

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Juin 2011 trimestriel/numéro 44

Page 2

Bilan sanitaire du sanglier vis-à-vis de la trichinellose, de la maladie d'Aujeszky, de la brucellose, de l'hépatite E et des virus influenza porcins en France

Page 9 - Brèves

- Deux cas humains familiaux de trichinellose liés à la consommation de sanglier de chasse
- Seconde exposition humaine vis-à-vis de larves du trématode *Alaria sp.* en France
- Toxi-infection alimentaire collective à *Salmonella* Enteritidis suite à la consommation de viande de sanglier

Page 13

Surveillance active de la résistance aux antibiotiques des *Salmonella* isolées de la filière « poulet de chair » à différentes étapes de la chaîne alimentaire (données 2008-2009)

Page 18

Identification génétique de souches de rhabdovirus isolées de perches et d'autres espèces de poissons

Page 22

Étude de la persistance d'*Histomonas meleagridis* dans les élevages de dindes atteints d'histomonose

Page 24 - Brève

Émergence en France d'un nouveau variant pathogène de virus de la maladie hémorragique virale du lapin

Le *Bulletin épidémiologique* est une publication conjointe de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et de la Direction générale de l'alimentation du ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire.

ÉDITORIAL

Ce numéro du *Bulletin épidémiologique* aborde des problématiques très variées de santé animale et de sécurité sanitaire des aliments, tant au niveau des filières de production animale que des agents pathogènes et des contaminants en cause.

L'article sur le bilan sanitaire chez le sanglier ainsi que deux brèves sur la découverte de sangliers infestés par *Trichinella spiralis* ou *Alaria alata* viennent compléter, pour la filière porcine, l'étude de cas sur les foyers de brucellose à *Brucella suis* biovar 2 parue dans le numéro 42. Ils trouveront un prolongement dans le prochain numéro avec des articles sur les implications sanitaires de la dynamique actuelle des populations de sangliers et sur la situation sanitaire vis-à-vis de la peste porcine classique chez le sanglier dans l'est de la France, permettant de faire ainsi un état des lieux assez complet de l'implication de cette espèce sauvage au niveau de la santé animale et du risque qu'elle représente pour la santé publique.

Nous vous rappelons que vous avez désormais la possibilité de vous abonner en ligne à la version électronique du *Bulletin épidémiologique*, ce qui vous permettra de recevoir un avertissement par courriel dès la parution d'un nouveau numéro. Vous trouverez également sur cette page Internet les brèves actualisées en ligne, telle que celle concernant l'épizootie de fièvre aphteuse en cours en Bulgarie.

Le comité de rédaction



Bilan sanitaire du sanglier vis-à-vis de la trichinellose, de la maladie d'Aujeszky, de la brucellose, de l'hépatite E et des virus influenza porcins en France

Ariane Payne (1) (ariane.payne@oncfs.gouv.fr), Sophie Rossi (1), Sandrine A. Lacour (2), Isabelle Vallée (2), Bruno Garin-Bastuji (3), Gaëlle Simon (4), Séverine Hervé (4), Nicole Pavio (5), Céline Richomme (6), Charlotte Dunoyer (7), Anne Bronner (8), Jean Hars (1)

(1) Office national de la chasse et de faune sauvage (ONCFS), Direction des études et de la recherche, Unité sanitaire de la faune, Le Perray-en-Yvelines

(2) Anses, LNR Parasites transmis par les aliments, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort

(3) Anses, LNR Brucelloses animales, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort

(4) Anses, LNR Virus Influenza porcins, Laboratoire de Ploufragan - Plouzané

(5) Anses, UMR 1161 Virologie Inra- Enva-Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort

(6) Anses, Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy

(7) Fédération nationale des chasseurs, Issy-les-Moulineaux

(8) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris

Résumé

À la demande de la DGAL, un programme de surveillance de la trichinellose dans la faune sauvage, a été conduit entre septembre 2009 et août 2010. L'objectif était d'évaluer le risque que représente la faune sauvage pour les porcs domestiques vis-à-vis d'une transmission de *Trichinella* sp. Le parasite a été recherché chez le sanglier par digestion pepsique sur muscle. Par ailleurs, l'exposition des sangliers à la maladie d'Aujeszky, à la brucellose, à l'hépatite E et aux virus influenza a été recherchée par des méthodes sérologiques.

L'enquête a été menée dans cinq départements et un total de 2 442 échantillons musculaires et 853 sérums a été récolté.

Aucune analyse trichine n'a révélé de sanglier porteur de larves de parasite, attestant d'un risque minime à extrêmement faible pour les porcs et pour l'Homme. Le caractère enzootique de l'infection brucellique chez le sanglier a été confirmé tandis que la maladie d'Aujeszky ne semble circuler que dans certains départements. L'hépatite E est apparemment plus présente dans le Sud que dans le Nord. Les virus influenza n'ont été détectés que dans deux départements, reflétant la situation connue chez le porc d'élevage.

Les mesures visant à limiter les inter-transmissions entre porcs et sangliers doivent donc être maintenues afin d'éviter les échanges de ces agents pathogènes. La sensibilisation des consommateurs de viande de sanglier quant à leur exposition potentielle à la trichinellose et à l'hépatite E doit être entretenue. Enfin, ces résultats, pour certains préliminaires, doivent être approfondis afin d'affiner les connaissances sur l'épidémiologie et les facteurs de risque de présence de ces infections chez le sanglier.

Mots clés

Sanglier, *Trichinella*, maladie d'Aujeszky, brucellose, virus influenza, hépatite E, évaluation du risque

Abstract

Health report on wild boar focusing on trichinosis, Aujeszky's disease, brucellosis, hepatitis E and swine influenza viruses in France

Following a request by the French Directorate General for Food (DGAL), a programme to monitor trichinosis in wildlife was run from September 2009 to August 2010. The aim was to assess the risk of wildlife transmitting *Trichinella* sp. to domestic swine. This parasite was sought in boar muscle tissue following peptic digestion. Blood samples were taken to investigate Aujeszky's disease, brucellosis, hepatitis E and swine influenza viruses.

The survey covered five départements. In all, 2,442 muscle samples and 853 sera were collected.

None of the trichinosis analyses revealed a boar with parasitic larvae, indicating a minimal to very low risk for swine or humans. This research confirmed the enzootic nature of brucellosis among boars, while Aujeszky's disease was only found in certain départements. Hepatitis E appeared more prevalent in the South than the North. Swine influenza viruses were detected in only two départements, reflecting the situation among farm pigs.

The measures designed to limit transmission of disease between domestic swine and wild boars must therefore be upheld. Consumers of wild boar meat must remain informed of the risk of infection by trichinosis and/or hepatitis E. Some of these findings being preliminary, they need to be further investigated to elucidate epidemiological and risk factors due to the infection of boar by these diseases.

Keywords

Boar, *Trichinella*, Aujeszky's disease, brucellosis, swine influenza virus, hepatitis E, risk assessment

Le sanglier sauvage (*Sus scrofa scrofa*) est, ou peut devenir porteur de plusieurs maladies infectieuses ou parasitaires d'importance majeure au plan économique ou de la santé publique. Le porc domestique (*Sus scrofa domesticus*) est plus particulièrement concerné par ce risque sanitaire car appartenant à la même espèce que le sanglier avec qui il partage potentiellement la même communauté d'agents pathogènes. Les densités de sangliers sont en augmentation depuis plus de vingt ans, en France et en Europe, ce qui accroît les risques d'installation et de pérennisation de maladies dans cette espèce [1]. Le développement récent de l'élevage de porcs en plein air en France augmente également les possibilités de contacts directs et indirects entre suidés domestiques et sauvages et d'échanges d'agents pathogènes.

Le ministère chargé de l'agriculture (DGAL) a donc diligenté plusieurs enquêtes sur différentes maladies susceptibles de concerner le sanglier au niveau national. Ainsi, entre 2000 et 2004, une enquête sérologique a été menée dans toute la France pour les maladies suivantes: brucellose porcine, maladie d'Aujeszky et trichinellose. Elle a révélé que la brucellose était enzootique sur la majorité du territoire et que la maladie d'Aujeszky circulait dans les populations de sangliers de certains départements (Figure 1). Enfin, l'enquête a révélé une séroprévalence apparente en trichinellose nulle à faible selon les départements mais, en raison d'incertitudes liées à l'utilisation de l'outil sérologique pour les suidés sauvages (suspicion de réactions croisées ainsi que de possibles problèmes de spécificité), ces résultats doivent être interprétés avec prudence [2].

En 2009, la DGAL a mandaté l'ONCFS pour mettre en œuvre une surveillance active de la trichinellose dans la faune sauvage par recherche directe du parasite, afin d'évaluer le risque qu'elle représente pour les porcins domestiques et de répondre ainsi aux exigences du règlement n° 2075/2005 qui fixe les règles appliquées au contrôle des viandes vis-à-vis de *Trichinella*. Ce règlement impose l'analyse de toute carcasse d'espèces sensibles à la trichine passant en atelier de traitement de gibier, incluant donc le sanglier. En outre, la note de service DGAL/SDSSA/N2008-8139 exige le contrôle des viandes de sanglier destinées à des repas de chasse, des repas associatifs ou à la commercialisation en circuit court.

À l'occasion de cette enquête ciblée sur la trichinellose dans des zones d'élevage porcin, ce programme de surveillance a été mis à profit pour avoir une meilleure connaissance de la circulation de maladies transmissibles aux porcs et/ou à l'Homme, à savoir : la maladie d'Aujeszky et la brucellose porcine, précédemment suivies, ainsi que l'hépatite E et des virus Influenza de type A, pour lesquels la situation sanitaire dans la faune sauvage restait peu connue.

En lien avec l'objectif principal d'évaluation des risques sanitaires dans les zones d'élevage porcin, une sélection de territoires a été opérée parmi ceux présentant à la fois une forte production porcine de type plein air (« sentinelle » : ces élevages pouvant être considérés comme des révélateurs de la fréquence des inter-transmissions entre animaux domestiques et faune sauvage) et industriel (ces élevages étant ceux *a priori* éligibles au « statut indemne de trichinellose ») (Figure 2). Ces départements représentatifs des principaux bassins de production porcine devaient également offrir des situations contrastées en matière de paysage et d'effectifs de sangliers. Ainsi, le choix s'est porté sur cinq départements : l'Aveyron, le Finistère, l'Ille-et-Vilaine, le Nord et les Pyrénées-Atlantiques.

En France, les deux espèces reconnues comme espèces sentinelles de *Trichinella* sont le renard (*Vulpes vulpes*), plus fréquemment porteur de *T. britovi* et le sanglier, réservoir sauvage de *T. spiralis*. [4]. L'enquête a donc été menée sur ces deux espèces animales en parallèle. Nous ne présentons ici que les résultats concernant le sanglier.

Échantillonnage

Dans chacun des cinq départements retenus, l'échantillonnage portait sur des animaux chassés sur des unités de surface de 200 à 500 km² permettant *a priori* une relative homogénéité des populations. Ces territoires correspondaient à des massifs forestiers ou à des unités

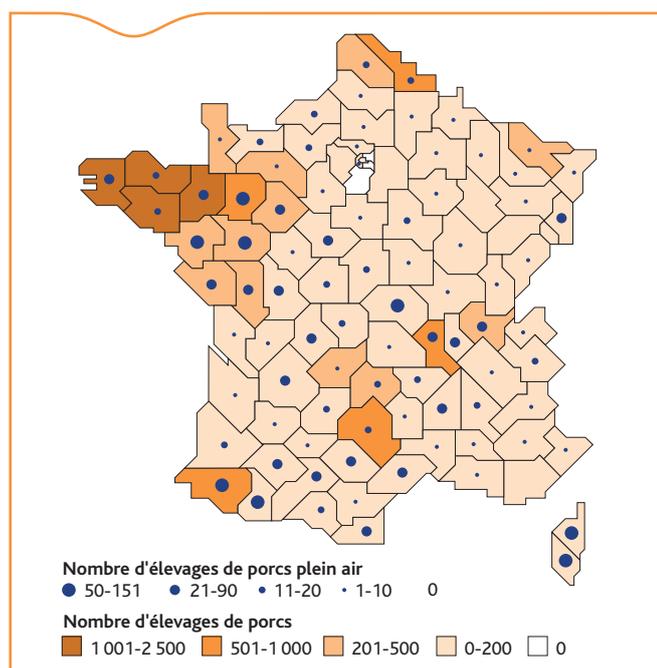


Figure 2. Répartition de la production porcine en France. Source : DGAL, d'après [3]

