4 jours variables de 2 à 12 jours	Diarrhée banale ou colite hémorragique : crampes abdominales et diarrhée initialement aqueuse puis sanglante chez un patient généralement apyrétique ou subfébrile	Les viandes crues ou peu cuites de bœuf et éventuellement d'autres ruminants Le lait cru et les produits au lait cru Les produits végétaux crus ou peu cuits L'eau de boisson	Les ruminants domestiques, notamment les bovins, sont les principaux réservoirs de STEC dans leur tube digestif. Ce sont des porteurs sains, ils contaminent l'environnement par les bactéries présentes dans leurs fèces. D'autres animaux d'élevage ou des animaux sauvages peuvent également être porteurs sains de STEC. La transmission peut s'effectuer directement avec les animaux infectés ou leurs déjections mais aussi de personne à personne. La contamination intervient par exemple lors de l'éviscération des animaux à l'abattoir, lors de la traite pour le lait ou en absence de règles d'hygiène.
<b><i>Listéria monocytogenes</i></b>	-Toutes formes confondues : 2 à 88 jours, médiane 17 jours -Formes materno-néonatales : 14 à 88 jours,	<u>Toute la population, toutes classes d'âge confondues :</u> Septicémie/bactériémie Méningites,,méningoencéphalites, rhomboencéphalites, abcès cérébral, Infections locales Syndrome pseudo-grippal (fièvres, frissons, lombalgies) <u>Femme enceinte :</u>	Bactérie à caractère ubiquitaire : les cas de listériose sont aussi bien liés à la consommation d'aliments d'origine végétale qu'animale. Cependant, les aliments les plus à risques sont : -Les fromages à pâte molle, notamment ceux à base de lait cru.	La contamination peut intervenir à tous les stades de la chaîne alimentaire. Les ensilages mal faits (acidification insuffisante), peuvent favoriser la contamination des ruminants et indirectement celle de l'homme. La transmission peut s'effectuer directement avec les animaux infectés ou leurs déjections dans

	médiane : 28 jours -Formes neuro-méningées : 2 à 19 jours, médiane : 10 jours	Avortement spontané, Mort in utero, prématurité, Infection néonatale	-Les produits carnés -Les produits de la mer	l'environnement.
<i>Salmonella spp</i>	<b>SALMONELLOSES NON-TYPHIQUES</b>			
	6-72 heures Le plus souvent de 12-36 heures	Nausées, vomissements Douleurs abdominales Diarrhées Maux de tête Frissons Fièvre à 39-40 °C	Les œufs et produits à base d'œuf n'ayant pas subi un traitement thermique suffisant Les viandes de volaille	Transmission essentiellement par des aliments contaminés crus ou peu cuits. Transmission directe, interhumaine ou par contact avec des animaux infectés.
	<b>SALMONELLOSES TYPHIQUES</b>			
	3 jours-1 mois Le plus souvent de 8-14 jours	Fièvre prolongée Céphalées intenses Anorexie Constipation le plus souvent ou diarrhées Somnolence, prostration le jour, insomnie nocturne, macules rosées au niveau des flancs ou du thorax	La viande de porc	Transmission de personne à personne ou via la consommation d'eau ou d'aliments infectés par des selles de personnes infectées. L'homme est l'unique réservoir.

Microorganismes	Incubations	Symptômes	Les matrices alimentaires les plus touchées	Les causes de la transmission
<b>VIRUS</b>				
<b>Hépatite A</b>	30 jours (15 à 50 jours)	Formes cholestatiques (arrêt ou d'une diminution de la production de bile par dysfonctionnement des hépatocytes) Exceptionnellement, signes extrahépatiques (neurologiques, rénaux, thrombocytopénie essentielle, cryoglobulinémie Excrétion fécale intermittente.	Coquillages Végétaux crus Les produits de l'agriculture irrigués par de l'eau contaminée	Appelée la « maladie des mains sales », la voie habituelle de transmission est la voie féco-orale. L'homme est considéré comme le principal réservoir.
<b>Norovirus</b>	10– 50 heures	Gastro-entérite aiguë : apparition brutale de vomissements, nausées et/ou de diarrhée parfois associés à des crampes abdominales, malaise, anorexie, fièvre (peu élevée rapportée dans moins de 50 % cas), frissons, courbatures et maux de tête.	Végétaux : fruits rouges essentiellement Coquillages bivalves Eau de boisson ou de distribution	La contamination peut intervenir à tous les stades de la chaîne alimentaire, les Norovirus sont très résistants dans l'environnement entraînant ainsi la contamination des eaux. Aliments contaminés lors de leur manipulation sans précautions d'hygiène par une personne infectée. L'homme est considéré comme le seul réservoir.
<b>Rotavirus</b>	3 jours	Apparition rapide des vomissements et des diarrhées Déshydratation rapide Fièvre modérée Méningites, encéphalites en cas de complications	Eaux de distribution et de boisson Denrées animales ou végétales Aliments préparés, crus ou insuffisamment cuits	L'Homme est le principal réservoir des Rotavirus humains. Des cas d'infection par des Rotavirus du groupe A chez des animaux ont été observés. Généralement par voie fécale orale. Les Rotavirus survivent plusieurs heures sur les mains, neuf jours en aérosol (lors des vomissements) et plus de 64 jours à 20 °C dans l'eau du robinet.

Les modes de transmission et les matrices alimentaires touchées par les différents micro-organismes sont variables et les symptômes engendrés sont loin d'être anodins, ils peuvent être mortels, selon la sensibilité des individus contaminés.

Le point commun entre les différentes matrices alimentaires contaminées par les virus entériques est l'eau. En effet, la contamination des fruits de mer est essentiellement liée à l'utilisation d'une eau contaminée, il en est de même pour les fruits et légumes lors de l'irrigation.

Le facteur commun des causes de la contamination est un non-respect des bonnes pratiques d'hygiène.

## **F) L'influence des paramètres physico-chimiques de l'environnement**

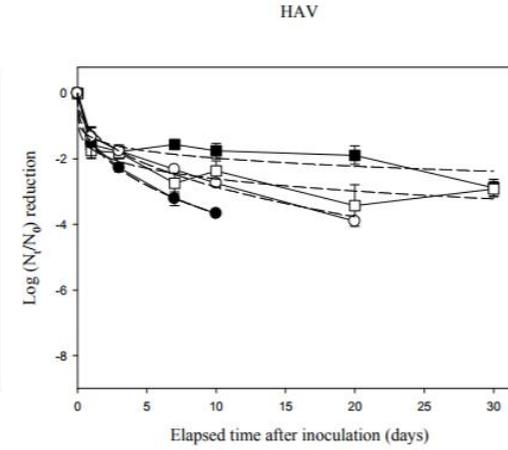
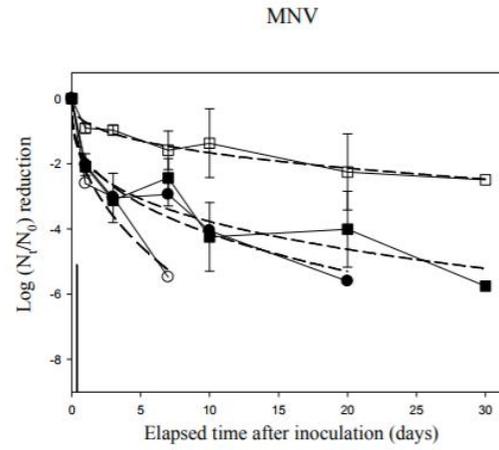
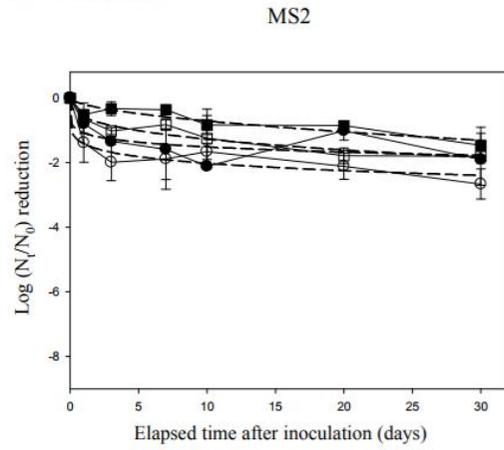
La culture cellulaire *in vitro*, reste la méthode la plus appropriée pour étudier l'influence des paramètres physico-chimiques sur leur réplication. Or c'est une technique lourde, longue et coûteuse, qui ne fonctionne pas avec certains virus (Calicivirus, Norovirus) ou donne lieu à une multiplication très lente, voire inefficace (Hépatite A, Rotavirus). De ce fait, les études sont menées sur des substituts ayant des structures et un code génétique proches des virus humains (ex : MNV : Murine Norovirus comme substitut du Norovirus) où d'autres méthodes sont utilisées telles que la RT-PCR (Transcription inverse par la réaction de polymérisation en chaîne) qui consiste à transcrire les ARN viraux en ADN complémentaire suivie d'une amplification de séquences cibles du génome [26, 51]. Nous allons voir que les paramètres physico-chimiques peuvent avoir une influence sur la survie des virus.

### **1- La température et l'humidité relative**

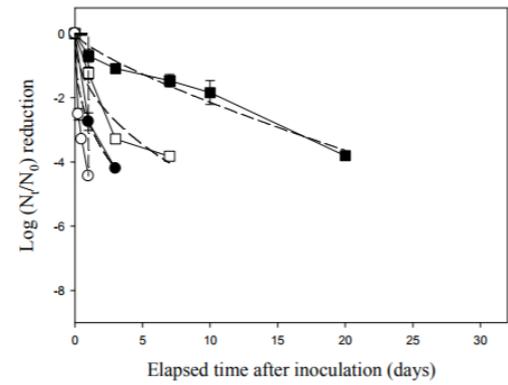
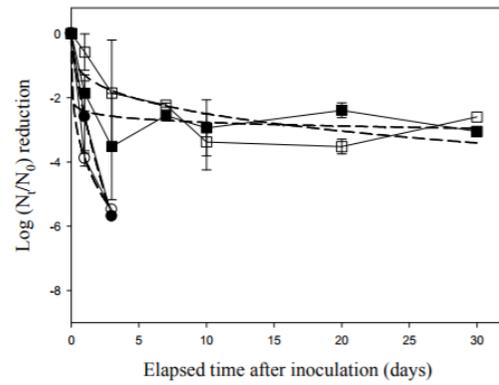
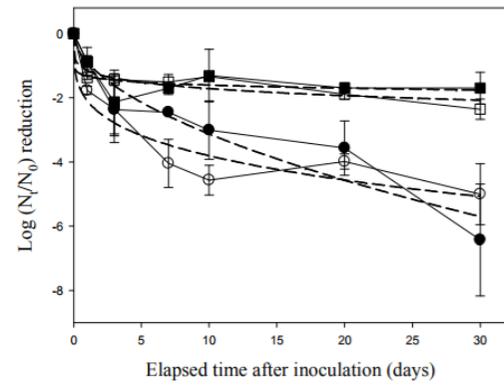
La température est considérée comme un facteur déterminant dans l'inactivation des virus dans l'environnement. La combinaison avec l'humidité relative permet une inactivation virale plus efficace.

L'étude menée sur différents virus : MNV, MS2 (bactériophage à *E.coli*) et l'Hépatite A, (Kim et al 2012) [53] met en évidence l'influence du couple température/humidité relative sur la réplication des virus.