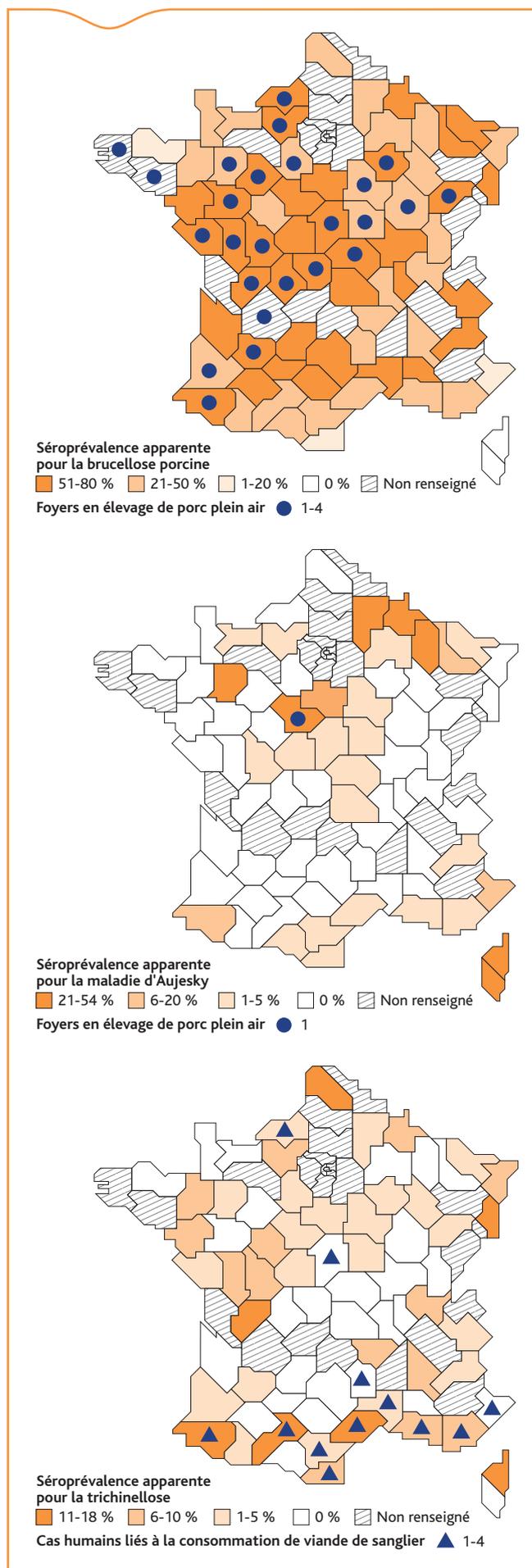


Figure 1. Séroprévalences apparentes chez le sanglier pour la brucellose porcine, la maladie d'Aujeszky et la trichinellose. Enquête sérologique nationale 2000-2004 DGAL/ONCFS D'après [2]

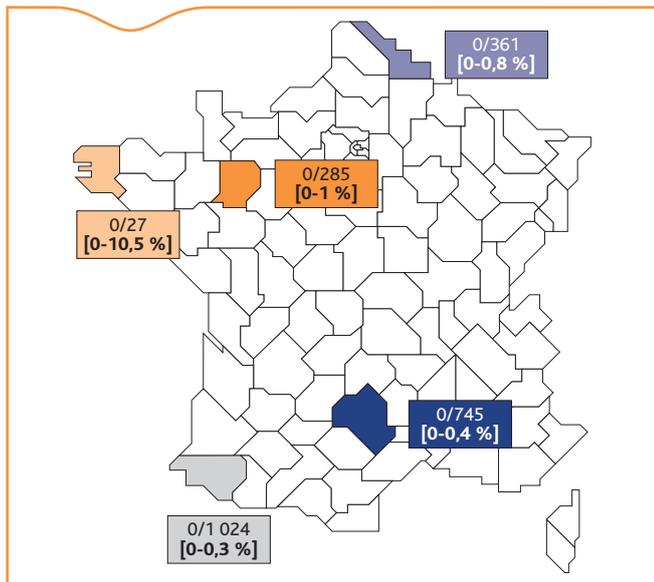


Figure 3. Résultats de la recherche directe de *Trichinella* sp. chez le sanglier (ratio du nombre de sangliers positifs sur le nombre d'individus échantillonnés; [IC à 95 % de la prévalence parasitaire]). Données de l'enquête 2009-2010

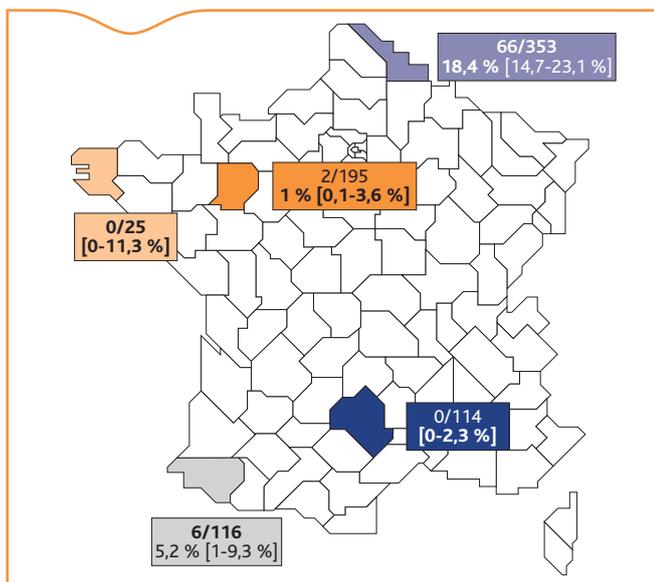


Figure 4. Résultats des sérologies Aujeszky réalisées chez le sanglier. Données de l'enquête 2009-2010

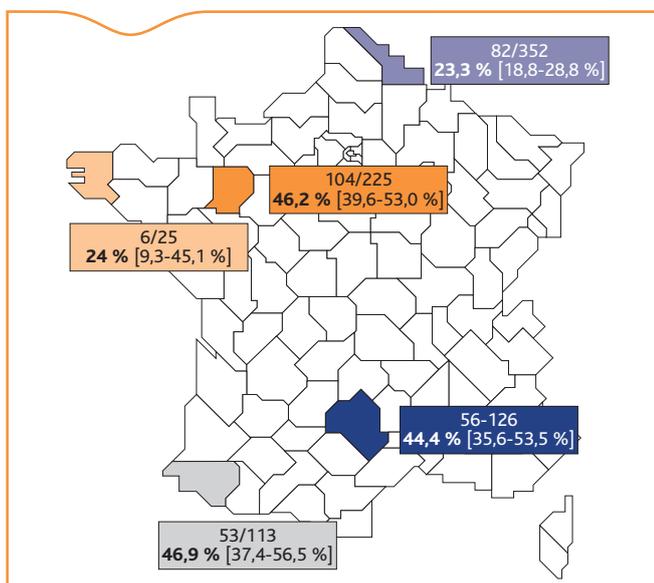


Figure 5. Résultats des sérologies brucellose chez le sanglier. Données de l'enquête 2009-2010

de gestion cynégétique. Il était prévu d'échantillonner deux à quatre de ces unités par département, ce qui a constitué le premier degré de l'échantillonnage. Le choix de ces secteurs a également tenu compte de leur recouvrement avec les zones d'élevage porcin, en lien avec l'objectif du programme. Le nombre d'animaux prélevés par unité de population a ensuite été déterminé en fonction d'un objectif de dépistage d'une prévalence du parasite de 3 % chez le sanglier, basé sur des données bibliographiques [5] et la faisabilité de l'enquête. Pour chaque département cela a correspondu à un échantillon optimal de 300 à 500 sangliers.

Au final, sur l'ensemble des cinq départements, 2 442 prélèvements musculaires et 853 sérums de sangliers ont été récoltés par les chasseurs entre août 2009 et mars 2010.

À noter que tous les sérums n'ont pas pu être analysés pour chacune des maladies visées pour cause de quantité ou de qualité insuffisantes de certains prélèvements.

Analyses

La recherche de trichine a été réalisée dans les laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) par la méthode de référence de digestion artificielle sur des pools de 100 g d'échantillons musculaires à raison de 5 g par sanglier, prélevés dans les piliers du diaphragme ou dans la langue. Le protocole d'analyse retenu était le suivant: cent cinq grammes de muscle (environ) étaient prélevés sur chaque sanglier. 5 g étaient utilisés pour une première analyse de mélange (regroupant au maximum 20 échantillons). Si le résultat de cette analyse était non négatif, 50 g de chaque échantillon du premier pool faisaient l'objet d'une deuxième analyse sur un « mini-pool » (un mini-pool contenant un mélange de deux échantillons de 50 g). Si le résultat de l'analyse sur un « mini-pool » était à nouveau non négatif, les 50 g restant faisaient l'objet d'une analyse individuelle. Dans les LVD, les sérums ont été centrifugés puis séparés en aliquots destinées aux différentes analyses sérologiques:

Maladie d'Aujeszky

Les analyses ont été réalisées en ELISA gB (IDDEX ou LSI) par les LVD. En cas de résultat douteux ou positif en zone non infectée, une confirmation a été réalisée par un test ELISA gE.

Brucellose

Les analyses ont été réalisées au Laboratoire national de référence (LNR) (Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Anses) afin de bénéficier d'un test comparable à celui de l'enquête 2000-2004 grâce à un test ELISA indirect validé en Espagne.

Virus influenza porcins (VIP)

Les sérums ont été analysés au Laboratoire national de référence (Laboratoire de Ploufragan - Plouzané, Anses) par ELISA de compétition, destiné à la détection des anticorps anti-nucléoprotéine des virus Influenza A (kit ID-Vet). Les sérums trouvés positifs en ELISA ont ensuite été analysés par tests d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) pour quatre valences antigéniques: H1N1, H1N2 et H3N2 enzootiques en Europe et virus pandémique H1N1 2009 (pH1N1).

Hépatite E

Les sérums ont été analysés à l'UMR 1161 Virologie Intra-Enva-Anses (Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Anses) par ELISA (MP Biomedicals, France).

Résultats

Trichinellose

Toutes les analyses de recherche directe de *Trichinella* sp. chez les sangliers se sont avérées négatives. Nous pouvons en déduire des prévalences apparentes maximales entre 0,3 % et 10,5 % (borne

supérieure de l'intervalle de confiance - IC à 95 %) dont la valeur dépend de la taille de l'échantillon par département (Figure 3).

Maladie d'Aujeszky

Les résultats de prévalence sont hétérogènes selon les départements et sont compris entre 0 et 18,4% [14,7-23,1 %] (Figure 4).

En Ile-et-Vilaine, la séroprévalence obtenue de 1% [0,1-3,6 %] est beaucoup plus faible que celle observée en 2004 (24%). Il était d'ailleurs étonnant de trouver une prévalence si élevée alors qu'aucun animal séropositif n'était mis en évidence dans les départements limitrophes (Figure 1) [2]. Cependant, il est important de noter qu'à l'époque, l'échantillonnage a été biaisé car la majorité des sangliers prélevés, les séropositifs en particulier, provenaient d'un seul massif du sud du département. Dans cette étude, les deux animaux trouvés positifs sont issus d'une forêt située à proximité de ce massif.

La maladie d'Aujeszky chez le sanglier en Ile-et-Vilaine ne semble donc concerner qu'une zone du sud du département.

Dans les Pyrénées-Atlantiques, la séroprévalence s'élève à 5,2% [1,0-9,3 %]. Ce résultat est cohérent avec le résultat de l'enquête nationale 2000-2004 (5%). Les six sangliers trouvés positifs au cours de la présente enquête se localisent sur trois communes au nord du département, correspondant à des zones de forte densité de sangliers.

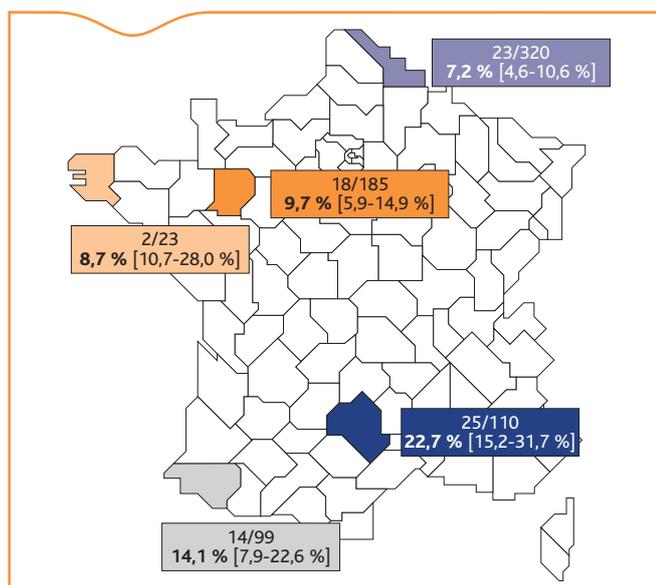


Figure 6. Résultats des sérologies hépatite E chez le sanglier. Données de l'enquête 2009-2010

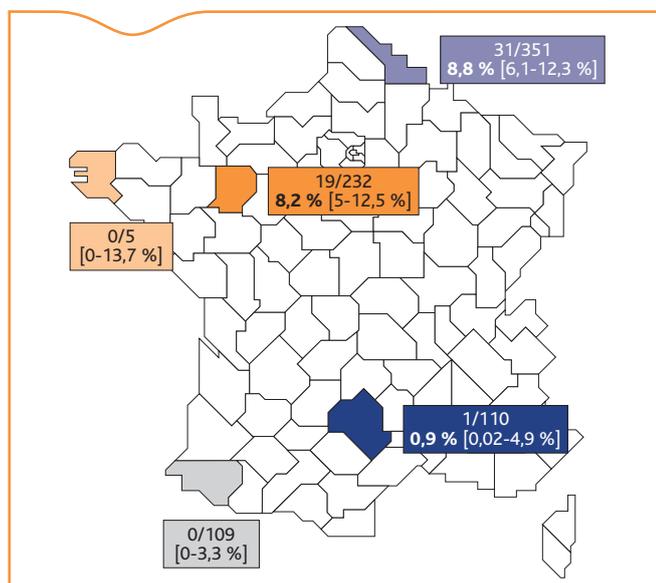


Figure 7. Résultats des sérologies des virus Influenza A chez le sanglier. Données de l'enquête 2009-2010

Brucellose

Les résultats confirment les résultats d'enquête de 2000-2004, à savoir la présence généralisée de *Brucella suis* biovar 2 chez le sanglier sauvage, quels que soient les effectifs considérés ou la structure du paysage (Figure 5).

Notons néanmoins que concernant la maladie d'Aujeszky et la brucellose, les résultats obtenus ici ne sont pas directement comparables à ceux obtenus à l'issue de l'enquête 2000-2004 du fait de différences d'échantillonnage (des différences pouvant être notées d'un massif à l'autre, au sein d'un même département) et parce que la dynamique temporelle de ces infections sur un même massif est très peu documentée.

Hépatite E

Les résultats mettent en évidence une séroprévalence apparente comprise entre 7,2 et 22,7% selon les départements échantillonnés (Figure 6) avec des séroprévalences plus élevées dans les départements du Sud de la France.

Une précédente enquête réalisée sur 88 sangliers prélevés dans le Var avait mis en évidence une séroprévalence de 3,4% [0,7-9,6 %], mais la méthode sérologique utilisée était différente et moins sensible que celle employée dans la présente étude [6].

Virus influenza porcins (VIP)

L'enquête a révélé la présence de sangliers séropositifs vis-à-vis des virus Influenza A en Aveyron, en Ile-et-Vilaine et dans le Nord (Figure 7).

En Ile-et-Vilaine, la moitié des animaux trouvés positifs possèdent des anticorps anti-VIP H1N2 et l'autre moitié des anticorps dirigés contre le VIP H1N1 voire le pH1N1 (virus pandémique H1N1 2009), sans que l'on puisse toutefois discriminer clairement ces lignages en raison de réactions croisées dans le test IHA.

Dans le Nord, les sérums positifs contiennent uniquement des anticorps anti-H1N1.

Il n'a pas été mis en évidence de sérum contenant des anticorps anti-H3N2.

Mise en évidence d'un effet de massif dans le département du Nord

Les séroprévalences de la maladie d'Aujeszky, de la brucellose, de l'hépatite E et des virus influenza sont significativement différentes d'un massif à l'autre. Pour les trois premières maladies, on note un gradient croissant du nord au sud alors que pour les virus influenza, le massif le plus au nord est le plus atteint (Figure 8).

Les populations de sangliers étant connectées entre le massif de Trélon et les Ardennes (Figure 9), où la séroprévalence de la maladie d'Aujeszky et de la brucellose se sont révélées élevées lors de l'enquête 2000-2004 (Figure 1) [2], il est cohérent de retrouver des séroprévalences proches du fait des possibilités de transmission entre les populations des deux massifs. Les populations de sangliers des autres forêts du Nord seraient en revanche plus isolées, ce qui serait moins propice à l'émergence ou à la persistance de ces agents pathogènes.

Les prévalences en hépatite E ne sont pas connues dans les départements voisins du Nord. Étant donné l'existence de ce corridor vert et les tendances observées ici entre chacun des massifs, il est très probable que le virus circule dans les populations de sangliers des Ardennes, avec un taux d'infection comparable à celui du massif de Trélon.

Concernant les VIP, la séroprévalence plus élevée observée dans le massif de Nieppe pourrait s'expliquer par une concentration importante des élevages porcins dans le nord du département. Ce résultat serait en faveur d'une contamination des sangliers à partir des porcs domestiques.

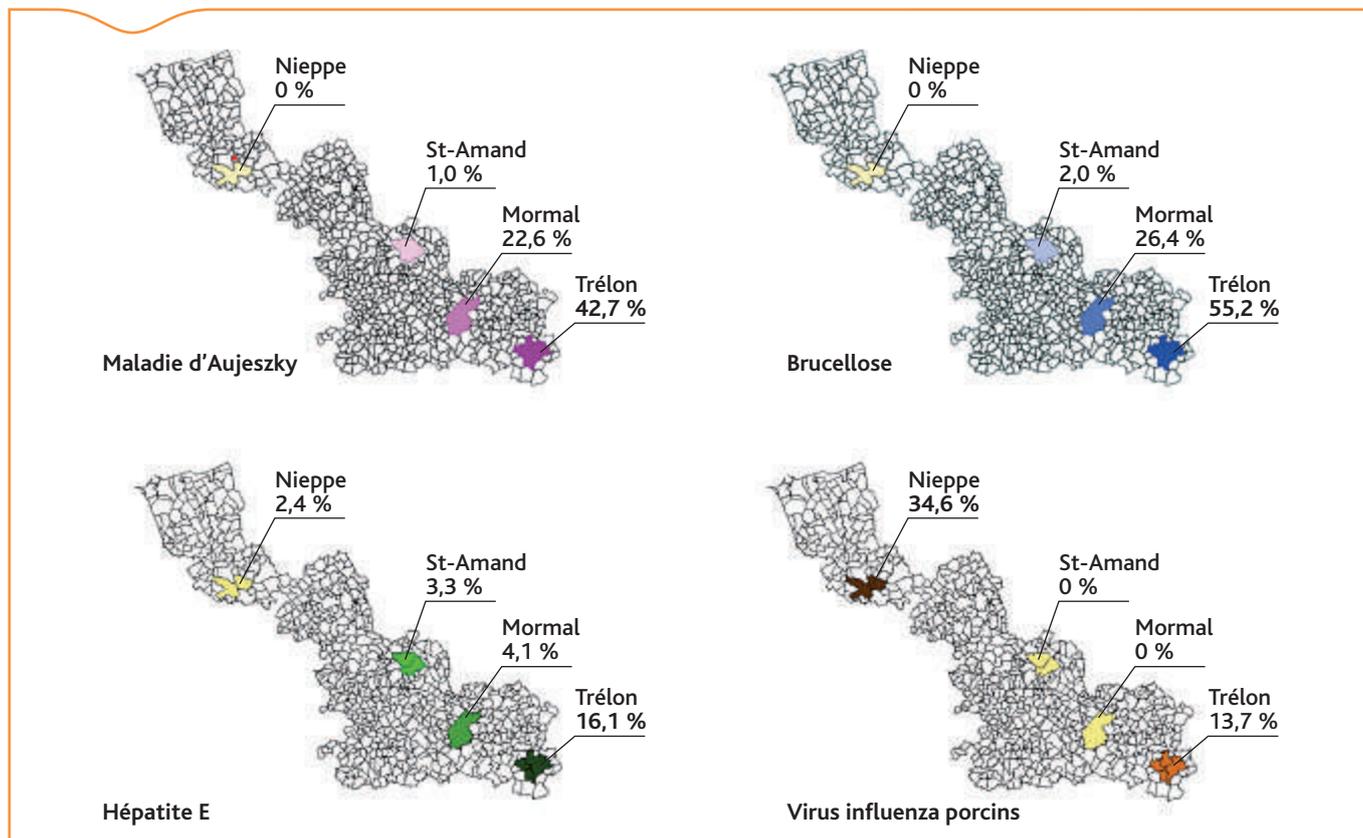


Figure 8. Séroprévalences de la maladie d'Aujeszky, de la brucellose porcine, de l'hépatite E et du virus influenza porcins des sangliers échantillonnés dans les différents massifs du département du Nord

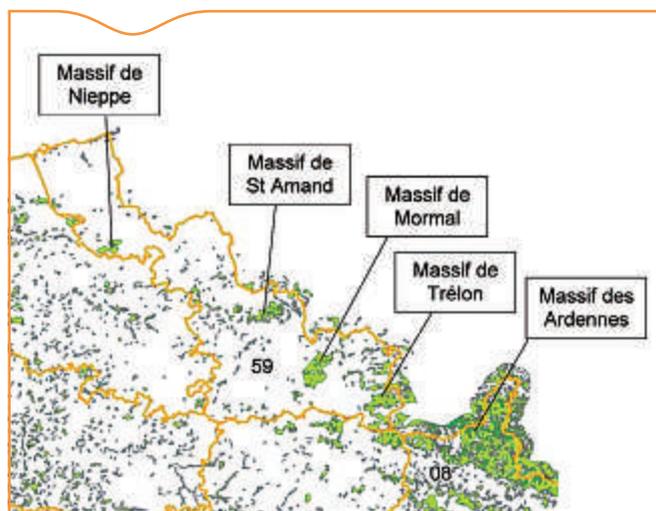


Figure 9. Massifs forestiers des départements des Ardennes (08) et du Nord (59)

Évaluation du risque

Évaluation du risque de transmission aux porcs

Trichinellose

Le règlement CE 2075/2005 ne fixe pas de prévalence parasitaire limite, à ne pas dépasser dans la faune sauvage pour la qualification des zones indemnes de *Trichinella*. En revanche, l'EFSA préconise une prévalence inférieure à 0,1 % comme condition de qualification d'une zone à risque négligeable (condition nécessaire mais non suffisante) [4]. Les résultats obtenus en 2009-2010 à l'issue de la présente enquête et ceux obtenus dans le cadre de la réalisation d'analyses réglementaires dans ces cinq départements qui révèle une prévalence de trichinellose chez le sanglier inférieur à 0,05 %, témoignent d'une situation très favorable. Cependant, l'échantillonnage correspondant aux sangliers prélevés

dans les ateliers de commercialisation (analyses réglementaires) n'est pas représentatif de l'ensemble du territoire ni des populations de sangliers issues des zones de production porcine.

En outre, depuis 2004, 13 porcs plein air ont été trouvés positifs sur près de deux millions testés. Ces porcs provenaient d'une même vallée en Corse où l'hypothèse de la transmission par la faune sauvage ne peut être écartée. En dehors de ces cas, ces résultats attestent de la très faible exposition de cette population « sentinelle » à la présence de *Trichinella* dans l'environnement. Ainsi, bien qu'une circulation à très bas bruit ne puisse être exclue dans la faune sauvage [7], les éléments épidémiologiques tendent à démontrer que le risque de transmission de la trichinellose de la faune sauvage au porc est minime à extrêmement faible. Restent à explorer d'autres facteurs de risque pour les porcs domestiques indépendants de la faune sauvage comme les aliments ou la circulation de *Trichinella* chez les rongeurs commensaux des élevages.

Maladie d'Aujeszky et brucellose porcine

L'enquête confirme la très large circulation de *B. suis* biovar 2 dans les populations françaises de sangliers et la présence du virus de la maladie d'Aujeszky dans trois des départements étudiés. Ces résultats réaffirment le risque auquel sont exposés les porcs plein air par intrusion de sangliers dans les élevages, dès lors que ceux-ci ne sont pas correctement clôturés, comme en témoignent l'apparition régulière de foyers de brucellose porcine dans certains départements et l'apparition récente d'un foyer de maladie d'Aujeszky dans les Pyrénées-Atlantiques en 2010. Le cas index à l'origine de cet épisode était un élevage porcin en plein air dans un autre secteur du département non échantillonné dans la présente enquête. L'origine sauvage de ce foyer est très probable, attestant du risque de transmission que représentent les populations de sangliers sauvages pour les porcs élevés en plein air [8].

Hépatite E et virus influenza porcins

Concernant les virus influenza porcins, les résultats reflètent la situation épidémiologique existante chez les porcs domestiques en

France [9]. En effet, aucun VIP H3N2 n'a été isolé en France depuis 1999 chez les porcs mais les VIP de sous-types H1N2 et H1N1 circulent à des prévalences assez similaires. Une enquête de séroprévalence menée en 2008-2009 à l'échelle de l'hexagone a montré que près de la moitié des élevages porcins français étaient exposés aux virus influenza, que les virus H1N1 circulent sur l'ensemble du territoire mais que les virus H1N2 sévissent plutôt en Bretagne, région où la densité porcine est la plus élevée [10]. En 2010, l'infection de porcins par le virus pandémique A/H1N1 2009 a également été décrite en France, mais la circulation de ce nouveau virus au sein du cheptel n'est pas encore bien documentée [11].

Ces premiers résultats soutiennent donc l'hypothèse de la transmission des VIP à la faune sauvage, les virus circulant chez les sangliers étant antigéniquement proches de ceux qui circulent dans la population porcine avec une association spatiale entre les sous-types retrouvés chez les porcs et chez les sangliers. Toutefois, les résultats de séroprévalence vis-à-vis des virus de sous-type H1N1 n'ont pas permis de distinguer clairement d'éventuels anticorps dirigés contre le virus pandémique parmi ceux dirigés contre le VIP H1N1. Il n'est donc pas possible de conclure sur le portage de ce virus pandémique par les sangliers.

Si le réservoir des virus grippaux porcins est *a priori* le porc domestique, leur passage chez le sanglier peut présenter un risque de création d'un réservoir sauvage qui pourrait être difficile à maîtriser et pourrait menacer l'état sanitaire des porcins domestiques. Le sanglier pourrait en outre jouer un rôle dans l'écologie des virus Influenza A, et servir, comme le porc, à la faveur de co-infections, d'hôte intermédiaire pour la génération de nouveaux virus réassortants.