**A – 30% RH**



**B – 50% RH**



C - 70% RH

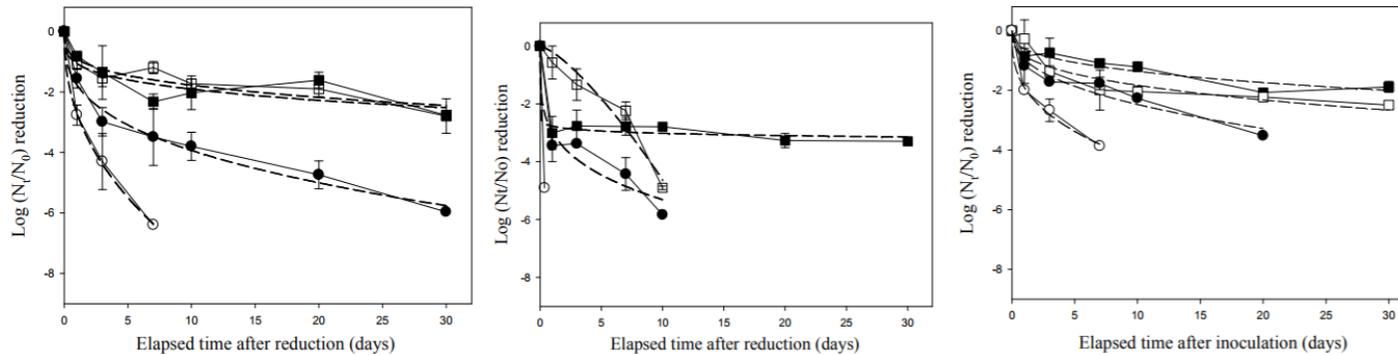
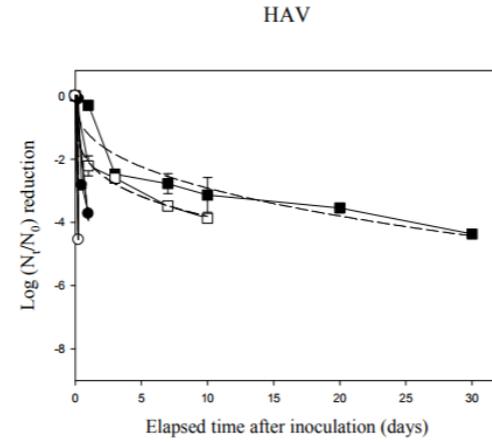
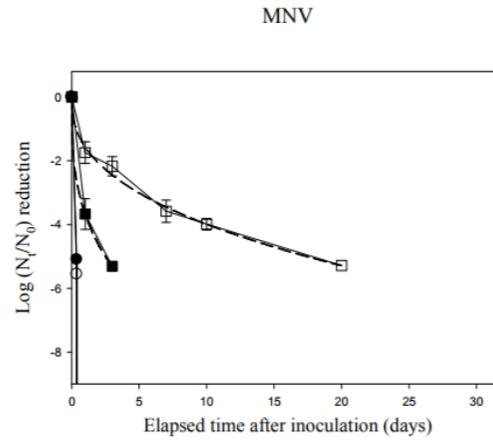
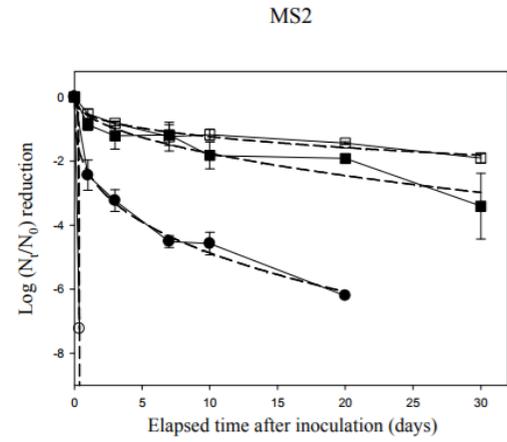


Figure 8 : Courbes d'inactivation des virus MS2, MNV et HAV sur une surface en bois, à différentes températures [15 °C (■), 25 °C (□), 32 °C (●), and 40 °C (○)] et des conditions d'humidité relative variables (30%, 50%, 70%)

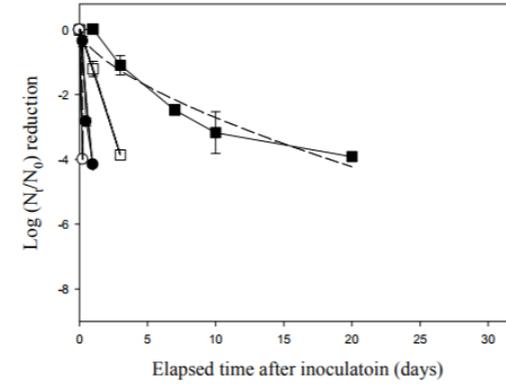
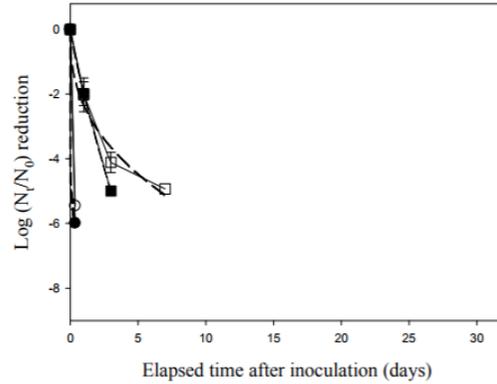
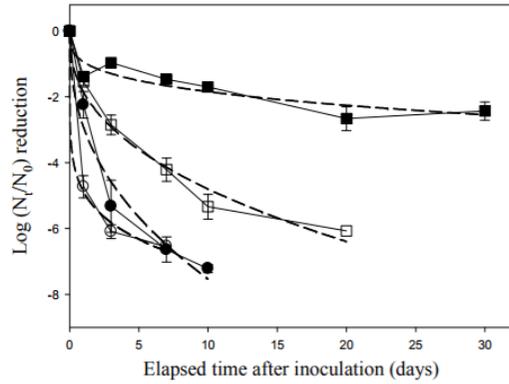
Comme nous pouvons le constater (**Figure 8**), en ce qui concerne les surfaces en bois, les virus MNV et MS2 résistent mieux lorsque la température et l'humidité relative sont faibles, par contre, ils sont inactivés lorsque ces deux paramètres augmentent. Au bout de 10 jours, à 15°C et à 30% d'humidité relative, la réduction logarithmique est de 0,8 et de 4 respectivement, alors qu'à 40°C et 70% d'humidité relative, la réduction logarithmique est supérieure à 4 dans les deux cas.

Le virus de l'hépatite A survit également plus longtemps à basse température. Contrairement aux MNV et MS2, le virus de l'Hépatite A est plus résistant face à une humidité relative basse ou élevée qu'à une humidité relative moyenne.

**A – 30% RH**



**B – 50% RH**



### C – 70% RH

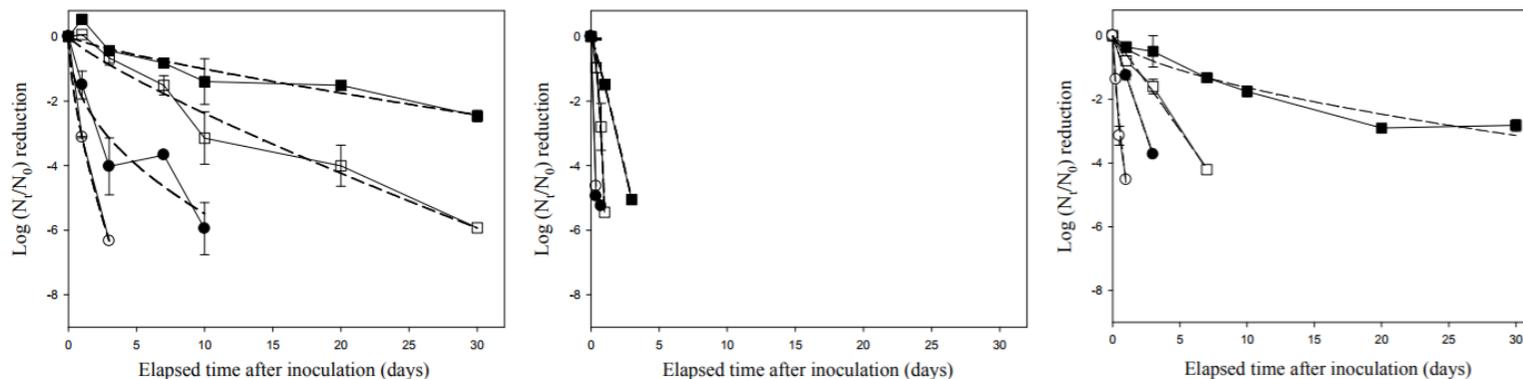


Figure 9 : Courbes d'inactivation des virus MS2, MNV et HAV sur une surface en acier, à différentes températures [15 °C (■), 25 °C (□), 32 °C (●), and 40 °C (○)] et des conditions d'humidité relative variables (30%, 50%, 70%)

L'inactivation des virus ne dépend pas uniquement du couple température/humidité relative mais également de la matrice utilisée (bois ou acier, **Figure 8 et 9**). Comme nous pouvons constater, la tendance au niveau des courbes d'inactivation reste la même sur les deux surfaces. Cependant les délais d'inactivation sont beaucoup plus courts sur des surfaces en acier qu'en bois (par exemple, pour la même réduction de charge virale du MNV on passe de 7 jours à 32°C (HR = 70%) sur une surface en bois à moins de 1 jour pour le même couple température/humidité relative observé sur de l'acier). Les virus sont donc inactivés plus rapidement sur des surfaces en acier qu'en bois. Ce qui signifie que l'aliment n'est pas le seul à jouer un rôle dans la conservation des virus mais également le type de matériau utilisé dans une entreprise. Beaucoup d'industries font appel aux traitements thermiques pour éliminer les microorganismes. En ce qui concerne les virus, l'inactivation s'avère être plus rapide pour des températures dépassant les 50°C (Bertrand et al., 2012) [54], les barèmes classiques de pasteurisation (65-100°C) et de stérilisation (>100°C) détruisent les virus entériques. Cependant, les denrées alimentaires les plus touchées par les virus (fruits rouges, fruits de mer (bivalves, mollusques...)), ne permettent pas l'application d'un traitement thermique aussi fort.

## 2- Le pH et le point isoélectrique

La capacité d'adhésion des particules virales sur les surfaces est directement liée aux propriétés intrinsèques (charge électrostatique et le degré d'hydrophobicité) mais également aux paramètres environnementaux tels que le pH, la force ionique, la température et le point isoélectrique (Deboosere et al., 2012) [55]. La capacité de survie face au pH est variable selon les souches virales dont les valeurs extrêmes sont les suivantes :

- $3 < \text{pH} < 12$  : pour l'Hépatite A [30].
- $2 < \text{pH} < 12$ : pour les Norovirus [30].
- $\text{pH} > 3$  : pour les Rotavirus [56].

Il a également été démontré que le sucre et les matières grasses protègent les virus de la thermo-inactivation et que la stabilité des virions face aux pH acides permet le passage de la barrière gastrique (AFSSA, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 2007) [30].

## **G) Connaissances actuelles sur la gestion du risque dans les entreprises agroalimentaires**

### ***1) Les virucides et bactéricides***

Pour être efficace un traitement virucide doit réduire la charge virale initiale d'au moins 4 unités logarithmiques<sup>30</sup>. Pour se faire, il faut « *mesurer la perte d'infectiosité d'un échantillon de produit inoculé avec une quantité connue de virus entérique cultivable (ex : Hépatite A) ou des virus modèles proches (Norovirus Murin, bactériophages ...)* » (Dr Thierry MORIN à l'ANSES). Au vu des éléments que nous détenons (**Tableau 7**), le traitement thermique semble être la solution la plus adaptée, aussi bien pour les bactéries que pour les virus, si le produit alimentaire le permet. Par exemple, le virus de l'hépatite A présente des inactivations de  $4 \log_{10}$  en 5 minutes pour des températures supérieures à 70°C dans des fruits rouges. Dans une purée de framboise, le Norovirus murin subit une inactivation de  $2,8 \log_{10}$  en 15s à 70°C [51]. On peut constater que les traitements sous hautes pressions semblent être efficaces, induisant une réduction d'unités logarithmiques supérieure à 6. Si l'on considère le cas des huitres et des moules, il faut envisager un traitement de purification, c'est-à-dire qu'il faut les placer dans une zone où l'eau est de bonne qualité, voire désinfectée en continu (avec des UV par exemple) afin d'inactiver les virus.

Tableau 7 : Inactivation des virus par différents traitements, dans différentes matrices alimentaires. Comparaison avec les bactéries végétatives (Source : Risques microbiologiques alimentaires, Naïtali et al, 2016 et Fiche ANSES Norovirus) [31,51]

Microorganismes	Traitements d'inactivation	Matrice	Nombre de réduction décimale
<b>Traitement thermique</b>			
<b>Virus de l'Hépatite A</b>	71°C pendant 8,31 minutes	Lait à 3,5% de matières grasses	4
	71°C pendant 12,67 minutes	Crème à 18% de matières grasses	
	80°C pendant 4,88 minutes	Purée de fraise avec 28% de sucre	
	80°C pendant 35,76 minutes	Purée de fraise avec 52% de sucre	
<b>MNV (Norovirus Murin)</b>	75°C pendant 15 secondes	Purée de framboise, 9,2° Brix	2,8
<b>Inactivation par les UV</b>			
<b>Rotavirus -Poliovirus</b>	UV 20 mWs.cm <sup>-2</sup>	Eau	3
<b>E.coli – S. Typhi</b>	UV 10 mWs.cm <sup>-2</sup>		4-5
<b>Désinfectants</b>			
<b>Poliovirus</b>	Chlore libre ; Ct = 1, 7mg.L <sup>-1</sup> .min	Eau, ph=6, T=5°C	2
<b>E.coli</b>	Chlore libre ; Ct = 0, 04mg.L <sup>-1</sup> .min		
<b>Virus de l'Hépatite A</b>	Cl <sub>2</sub> ; Ct = 6mg.L <sup>-1</sup> .min	Eau, pH=6-9, T=10°C	4
	ClO <sub>2</sub> ; Ct = 25,16 mg.L <sup>-1</sup> .min		
	O <sub>3</sub> ; Ct = 1, 6mg.L <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup>		
<b>Hautes Pressions</b>			
<b>MNV (Norovirus Murin)</b>	400 MPa/5°C/5 min	Huître	4
<b>FCV (Calicivirus Félin)</b>	275 MPa à température ambiante pendant 5 minutes	Milieu de culture cellulaire	>6
<b>Dépuration</b>			
<b>Virus de l'hépatite A</b>	Dépuration à l'eau ozonée pendant 24H	Moules	Entre 0 et 1,72
<b>E.coli</b>			Entre 2 et 3

Pour déterminer l'efficacité d'un traitement virucide, il est préférable de combiner la culture cellulaire et la RT-PCR. Ces deux méthodes permettent d'établir un lien entre la présence du génome viral et son pouvoir infectieux et ainsi d'analyser l'effet du traitement appliqué.

Malheureusement l'impossibilité de réaliser une culture cellulaire *in vitro* avec les Norovirus Humains, ne permet pas de combiner ces deux méthodes, d'où l'utilisation d'un substitut (Calicivirus : modèle animal) dont le comportement n'est pas toujours représentatif du Norovirus humain. Ces modèles ne sont pas forcément fiables étant donné qu'ils ne présentent pas les mêmes caractéristiques que les souches humaines [51]. Les données doivent donc être interprétées en considérant ces réserves.

Deux autres problèmes se posent également lors de l'évaluation des virucides : la nécessité d'une charge virale élevée et la cytotoxicité du désinfectant résiduel (ex : ammonium quaternaire, peroxyde d'hydrogène...) [31].

## **2) La prévention et les réseaux de surveillance**

La prévention des infections suite à la consommation d'aliments contaminés est un challenge au quotidien aussi bien dans les pays industrialisés qui ont plus les moyens de maîtriser ce risque, que dans les pays en développement, en raison du commerce mondial des aliments. Par exemple, en France, une épidémie d'hépatite A a touché 59 personnes, ayant pour origine la consommation de tomates semi-séchées importées de Turquie (Gallot et al 2011) [57].

Afin d'anticiper le risque de contamination microbiologique, les meilleures solutions restent le respect des bonnes pratiques d'hygiène et les contrôles microbiologiques libérateurs. Cependant comme évoqué dans l'introduction, il n'existe aucune surveillance de routine concernant les virus dans les matrices alimentaires.

Pour obtenir des résultats fiables, il faut faire appel à des laboratoires spécialisés qui utilisent des outils adaptés qui sont parfois longs et coûteux : RT-PCR, test immunologique (ELISA : Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay), NASBA (nucleicacidsequencebased amplification), la culture cellulaire [31].

De plus, certaines méthodes sont limitées :

- La PCR a la capacité de détecter les acides nucléiques des pathogènes infectieux et non-infectieux, ce qui pose problème pour discriminer les particules virales infectieuses et non-infectieuses. De plus l'extraction du génome viral est limitée et la présence d'inhibiteurs en PCR donne des faux négatifs (Dr Thierry MORIN, ANSES).

- La culture cellulaire de certains virus *in vitro* est impossible pour certains virus entériques humains.
- Concernant le test immunologique : « Certains kits sont spécifiques pour la recherche sur des selles des virus tels que le Rotavirus, l'Adénovirus, le Norovirus » (Dr Yahia MEKKI Biologiste, Virologue au Laboratoire de Virologie de Lyon) et ne peuvent donc pas être utilisés pour les matrices alimentaires.

#### Les eaux de consommation :

La principale voie de contamination des aliments par les virus passe par l'eau, or l'analyse de la qualité microbiologique des eaux destinées à la consommation humaine est uniquement basée sur des indicateurs bactériens de pollution fécale (*Escherichia coli*, Coliformes totaux, Coliformes thermotolérants) ([ANNEXE 3](#)). Ces indicateurs sont faciles à détecter et partagent le même environnement que les virus entériques, à savoir la matière fécale. En effet comme nous l'avons vu précédemment, les virus entériques sont essentiellement transmis par voie féco-orale, ainsi la détection de ces bactéries permet d'évaluer le danger viral. Cependant, la pertinence de cet indicateur peut être remise en question du simple fait que la survie dans l'environnement et la résistance aux traitements de désinfection diffèrent entre les bactéries et les virus, comme nous l'avons vu précédemment (**Tableau 7**). Ainsi l'absence de bactéries ne reflète pas automatiquement l'absence de virus.

A la différence des bactéries, facilement cultivables dans un milieu riche en nutriments, les virus ne peuvent en aucun cas se multiplier en dehors de leur hôte et ne peuvent donc que survivre dans l'environnement ou sur des aliments jusqu'à l'ingestion par un nouvel hôte sensible. De ce fait, les méthodes de détection et de quantification rapides des bactéries ne peuvent être extrapolables dans le cas des virus (ex : milieux de culture, test immunologique...).

Ainsi, les méthodes de détection, la maîtrise et la surveillance des microorganismes sont variables selon l'agent pathogène rencontré (**Tableau 8**).

On constate que la comparaison entre les virus et les bactéries met en évidence certaines disparités. Concernant les virus, on recense :

- Un nombre limité de méthodes de détection, qui ne sont pas forcément fiables et parfois contraignantes. En ce qui concerne les Norovirus et le virus de l'Hépatite A, il existe à l'heure actuelle uniquement la RT-PCR comme méthode de détection et de quantification normalisée. Il s'agit de la norme ISO 15216-1 :2017 [[58](#)] : « Une méthode horizontale pour la recherche des virus de l'Hépatite A et de Norovirus »

par la technique RT-PCR en temps réel ». Cette méthode a été récemment validée (Juin 2017) pour certaines matrices alimentaires (fruits tendres, légumes feuilles, tiges et bulbes, eau embouteillée, mollusques bivalves) mais elle n'est pas validée pour la détection des virus ciblés dans d'autres aliments (y compris les aliments à plusieurs composants) ou d'autres matrices (les surfaces alimentaires ou autre). Celle-ci est en cours de normalisation et d'harmonisation au niveau européen.

- L'absence de règlement qui encadre les virus entériques : La Communauté Européenne a souligné en 2005, la possibilité d'intégrer un critère virologique à la réglementation en vigueur (le règlement (CE) n°2073/2005/CE, notamment pour les fruits de mer) à condition qu'il existe des méthodes de détection standardisées [31].

La publication du 14 Juin 2017, relative à la conception d'une nouvelle méthode de détection horizontale de l'Hépatite A et des Norovirus normalisée (ISO/TS 15216) devrait permettre de mettre en pratique cette observation. Cependant, cette méthode d'analyse ne semble pas être suffisante pour la mise en place d'un règlement spécifique aux virus entériques : « (...) *le fait d'avoir une méthode de détection et de quantification normalisée et validée n'est pas le seul facteur à prendre en considération pour établir des critères viraux (...), cependant, une enquête concernant les Norovirus dans les bivalves est en cours et se terminera fin 2018. Le but est d'avoir une vision claire concernant la contamination des bivalves par les Norovirus. La Commission prendra les décisions nécessaires en fonction des résultats obtenus et jugera s'il est pertinent de mettre en place des mesures de contrôle spécifiques incluant la possibilité d'instaurer des critères viraux* » (Pamina-Mika Suzuki, membre de la Commission Européenne, Santé et Sécurité Alimentaire). Sur le plan Européen, il n'existe donc aucun règlement qui établit des critères viraux. Le même constat s'applique aux bactéries *E.coli STEC*, aux Vibriopathogènes et aux parasites, même si le règlement n°852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires stipule qu'il est nécessaire de fixer des critères microbiologiques [61]. Néanmoins, les pathogènes présentant un risque pour l'homme et n'ayant pas de critères de sécurité, font l'objet d'une procédure de retrait/rappel pour répondre à l'article 14 du règlement CE n°178/2002 relatif à la circulation de denrées alimentaires sûres et saines [59].

Tableau 8 : Tableau comparatif des moyens de maîtrise et de surveillance des agents pathogènes alimentaires [47, 48, 49, 51, 50, 52]

Microorganismes	Techniques de détection	Moyens de maîtrise	Cadre réglementaire relatif aux critères microbiologiques
<b>E.coli entérohémorragique</b>	E. coli O157 : Méthode de référence (NF EN ISO 16654) Souches non-O157 : ISO TS 13136 Sérogroupe O26, O103, O111 et O145 : Séparation immuno-magnétique	Respect des bonnes pratiques de culture et d'élevage Protection des eaux potables et des aquifères Respect des règles d'hygiène générales Traitement de désinfection chimique de l'eau	Règlement 2073/2005, concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires[4]
<b>Listeria monocytogenes (LM)</b>	NF V01-009 Méthode pour la recherche de LM : NF EN ISO 11290-1 Méthode pour le dénombrement de LM : NF EN ISO 11290-2	Traitement thermique adapté, respect de la chaîne du froid Sensible à tous les désinfectants autorisés en Industries Agroalimentaires, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandée Sensible aux variations de pH (LM)	Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine [27]
<b>Salmonelle</b>	Méthode horizontale : NF/EN/ISO 6579 Norme internationale : ISO 6785/2008 Norme Française : NF V59-104	Consommation dans les 24H des produits à base d'œuf sans cuisson (Salmonelle)	
<b>Hépatite A</b>	Utilisation des indicateurs bactériens de contamination microbiologique des eaux Quantification par biologie moléculaire	Bonnes pratiques culturelles et d'hygiène, utilisation d'eau potable et propre, Vaccination du personnel Prévention par un suivi des incidents météorologiques Traitements biocides (O <sub>3</sub> , ClO <sub>2</sub> , ClO) ou physique (UV, thermique (>50°C), pression)	
<b>Norovirus</b>	Recherche d'entérovirus dans les eaux : Norme XPT 90-451 [60] Détection qualitative : ISO/TS 15216-1 :2017 [58]	Bonnes pratiques culturelles et d'hygiène, utilisation d'eau potable et propre. Les Norovirus humains étant difficilement cultivables <i>in vitro</i> , l'inactivation virale est donc basée sur des estimations en utilisant d'autres modèles (des Calicivirus canins (CaCV), félins (FCV) ou murins (MNV)).	Aucun

		Il existe donc des traitements d'inactivation mais basées sur d'autres modèles que les Norovirus humains : traitement chimique, thermique (>50°C), l'ultrafiltration et l'UV.	
<b>Rotavirus</b>	Utilisation des indicateurs bactériens de contamination microbiologique des eaux Quantification par biologie moléculaire Recherche d'entérovirus dans les eaux : Norme XPT 90-451	Bonne pratiques culturelles, respect des règles d'hygiène. Résistants face aux agents chimiques et physiques, les traitements les plus efficaces sont les virucides et les traitements thermiques (>50°). Vaccination.	

Le point commun entre les bactéries et les virus entériques est le recours au traitement thermique pour les inactiver et le respect des bonnes pratiques d'hygiène pour prévenir l'apparition d'une contamination microbiologique, à savoir :

- ✓ Lavage fréquent et adéquat des mains, en particulier avant de manger, de préparer un repas et à la sortie des toilettes.
- ✓ Eviter que les personnes infectées ne manipulent des denrées alimentaires dans les industries agroalimentaires.
- ✓ Utilisation de produits désinfectants et virucides efficaces.
- ✓ Respect des bonnes pratiques d'hygiène.
- ✓ Se référer au réseau de surveillance : « RapidAlert System for Food and Feed » (RASFF).
- ✓ Utilisation d'eau propre à la consommation....

Plusieurs réseaux de surveillance permettent de suivre ou d'anticiper une contamination du milieu par les virus entériques et ainsi d'alerter en cas de période à risque [62] :

- **Déclaration obligatoire des TIAC** : l'Hépatite A et le Norovirus font partis des maladies à déclaration obligatoire. Toute TIAC doit faire l'objet d'une déclaration à la Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (DDASS) ou à la Direction départementale des services vétérinaires (DDSV).
- **Centres nationaux de référence (CNR)** : Trois CNR contribuent à la surveillance épidémiologique des virus entériques à transmission alimentaire ou hydrique : le CNR des virus entériques, le CNR des entérovirus, le CNR des hépatites à transmission entérique (virus des hépatites A et E). Ils peuvent jouer un rôle d'alerte en cas de situation anormale.
- **Réseaux Sentinelles** : composés de médecins généralistes, ils surveillent les maladies infectieuses, les syndromes et communiquent chaque semaine le nombre de cas diagnostiqués en rapport avec les maladies concernées.
- **Réseau de surveillance basé sur les services d'urgence** : l'utilisation de ce réseau permet de tirer des tendances concernant les pathologies surveillées (notamment les gastroentérites).
- **Le RASFF**: « Rapid Alert System for Food and Feed ».
- **L'EFSA** : émet des avis et des conseils scientifiques en matière de chaîne alimentaire.
- **L'ANSES** : est chargée d'évaluer les risques dans le domaine de l'alimentation, de l'environnement et du travail.
- **Alerte REMI** (réseau de contrôle microbiologique des zones de production conchylicole) : ce réseau d'alerte concerne les zones de production de coquillage et se base sur des indicateurs de contamination fécale (*E.coli*) du milieu. Des actions sont menées selon deux niveaux d'alerte mais sont indépendantes de la présence des Norovirus. Ce réseau prend également en considération la pluviométrie et le dysfonctionnement des systèmes d'assainissement qui peuvent être le reflet d'une contamination virale des eaux en cas de débordements des réseaux d'assainissement [63]. Malheureusement comme il a déjà été évoqué précédemment, l'absence de bactéries indicatrices de contamination fécale n'indique pas forcément l'absence de virus entériques dans les eaux du fait de leur capacité à résister plus longtemps que les bactéries.
- **La surveillance des TIAC** : la survenue de TIAC liée à la consommation de coquillages en provenance d'une zone potentiellement contaminée est prise en compte et est considérée comme un signal majeur de déclenchement d'alerte.