Concernant l'hépatite E, les prévalences mises en évidence apparaissent plus faibles que celles observées en élevage porcine : une enquête nationale fait état de 65 % d'élevages séropositifs et à l'échelle individuelle, une prévalence de 31 %. Les taux de prévalence au sein de chaque élevage variant de 5 à 90 % [12].

Évaluation du risque zoonotique

La trichinellose et l'hépatite E se transmettent à l'Homme par voie alimentaire à partir, respectivement, de viande ou de foie insuffisamment cuits : les larves infestantes de *Trichinella* se localisent dans le muscle tandis que le virus de l'hépatite E a un tropisme pour le foie. De plus, l'hépatite E se transmet par contact direct avec des animaux ou de la viande, infectés.

Concernant la trichinellose, la prévalence mise en évidence à l'issue de cette enquête, sans exclure la circulation du parasite, témoigne d'un risque extrêmement faible pour les consommateurs dans les départements investigués. En outre, depuis 2000, sur les 281005 sangliers testés dans le cadre réglementaire, six ont été trouvés positifs par la méthode de digestion pepsique (données LNR Anses et EFSA). La prévalence apparente est donc sur cette période de 0,002 % [IC 95 % : 0,0008- 0,004 %]. Néanmoins, l'infestation par *Trichinella* étant *a priori* très localisée et l'échantillonnage n'étant pas représentatif de l'ensemble du territoire (une majorité des analyses concernent deux ou trois départements dans le nord-est de la France), ce chiffre ne saurait être utilisé pour estimer le risque zoonotique à l'échelle de la France. En atteste le nombre de cas autochtones de trichinellose humaine suite à la consommation de viande de sanglier n'ayant pas subi les contrôles officiels : six foyers ont été recensés depuis 2000. Ces cas sont essentiellement survenus dans le Sud de la France surtout dans des régions montagneuses où la prévalence de *Trichinella* semble plus élevée et où les pratiques à risque semblent également plus fréquentes chez les consommateurs (viande consommée en méchoui ou en barbecue insuffisamment cuite à cœur) (Figure 10). L'information et la sensibilisation des chasseurs sur les moyens de maîtriser le risque *Trichinella* par l'analyse de la carcasse ou par une cuisson à cœur doivent donc être maintenues et régulièrement rappelées.

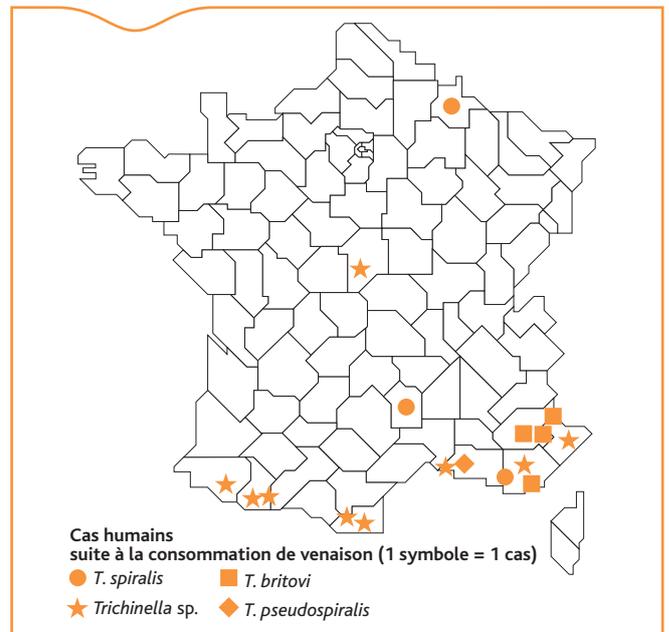


Figure 10. Cas humains autochtones de trichinellose suite à la consommation de viande de sanglier, recensés depuis 1950. Source : Centre national de référence des *Trichinella*

Concernant l'hépatite E, il semble que le virus circule dans les populations des sangliers, avec un gradient croissant du nord au sud (à confirmer). Ceci pose la question de l'exposition au risque des chasseurs consommateurs de foie de sanglier. La consommation de saucisse de foie cru de porc (et notamment de figatelles) a été identifiée comme source possible de contamination [13]. Des cas groupés ont été observés essentiellement dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et en Corse où les pratiques culinaires spécifiques exposeraient plus particulièrement les consommateurs au risque d'hépatite E [6]. Les résultats de notre enquête semblent montrer que le sud de la France, tout du moins les départements étudiés ici, est plus touché que le Nord, ce qui pourrait encore augmenter le risque d'exposition par consommation de sanglier cru ou peu cuit, selon des habitudes culinaires locales. La transmission pouvant également se faire par contact direct avec les animaux ou la viande contaminés, il faut rappeler aux chasseurs que face aux risques zoonotiques liés à la faune sauvage, il est important d'éviscérer et de préparer le gibier avec des gants et de bien faire cuire la viande et les abats.

La transmission des virus influenza porcins à l'Homme se fait par voie respiratoire. Elle concerne plus particulièrement des populations dites « à risque » (éleveurs, vétérinaires en contact avec les porcs). L'infection est généralement sans conséquence notable ou bien apparentée à une grippe saisonnière, même si quelques cas graves, voire mortels, ont été recensés. Les virus transmis n'acquiescent généralement pas la capacité de transmission interhumaine. Le portage de VIP par les sangliers sauvages semble donc représenter un risque zoonotique faible pour l'Homme.

L'Homme immunocompétent est en revanche très peu sensible à *B. suis* biovar 2 qui infecte le sanglier et n'est pas réceptif à la maladie d'Aujeszky.

Tous ces résultats sérologiques ne reposant pas sur des analyses directes des antigènes, ils ne peuvent donc pas s'enrichir d'une comparaison directe des souches sauvages et domestiques qui augmenterait la pertinence de la discussion.

Conclusion

Cette enquête a permis d'étudier le risque d'inter-transmission de la trichinellose de la faune sauvage au porc en zone de production porcine. Les résultats suggèrent que ce risque est minime à extrêmement faible en France. Pour autant, concernant le risque

zoonotique, ni les résultats de cette enquête ni la surveillance obligatoire ne permettent de dresser une carte de risque de la trichinellose dans l'ensemble des régions françaises, en particulier les zones d'altitude où des cas humains sont régulièrement observés suite à la consommation de venaison. Pour ce faire, une enquête étendue, une meilleure connaissance de l'épidémiologie de *Trichinella* sp. au sein de la faune sauvage et le développement de l'outil sérologique mesurant l'exposition des animaux au parasite sont recommandés. En effet, même si la digestion pepsique reste le test de référence pour apprécier la dangerosité d'une viande pour l'Homme vis-à-vis de *Trichinella*, le développement d'un outil sérologique serait indiqué pour mieux appréhender la circulation du parasite dans la faune, permettant ainsi d'estimer le risque de transmission à l'Homme et aux porcs. Par ailleurs, l'application de la réglementation (dépistage obligatoire) et des consignes de bonnes pratiques (cuisson à cœur) restent de rigueur sur l'ensemble du territoire français.

Cette enquête a été l'occasion d'apprécier la circulation d'autres agents pathogènes du sanglier présentant un danger pour le porc et l'Homme. Les résultats confirment le risque de transmission de *B. suis* biovar 2 et de la maladie d'Aujeszky du sanglier au porc plein air, et la nécessité d'installer des clôtures efficaces en élevage plein air partout en France. L'interprétation des résultats concernant l'hépatite E et les virus influenza reste préliminaire en l'absence de données historiques et du fait des difficultés méthodologiques concernant l'identification des virus influenza à partir de données sérologiques.

Pour mieux apprécier le risque de transmission de maladies entre sanglier et porc, il serait intéressant d'étudier la corrélation de situations porcines et sauvages dans différents cas de figure, ainsi que de suivre sur des territoires choisis la dynamique temporelle de ces maladies chez le sanglier sur le long terme.



Remerciements

Nous tenons à remercier les chasseurs et piégeurs ayant réalisé les prélèvements, les directions départementales en charge de la protection des populations des départements 12, 29, 35, 59 et 64; les laboratoires départementaux des départements 12, 15, 29, 35, 59, 64 et 81, les fédérations départementales des chasseurs des départements 12, 29, 35, 59 et 64 et les cabinets vétérinaires ayant fait office de « lieux de dépôt » des prélèvements. Les auteurs remercient également N. Barbier du LNR Virus Influenza porcins, A. Drapeau et Y. Corde du LNR des Brucelloses animales et T. Merbah de l'UMR 1161 Virologie pour leur contribution technique. Les analyses hépatite E ont été réalisées grâce au programme ANR-07-PNRA-008_HEVZOONEPI.

Références bibliographiques

- [1] Hars J., Rossi S. (2010) Évaluation des risques sanitaires liés à l'augmentation des effectifs de sangliers en France. Revue ONCFS Faune sauvage. 288: 23-28.
- [2] Rossi S., Hars J., Garin-Bastuji B., Le Potier M.-F., Boireau P., Aubry P., Hattenberger A.-M., Louguet Y., Toma B., Boué F. (2008) Résultats de l'enquête nationale sérologique menée chez le sanglier sauvage (2000-2004). Bulletin épidémiologique Afssa/DGAL. n° 29: 5-7.
- [3] Payne A., Rossi S., Lacour S.-A., Dunoyer C., Garin-Bastuji B., Hars J., (2010) Programme de surveillance de la trichinellose (de la maladie d'Aujeszky et de la brucellose) mené dans la faune sauvage en 2009-2010 Rapport final. ONCFS/DGAL. 51pp.
- [4] EFSA (2009) Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of *Trichinella* in animals and foodstuffs in the European Union. Scientific report 47 pp. Disponible sur www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/35e.htm, consulté le 10/02/2010.
- [5] Oivanen L. (2005) Endemic trichinellosis experimental and epidemiological studies. PhD, Helsinki University, 82pp.
- [6] Afssa (2009a) Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif au virus de l'hépatite E: méthodes de détection, risque pour le consommateur et risques liés à l'environnement. Saisine n° 2009-SA-0146.
- [7] Richomme C., Lacour S.-A., Ducrot C., Gilot-Fromont E., Casabianca F., Maestrini O., Vallée I., Grasset A., van der Giessen J., Boireau P. (2010) Epidemiological survey of trichinellosis in wild boar (*Sus scrofa*) and fox (*Vulpes vulpes*) in a French insular region, Corsica. Vet Parasitol 172: 150-154.
- [8] Rose N., Bronner A., Pol F., Le Potier M.-F. (2010). Point sur la situation épidémiologique de la maladie d'Aujeszky en Aquitaine en 2010: premières investigations suite à la découverte d'un foyer. Bulletin épidémiologique Afssa/DGAL n° 41:16-17.
- [9] Kuntz-Simon G. (2009) Grippe porcine et virus influenza porcins. Bulletin. épidémiologique. Afssa-DGAL, N°33: 1-6.
- [10] Hervé S., Gorin S., Quéguiner S., Barbier N., Eveno E., Dorenlor V., Eono F., Madec F., Rose N., Simon G. (2011) Estimation de la séroprévalence des virus influenza chez le porc charcutier en France en 2008-2009. Journées de la recherche porcine, 43: 281-282.
- [11] Simon G., Hervé S., Saulnier A., Quéguiner S., Gorin S., Barbier N., Deblanc C., Pol F., Eveno E., Rose N., Madec F. (2011) Virus influenza pandémique H1N1 2009 chez le porc: problématique, développement de nouveaux outils de diagnostic et bilan de la surveillance menée en France en 2009-2010. Journées de la recherche porcine, 43: 273-280.
- [12] Rose N., Lunazzi A., Dorenlor V., Merbah T., Eono F., Eloit M., Madec F., Pavio N. Importance of domestic pigs as a reservoir for autochthonous hepatitis E in France. Soumis pour publication.
- [13] Afssa (2009b) Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif au risque de contamination humaine par le virus de l'hépatite E (VHE) après ingestion de figatelles (saucisses crues à base de foie de porc). Saisine n° 2009-SA-0101.

Brève. Deux cas humains familiaux de trichinellose liés à la consommation de sanglier de chasse Short item. Two family members infected by trichinosis after eating hunted wild boar

Isabelle Vallée (isabelle.vallee@anses.fr), Sandrine Lacour, Pascal Boireau
Anses, UMR BIPAR, LNR « Parasites transmis par les aliments », Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort

Mots clés : *Trichinella*, sangliers, zoonose / **Keywords :** *Trichinella*, boar, zoonosis

En février 2011, deux cas de trichinellose humaine ont été identifiés par un laboratoire d'analyse médicale. L'alerte a été donnée par ce laboratoire auprès des laboratoires d'analyses médicales de la région, de l'InVS et du CNR des *Trichinella* (Hôpital Cochin). Le LNR « Parasites transmis par les aliments » (Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, Anses) a reçu l'information par le CNR.

Les cas identifiés concernaient un couple de 82 et 76 ans, habitant dans le Gard et ayant pour habitude de consommer de la viande de sanglier chassé. Ces personnes privilégient une consommation de viande peu cuite. Le mari a présenté des douleurs abdominales suivies d'une fièvre élevée accompagnée de myalgies, avec une éosinophilie à 40 %. L'épouse a présenté une symptomatologie similaire mais atténuée. Les examens de laboratoire ont confirmé la suspicion clinique de trichinellose et les deux personnes ont eu une régression de leurs symptômes avec un traitement antiparasitaire. Il n'y a pas eu de cas similaire dans l'entourage de ces deux personnes et aucun autre cas n'a été signalé dans la région.