Un protocole de gestion est recommandé par la DGAL (Direction Générale de l'Alimentation, note du 28 novembre 2012). Il se décompose de la manière suivante [62] :

1/ Mise en alerte de la zone : une cellule de crise chargée de gérer la survenue d'un ou plusieurs signaux d'alerte en période à risque. En fonction des informations reçues, les zones de production concernées sont mises en alerte et des échantillons sont prélevés pour des recherches microbiologiques en accord avec la DDTM (Direction Départementale des Territoires et de la Mer). En cas de mise en évidence de Norovirus dans la zone, une surveillance hebdomadaire de Norovirus doit avoir lieu jusqu'à disparition du signal.

En cas de TIAC :

- La DDPP est chargée de l'enquête de traçabilité autour de la TIAC.
- Les investigations épidémiologiques sont réalisées par l'ARS (Agence Régionale de Santé).
- Les prélèvements sont réalisés par le LER (Laboratoire Environnement Ressources) local de l'Ifremer.
- La DGAL confirme au LNR (Laboratoire National de Référence) par courrier la nécessité de réaliser les recherches virales ;
- Les analyses sont mises en œuvre par le LNR microbiologie des coquillages.

2/ Fermeture de la zone contaminée : La décision de fermeture par un arrêté préfectoral ne peut intervenir que si le lien entre la survenue de la ou des TIAC et la contamination de la zone concernée est considéré comme avéré. Des mesures de retrait/rappel doivent être mises en place. La surveillance hebdomadaire de Norovirus doit être maintenue durant la fermeture, en dehors d'une alerte il n'y a pas de surveillance de routine des Norovirus.

3/ Réouverture de la zone : pour la réouverture de la zone contaminée, il ne faut pas forcément avoir une « négativation » des résultats d'analyse Norovirus dans les coquillages de la zone de production. Il est conseillé d'attendre une durée suffisante pour que la charge virale dans le milieu soit revenue à un niveau suffisamment faible (ou ait disparu) pour ne pas occasionner de problème sanitaire. Il est retenu d'attendre une durée de 28 jours, sauf si une nouvelle alerte est déclarée, pour retrouver un niveau de sécurité estimé comme suffisant dans le milieu. Durant ces 28 jours, trois conditions doivent être respectées :

- Pas de dépassement des seuils d'alerte de pluviométrie ;
- Aucun nouvel incident des réseaux d'assainissement déclaré ;
- REMI normal ou redevenu normal.

## II/ Comment optimiser la gestion du risque ?

### **A) Prévention et Traitements d'inactivation**

La résistance des virus face aux traitements virucides implique un renforcement des méthodes préventives à l'égard de la contamination virale des aliments. La FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) recommande de respecter les points suivants (concernant les zones de production primaire) qui viennent compléter les mesures de maîtrise existantes pour tout autre agent pathogène [38] :

- 1- Hygiène de l'environnement : Avant le démarrage des travaux de culture, les sources potentielles de contamination virale doivent être repérées. Ces sources comprennent l'eau, la terre, le fumier et les engrais contaminés par des excréments d'origine humaine ou animale. Elles ne doivent pas être à proximité de zone où d'autres activités de production qui pourraient contribuer au ruissellement ou à la submersion du terrain par des eaux contaminées par les virus. Il est donc nécessaire de réaliser une évaluation approfondie des conditions environnementales.
- 2- La production des sources alimentaires :
  - a. Les producteurs devraient être informés sur la qualité de l'eau et les modes d'adduction hydrique pour minimiser le risque de contamination virale des eaux.

Pour répondre à cette recommandation, le recours au référentiel GAP (« Good Agricultural Practice » = « Les Bonnes Pratiques Agricoles ») semble être une alternative pertinente à ce problème. En effet, ce référentiel met à disposition des outils pratiques pour les producteurs, afin de les aider à identifier et à faire face aux dangers liés à la contamination microbiologique.

- b. Les installations d'aquaculture ne doivent pas être implantées dans des zones sensibles à la contamination par les eaux usées, en particulier les zones de production de denrées destinées à la consommation sans aucun traitement.
- 3- Nettoyage, entretien et hygiène corporelle à l'étape de la production primaire :
  - a. Le lavage hygiénique classique des mains s'avère être plus efficace comme moyen de réduction des virus infectieux que l'utilisation d'agents désinfectants pour les mains. La plupart de ces désinfectants chimiques sont utilisés dans les établissements alimentaires et ne permettent pas d'inactiver les virus non enveloppés tels que le Norovirus ou le virus de l'Hépatite A.

#### 4- Installations :

- a. L'installation de sanitaires disponibles pour assurer l'hygiène corporelle doit être conçue de manière à empêcher toute infiltration dans les eaux souterraines ou dans les zones de culture.

#### 5- Systèmes de maîtrise spécifiques au procédé :

- a. La réfrigération et la congélation : ne doivent pas être considérées comme des moyens de traitement des virus d'origine alimentaire étant donné qu'ils ne permettent pas de réduire le niveau d'infectiosité virale à un niveau satisfaisant.
- b. Le traitement thermique est un moyen de destruction de l'infectiosité virale dans les aliments. La température conseillée est de 90°C au cœur de l'aliment pendant 90 secondes.

#### 6- La transformation des aliments :

- a. Le lavage des ingrédients ou des produits alimentaires dans l'eau de lavage, soit traitée (UV, ozone, chlore, etc.) ou non traitée, risque d'être inefficace si la surface des produits est rugueuse, fracturée ou piquée, ou lorsque les virus se trouvent à l'intérieur de l'aliment.
- b. Réduction du pH : Les virus entériques humains sont très stables à pH faible. Une inactivation de plus de 3 log<sub>10</sub> ne surviendra qu'à des pH < 3, soit un degré d'acidité qui n'est pas toujours acceptable du point de vue de la qualité sensorielle des aliments.
- c. La réduction de l'activité de l'eau (RAE) et les hautes pressions hydrostatiques (HPH) : pourraient accélérer les taux de dégradation/inactivation des virus, mais leurs effets sur l'infectiosité du virus dans les aliments (ou dans les selles) dépendent du (sous-) type de virus et de la matrice alimentaire, de sorte que la RAE et les HPH ne peuvent pas être considérées comme une méthode de réduction des charges virales efficace pour le moment. L'irradiation aux ultraviolets (UV) présente les mêmes caractéristiques, néanmoins, elle peut être considérée comme efficace pour inactiver les virus sur les surfaces de préparation des aliments, dans l'eau et les aérosols si elle est supérieure à 40 mWs/cm<sup>2</sup> (= mJ/cm<sup>2</sup>)
- d. Le séchage/dessiccation des virus entériques humains sur la surface des équipements de transformation peut réduire la charge virale.
- e. Concernant l'hygiène domestique, avant consommation, les fruits et légumes consommés crus doivent être abondamment rincés avec de l'eau potable.

## 7- Désinfection des surfaces :

- a. Les surfaces doivent toujours être nettoyées avant la désinfection pour une efficacité maximale. Pour la désinfection des surfaces, une solution de chlore libre à une concentration supérieure ou égale à 1000 ppm appliquée pendant 5 à 10 minutes à température ambiante permet d'obtenir systématiquement une réduction de l'infectiosité virale supérieure à  $3 \log_{10}$ . Alternativement, les solutions de dioxyde de chlore peuvent être utilisées à une concentration de 200 ppm. Ces solutions étant corrosives, il faut prendre soin de rincer abondamment à l'eau propre les surfaces de contact des aliments après application. Des précautions doivent être prises pendant le lavage et la désinfection des locaux, de l'équipement et des ustensiles afin d'empêcher la contamination des aliments par l'eau de lavage, les détergents et les désinfectants. La préparation d'aliments peut reprendre uniquement après une désinfection en profondeur.
- b. Un autre traitement tel que le peroxyde d'hydrogène vaporisé (VHP) à une concentration supérieure à 100 ppm pendant une heure est efficace contre les bactéries, les spores de bactéries et un large éventail de virus, y compris le Poliovirus, le Rotavirus, l'Adénovirus et le Norovirus murin. Ce traitement peut être appliqué aux salles entières, y compris les cuisines, et permet de désinfecter diverses surfaces comme l'acier inoxydable ; il constitue une solution de rechange moins laborieuse que la désinfection manuelle à l'aide de solutions chlorées.

D'autres points sont plus détaillés concernant la maîtrise du virus de l'Hépatite A et des Norovirus dans les légumes frais et les mollusques bivalves.

Dans la plupart des cas l'origine de la contamination s'explique par l'utilisation d'une eau ou d'une matière première déjà contaminées (dans d'autres situations plus rares, des porteurs ne respectant pas les règles d'hygiène et manipulant des denrées alimentaires sont incriminés). L'apparition précoce de la contamination au niveau de la chaîne de production fait qu'un contrôle et une maîtrise s'imposent bien en amont de la chaîne, par exemple au niveau des exploitations agricoles.

## ➤ La gestion des déchets agricoles

Actuellement soumise à la loi Grenelle 2 datant du 12 Juillet 2010 [64], la gestion des biodéchets (notamment des déchets organiques agricoles) est une obligation lorsque la quantité d'émission de biodéchets est importante (article 204) : « *A compter du 1er janvier 2012, les personnes qui produisent ou détiennent des quantités importantes de déchets composés majoritairement de biodéchets sont tenues de mettre en place un tri à la source et une valorisation biologique ou, lorsqu'elle n'est pas effectuée par un tiers, une collecte sélective de ces déchets pour en permettre la valorisation de la matière de manière à limiter les émissions de gaz à effet de serre et à favoriser le retour au sol* ».

De ce fait, pour limiter l'impact sur l'environnement et dans l'optique de recycler les matières organiques, plusieurs traitements des déchets organiques existent. Cependant, pour certains traitements, l'efficacité d'action sur les pathogènes peut être remise en cause :

### a) Le compostage :

Il s'agit d'une décomposition biologique de la matière organique par des micro-organismes naturellement présents dans le fumier en une matière relativement stable, sous des conditions aérobies déterminées [65]. Cette méthode permet entre autres de maintenir la structure du sol, de procurer un effet chaulant et fournir un apport d'éléments fertilisants plus concentrés.

Cependant, ce type de traitement peut être contesté en cas d'utilisation de matière contaminée par un virus et d'un process non maîtrisé. En effet, l'étude menée sur la résistance des virus durant le compostage (Wei J et al., 2010) [66], révèle qu'une température relativement basse peut avoir un impact sur leur résistance. Cette étude expérimentale consistait à utiliser du compost inoculé par des virus et à mener deux essais durant 60 jours avec un suivi quotidien de la température et une recherche des virus présents dans ce compost. L'essai n°1 a débuté l'automne et l'essai n°2 au printemps. Les résultats du suivi de la température (**Figure 10**) révèlent une augmentation rapide de la température dès le premier jour atteignant pour les essais 1 et 2 une température respective de 54,5°C et 70,5°C. Concernant l'essai n°1, la température s'élève à 60°C le deuxième jour puis diminue autour de 50°C le cinquième jour. Pour l'essai n°2, la température reste au-dessus de 65°C pendant 3 jours puis diminue pour atteindre une température inférieure à 60°C après 7 jours de compostage.

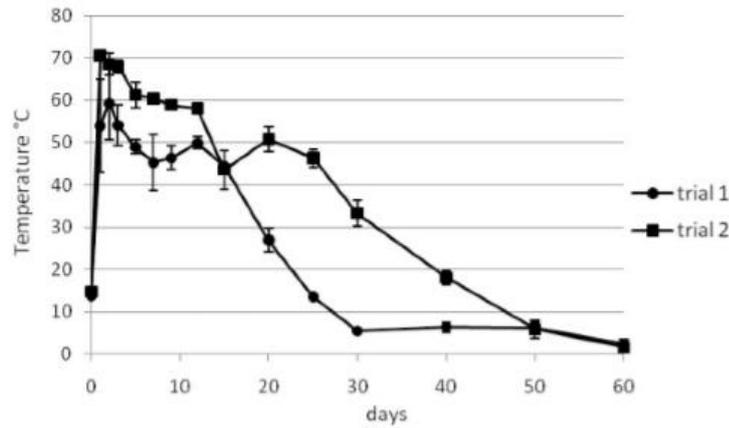


Figure 10 : Courbe de température des compostes débutant le 23 Octobre 2008 (Essai 1 (trial 1)) et le 5 Mai 2009 (Essai 2 (trial 2)) [66]

La différence de température entre les deux essais est clairement marquée par la saison, avec une température qui varie entre 5,5°C et 16,6°C l'automne et entre 10,4°C et 21,9°C le printemps.

Le tableau ci-dessous (**Tableau 9**) met en évidence l'impact de la température sur la présence du génome viral :

- Pour l'essai n°1 (température < Essai 2) : le virus AiV (Aichi Virus) subit une réduction logarithmique de 1,4 en un jour et n'est plus détecté après deux jours de compostage. Le virus MNV (Murine Norovirus) est quant à lui plus résistant à une élévation de la température, passant d'une réduction logarithmique de 0,6 le premier jour à 3,5 le troisième jour.
- Pour l'essai n°2 : le virus MNV n'est plus détecté dès le premier jour de compostage. Même constat concernant le virus AiV après deux jours de compostage.

Tableau 9 : Inactivation du génome viral durant le compostage [66]

	Viral genomes (log RT-qPCR/g)			
	Trial 1		Trial 2	
	MNV	AiV	MNV	AiV
Day 0	7.4 ± 0.00	6.5 ± 0.21	7.4 ± 0.00	7.4 ± 0.00
Day 1	6.8 ± 0.03	5.1 ± 0.16	ND	5.4
Day 2	6.3 ± 0.03	ND	ND	ND
Day 3	3.9 ± 0.07	ND	ND	ND

ND : non détecté, le niveau d'ARN viral est en dessous de la limite qui se situe à environ 3.4 log RT-qPCR/g.

Ces données prouvent que la température est un facteur critique dans la survie des virus et qu'un compostage non maîtrisé peut entraîner une contamination d'une matière saine et se propager sur l'ensemble de la production.

Cette étude pourrait être complétée par d'autres données, à savoir :

- L'utilisation d'autres souches virales souvent incriminées dans les TIAC (exemple : Hépatite A, Norovirus humain, Rotavirus).
- L'utilisation de différents procédés de compostage (avec aération par retournements ou aération forcée).
- Un parallèle entre l'apparition des TIAC d'origine virale et l'épandage. L'objectif de cette étude serait de faire une traçabilité ascendante des denrées alimentaires contaminées par des virus et d'établir un lien potentiel avec l'épandage d'effluents agricoles.

#### b) Epandage du lisier :

Le lisier est une matière naturelle considérée comme un engrais organique valorisé. Il correspond à un mélange de déjections d'animaux d'élevage [67]. En raison de l'augmentation de la production animale mondiale, l'épandage du lisier est une pratique courante dans le monde agricole.

L'infiltration de bactéries coliformes présentes dans le fumier a déjà été démontrée et présente une menace pour les milieux aquatiques et la qualité de l'eau potable. Le lisier de porc par exemple est connu pour contenir de nombreux pathogènes tels que des bactéries zoonotiques, (*E.coli*, *Salmonella spp*, *Campylobacter spp...*), des virus (Hépatite E, Rotavirus du groupe A...) et des parasites (*Taenia saginata*, *Trichinella spp*) [68].

Le rapport de l'ANSES relatif aux dangers microbiologiques des aliments consommés crus [69] met bien en évidence l'impact des pratiques agricoles sur la qualité microbiologique des aliments et plus particulièrement l'épandage. Le respect des bonnes pratiques culturales et le traitement des effluents doivent donc être maîtrisés de manière à limiter la diffusion d'agents pathogènes.

C'est pour cette raison que cette pratique est très réglementée, notamment en France, du fait de la dissémination quasi-inévitable des pathogènes dans l'environnement. Pour se faire, il existe une réglementation propre à chaque type d'épandage [70] :

- **RSD** : règlement sanitaire départemental, dont l'application est sous la supervision de l'ARS (Agence Régionale de Santé).
- **ICPE** : Installations Classées pour la Protection de l'Environnement. Il existe une réglementation propre aux ICPE dont la DDPP (Direction départementale de la protection des populations) est chargée de son application pour tout ce qui concerne les élevages.

Le règlement applicable aux élevages dépend du nombre d'animaux ([ANNEXE 5](#)), où les

distances minimales d'épandage à respecter sont clairement définies ([ANNEXE 6](#)).

Malgré tout, le cadre réglementaire applicable aux matières fertilisantes d'origine résiduaire (MAFOR) reste controversé.

Les MAFOR sont constituées à 80 % d'effluents d'élevage mais également de déchets organiques et de boues d'origine urbaine ou industrielle dont le traitement et l'épandage reposent sur l'application de différents règlements. Cette diversité en termes de réglementation est basée sur : l'origine de la Mafor (urbaine, industrielle, agricole), le statut (déchet ou produit), la nature (liquide ou solide), le traitement appliqué (traitement des odeurs, stabilisation, hygiénisation), le régime de l'installation productrice (RSD, déclaration, autorisation), les pratiques d'épandage (enfouissement ou non), la localisation (zone vulnérable ou non). L'application des différentes règles nuit à la lisibilité et à la compréhension du cadre réglementaire par les producteurs. Des recommandations d'harmonisation et de simplification des réglementations applicables à l'épandage des MAFOR ont même été évoquées dans le rapport émis par le conseil général de l'environnement et du développement durable (CGEDD) et le conseil général de l'agriculture, de l'alimentation et des espaces ruraux (CGAAER) [71].

Pour s'assurer que les exploitants agricoles aient parfaitement assimilés la gestion des effluents agricoles et de manière à leur prodiguer des conseils, il existe des journées portes ouvertes ayant pour but de présenter des informations réglementaires, techniques et économiques (ex : les journées d'informations sur la gestion du phosphore en élevage de porcs [72]). La présence des exploitants devrait être obligatoire selon les thèmes abordés avec un questionnaire personnalisé pour vérifier si les bonnes pratiques agricoles sont assimilées et respectées. Ces journées pourraient s'organiser par région et seraient subventionnées par l'Etat.

## **B) Détection des virus entériques infectieux**

Comme il a déjà été évoqué précédemment, les méthodes de détection des virus entériques dans les aliments et l'eau présentent des limites, à savoir :

- La présence d'inhibiteurs donnant lieu à des faux négatifs.
- L'impossibilité d'établir un lien entre la présence du génome viral et l'infectiosité.
- La difficulté voire l'incapacité de réaliser des cultures cellulaires.
- Le recours aux indicateurs fécaux parfois non appropriés dans le cadre des virus entériques.

- Le recours à des méthodes qui ne permettent pas une récupération totale des microorganismes ayant pour conséquence des résultats minorés (par exemple pour la norme XP T 90-451 (dénombrement des entérovirus), le rendement est de l'ordre de 5 à 10%) (AFSSA Saisine n° 2009-SA-0093) [60].

De ce fait, il est donc nécessaire d'optimiser les méthodes de détection dont la plus appropriée pour le moment reste la RT-PCR.

Cette méthode consiste tout d'abord à transcrire l'ARN viral en ADN complémentaire (ADNc). Les séquences obtenues sont ensuite identifiées [26]:

- Soit par électrophorèse sur gel d'agarose en utilisant un agent intercalant tel que le Bromure d'éthidium (BET). La migration s'effectue selon le poids moléculaire, on peut donc détecter la présence ou non de l'ADNc (en fonction de sa taille).
- Soit par hybridation avec une sonde complémentaire à la séquence cible. Par exemple il existe une sonde de 20 paires de bases qui cible une région du génome du virus de l'Hépatite A. Cette sonde est liée à un fluorochrome qui émet un signal lumineux.

Malgré tout, la détection du génome viral par cette méthode ne révèle pas le caractère infectieux. En effet, la détection ne concerne qu'une centaine de bases du génome viral (soit 0,01% du génome viral), un résultat positif ne permet pas de garantir la présence de l'intégrité structurale de la capsid. La solution reste la combinaison de cette technique avec la culture cellulaire pour analyser l'effet cytopathique. Seulement quelques virus entériques sont capables de se répliquer et d'induire cet effet (**Tableau 10**).

Tableau 10: Exemple de lignées cellulaire permettant de répliquer les virus entériques [12]

Virus	Lignées cellulaires
VHA* (HM175, HAS-15, LSH/S)	FRhK-4, A549, BS-C-1, Caco-2
Rotavirus simien SA11 et humain Wa*	MA-104
Astrovirus	Caco-2
Entérovirus **	BGM, Caco-2, RD, MRC-5, MK
Adénovirus **	293(++), A549, PLC/PRF5, Caco-2, HeLa
Aichi virus	BS-C-1 et Vero
VHE	PLC/PRF/5, A549

\* : Souches adaptées à la culture cellulaire et utilisée comme modèles en laboratoire de recherche.

\*\* : Plusieurs lignées cellulaires différentes sont nécessaires pour pouvoir cultiver les différents sous-types de virus appartenant à ces espèces virales.

Les méthodes actuelles ne permettent donc pas de faire la différence entre un virus infectieux et non infectieux, ce qui a pour conséquence le retrait et/ou le rappel de lots qui peuvent être injustifiés, par application du principe de précaution.

Pour répondre à cette problématique, des recherches ont débuté le 1er avril 2017 et s'étalent sur 36 mois. Il s'agit du projet « Innovation dans les pêches et aquaculture », financé par le FEAMP (Fonds Européens pour les Affaires Maritimes et la Pêche) [73], dont l'objectif est de développer une méthode de dosage discriminante, précise, sensible et économiquement compétitive des Norovirus infectieux dans les coquillages bivalves vivants. Ce projet s'articule autour de trois approches :

- Une identification des critères physico-chimiques ayant un impact sur les Norovirus.
- Le développement d'une méthode basée sur la reconnaissance du récepteur cellulaire afin de démontrer l'intégrité de la capsid virale.
- L'utilisation d'un marqueur externe de caractère infectieux pour hiérarchiser le danger à Norovirus : les bactériophages ARN-F spécifiques.

D'autres études sont menées sur l'identification de molécules cibles ou de marqueurs permettant de détecter des pathogènes spécifiques dans l'eau. Ce projet « WP2 - Virology » a débuté en 2013 et s'articule autour de quatre axes [74] :

- L'établissement d'un système de quantification moléculaire multiplex robuste pour la détection de virus entériques.
- L'élaboration de « pré-traitements » des virus cibles dans le but de fournir une meilleure estimation de l'infectiosité du génome viral.
- La mise au point de traitements virucides plus efficaces.
- L'élaboration d'outils plus spécifiques à chaque agent pathogène.

Si ces études aboutissent à la mise au point d'une méthode fiable, efficace et normalisée de détection des virus dans les matrices alimentaires, la prise en compte de critères viraux dans la directive 98/83/CE et dans le règlement 2073/2005 permettrait d'assurer une gestion optimale du danger viral. Etant donné la complexité pour déterminer une dose minimale infectieuse, l'absence totale de virus dans un échantillon alimentaire devrait être privilégiée.

## C) Surveillance des virus dans les aliments

### 1) *Les indicateurs de pollution fécale*

- Les indicateurs bactériens

La présence de virus dans les aliments s'explique principalement par l'utilisation d'une eau contaminée. La surveillance doit notamment s'effectuer en amont c'est-à-dire au niveau des eaux de distribution afin d'éviter l'apparition d'une épidémie.

Comme il a déjà été évoqué précédemment, la recherche de virus dans les eaux est uniquement basée sur l'utilisation d'indicateurs bactériens en contrôle de routine (*E.coli*, bactéries coliformes [ANNEXE 3](#)). Ces paramètres microbiologiques sont valables à l'échelle Européenne, libre à chaque Etat membre d'ajouter d'autres paramètres s'il les juge appropriés [27].

En France, la qualité de l'eau du robinet fait l'objet d'un suivi sanitaire permanent, facilement accessible en ligne ([ANNEXE 7](#)), dont les normes sont spécifiées dans le code de la santé publique (Articles R.1321-1 à R.1321-66) [76].

Dans les deux cas de figure, il n'y a pas de critères viraux alors que les traitements d'inactivation sont propres à chaque microorganisme et les virus ont la capacité de résister plus longtemps que les bactéries dans l'environnement.

Au niveau Européen, les mesures suivantes sont mises en place en fonction des indicateurs bactériens dans les mollusques bivalves<sup>1</sup> (**Tableau 11**).