La viande n'étant plus disponible, et en l'absence de prélèvement possible sur un carnivore domestique, le LNR n'a pas pu identifier l'espèce de trichine ni évaluer la charge parasitaire de la carcasse. Le CNR a conclu qu'il s'agissait probablement d'un épisode limité. Cependant, cet épisode étant survenu en pleine épidémie de grippe, il est possible que d'authentiques cas de trichinellose soient passés inaperçus.

Contexte épidémiologique

D'une manière générale, les mammifères monogastriques carnivores sont sensibles à l'infection par *Trichinella*. Ce parasite zoonotique est de répartition mondiale et circule en France dans la faune sauvage principalement dans les régions du Sud (Provence-Alpes-Côte d'Azur, Corse et Midi-Pyrénées). L'espèce *T. britovi* est en France l'espèce la plus fréquemment retrouvée chez le sanglier et le renard. Nous observons en France régulièrement des foyers de trichinellose humaine liés à la consommation de viande de sangliers de chasse, non contrôlée par la méthode officielle [1].

Contexte réglementaire

Trichinella est un nématode présent dans les muscles et dont l'identification nécessite une digestion artificielle d'un prélèvement musculaire. Cette digestion s'effectue selon une méthode décrite dans le règlement CE 2075/2005 [2] et est effectuée en France par un réseau de laboratoires agréés par la DGAL et dont l'animation est assurée par le LNR « Parasites transmis par les aliments » depuis 1998.

D'un point de vue réglementaire, toute espèce animale sensible destinée à la consommation humaine doit faire l'objet d'un diagnostic officiel. Ainsi en France, toute carcasse de sanglier, cédée à un atelier de traitement fait l'objet d'un contrôle de la trichinellose par un laboratoire agréé. Si la carcasse (ou une partie) est remise par le chasseur à un restaurateur ou un détaillant, il est alors de sa responsabilité de faire effectuer l'analyse par un laboratoire agréé. Dans le cas d'une consommation personnelle, l'analyse n'est pas obligatoire mais est très fortement conseillée, sachant que les fédérations de chasse sensibilisent régulièrement les chasseurs vis-à-vis du risque encouru. L'ensemble des cas de trichinellose humaine recensés depuis 11 années liés à la consommation de sangliers survient en France uniquement avec des carcasses qui n'ont pas fait l'objet d'un diagnostic de la trichinellose par les laboratoires agréés.

Références bibliographiques

- [1] De Bruyne A., Ancelle T., Vallée I., Boireau P., Dupouy-Camet J. Human trichinellosis acquired from wild boar meat: a continuing parasitic risk in France. *Eurosurveillance* 2006, 11 (6): 4-5.
- [2] Règlement (CE) N°2075/2005 de la Commission du 5/12/2005 fixant les règles spécifiques applicables aux contrôles officiels concernant la présence de *Trichinella* dans les viandes. *Journal officiel de l'Union européenne*, L338/60-82, 22/12/05.

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est désormais consultable sur Internet.

Retrouvez tous les numéros
du Bulletin épidémiologique sur :
www.anses.fr
www.agriculture.gouv.fr



Brève. Seconde exposition humaine vis-à-vis de larves du trématode *Alaria* sp. en France Short item. Second human case of infection by *Alaria* sp. trematode larvae in France

Isabelle Vallée (1) (isabelle.vallee@anses.fr), Sandrine Lacour (1), Pascal Boireau (1), Régine Martin Schaller (2)

(1) Anses, LNR « Parasites transmis par les aliments », Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort.

(2) Direction départementale de la protection des populations du Bas-Rhin

Mots clés : *Alaria* sp., sangliers, émergence / **Keywords:** *Alaria* sp., boar, emergence

Quatre personnes ont consommé de la viande de sanglier suspectée d'être contaminée par le parasite trématode *Alaria alata* début 2011 dans le département du Bas-Rhin. Une larve du trématode *Alaria* sp. a en effet été identifiée sur un lot de 16 carcasses de sangliers lors de l'analyse réglementaire pour le diagnostic de la trichinellose. L'analyse a été effectuée début mars 2011 sur des prélèvements musculaires dont certains provenaient d'animaux chassés en janvier dernier et conservés congelés (congélation domestique supérieure à 10 jours). Ces sangliers provenaient de onze chasses différentes et il n'a pas été possible d'identifier individuellement la carcasse incriminée.

Dans le doute d'une exposition de ces quatre personnes au parasite, un traitement préventif leur a été proposé au CHU de Strasbourg selon les recommandations faites par le CNR *Trichinella* (Hôpital Cochin). D'autres personnes ont consommé de la viande issue de ce lot, mais le risque de contamination a été jugé négligeable car la viande était cuite à cœur.

Épidémiologie d'*Alaria alata*

Alaria alata est un trématode dont le cycle parasitaire est complexe et comprend plusieurs hôtes. Les hôtes définitifs qui hébergent le stade adulte du parasite appartiennent à la famille des Canidae, principalement les renards, loups et chiens. Ces adultes produisent des œufs qui une fois expulsés par l'hôte définitif dans l'environnement se développent sous forme de miracidium infectant un premier hôte intermédiaire (mollusque d'eau douce) où ils se développent sous forme de furcocercaire. Ce stade larvaire va alors infecter un second hôte intermédiaire (amphibien) et se développer en mésocercaire. C'est ce dernier stade parasitaire qui infecte soit l'hôte définitif (continuité du cycle), soit un hôte surnuméraire dit paraténique, chez lequel la larve ne peut se développer en adulte et se comporte alors en larva migrants.

Les mésocercaires d'*A. alata* sont régulièrement identifiés sur les venaisons de sanglier en France depuis 2007, les premiers cas datant de 2004. L'émergence apparente de ce parasite chez le sanglier semble pour l'instant localisée principalement dans le nord-est du territoire (Champagne-Ardenne, Lorraine, Alsace). Des pays comme l'Allemagne et la Croatie constatent actuellement la même émergence sur leur territoire dans les populations de sangliers.

Cette contamination représente la seconde exposition humaine en France en deux ans, la précédente ayant eu lieu en janvier 2010 dans le même département.

Risque zoonotique lors de consommation de viande infestée ?

Le caractère zoonotique de l'espèce *A. alata* n'a pas été démontré, mais des cas de contaminations humaines par des espèces d'*Alaria* d'Amérique du Nord ont été rapportés suite à la consommation de cuisses de grenouilles infectées et consommées peu cuites. Les personnes contaminées ont pour certaines développées des troubles oculaires, respiratoires ou cutanés, mais dans un cas, une personne a développé un syndrome de coagulation intra-vasculaire disséminée provoquant son décès. Le risque concernant une contamination par *A. alata* reste difficile à évaluer, et dans ce contexte il convient d'observer des mesures sanitaires visant la protection du consommateur.

Mesures sanitaires préventives mises en place

La recherche obligatoire de larves de *Trichinella* sur les carcasses de sangliers dans le cadre du contrôle officiel (passage en atelier de traitement, remise à un commerce de détail local) permet de révéler la présence du parasite *Alaria* sp. puisqu'il se localise également dans les muscles. La méthode de digestion artificielle de première intention pour *Trichinella* permet de fait l'isolement d'*Alaria* sp. Néanmoins, la taille d'*A. alata* étant supérieure à celle de *Trichinella*, les laboratoires agréés ayant identifié en première intention ce trématode doivent effectuer les analyses de seconde intention selon un protocole modifié proposé par le LNR « Parasites transmis par les aliments ». Lorsqu'une carcasse positive est identifiée, celle-ci est détruite. En revanche, lorsque l'identification individuelle n'est pas possible, le lot suspect doit être assaini par un traitement thermique : soit par congélation (-22 °C à cœur pendant au moins 10 jours), soit par la chaleur (71 °C à cœur, viande grise).

Des travaux dans le cadre d'une thèse sont en cours au Laboratoire de santé animale (Anses, Maisons-Alfort) pour caractériser les espèces hôtes intermédiaires du cycle parasitaire et notamment les mollusques afin de mieux comprendre les facteurs pouvant expliquer cette émergence dans les populations de sangliers.

Brève. Toxi-infection alimentaire collective à *Salmonella* Enteritidis suite à la consommation de viande de sanglier

Short item. *Collective food poisoning by Salmonella Enteritidis following consumption of wild boar meat*

Francisco Nogareda (1,7) (f.nogareda@invs.sante.fr), Pierre Beaufilets (2), Simon Le Hello (3), Anne-Lise Thos (2), Gérard Roy (2), Maxime Robert (4), Emmanuelle Thill (5), Frédérique Moury (6), François-Xavier Weill (3), Nathalie Jourdan (7)

- (1) EPIET, European Programme for Intervention Epidemiology Training. ECDC, Stockholm, Suède
- (2) Cellule de l'InVS en région (CIRE) Centre, Orléans
- (3) Institut Pasteur. Centre national de référence (CNR) des *Salmonella*, Paris
- (4) Délégation territoriale de l'Indre-et-Loire, Agence régionale de santé (ARS) Centre, Tours
- (5) Direction départementale de la protection des populations (DDPP) de l'Indre-et-Loire, Tours
- (6) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort
- (7) Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice

Mots clés : toxi-infection alimentaire collective (TIAC), *Salmonella* Enteritidis, sanglier

Keywords: *Collective food poisoning, Salmonella enteritidis, wild boar*

En mars 2011, le Centre national de référence (CNR) des *Salmonella* a signalé la réception de 14 isollements de *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis (*S. Enteritidis*) provenant de l'Indre-et-Loire entre le 28 février et le 9 mars 2011. Au même moment, une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *S. Enteritidis* liée à un repas de chasseurs le 26 février dans ce même département est signalée aux autorités par le biais de la déclaration obligatoire. Ces deux signalements pouvant correspondre au même événement, une investigation épidémiologique a été mise en œuvre afin d'identifier l'origine et la source de l'épidémie et de proposer d'éventuelles mesures de contrôle et de prévention adaptées.

Méthode

Une étude de cohorte rétrospective a été menée à partir de la liste des 75 participants au repas du 26 février. Ils ont été interrogés par téléphone par les épidémiologistes de la CIRE et de l'InVS sur la survenue de symptômes et sur leur consommation d'aliments servis lors du repas : terrine de foie de sanglier, méchoui de sangliers (deux bêtes), rillons de porc, flageolets et lardons, boudin, camembert et galettes « broyés du Poitou ».

Par ailleurs, les inspecteurs de la DDPP ont contacté le responsable de la chasse afin d'établir l'origine des matières premières ayant servi à l'élaboration de ce repas de chasse, mais aussi retracer les conditions de préparation.

Les définitions de cas retenues étaient :

- cas probable : personne avec diarrhée ou vomissement associé ou non à une fièvre ou des douleurs abdominales ayant débuté entre le 27 février et le 3 mars 2011 et ayant participé au repas du 26 février 2011 ou ayant consommé des restes de ce repas ;
- cas confirmé : cas probable avec une confirmation microbiologique de *S. Enteritidis* sur les coprocultures par un laboratoire d'analyses médicales ou par le CNR des *Salmonella*.

Résultats

Cinquante personnes ont pu être interrogées (participation de 67 %), parmi lesquelles 36 cas (12 cas confirmés et 24 cas probables) ont été identifiés (taux d'attaque⁽¹⁾ 72 %). Au total, 92 % des cas étaient de sexe masculin, et l'âge médian était de 47 ans (8-84). Tous les cas ont eu de la diarrhée, 75 % de la fièvre et 56 % des douleurs abdominales. Seulement un cas a eu des vomissements. La durée médiane des symptômes était de 4 jours (1-7) et l'incubation médiane était de 1 jour (1-4).

L'analyse des consommations alimentaires (Tableau 1) a montré que les taux d'attaques⁽¹⁾ étaient similaires chez les consommateurs et non-consommateurs de chacun des aliments servis, à l'exception du sanglier, pour lequel le taux d'attaque a été de 72 % chez les exposés tandis que parmi les non-exposés personne n'avait été malade. Le sanglier était le seul aliment consommé par l'ensemble des cas. Par ailleurs, 13 des 14 non-malades avaient aussi consommé du sanglier.

Parmi les cinquante personnes interrogées, cinq n'avaient pas participé au repas du 26 février mais avaient mangé des restes le lendemain. Parmi eux, quatre ont été malades : trois cas n'ont mangé que du sanglier, et un du sanglier et des flageolets et lardons. Par ailleurs, la personne non-malade n'avait consommé que du boudin.

Concernant les investigations vétérinaires, le plat principal composé de sanglier rôti à la broche provenait de l'abattage en action de chasse à l'automne précédent. D'après les déclarations du responsable, aucun reste alimentaire n'était disponible pour réaliser une analyse microbiologique.

Discussion

Les résultats de cette investigation indiquent que cette TIAC à *S. Enteritidis* était liée à la consommation de viande de sanglier contaminée. Le taux d'attaque élevé et l'absence de produits typiquement liés à la présence de *S. Enteritidis* lors du repas (aliments à base d'œufs ou de volaille crus ou peu cuits) rendent peu plausible l'hypothèse d'une contamination croisée à partir d'autres aliments.

La fréquence élevée de consommation de sanglier parmi les non-malades pourrait être expliquée par un ou plusieurs facteurs comme une contamination d'un seul des deux sangliers servis, par une contamination hétérogène avec concentration bactérienne au niveau de certains morceaux des deux sangliers, ou par un degré de cuisson différente entre les deux sangliers.

Plusieurs facteurs favorisant une contamination des sangliers par *S. Enteritidis* et sa multiplication ont pu être mis en évidence :

- **maîtrise de l'éviscération :** les sangliers abattus en action de chasse ne sont éviscérés qu'en fin de journée de chasse. Cela a pour conséquence une possible diffusion des bactéries d'origine digestive dans les muscles et les organes profonds. Par ailleurs, cette chasse ne dispose pas de local spécifique et adapté pour réaliser le dépouillement et l'éviscération des sangliers dans de bonnes conditions d'hygiène ;
- **maîtrise du refroidissement :** les carcasses de sangliers ont été refroidies dans un local frais et non dans une chambre froide. La diminution lente de la température à cœur de la carcasse est de nature à permettre la multiplication bactérienne ;
- **maîtrise de la transformation :** la décongélation des carcasses de sangliers a été réalisée à température ambiante, et a débuté 48 h avant la cuisson. Par ailleurs, la cuisson de type méchoui de ces sangliers pourrait avoir aussi augmenté le risque de ne pas être une « cuisson à cœur » et donc d'avoir empêché un assainissement au cœur de la viande.

(1) Taux d'attaque : nombre de malades parmi les personnes exposées à un aliment, c'est à dire ayant consommé un aliment donné.

S. Enteritidis est le plus souvent associée à la consommation de volailles et d'œufs. Ce sérotype est très rarement trouvé dans la viande de sanglier en France: une seule souche avec ce sérotype a été isolée à partir de sanglier par le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses depuis 2006. Cependant, une étude réalisée en Suisse montre que ce sérotype peut être retrouvé fréquemment chez les sangliers [1].

Cette investigation a pu confirmer que la consommation de viande de sanglier peut être une source potentielle d'infection à *S. Enteritidis*. Par ailleurs, la déclaration de cette TIAC a permis de rappeler aux chasseurs l'obligation de déclaration des centres de collecte de gibier, et l'importance de la formation aux bonnes pratiques de l'éviscération, de la transformation et de la conservation des sangliers.

Tableau 1. Analyse des consommations alimentaires

Aliments	Exposés			Non exposés			RR	IC 95%	p
	Total	Cas	Taux d'attaque	Total	Cas	Taux d'attaque			
Terrine	42	30	71,4	6	4	66,7	1,07	[0,59-1,95]	0,81
Rillons	9	3	33,3	39	31	79,5	0,42	[0,16-1,07]	0,006
Boudin	37	24	64,9	11	10	90,9	0,71	[0,53-0,97]	0,095
Sanglier*	47	34	72,3	1	0	0,0	.	[-.]	0,115
Flageolets lardons	40	27	67,5	5	4	80,0	0,84	[0,52-1,37]	0,569
Camembert	37	25	67,6	7	6	85,7	0,79	[0,54-1,15]	0,335
Broyés de Poitou	33	23	69,7	15	11	73,3	0,95	[0,65-1,39]	0,797

* RR incalculable car aucun malade parmi les non-exposés.

Référence bibliographique

[1] Wild boars as an important reservoir for foodborne pathogens. Wacheck S, Fredriksson-Ahomaa M, König M, Stolle A, Stephan R. Foodborne pathogens and disease. Vol 7, 3. 2010.

Encadré. Rapport de l'Union européenne sur les tendances et les sources des zoonoses et des toxi-infections alimentaires en 2009

Box. *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009*

Mots clés: zoonoses, Union européenne, toxi-infection alimentaires

Keywords: zoonoses, European Union, foodborne disease

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA - European Food Safety Authority) a publié le 23 mars dernier le rapport communautaire sur les zoonoses et les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) pour l'année 2009.

Le rapport dans son intégralité est sur le site de l'EFSA: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/zoonoses110322.htm>

Ce rapport présente les données (humaines et animales) issues de 31 pays (dont 27 États membres) pour les huit zoonoses de liste A (c'est-à-dire à surveillance obligatoire) de la directive (CE) N°2003-99: salmonellose, campylobactériose, VTEC, trichinellose, listériose, échinococcose alvéolaire et hydatidose, brucellose et tuberculose; ainsi quelques maladies de la liste B (surveillance selon le contexte épidémiologique): fièvre Q, toxoplasmose, cysticercose, yersiniose, rage. Ces données concernent tous les maillons de la chaîne alimentaire et toutes les causes de TIAC.

Au niveau européen, le nombre de cas de salmonelloses humaines continue à diminuer et cela pour la cinquième année consécutive. Ces résultats sont certainement imputables à la réussite des programmes de lutte au sein de la filière volaille.

L'augmentation du nombre de notification des campylobactérioses humaines en fait la première cause de zoonose alimentaire en Europe.

Surveillance active de la **résistance aux antibiotiques** des **Salmonella** isolées de la filière « poulet de chair » à différentes étapes de la chaîne alimentaire (données 2008-2009)

Corinne Danan (1) (corinne.danan@agriculture.gouv.fr), Sophie Granier (1), Marylène Bohnert (2), Christine Piquet (1), Françoise Lalande (2), Sylvine Fremy (1), Chemaly Marianne (2), Julien Santolini (3), Laurence Giuliani (3), Alexandre Blanc-Gonnet (4), Pascal Sanders (5), Anne Brisabois (1)

(1) Anses, LNR associé pour les *Salmonella* et l'antibiorésistance, Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort

(2) Anses, LNR *Salmonella*, Laboratoire de Ploufragan - Plouzané

(3) DGAL, Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires, Paris

(4) DGAL, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris

(5) Anses, Laboratoire de Fougères

Résumé

Les salmonelles sont une des principales causes de zoonoses bactériennes d'origine alimentaire. La filière volaille est considérée comme une source de contamination humaine, *via* des aliments mal ou peu cuits. De plus, de nombreux arguments attestent de la diffusion de salmonelles résistantes aux antibiotiques, de l'animal à l'Homme. Dans ce contexte, une surveillance harmonisée à l'échelle européenne de la résistance aux antibiotiques des salmonelles d'origine animale a été définie par la directive 2003/99/CE. En France, cette surveillance repose sur les programmes de contrôles en élevage et sur les plans de surveillance des matrices alimentaires organisés et pilotés par les autorités de contrôle. D'un point de vue organisationnel, la centralisation des souches vers le laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort de l'Anses est rendue possible grâce à la performance du réseau constitué par le LNR *Salmonella*, les laboratoires d'analyse agréés et l'équipe du réseau *Salmonella*. D'un point de vue analytique, la méthode recommandée pour l'harmonisation des résultats permet une standardisation optimale des données et une comparaison sur plusieurs années. Cette étude rend compte des résultats obtenus pour la filière *Gallus Gallus* à l'étape de production « poulet de chair » sur la période 2008-2009.

Mots clés

Salmonella, antibiorésistance, surveillance, poulet de chair, élevage, aliment

Abstract

Active monitoring of the antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from broiler chickens at different stages of the food production chain (2008-2009 data)
*Salmonellae are a cause of foodborne bacterial zoonoses. Chicken production is considered a source of human contamination through badly-cooked or undercooked food. Furthermore, numerous proofs exist of the spread of antimicrobial-resistant salmonellae from animals to humans. European directive 2003/99/EC therefore set the framework for a Europe-wide surveillance programme on the antimicrobial resistance of salmonella of animal origin. In France, surveillance relies on farm inspections and the food matrix monitoring programmes organized and run by control authorities. From an organizational viewpoint, the efficiency of the network comprising the Salmonella National Reference Laboratory, certified analysis laboratories and the Salmonella network enables strains to be centralized in the Anses Laboratory for Food Safety. From an analytical viewpoint, the method recommended for harmonizing results fosters optimal data standardization and comparisons over several years. This study describes the findings for *Gallus gallus* production in broiler chickens from 2008 to 2009.*

Keywords

Salmonella, antimicrobial resistance, monitoring, broiler chicken, farm, feed

Objectifs du dispositif de surveillance

Les salmonelles sont une des principales causes de zoonoses bactériennes d'origine alimentaire. La filière volaille est considérée comme une des sources principales de la contamination humaine (rapport Efsa, 2011), *via* des denrées alimentaires mal ou peu cuites. Naturellement sensibles aux antibiotiques, les salmonelles peuvent acquérir des résistances qu'il est possible d'évaluer par une approche phénotypique, en particulier par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de multiples familles d'antibiotiques.

Le fait que les bactéries isolées chez les animaux et chez l'Homme partagent les mêmes mécanismes de résistance constitue un argument extrêmement solide de l'absence d'étanchéité entre le monde animal et la population humaine. De plus, de nombreux arguments attestent de la réalité de la diffusion de salmonelles résistantes aux antibiotiques, de l'animal à l'Homme. Par ailleurs, plusieurs travaux suggèrent que la résistance des salmonelles accroît la morbidité et la mortalité chez l'Homme (Helms *et al.* 2002; Molbak, 2005).

La surveillance de la résistance aux antibiotiques des salmonelles d'origine animale, organisée de manière continue et comparable à l'échelle européenne, a été définie par la directive 2003/99/CE et le règlement (CE) N°2160/2003. Cette directive demande aux États membres de surveiller la résistance aux antibiotiques en particulier

des salmonelles et des *Campylobacter* isolés des animaux producteurs de denrées alimentaires et des aliments. Cette surveillance doit s'appuyer sur des programmes mis en œuvre dans les États. Son objectif est d'obtenir des données représentatives de la contamination par *Salmonella* à différents stades de la chaîne alimentaire. La surveillance en élevage est décrite précisément par la réglementation et s'inscrit dans le programme de contrôle des salmonelles harmonisé à l'échelle européenne. Celle des aliments s'est appuyée, depuis 2008, sur les plans de surveillance et de contrôle organisés et pilotés par les autorités de contrôle; les analyses des souches alimentaires ont été considérées comme partie intégrante des activités d'épidémiologie des laboratoires nationaux de référence (LNR *Salmonella* et Antibiorésistance).

Le premier objectif de cette surveillance est de déterminer les proportions de souches résistantes sur la chaîne alimentaire afin d'apprécier les tendances temporelles de ces résistances. En identifiant d'éventuelles émergences, cette surveillance pourra être affinée par la détermination des mécanismes de résistance impliqués et ainsi orienter les mesures de gestion en fonction de la clonalité du phénomène observé.

Un second objectif est d'identifier d'éventuels réservoirs de résistance susceptibles de se transmettre à l'Homme.

À titre illustratif, ce travail présente les résultats de la surveillance pilotée par la DGAL, obtenus pour la production « poulet de chair » sur la période 2008-2009, aux stades de l'élevage, de l'abattoir et de la distribution.

Synthèse du fonctionnement du dispositif de surveillance

Contextes de prélèvement

En élevage

Les souches de salmonelles concernées sont les isolats détectés dans le cadre des contrôles obligatoires établis en élevage conformément au règlement (CE) N°2160/2003 et conservés dans une souchothèque gérée par le LNR *Salmonella* selon le règlement (CE) N° 1168/2006. Celle-ci est représentative de la fréquence d'isolement de *Salmonella* dans les filières concernées. Au moins un isolat de chaque troupeau contaminé est envoyé au LNR *Salmonella*. La mise en place de la surveillance de la résistance aux antibiotiques est réglementairement programmée à partir de cette souchothèque, selon un planning prévu à partir de 2008 (Décision de la Commission européenne du 12 juin 2007). Les troupeaux de poulets de chair ont été intégrés dans cette surveillance en 2009.

Dans le secteur « hygiène des aliments »

La surveillance de la résistance aux antibiotiques des salmonelles isolées du secteur « hygiène des aliments » (de l'abattoir à la distribution) est organisée sur des souches isolées des plans de surveillance ou de contrôle annuels organisés par la DGAL. Ces souches sont représentatives de la fréquence d'isolement de *Salmonella* dans les matrices concernées. Selon le cas, la recherche de salmonelles peut être réalisée par les laboratoires d'analyse départementaux ou par le LNR *Salmonella*.

Sur la période 2008-2009, un plan concernait les carcasses de poulets au niveau de l'abattoir (note de service DGAL/SDSSA/2007-8317) et deux plans concernaient les viandes de volailles à la distribution: préparations de viande à base de volaille et de porc (note de service DGAL/SDSSA/2007-8313) et viandes fraîches de poulet (note de service DGAL/SDSSA/2009-8090).

Sélection des souches

Pour chaque contexte de prélèvement, une sélection de souches est envoyée au Laboratoire de sécurité des aliments Maisons-Alfort pour la détermination des CMI. Cette remontée de souches est réalisée via le fonctionnement du réseau *Salmonella* (<http://www.ansespro.fr/reseausalmonella/>) pour les plans de surveillance impliquant les laboratoires départementaux d'analyse. La sélection de souches est faite sur la base annuelle d'une souche par sérovar et par unité épidémiologique (« élevage » pour les volailles vivantes et les carcasses, « unité de prélèvement » pour les denrées alimentaires).