*Tableau 11 : Mesures à mettre en place en fonction des résultats microbiologiques des échantillons de mollusques bivalves [78]*

Classification	Standard microbiologique pour 100g de chair de crustacés et de liquide intravalaire	Mesures mises en place
<b>Classe A</b>	Tous les échantillons < 230 <i>E. coli</i> <sup>2</sup>	Aucune mesure
<b>Classe B</b>	90% <sup>4</sup> des échantillons < 4600 <i>E. coli</i>	Purification, renouvellement de l'eau <sup>1</sup> ou traitement thermique par une méthode approuvée
<b>Classe C</b>	Tous les échantillons < 46000 <i>E. coli</i>	Renouvellement de l'eau durant une longue période <sup>1</sup> ou traitement thermique par une méthode approuvée
	Echantillons > 46 000 <i>E. coli</i>	Culture des mollusques bivalves interdite

<sup>1</sup> : Règlement 854/2004<sup>29</sup> : fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine.

<sup>2</sup> : Règlement 2073/2005 [4]: concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

3 : Règlement 853/2004 [80] : fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.

4 : EC 1021/2008 [81] : « *modifiant les annexes I, II et III du règlement (CE) no 854/2004 du Parlement européen et du Conseil fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine et le règlement (CE) no 2076/2005 en ce qui concerne les mollusques bivalves vivants, certains produits de la pêche et le personnel prenant part aux contrôles officiels dans les abattoirs* ».

- Les bactériophages

Il existe un autre indicateur de pollution fécale des eaux ne faisant pas l'objet d'une surveillance de routine. Il s'agit des bactériophages ARN-F. Ces bactériophages sont des virus à bactérie, détectables par une méthode normalisée simple, rapide et peu coûteuse (<24H, NF EN ISO 10705-1), dont le caractère infectieux est facilement mis en évidence. La structure de ces bactériophages est proche de celles des virus entériques pathogènes et ces microorganismes sont également excrétés dans les selles de l'Homme et des animaux.

Les phages-F-spécifiques sont plus adaptés que les *E.coli* pour prédire la présence de virus dans les eaux naturelles et leurs concentrations pourraient être proportionnelles à celles des virus entériques. Leurs résistances aux rayonnements solaires en font des indicateurs plus appropriés pour représenter la survie des virus entériques dans les eaux de surfaces<sup>30</sup>. Cet indicateur est même recommandé par l'ANSES pour démontrer l'efficacité d'un traitement visant à éliminer les virus [60].

De plus, l'existence de plusieurs génogroupes permet de différencier l'origine de la pollution fécale, à savoir si elle est humaine (génotypes II et III) ou animal (génotypes I et IV). Ce qui peut être intéressant pour remonter plus facilement à la source de la contamination. Cependant, cet indicateur n'a pas été retenu comme indicateur de contamination virale dans le milieu hydrique pour plusieurs raisons [30] :

- Le manque de données épidémiologiques : une seule étude a mis en évidence un lien entre le risque de gastro-entérites et les concentrations en bactériophages ARN-F-spécifiques dans les eaux de surface [30].

- Un indicateur non indispensable :
  - o Des études mettent en avant le fait qu'il n'apporte aucune information complémentaire comparé aux indicateurs bactériens et que la relation phage/génome viral est variable. Par exemple, dans certaines zones contaminées par les Norovirus et d'autres Entérovirus, (Grande-Bretagne (zone A), en France (zone C) et aux États-Unis (zone D), [ANNEXE 8](#)) la relation phage/génome viral est observée, en revanche dans d'autres zones on constate une mauvaise adéquation phage/génome viral. Cependant, cette observation faite par l'AFSSA peut être contestée. Comme nous pouvons le remarquer ([ANNEXE 8](#)), la relation *E.coli*/virus entériques ne semble pas être aussi pertinente au niveau de certaines zones (Ex : Grande-Bretagne et Espagne (Zone B)). Il ne peut donc être considéré comme un indicateur fiable [[62](#)].

Ainsi, les bactériophages ne font pas l'objet d'un contrôle de routine dans les eaux de consommation. En cas d'épidémie virale, la recherche de bactériophage serait intéressante pour réfuter ou confirmer l'étude épidémiologique précédemment citée. Ces indicateurs pourraient être également utilisés en complément des indicateurs bactériens pour déterminer l'origine de la pollution fécale (animale ou humaine).

Selon l'AFSSA [[60](#)], un indicateur de contamination microbiologique d'origine fécale « idéal » devrait être :

- *Non pathogène.*
- *Toujours présent lorsque des microorganismes pathogènes sont présents.*
- *Plus abondant que les microorganismes pathogènes.*
- *Plus résistant aux traitements de désinfection et aux conditions environnementales que les microorganismes pathogènes.*
- *Facilement et rapidement dénombrable à faible coût.*
- *Identifiable sans ambiguïté dans tous les types d'échantillon.*
- *Distribué de manière aléatoire dans l'échantillon à analyser.*
- *Incapable de se multiplier dans l'environnement.*

Nous pouvons remarquer qu'il est difficile d'appliquer tous ces critères aux indicateurs bactériens et aux bactériophages afin d'évaluer le danger viral.

## **2) Les réseaux de surveillance**

Etant donné que les traitements virucides actuels ne permettent pas une élimination totale du génome viral, il est nécessaire d'améliorer et de renforcer les actions préventives avant la commercialisation des denrées alimentaires.

Pour se faire plusieurs réseaux d'alerte et de surveillance existent :

- AFSSA

Le rapport de l'AFSSA de 2007 [30] suggère de rechercher des virus dans les ressources quand les eaux proviennent d'eaux superficielles (eaux de surface). Cette recherche devrait être systématique lors d'une demande d'autorisation d'utilisation d'eau destinée à la consommation humaine et dans le plan de surveillance réalisé par la PRPDE (Personne responsable de la production ou de la distribution d'eau).

- RASFF

Depuis début 2017, 25 alertes liées à la contamination virale des aliments ont été notifiées à l'échelle Européenne par le RASFF [23]. Dans chaque cas, le pays d'origine est déterminé ainsi que les pays où ont été distribués les produits contaminés.

Cependant les alertes ne sont pas toujours signalées dans le portail des consommateurs (RASFF consumers'portal [82]). Ce portail a été créé en 2014 dans le but d'informer les consommateurs sur les denrées alimentaires qui ont été rappelées (**ANNEXE 9**). Pour chaque publication les informations ne sont pas toujours exhaustives. Par exemple la première alerte de la liste (datant du 13 juillet) relative à la contamination des framboises par des Norovirus, nous donne accès au lien suivant (**Figure 11, Annexe 9**). Cette information nous permet de visualiser le produit (Lot, service à appeler...) et de réagir rapidement en conséquence. Tandis que d'autres alertes ne donnent pas accès à ce genre d'information.

Santé

Rappel de produit du 3 juillet 2017

J'aime 10 Partager Epingler Tweeter Partager

FRAMBOISES ENTIERES BIO 450 G. Code article : 68191. Lot : L 11 28.02.17 B2



En raison d'une non-conformité microbiologique, nous demandons à nos clients qui seraient en possession du lot du produit décrit ci-dessus **de ne pas le consommer et de le rapporter dans un magasin Picard**, il leur sera remboursé.

Un centre d'information se tient à la disposition des consommateurs pour répondre à leurs questions au numéro suivant :

Figure 11 : Rappel de produit du 3 juillet 2017 (Picard) [82.b]

- ECDC (European Center for Disease Prevention Control)

L'ECDC est également un réseau Européen fondé en 2005. Cet organisme collecte les informations concernant les maladies infectieuses dans une base de données puis sont évaluées et communiquées dans l'objectif de prévenir une épidémie. Les données sont collectées sous la forme d'une carte interactive [83] ([ANNEXE 10](#)).

La carte obtenue dépend du filtre que l'on applique ([ANNEXE 10](#)). Ce filtre comporte les critères suivants :

- L'agent pathogène.
- Les cas reportés : en fonction de l'âge, des individus hospitalisés, du nombre de décès, du nombre de personnes ayant voyagées....
- Le pays.
- L'année.
- La période recherchée.

Ces données permettent d'évaluer les tendances en termes d'épidémies et d'anticiper sur les risques de contamination. Par exemple on constate que le nombre de cas hospitalisés suite à une contamination par le virus de l'hépatite A a augmenté entre 2014 et 2015 au Portugal et en Autriche ([ANNEXE 10](#)). Ces données permettent de dégager des hypothèses : Est-ce qu'il a une saisonnalité au niveau des épidémies ? Est-ce qu'il y a des échanges commerciaux avec les territoires touchés par ces épidémies ? Est-ce qu'une menace émergente se déclare dans l'Union Européenne ?

Cette carte pourrait être améliorée :

- Elle se limite uniquement à l'Europe, alors que de nombreux échanges commerciaux se font en dehors du continent Européen.
- Certains agents infectieux n'apparaissent pas dans la liste (tels que le Norovirus, *E.coli*, les Rotavirus...).
- Les données les plus récentes remontent à 2015.
- Il est impossible de sélectionner plusieurs agents pathogènes simultanément, ce qui ne permet pas de visualiser l'apparition de plusieurs foyers de pathogènes en même temps.
- Il n'y a pas d'indications sur l'origine des épidémies.

L'analyse de ces données permettrait par exemple de déterminer l'origine d'une contamination qui est parfois inconnue dans des situations de TIAC.

La collaboration entre le RASFF et l'ECDC est donc nécessaire dans le sens où l'apparition de foyers épidémiques implique une réaction rapide du RASFF.

- International Society for Infectious Diseases [84]

Au niveau mondial, il existe une autre carte interactive qui schématise les différentes épidémies qui ont eu lieu ([ANNEXE 11](#)). Dans le cas présent, nous ne pouvons pas remonter à une date antérieure au 23 Janvier 2017 ([ANNEXE 11, B](#)), ce qui reste un délai assez court pour remonter à la source d'une potentielle contamination, sachant que pour certains microorganismes la période d'incubation peut être relativement longue (par exemple 88 jours pour la *Listeria*, jusqu'à 50 jours pour l'Hépatite A). La combinaison de cette carte et celle établie par l'ECDC donneraient lieu à une meilleure analyse des données.

- FCD (Fédération du Commerce et de la Distribution)

Depuis le 1er janvier 2015 les critères microbiologiques de la Fédération du Commerce et de la Distribution (FCD) incluent la recherche des Norovirus GI et GII ainsi que le virus de l'Hépatite A dans : les coquillages vivants, les coquilles Saint-Jacques crues fraîches ou surgelées, les salades non assaisonnées et dans les fruits surgelés [85,86].

Cependant, « *S'agissant d'informations non actées à date et d'ordre non réglementaire* » (Emilie TAFOURNEL, Directrice Qualité de la Fédération du Commerce et de la Distribution), la FCD n'a pas établi de critères de sécurité, ni d'hygiène relatifs aux virus entériques. Les critères dépendront du règlement qui sera établi ([ANNEXE 12](#)).

- EFSA (European Food and Safety Authority)

Cette agence Européenne chargée d'évaluer les risques en matière de chaîne alimentaire a émis plusieurs recommandations visant à contrôler la propagation des virus dans les aliments à savoir [87] :

- L'introduction de critères microbiologiques pour les Norovirus chez les mollusques bivalves, à moins que les produits soient étiquetés « à cuire avant de consommer ».
- Une formation complémentaire destinée aux vendeurs de produits alimentaires, portant sur la contamination virale des denrées alimentaires et de l'environnement.

- Une prévention des infections par le virus de l'hépatite E, en déconseillant les personnes présentant une maladie du foie ou une déficience immunitaire, ainsi qu'aux femmes enceintes, de consommer de la viande ou du foie peu cuits de sanglier ou de porc.

Actuellement, l'évaluation du danger viral suit plusieurs approches [11] ([ANNEXE 13](#)) :

- 1) Une approche rétrospective : qui consiste à mener des enquêtes épidémiologiques afin de remonter à la source de la contamination.
- 2) Une approche prospective : cette approche permet de suivre le danger, par l'établissement d'un plan de surveillance et des autocontrôles dans le but de prévenir le danger.

### **III) Menaces**

#### **A) La commercialisation des insectes**

L'importation et la consommation d'insectes commencent à s'intensifier en Europe (Belgique, Pays-Bas...) et peut ainsi constituer une source de contamination. En effet, des études sur les dangers bactériens et parasitaires liés à la consommation d'insectes ont mis en évidence un risque potentiel pour le consommateur. Concernant le danger viral, aucune étude n'a été menée, d'où l'avis de l'ANSES qui s'oppose à la commercialisation d'insectes destinés à la consommation humaine en France « *L'analyse complète des dangers pour les insectes en alimentation humaine doit être menée telle que préconisée dans le règlement sur les nouveaux aliments (CE) n° 258/97* » [88].