En élevage, le nombre recommandé de souches à tester est de 170 souches/an/filière (rapport Efsa, 2007). Cette recommandation a été définie comme un minimum à tester pour détecter des évolutions des taux de résistance bactérienne aux antibiotiques. Si le nombre total de souches isolées dans le cadre des programmes de contrôle est supérieur à 170, un panel représentatif de souches peut être sélectionné aléatoirement. Dans ce cas, cette sélection a consisté à choisir aléatoirement, à partir de la répartition des sérotypes au niveau national, un nombre de souches au prorata de la production avicole de trois zones de production: 50 % pour la Bretagne (départements 22, 29, 35, 56), 30 % pour les Pays de la Loire (départements 44, 49, 53, 72, 85) et 20 % pour les autres régions.

Pour les denrées alimentaires, tous les isolats sélectionnés sont testés.

Analyse de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques des souches est mesurée par la détermination des CMI de 13 antibiotiques par microdilution en milieu liquide selon la méthode Sensititre® (Trek Diagnostic Systems, West Sussex, Royaume-Uni). Les gammes de concentration testées ont été collégialement déterminées, en 2007, par les différents Laboratoires nationaux de référence pour l'antibiorésistance, sous la coordination du Laboratoire communautaire de référence pour l'antibiorésistance (LCR - AMR, Food DTU, Danemark). Chaque série de tests est validée grâce à la mesure des CMI de la souche de référence *E. coli* ATCC25922.

Dans un contexte d'épidémiologie, l'interprétation des CMI en phénotype sensible « S » ou résistant « R » est effectuée prioritairement selon les valeurs seuils de l'EUCAST (Tableau 1) à l'exception des seuils d'interprétation de la sensibilité à la kanamycine et aux sulfamides qui proviennent du CLSI (CLSI, 2008): kanamycine R \geq 64 mg/L et sulfaméthoxazole R \geq 512 mg/L.

Tableau 1. Concentrations critiques (mg/L) pour l'interprétation du phénotype de résistance des *Salmonella* spp. d'après EUCAST (<http://www.eucast.org/>, dernier accès le 28 avril 2011)

Antibiotiques	Seuils épidémiologiques (mg/L)	Seuils cliniques (mg/L)	
	Population sauvage \leq	Sensible \leq	Résistant $>$
Ampicilline	8	8	8
Céfotaxime	0,5	1	2
Ceftazidime	2	1	4
Acide nalidixique	16	-	-
Ciprofloxacine	0,064	0,5	1
Streptomycine	16	-	-
Kanamycine	-	-	-
Gentamicine	2	2	4
Chloramphénicol	16	-	-
Florfenicol	16	-	-
Tétracycline	8	-	-
Sulfaméthoxazole	-	-	-
Triméthoprim	2	2	4

Résultats

Les salmonelles sont naturellement sensibles à tous les antibiotiques testés sur les entérobactéries. La répartition du nombre de souches de *Salmonella* spp. en fonction de la valeur de leur CMI pour un antibiotique donné est présentée pour chaque contexte de prélèvement (Tableaux 2 à 5).

Secteur « Production animale » : élevage

24 sérotypes différents ont été analysés parmi les 175 souches retenues. Les deux principaux sont Anatum et Livingstone et représentent respectivement 31 % et 19 % des souches isolées.

Une souche de sérotype Anatum⁽¹⁾ présentait un phénotype non-sauvage vis-à-vis du céfotaxime selon les seuils épidémiologiques définis par EUCAST (<http://www.eucast.org/>) avec une CMI de 1 mg/L. Toutefois, l'antibiogramme en milieu gélosé a permis de montrer que cette souche n'est pas productrice de bêta-lactamase responsable d'une résistance aux céphalosporines de 3^e et 4^e générations. En effet, les diamètres mesurés pour le céfotaxime et la ceftazidime sont supérieurs à 30 mm et une sensibilité diminuée a été observée uniquement pour les β -lactamines suivantes: l'ampicilline, la cefalotine et surtout la cefoxitine. D'autre part, aucun des gènes de résistance aux céphalosporines de troisième et quatrième générations décrits dans la littérature chez les salmonelles n'a pu être mis en évidence

(1) Référence LNR *Salmonella* S09LNR836.

Tableau 2. Distribution du nombre de souches de *Salmonella* spp. (n=175) isolées lors des contrôles officiels en fonction de leur CMI - Élevage de poulets de chair (2009)

Antibiotique	Proportion (%) de souches non-sauvages [IC]	CMI (mg/L)																				
		0,002	0,004	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
Ampicilline	13 [8-17]									3	109	33	8	2	1	0	19					
Céfotaxime	1 [0-3]						29	127	13	5	1	0	0									
Ceftazidime	0 [0-2]								62	102	9	2	0	0	0							
Chloramphénicol	7 [4-10]										2	20	133	8	5	0	7					
Ciprofloxacine	5 [2-8]				48	109	6	0	7	1	1	0	0	0								
Florfenicol	2 [0-3]										4	72	88	8	2	0	1					
Gentamicine	1 [0-3]								83	85	6	0	0	0	1	0						
Kanamycine*	1 [0-4]											172	1	0	0	0	0	2				
Acide nalidixique	5 [2-8]											145	19	2	0	0	9					
Streptomycine*	6 [3-9]										0	12	89	56	7	6	2	3				
Sulfaméthoxazole*	18 [13-22]												0	5	13	81	42	3	0	0	31	
Tétracycline	12 [8-16]									8	133	8	5	0	1	2	18					
Triméthoprime	8 [5-11]									150	11	0	0	0	0	14						

Tableau 3. Distribution du nombre de souches de *Salmonella* spp. (n=27) isolées de carcasses de poulets en fonction de leur CMI - Enquête communautaire à l'abattoir (2008)

Antibiotique	Proportion (%) de souches non-sauvages [IC]	CMI (mg/L)																				
		0,002	0,004	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
Ampicilline	4 [0-19]									0	21	5	0	0	0	1						
Céfotaxime	0 [0-11]						13	12	2	0	0	0	0									
Ceftazidime	0 [0-11]								20	6	1	0	0	0								
Chloramphénicol	0 [0-11]										1	19	7	0	0	0						
Ciprofloxacine	4 [0-19]			0	13	13	0	0	0	1	0	0	0									
Florfenicol	0 [0-11]										2	24	1	0	0	0						
Gentamicine	0 [0-11]								6	19	2	0	0	0	0							
Kanamycine*	0 [0-11]											27	0	0	0	0	0					
Acide nalidixique	0 [0-11]											26	1	0	0	0	0					
Streptomycine*	0 [0-11]										0	3	16	7	1	0	0					
Sulfaméthoxazole*	0 [0-11]												0	2	11	12	0	0	0	0		
Tétracycline	4 [0-19]									8	18	0	0	0	0	1						
Triméthoprime	4 [0-19]									25	1	0	0	0	0	1						

Tableau 4. Distribution du nombre de souches de *Salmonella* spp. (n=17) isolées de préparations de viandes à base de volaille et de porc en fonction de leur CMI – plan de surveillance à la distribution (2008)

Antibiotique	Proportion (%) de souches non-sauvages [IC]	CMI (mg/L)																				
		0,002	0,004	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
Ampicilline	24 [7-50]									0	12	0	1	0	0	4						
Céfotaxime	0 [0-16]						9	8	0	0	0	0	0									
Ceftazidime	0 [0-16]								5	11	1	0	0	0								
Chloramphénicol	12 [1-36]										1	8	6	0	0	2						
Ciprofloxacine	0 [0-16]			1	11	5	0	0	0	0	0	0	0									
Florfenicol	12 [1-36]										2	13	0	0	0	1	1					
Gentamicine	0 [0-16]								1	13	3	0	0	0	0							
Kanamycine*	0 [0-16]											17	0	0	0	0	0					
Acide nalidixique	0 [0-16]											16	1	0	0	0						
Streptomycine*	71 [52-89]										0	0	3	2	0	2	8	2				
Sulfaméthoxazole*	71 [52-89]												1	0	2	2	0	0	0	0	12	
Tétracycline	71 [52-89]									1	4	0	0	0	2	1	9					
Triméthoprime	6 [0-29]									16	0	0	0	0	0	1						

Pour les trois tableaux :

* Seuils recommandés par EURL-AR: Streptomycine non-sauvage > 32 mg/L; Kanamycine non-sauvage > 16 mg/L, Sulfaméthoxazole non-sauvage > 256 mg/L (<http://www.crl-ar.eu/data/images/faq/eurl-recommended%20cut%20off%20values-19-01-2011.pdf>, dernier accès le 28 avril 2011).

Les zones grisées correspondent aux CMI des souches considérées non-sauvages par EUCAST.

Nombre en italique: nombre de souches présentant une CMI supérieure ou égale à la plus forte concentration testée.

Nombre en gras: nombre de souches présentant une CMI inférieure ou égale à la plus faible concentration testée.

Tableau 5. Distribution du nombre de souches de *Salmonella* spp. (n=14) isolées de viandes fraîches de poulet en fonction de leur CMI – Plan de surveillance à la distribution (2009)

Antibiotique	Proportion (%) de souches non-sauvages [IC]	CMI (mg/L)																				
		0,002	0,004	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
Ampicilline	0 [0-19]								0	10	3	1	0	0	0							
Céfotaxime	0 [0-19]						5	8	1	0	0	0										
Ceftazidime	0 [0-19]								8	6	0	0	0	0								
Chloramphénicol	7 [0-34]										0	2	11	0	0	0	1					
Ciprofloxacine	0 [0-19]		0	3	11	0	0	0	0	0	0	0	0									
Florfénicol	0 [0-19]										0	9	5	0	0	0						
Gentamicine	0 [0-19]								5	9	0	0	0	0	0							
Kanamycine*	0 [0-19]											14	0	0	0	0	0					
Acide nalidixique	0 [0-19]											11	3	0	0	0						
Streptomycine*	7 [0-34]										0	0	7	5	1	1	0					
Sulfaméthoxazole*	7 [0-34]												1	0	1	7	4	0	0	0	0	1
Tétracycline	7 [0-34]									1	12	0	0	0	0	0	1					
Triméthoprime	0 [0-19]									14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Seuils recommandés par EURL-AR: Streptomycine: non-sauvage > 32 mg/L; Kanamycine non-sauvage > 16 mg/L, Sulfaméthoxazole non-sauvage > 256 mg/L (<http://www.crl-ar.eu/data/images/faq/eurl-recommended%20cut%20off%20values-19-01-2011.pdf>, dernier accès le 28 avril 2011).

Les zones grisées correspondent aux CMI des souches considérées non-sauvages par EUCAST.

Nombre en italique: nombre de souches présentant une CMI supérieure ou égale à la plus forte concentration testée.

Nombre en gras: nombre de souches présentant une CMI inférieure ou égale à la plus faible concentration testée.

par méthode PCR (bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , bla_{SHV} , bla_{VEB} , bla_{CMY-2} , bla_{dha} , bla_{PER} , bla_{ACT} , bla_{ACC} , bla_{LCR}). La sensibilité diminuée au céfotaxime mesurée pour cette souche est donc plus probablement liée à une modification de sa perméabilité à cet antibiotique qu'à l'hydrolyse de celui-ci par une bêta--lactamase.

5 % des souches sont résistantes aux quinolones et aux fluoroquinolones selon les seuils épidémiologiques définis ci-dessus. Une attention particulière doit être portée sur les souches de salmonelles résistantes à l'acide nalidixique, antibiotique de la famille des quinolones, compte tenu d'échecs thérapeutiques avec les fluoroquinolones ou d'allongement de la durée de traitement rapportés chez des patients souffrant de salmonellose extra-intestinale liée à des souches de *Salmonella* résistantes à l'acide nalidixique (CLSI, 2008), tout en présentant une sensibilité *in vitro* aux fluoroquinolones. Cette observation a conduit le comité européen EUCAST à interpréter toute souche de salmonelle résistante à l'acide nalidixique comme résistante à toutes les fluoroquinolones (règle 13.7, Eucast, 2008).

Secteur « Hygiène des aliments » : de l'abattoir à la distribution

Aucune souche testée ne présente de résistance aux céphalosporines de 3^e génération.

À l'abattoir, 27 souches de *Salmonella* de dix sérotypes différents ont été isolées. Le sérotype majoritaire est Indiana (44 % des isolats). Une souche de sérotype Anatum⁽²⁾ présente un phénotype non sauvage à la ciprofloxacine et une souche de sérotype Indiana⁽³⁾ à la tétracycline et au triméthoprime.

À la distribution, la prévalence en *Salmonella* spp. dans les viandes fraîches et les préparations de viande varie de 2 à 7 % selon le type de produit (Notes de service DGAL/SDSSA/N2009-8241, et 2010-8211). Quatorze et 17 souches ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques respectivement pour les plans de surveillance relatifs aux viandes fraîches de poulet et aux préparations de viande à base de poulet et de porc.

Sur les 14 souches testées isolées de viandes fraîches de poulet, 10 sérotypes ont été identifiés, dont une souche de Typhimurium (aucune souche de sérotype Enteritidis). Seule, une souche de sérotype Mbandaka⁽⁴⁾ présente un phénotype multi-résistant au chloramphénicol, à la streptomycine et aux sulfamides.