Ces changements d'habitudes alimentaires peuvent donc mener à l'émergence et/ou à la disparition progressive de certaines maladies.

#### **B) Le comportement des consommateurs**

De plus en plus d'individus consomment des aliments d'origine animale crus (œuf, viande, poisson). Face à cette forte de demande, l'industrialisation et la production en masse peuvent poser problème dans le cas où la maîtrise des pratiques d'hygiène n'est pas respectée.

A cela, s'ajoute le comportement des consommateurs qui ne fait pas forcément preuve d'exemplarité en matière d'hygiène alimentaire, avec une température dans la zone la plus

froide du réfrigérateur au-dessus de 4°C, un dépassement des DLC (date limite de consommation) pour certains produits (jambon et saumon fumé pré-emballés), l'utilisation des eaux de puits privés comme eau de boisson sans traitement au préalable [16]....

Plusieurs dispositifs pourraient être mis en place dans les magasins pour remédier à ces problèmes :

- L'implantation d'un stand à l'entrée du magasin pour conseiller les consommateurs afin d'adopter les bons gestes.
- Des conseils d'utilisation concernant les produits vendus en détail (par exemple : sur les sachets utilisés dans les rayons fruits et légumes, sur les emballages utilisés dans les poissonneries...). Ces conseils porteraient sur le lavage, les températures à respecter et la durée de conservation.

### **C) L'utilisation des pesticides**

L'utilisation des pesticides peut être une source de contamination insoupçonnée. C'est une pratique courante, notamment en France qui est l'un des plus gros consommateurs de pesticides en Europe. L'étude menée par l'Institut Néerlandais de Santé Publique et de l'Environnement (RIVM) révèle que la pulvérisation d'insecticides et de fongicides pourrait être à l'origine de contamination des cultures par des Norovirus [89]. En effet, « quand les agriculteurs “traitent”, ils s'imaginent qu'ils éliminent toutes les bestioles » (selon Pierre Pothier, responsable du Centre national de référence des virus entériques) [90]. Or les Norovirus sont résistants aux pesticides et l'utilisation d'une eau contaminée par ce pathogène pour diluer les fongicides et insecticides peut être une source de contamination.

### **D) Contexte environnemental**

Face aux catastrophes naturelles (inondations, tremblements de terre, glissements de terrain...), les victimes ne sont pas uniquement confrontées à des dégâts humains ou matériels. D'autres problématiques se posent à savoir des risques sanitaires majeurs. A titre d'exemple, les inondations peuvent être à l'origine : d'une contamination des réseaux d'eau potable suite à un débordement des égouts et fosses septiques qui regorgent d'agents pathogènes infectieux.

## CONCLUSION

Assurer la qualité et la sécurité des aliments représente un défi au quotidien. Comme nous avons pu le constater divers facteurs ont une influence sur les aliments et sont susceptibles d'évoluer, notamment les modes de vie des consommateurs, les échanges commerciaux et les conditions climatiques.

L'implication des virus entériques dans les matrices alimentaires peut avoir un impact non négligeable en termes de Santé publique. Pour preuve, les gastroentérites virales constituent la deuxième cause de morbidité après les infections respiratoires au niveau mondial et on estime à plus de 3 millions le nombre de consultations médicales en France annuellement<sup>3</sup>.

Il n'existe pas de traitement standard permettant l'élimination de l'ensemble des agents pathogènes, étant donné les caractères physiologiques variés et propres à chaque microorganisme (virus, bactéries, parasites). La gestion du danger viral repose uniquement sur de la prévention et l'application de traitements qui ne font pas toujours preuve d'efficacité (UV, ozone, chlore...).

Les méthodes actuelles de détection des virus entériques ne sont pas totalement fiables, avec l'incapacité d'étudier l'effet cytopathique par culture cellulaire de certains virus (ex : Norovirus), l'impossibilité de déterminer le pouvoir infectieux et l'obtention de faux négatifs par PCR.

Ainsi face à ces irrégularités et malgré l'existence de la norme ISO 15216-1 :2017<sup>58</sup> (pour la recherche des virus de l'hépatite A et de Norovirus par la technique RT-PCR en temps réel), aucun règlement ne fixe des critères spécifiques aux virus dans les matrices alimentaires et la mise en place d'un seuil critique reste en cours d'étude (Pamina-Mika Suzuki, membre de la Commission Européenne, Santé et Sécurité Alimentaire).

Au cours des études sur les TIAC, l'origine hydrique de la contamination des aliments est souvent démontrée. Les paramètres microbiologiques utilisés dans le contrôle sanitaire des eaux sont exclusivement bactériens alors que les bactéries sont moins résistantes dans l'environnement que les virus. D'autres indicateurs tels que les bactériophages ARN-F pourraient compléter ces paramètres microbiologiques et pourraient être le reflet d'un traitement virucide plus ou moins efficace.

En revanche la source de contamination des eaux reste incertaine et divers paramètres peuvent être impliqués : le non respect des bonnes pratiques agricoles, un dysfonctionnement d'une station d'épuration, le non respect des règles d'hygiène, la pêche illégale.... Dans le cas des pratiques agricoles, l'épandage du lisier est un paramètre à ne pas négliger étant donné la transmission féco-orale des virus entériques.

Ainsi, le traitement de la problématique de départ a permis de soulever plusieurs interrogations, à savoir si :

- Les nouvelles habitudes alimentaires peuvent engendrer un nouveau risque sanitaire lié à l'exposition aux virus (exemple : consommation des insectes, des denrées d'origine animale crues) ?
- Le comportement des consommateurs peut poser un problème en termes de sécurité des aliments ?

On peut également se demander si les méthodes d'analyse des virus sont suffisantes pour mettre en place un règlement établissant des critères viraux. Néanmoins, les évolutions technologiques et les recherches actuelles sur la détection des virus dans les aliments pourraient répondre à cette problématique dans un futur proche.

Si tel est le cas, est-ce que les entreprises pourront s'adapter à ces évolutions rapides ?

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] : OMS, *Estimations par l'OMS de la charge mondiale des maladies d'origine alimentaire*, 2015.
- [2] : OMS, *Maladies d'origine alimentaire*, communiqué de presse du 3 décembre 2015.
- [3] : Centre National de Recherche des virus entériques de Dijon.
- [4] : Règlement (CE) n°2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires
- [5] : Bouvier-Blaizot Catherine, 2008, Evolution des risques infectieux alimentaires.
- [6] : Madeleine Lesage, Chargée de mission Alimentation, santé, risques sanitaires, 2013, *Toxi-infections alimentaires, évolution des modes de vie et production alimentaire*, publication du service de la statistique et de la prospective-Centre d'études et de prospective, article n°56.
- [7] : OMS, Janvier 2002, article n°124, *Maladies émergentes transmises par les aliments*.
- [8] : Khitam M., Uri R., Eias K., Sophy G., Yaakov S., Adi K., Lester M S., Moshe E., and Dani C, 25 Juillet 2015, *A significant and consistent reduction in rotavirus gastroenteritis hospitalization of children under 5 years of age, following the introduction of universal rotavirus immunization in Israel*, NCBI, 11, 2475–2482.
- [9] : Agence de la santé publique du Canada, 2010, *Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Salmonella enterica spp.*
- [10] : Dr Thierry Morin, Docteur en Virologie et Immunologie au Laboratoire National de Référence sur les Maladies réglementées des poissons, *Les Virus Entériques*, 2017.
- [11] : Nicolas Boudaud et Christophe Gantzer, *Evaluation du danger viral dans les matrices alimentaires*, Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n°68, 2016.
- [12] : Coralie COUDRAY-MEUNIER, Thèse du 25 Novembre 2014, *Virus entériques transmissibles par voie alimentaire : détection, typage, pouvoir infectieux et nouvelles technologies*, ANSES, Laboratoire de Sécurité Alimentaire, Unité Virus Entériques, page 14.
- [13] : Vaillant V., Nathalie Jourdan-Da Silva N., Quilici M-L., Couturier E., Le Guyader S., Delmas G., Le Saux J.C., 2012, *Surveillance des risques biologiques liés à la*

*consommation de coquillages en France*, Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n°50, Spécial Risques alimentaires microbiologiques.

[14] : Santé Publique France, *Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives Données de la déclaration obligatoire*, 2015.

[15] : FAO (Food And Agriculture Organization of the United Nations), *La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture*, 2016, page 17.

[16] : INCA 3, Étude individuelle nationale des consommations alimentaires 3, Avis de l'Anses Rapport d'expertise collective, Juin 2017.

[17] : IFREMER Concarneau, Laboratoire Environnement Ressources Bretagne Occidentale, Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC), dernière modification du 21/01/2013.

[18] : National Health Service (NHS), Norovirus, dernière modification le 05/10/2015.

[19] : OMS (Organisation Mondiale de la Santé), *Hépatite A*, Aide-mémoire N°328, Juillet 2017.

[20] : Centers for Disease Control and Prevention, *US Trend and Outbreak*, 10 Décembre 2015.

[21] : La Tribune, *Les gastro-entérites, fardeau économique annuel de 64 milliards de dollars*, article du 27 Avril 2016.

[22] : OMS, Réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments (INFOSAN), Sécurité sanitaire des aliments.

[23] : RASFF, Rapid Alert System for Food and Feed, *RASFF Portal*.

[24] : RASFF, *RASFF For Safer Food*, rapport annuel de 2014, page 24.

[25] : EFSA, European Food Safety Authority, Programming Document 2017-2019, *Protecting consumer's health with independent scientific advice on the foodchain*, Décembre 2016

[26] : Camille Bach, Thèse sur *la Détection des virus entériques infectieux dans le milieu hydrique : méthodes actuelles et perspectives*, 10 Octobre 2014.

[27] : Eur-Lex Access to European Union Law, Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

- [28] : Rodríguez R.A., Pepper I. L., Gerba C. P. *Application of PCR-Based methods to assess the infectivity of enteric viruses in environmental samples*. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(2), pp. 297-307.
- [29] : Jayaram, H., Estes, M.K., Prasad, B.V.V., 2004. *Emerging themes in rotavirus cell entry, genome organization, transcription and replication*. Science Direct, Virus Research 101, 67–81.
- [30] : AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), *Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale*, 2007, page 65.
- [31] : Naïtali M., Guillier L., Dubois-Brissonnet F., *Risques microbiologiques alimentaires*, Edition Lavoisier, 2017.
- [32] : Delignette Muller et Cornu, 2008, *Quantitative risk assessment for Escherichia coli O157:H7 in frozen ground beef patties consumed by young children in French households*, Science Direct, International Journal of Food Microbiology, 158–164.
- [33] : Pouillot R., Hoelzer K., Chen Y., B.Dennis S., 2015, *Listeria monocytogenes dose response revisited--incorporating adjustments for variability in strain virulence and host susceptibility*, Risk Analysis.
- [34] : Sévrin-Jaloustre Séverine, 2013, Thèse : *Appréciation quantitative des risques pour l'évaluation de mesures de maîtrise sanitaire dans une filière agro-alimentaire. Application à Clostridium perfringens en restauration hospitalière*, HAL Archives ouvertes.
- [35] : Teunis Peter F.M., Kasuga F., Fazil A., D.Ogden I., Rotariu O., J.C.Strachan N., 2010, *Dose-response modeling of Salmonella using outbreak data*, Science Direct, International Journal of Food Microbiology. 243–249.
- [36] : Teunis Peter F.M., Koningstein M., Takumi K., Van der Giessen JW., 2012, *Human beings are highly susceptible to low doses of Trichinella spp*, Epidemiology and Infection, 210-8.
- [37] : Thebaulta A., Teunis Peter F.M., Le Pendud J., S.Le Guyaderg F., Densih J.B., 2013, *Infectivity of GI and GII noroviruses established from oyster related outbreaks*, Elsevier Volume 5, Issue 2, Pages 98–110.

- [38] : Codex Alimentarius, Normes Alimentaires Internationales, Directives sur l'application des principes généraux d'hygiène alimentaire à la maîtrise des virus dans les aliments, CAC/GL 79-2012.
- [39] : D'Souza D., Sair A., Williams K., Papafragkou E., Jean J., Moore C., 2006, Jaykus L.A., *Persistence of caliciviruses on environmental surfaces and their transfer to food*, Science Direct, International Journal of Food Microbiology, 84 – 91.
- [40] : Aron J.Hall, *The Journal of Infectious Diseases, Noroviruses : The Perfect Human Pathogens ?* Volume 205, Numéro 11, Pages 1622–1624, Publication de 2012.
- [41] : Yang N., Qi H., Man M., Rudolf L., SunWu S., Chonkong R.Y., 2012 : *Prevalence and diversity of norovirus genogroups I and II in Hong Kong marine waters and detection by real-time PCR*, Science Direct, Marine Pollution Bulletin.
- [42] : He Z., Liu B., Tao Y., Li C., Xia M., Zhong W., Jiang X., Liu H., Tan M., 2017, *Norovirus GII.17 Natural Infections in Rhesus Monkeys, China*, Emerging Infectious Disease Journal, 316-319.
- [43] : Kohli, E., Bon, F., Balay, K., Pothier, P., 2005. *Les calicivirus humains, une cause majeure de gastroentérite aiguë*. Virologie 9, 93–106.
- [44] : Patel, M.M., Hall, A.J., Vinjé, J., Parashar, U.D., 2009. *Noroviruses: A comprehensive review*. Journal of Clinical Virology 44, 1–8.
- [45] : Bernstein DI., Atmar RL., Lyon GM., Treanor JJ., Chen WH., Jiang X., Vinjé J., Gregoricus N., Frenck RW Jr., Moe CL., Al-Ibrahim MS., Barrett J., Ferreira J., Estes MK., Graham DY., Goodwin R., Borkowski A., Clemens R., Mendelman PM., 2015, *Norovirus vaccine against experimental human GII.4 virus illness: a challenge study in healthy adults*, The Journal of Infectious Diseases, 870-8.
- [46] : CNR (Centre National de Recherche) des virus entériques, CHU de Dijon, [www.cnr-ve.org](http://www.cnr-ve.org). K. Ambert-Balay, P. Pothier.
- “*Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in fecal samples.*” Journal of Clinical Virology, 2013, 56:194-198
- [47] : Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments ANSES, virus de l'Hépatite A, Janvier 2011.
- [48] : Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments ANSES, E. coli entérohémorragiques, Septembre 2011.

- [49] : Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments ANSES, *Listeria monocytogenes*, Décembre 2011.
- [50] : Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments ANSES, *Salmonella spp*, Juin 2011.
- [51] : Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments ANSES, *Norovirus*, Mai 2011.
- [52] : Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments ANSES, *Rotavirus*, Avril 2012.
- [53] : Kim S.J., Si J., Lee J.E., Ko G.P., 2012, *Temperature and Humidity Influences on Inactivation Kinetics of Enteric Viruses on Surfaces*, *Environmental Science and Technology*, 151-742.
- [54] : Bertrand I., Schijven JF., Sánchez G., Wyn-Jones P., Ottoson J., Morin T., Muscillo M., Verani M., Nasser A., de Roda Husman AM., Myrmet M., Sellwood J., Cook N., Gantzer C., 2012, *The impact of temperature on the inactivation of entericviruses in food and water :areview*, *Journal of Applied Microbiology*, 1059-74.
- [55] : Deboosere N., Pinon A., Caudrelier Y., Delobel A., Merle G., Perelle S., Temmam S., Loutreul J., Morin T., Estienney M., Belliot G., Pothier P., Gantzer C., Vialette M., 2012, *Adhesion of humanpathogenicentericviruses and surrogateviruses to inert and vegetalfood surfaces*, *Food Microbiology*, 48-56.
- [56] : Agence de la santé publique du Canada, 2010, *Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Human Rotavirus*.
- [57] : Gallot C, Grout L, Roque-Afonso AM, Couturier E, Carrillo-Santistevé P, Pouey J, Letort MJ, Hoppe S, Capdepon P, Saint-Martin S, De Valk H, Vaillant V., 2011, *Hepatitis A associated with semidried tomatoes, France, 2010*, *Emerging Infectious Diseases*, 566-7.
- [58] : ISO (International Organization for Standardization), ISO 15216-1:2017, *Microbiologie dans la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche des virus de l'hépatite A et norovirus par la technique RT-PCR en temps réel*, <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15216:-1:ed-1:v1:fr> .
- [59] : Règlement (ce) n°178/2002 du Parlement Européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant *les principes généraux et les prescriptions générales de la législation*

*alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.*

[60] : Appui scientifique et technique de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments pour la révision de la directive européenne 98/83/CE relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, Saisine n° 2009-SA-0093.

[61] : Règlement (CE) n°852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.

[62] : Note de service DGAL/SDSSA/N2012-8243, Date: 28 novembre 2012. Objet : Contamination des zones de production de coquillages par les norovirus – Protocole cadre de gestion.

[63] : REMI Réseau de contrôle microbiologique, dernière modification le 27/09/2016, <https://wwz.ifremer.fr/lerpc/Activites-et-Missions/Surveillance/REMI>

[64] : Loi n° 2010-788 du 12 juillet 2010 portant engagement national pour l'environnement.

[65] : Pourquoi et comment composter le fumier ?

[http://www.aveyron.chambagri.fr/fileadmin/documents\\_ca12/Aveyron/Agriculture\\_biologique/Infos\\_techniques/fiche\\_compostage\\_vf.pdf](http://www.aveyron.chambagri.fr/fileadmin/documents_ca12/Aveyron/Agriculture_biologique/Infos_techniques/fiche_compostage_vf.pdf)

[66] : Wei J, Jin Y, Sims JT, Kniel KE, 2010, *Fate of Human Enteric Viruses during Manure-Based Composting*. Journal of Food Protection, 1543-7.

[67] : Agrizone, *Epannage de lisier près des habitations : réglementation et normes*, mardi 22 mars 2016, <https://www.agrizone.net/blog/epandage-de-lisier-pres-des-habitations-reglementation-et-normes>

[68] : Jesper S. Krog, Forslund A., E. Larsen L, Dalsgaard A., Kjaer J., Olsen P., Schultz A.C., 2017, *Leaching of viruses and other microorganisms naturally occurring in pig slurry to tile drains on a well-structured loamy field in Denmark*, Hydrogeology Journal, pp 1045–1062.

[69] : Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux dangers microbiologiques des aliments consommés crus – saisine n° 2008-SA-0172

[70] : *Les règles d'épandage des effluents d'élevages en Zone vulnérable*, n°68, Édité par la Chambre d'agriculture de la Drôme, Novembre 2015, <http://rhone->

[alpes.synagri.com/synagri/pj.nsf/TECHPJPARCLEF/15742/\\$File/151201\\_Objectif\\_68.pdf?OpenElement](http://alpes.synagri.com/synagri/pj.nsf/TECHPJPARCLEF/15742/$File/151201_Objectif_68.pdf?OpenElement)

[71] : Rapport CGEDD n°009801-01, CGAAER n°14074 établi par Bertrand GAILLOT et Patrick LAVARDE (coordonnateur) avec la contribution de Philippe BALNY, Denis DELCOUR et Muriel GUILLET Juillet 2015, *Les épandages sur terres agricoles des matières fertilisantes d'origine résiduaire*.

[72] : Agriculture et Territoires, Chambre d'Agriculture de Bretagne, *En élevage de porc ça phosphore !*, publié le 5 Décembre 2011.

[73] : ACTIA Virocontrol : lancement du projet OXYVIR financé par le FEAMP  
[http://www.actia-asso.eu/accueil/afficher\\_actualites2.html](http://www.actia-asso.eu/accueil/afficher_actualites2.html)

[74] : Institut Pasteur, MediLabSecure, <http://www.medilabsecure.com/groups.html>

[75] : Ministère chargé de la santé - Résultats des analyses du contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine,  
<https://orobnat.sante.gouv.fr/orobnat/rechercherResultatQualite.do>

[76] : Legifrance, Le service public de la diffusion du droit. *Code de la santé publique Version consolidée au 1 septembre 2017*.

[77] : World Health Organization (WHO), *Water Safety Plans, Managing drinking-water quality from catchment to consumer*, Water, Sanitation and Health Protection and the Human Environment World Health Organization Geneva 2005.

[78] : Cefas, European Union Reference Laboratory for monitoring bacteriological and viral contamination of bivalve molluscs : *Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas, Guide to Good Practice : Technical Application*, Juin 2014,  
[file:///C:/Users/Pc/Downloads/gpg\\_issue-5\\_final\\_all.pdf](file:///C:/Users/Pc/Downloads/gpg_issue-5_final_all.pdf), page 16.

[79] : Règlement (CE) n°854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine, *Journal officiel de l'Union européenne*.

[80] : Règlement (CE) N°853/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale, *Journal officiel de l'Union européenne*.

- [81] : Règlement (CE) N°1021/2008 DE LA COMMISSION du 17 octobre 2008 modifiant les annexes I, II et III du règlement (CE) no 854/2004 du Parlement européen et du Conseil fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine et le règlement (CE) no 2076/2005 en ce qui concerne les mollusques bivalves vivants, certains produits de la pêche et le personnel prenant part aux contrôles officiels dans les abattoirs, *Journal officiel de l'Union européenne*.
- [82] : RASFF Consumers Portal, <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/consumers/>
- [82.b] : DGCCRF (Direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes). *Avis de rappel des framboises entières bio 450 g Picard*, (03/07/2017) : <https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/avis-rappel-des-ramboises-entieres-bio-450g-picard>
- [83] : Surveillance Atlas of Infectious Diseases  
<http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
- [84] : Promed mail, International Society for Infectious Diseases  
<http://www.healthmap.org/promed/>
- [85] : LASAT, Laboratoire d'analyses Sèvre Atlantique, *Les virus alimentaires agents de gastro-entérites*
- [86] : FCD, *Critères microbiologiques applicables à partir de 2015 aux marques de distributeurs, marques premiers prix et matières premières dans leur conditionnement initial industriel*.
- [87] : EFSA, *Scientific Opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses*, Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Parma, Italy, EFSA Journal 2011;9(7):2190.
- [88] : ANSES, *Avis de l'Anses Saisine n° 2014-SA-0153, relatif à « la valorisation des insectes dans l'alimentation et l'état des lieux des connaissances scientifiques sur les risques sanitaires en lien avec la consommation des insectes »*, 2015.
- [89] : Katharina Verhaelen., Martijn Bouwknegt., Saskia A. Rutjes., Ana Mariade Roda Husman, Janvier 2013, *Persistence of human norovirus in reconstituted pesticides – Pesticide application as a possible source of viruses in fresh produce chains*, International journal of Food Microbiology, Pages 323-328.
- [90] : Figaro, Yves Miserey, *L'épandage des pesticides peut propager des virus*, publié le 24/05/2013.

Images de la page de garde issues des liens suivants :

<http://www.enviro2b.com/2014/06/26/pesticides-lepandage-desormais-interdit-proximite-ecoles/>

<http://mgsfl.com/norovirus-is-a-different-kind-of-animal/>

<https://www.toutvert.fr/preserver-les-vitamines-des-fruits-et-legumes/>

<http://www.lagourmetbox.com/fr/blog/blog-fruitsdemer/>

## LES MALADIES VIRALES D'ORIGINE ALIMENTAIRE : COMMENT OPTIMISER LA GESTION DU RISQUE ?

L'implication des virus dans les matrices alimentaires peut avoir un impact non négligeable en termes de Santé Publique. En effet, les gastroentérites virales constituent la deuxième cause de morbidité après les infections respiratoires au niveau mondial. La transmission *féco-orale* des virus les regroupent sous le nom de virus entériques, dont les principaux incriminés sont les Norovirus (12% à 47%) et le virus de l'Hépatite A (5%). Au niveau réglementaire, il n'existe aucun critère viral en raison d'un manque de méthode de détection efficace. De ce fait, aucun contrôle de routine des virus dans les matrices alimentaires n'est effectué et leur détection dans les eaux de consommation repose uniquement sur l'analyse d'indicateurs bactériens de pollution fécale (*E.coli*). Les traitements actuels ne permettent pas une élimination totale des virus ou certains traitements (ex : thermique) ne peuvent être appliqués sans détruire les propriétés organoleptiques des aliments (ex : fraises). La prévention est donc nécessaire pour maîtriser le risque et se traduit par le respect des bonnes pratiques agricoles, le respect des règles d'hygiène, la maîtrise des systèmes de surveillance et des consommateurs bien informés.

Mots clés : Santé Publique, gastroentérites, virus entériques, Norovirus, Hépatite A, critère viral, contrôle de routine.

The virus involvement in food matrix can have an non-negligible impact in terms of Public Health. Indeed the viral gastroentiritis constitute the second cause of morbidity after the respiratory infections at world level. The faecal-oral transmission of virus gather them under the name of enteric viruses where the main incriminated are the Norovirus (12% to 47%) and the Hepatite A virus (5%). At regulatory level, there is no viral criteria in the regulations due to a lack of efficient detection methods. Thereby, there is no routine monitoring of the virus in food matrix and their detection in drinking water is only based on the analysis of bacterial indicators of faecal pollution (*E.coli*). Current treatments don't enable a complete elimination of viruses or some of those treatments (ex : heating) can't be applied whitout destroying the organoleptic properties of food (ex : strawberry). In that way the prevention is essential to master the risk and it's expressed by the respect of good agricultural practices, the respect of hygiene rules, the control of surveillance system and consumers aware.

Keywords: Public Health, gastroentiritis, enteric viruses, Norovirus, Hepatite A, viral criteria, routine control.