Pour les préparations de viande, 70 % des isolats testés sont du sérotype Derby; de plus, la majorité des souches présente des phénotypes de résistance multiple aux antibiotiques. Neuf souches de sérotype Derby présentent un phénotype résistant à la tétracycline, aux sulfamides et à la streptomycine. Le sérotype Derby est retrouvé majoritairement en filière porcine et ce phénotype de résistance a été observé chez 60 % des souches de *Salmonella enterica subsp. enterica* serotype Derby isolées de l'enquête communautaire chez le porc reproducteur réalisée en France en 2008 (rapport FARM 2007-2008).

Deux souches de sérotype Derby et Typhimurium présentent une penta-résistance de type ACSSuT (résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline). Une souche de sérotype Bredeney présente une résistance à la tétracycline. De plus, dans le contexte actuel d'émergence de ce sérotype, il est important de souligner l'isolement d'une souche de *Salmonella enterica subsp. enterica* serotype 4,[5],12:i:-, présentant une résistance à la streptomycine et aux sulfamides. Toutefois, ce profil de résistance n'est pas celui du clone émergent en Europe au cours de la dernière décennie, résistant à l'ampicilline, à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline (Hopkins *et al.*, 2010).

Analyse des points faibles et points forts du dispositif

D'un point de vue analytique, la méthode recommandée pour l'harmonisation des résultats au niveau européen permet une standardisation optimale des données et une comparaison possible de données obtenues sur plusieurs années. Dans une démarche de surveillance épidémiologique telle que préconise la directive 2003/99/CE, les seuils épidémiologiques EUCAST sont utilisés. Toutefois le lecteur est incité à la vigilance à la lecture de ce type de résultats car l'utilisation d'autres seuils peut en effet conduire à des interprétations tout à fait différentes. Les seuils du CLSI par exemple déterminent des valeurs seuils cliniques (« clinical breakpoints »), pour déterminer si l'antibiothérapie a des chances de conduire à un succès clinique. Dans une approche d'épidémiosurveillance, l'objectif est de pouvoir détecter les souches bactériennes ayant acquis un mécanisme de résistance. On parle alors de seuil épidémiologique (« epidemiological cut-off »). D'après cette définition, les souches dites « résistantes », ont acquis un mécanisme de résistance mais pour autant celui-ci n'est pas toujours

(2) Référence LNR *Salmonella* : 08ECES89. (3) Référence LNR *Salmonella* : 08ECES166. (4) Référence LNR *Salmonella* : DG47.

suffisant pour occasionner un échec thérapeutique et être responsable d'une réelle résistance clinique. Un moyen d'éviter toute confusion serait de réserver les catégories « sensibles », « intermédiaires » et « résistants » aux seuils cliniques et parler de souches « sauvages » pour l'antibiotique X ou « non-sauvages » lorsqu'elles sont classées selon leurs seuils épidémiologiques (Bywater, 2006).

En outre, les résultats sur la sensibilité aux antibiotiques associés au sérotype des souches peuvent être également considérés comme des marqueurs biologiques pour déterminer l'origine d'une contamination. Ainsi, dans cette étude, les souches de sérotype Derby isolées de l'enquête sur les préparations de viande présentent un phénotype fréquemment décrit pour des prélèvements d'origine porcine (FARM 2007-2008). On peut donc émettre l'hypothèse d'une origine porcine plutôt qu'aviaire de ces souches. Cette hypothèse méritera d'être vérifiée lors de prochaines études.

La sélection des souches isolées en élevage, *au prorata* des zones de production constitue un biais de sélection; en effet, le nombre de souches collectées par le LNR s'est avéré ne pas être proportionnel à la dynamique de production. Ainsi, par exemple, en 2009, le LNR a collecté 1 196 souches de la filière poulet de chair, dont 380 souches en Bretagne (représentant 50 % de la production nationale), 292 en Pays de la Loire (représentant 30 % de la production nationale) et 524 pour les autres régions (représentant 20 % de la production nationale). Le système actuel de sélection de souches analysées pour leur sensibilité aux antibiotiques a donc sous-estimé les régions présentant une contamination relativement plus importante par rapport au volume de production.

Dans le secteur des aliments, ces informations, associées aux données de prévalence de la contamination, contribuent à apprécier le risque d'exposition des consommateurs aux salmonelles résistantes aux antibiotiques *via* la chaîne alimentaire. Pour ce type de produit, ce risque est considéré faible du fait d'un niveau global de contamination très bas. La prévalence en élevage de poulet de chair, secteur production, en 2009, est estimée à 0,8 %; ce chiffre est vraisemblablement surestimé du fait des difficultés rencontrées de recensement des troupeaux ayant fait l'objet d'une analyse cette année-là. La prévalence en salmonelle dans les viandes de poulet a été estimée dans le cadre de ces plans à 7,5 % pour les poulets entiers (carcasse) et 1,7 % pour les produits de découpe (Note de service DGAL/SDSSA/N2010-8211) et moins de 5 % pour les préparations de viandes à base de volaille et de porc, sans différence significative entre les produits contenant de la viande de porc et ceux composés uniquement de viande de volaille (NS DGAL/SDSSA/N2009-8241). Enfin, ces produits sont destinés à être consommés cuits, ce qui réduit le risque de transmission de salmonelles vers le consommateur. Notons également que le règlement N°2160/2003 relatif au contrôle des salmonelles et autres agents zoonotiques prévoit un critère de sécurité « absence de *Salmonella* dans 25 g » applicables à toutes viandes fraîches de poulet et de dinde à compter du 1^{er} janvier 2011.

D'un point de vue organisationnel, la centralisation des souches vers le Laboratoire de sécurité des aliments pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques requiert des moyens spécifiques pour la collecte, la sélection et l'analyse des isolats. La traçabilité des souches est rendue possible grâce à la performance du réseau constitué par les différents partenaires (laboratoires d'analyse agréés, équipe du réseau *Salmonella*, LNR *Salmonella*). En 2010, le budget global annuel de cette surveillance, toutes filières confondues, est estimé pour l'Anses à près de 15 000 Euros (hors frais de personnel). Compte tenu des contraintes budgétaires des laboratoires et des exigences croissantes de la surveillance de la résistance aux antibiotiques de salmonelles en élevage, avec l'intégration d'une filière supplémentaire chaque année depuis 2008, l'étude des matrices alimentaires pourra être réalisée en sélectionnant les matrices selon le niveau de risque d'exposition du consommateur.

De plus, le choix d'une méthode analytique quantitative produit un grand nombre de données à traiter. La montée en puissance de ce type de surveillance nécessitera d'améliorer l'automatisation de l'extraction des données, leur analyse et leur diffusion.

Conclusion

Le dispositif de surveillance de la résistance aux antibiotiques des salmonelles permet d'avoir des données représentatives dans une filière donnée à différents stades de la chaîne alimentaire.

Pour les années 2008 et 2009, les faits marquants en matière d'antibiorésistance des salmonelles en production de « poulet de chair » sont une faible proportion de résistance aux fluoroquinolones en élevage; aucune souche testée n'a présenté de bêta-lactamase efficace contre les céphalosporines de troisième génération. Le risque d'exposition du consommateur est par ailleurs considéré faible du fait de la faible prévalence de *Salmonella* spp., dans les viandes de poulet et de l'étape de cuisson intervenant préalablement à la consommation.

Cette approche est destinée à être poursuivie chaque année afin de détecter toute modification de la sensibilité d'une population bactérienne et/ou d'identifier des émergences.

Références bibliographiques

Références techniques

Anses (2010). FARM 2007-2008. Programme français de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale (ref. SANT-Ra-FARM2008).

CLSI (2008). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth informational supplement. M100-S18, vol 28, 1.

EFSA (2007). Report including a proposal for harmonised monitoring scheme of antimicrobial resistance in *Salmonella* in flow, turkey and pigs and *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in broiler. EFSA journal 96:1-46. doi:10.2903/j.efsa.2007.96r. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EFSA, ECDC (2011). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. EFSA Journal:9(3):2090. [378pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2090. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EUCAST (2008). Expert rules in antimicrobial susceptibility testing – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, version 1, avril 2008.

Références réglementaires

Décision de la Commission européenne du 12 juin 2007, concernant une harmonisation de la surveillance de la résistance antimicrobienne des salmonelles chez les volailles et les porcs, vol. L153/26. Journal officiel de l'Union européenne du 14/06/2007.

Directive 2003/99/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003, sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117/CEE du Conseil, vol. L325/31. Journal officiel de l'Union européenne du 12/12/2003.

Règlement (CE) N° 1168/2006 de la Commission du 31 juillet 2006, portant application du règlement (CE) N°2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation d'un objectif communautaire de réduction de la prévalence de certains sérotypes de salmonelles chez les poules pondeuses *Gallus gallus* et portant modification du règlement (CE) N° 1003/2005, vol. L211/4. Journal officiel de l'Union européenne du 1/08/2006.

Règlement (CE) N° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003, sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire, vol. L325/1. Journal officiel de l'Union européenne du 12/12/2003.

Articles scientifiques

Bywater R, Silley P, Simjee S. (2006). Antimicrobial breakpoints-definitions and conflicting requirements. Vet Microbiol. 118(1-2):158-9.

Helms M, Vastrup P, Gerner-Smidt P, Mølbak K. (2002). Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella* Typhimurium. Emerg Infect Dis, 8:490-495.

Hopkins, K. L., M. Kirchner, B. Guerra, S. A. Granier, C. Lucarelli, M. C. Porrero, A. Jakubczak, E. J. Threlfall, and D. J. Mevius. (2010). Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Europe: a new pandemic strain? Euro Surveill 15:19580.

Mølbak K. (2005). Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. Clin Infect Dis, 41:1613-1620.

Identification génétique de souches de rhabdovirus isolées de perches et d'autres espèces de poissons

Chiraz Talbi, Joëlle Cabon, Marine Baud, Jeannette Castric, Laurent Bigarré (laurent.bigarre@anses.fr)

Anses, Laboratoire de Ploufragan - Plouzané

Résumé

Les élevages de percidés (perche et sandre) se multiplient en Europe depuis quelques années. Avec l'intensification de la production, sont apparues des maladies à rhabdovirus qui entraînent parfois des mortalités importantes pouvant atteindre 40 % dans l'alevinage. Les outils de détection et d'identification de ces virus sont encore très limités faute de données suffisantes sur la structure génétique des populations virales. Nous avons donc initié la caractérisation moléculaire d'une série d'isolats associés à des épidémies en élevage en France depuis 1980 jusqu'à 2009. Les séquences obtenues montrent une forte diversité génétique se traduisant par la reconnaissance d'au moins deux génotypes. Par ailleurs, des isolats de rhabdovirus caractérisés à partir d'autres espèces de poissons d'eau douce (brochet, black-bass) montrent de fortes relations génétiques avec certains virus de percidés, suggérant une transmission horizontale inter-espèces. Autre résultat, des similarités génétiques aussi fortes qu'inattendues existent entre des isolats de régions géographiques distinctes en Europe démontrant des circulations de virus vraisemblablement liées à l'activité humaine. À ce jour, les données disponibles vont toutes dans le sens d'un vaste réservoir génétique de rhabdovirus portés par des poissons d'eau douce en milieu naturel, duquel émergent régulièrement des isolats virulents quand les géniteurs sont utilisés pour l'alevinage en ferme. Cette diversité génétique doit être mieux connue pour la mise au point de tests de diagnostic performants.

Mots clés

Transmission horizontale, transmission verticale, rhabdoviridés, vésiculovirus, pisciculture, diagnostic

Abstract

Genetic identification of rhabdovirus strains isolated in perch and other fish species

Percidae fish farming (perch and pike perch) has become more popular over the past few years in Europe. More intensive production has been accompanied by rhabdovirus diseases which can cause high mortality—up to 40 % among young fish. The tools needed to detect and identify these viruses are very limited due to a lack of data on the genetic structure of viral populations. We therefore initiated the molecular characterization of a series of isolates linked to epidemics in French fish farms from 1980 to 2009. The sequences obtained reveal broad genetic diversity, leading to the identification of at least two distinct genotypes. Rhabdovirus isolates characterized from other freshwater fish, such as pike and black bass, are genetically closely related to certain percidae viruses, suggesting horizontal transmission between species. We also found close, unexpected genetic similarities between isolates from geographically distinct European regions, revealing viral transmission most likely due to human activities. Data currently available support the idea of a vast genetic pool of rhabdoviruses carried by freshwater fish in their natural habitat from which virulent isolates regularly emerge when the when wild subjects are used for reproduction in fish farms are used in fish farms. This genetic diversity needs to be better identified to enable the development of efficient diagnostic tests..

Keywords

Horizontal transmission, vertical transmission, Rhabdoviridae, vesiculovirus, fish farming

En 2008, l'aquaculture a atteint le chiffre record de 46 % des apports dans la consommation de poissons dans le monde [1]. Cette part continuera de progresser avec la diminution des pêches de capture due à la surexploitation des stocks naturels et l'accroissement de la population mondiale. Voilà donc quatre décennies que le taux de croissance des productions aquacoles montre un rythme très soutenu, par exemple en Chine (11 % par an), en Amérique latine (20 %) et dans une moindre mesure en Europe (4,5 %). La France s'est distinguée par une forte croissance dans les années 1970 et 1980, suivie d'une stagnation, et même d'une régression ces 15 dernières années pour l'élevage de la truite. Dans ce contexte de forte concurrence internationale, l'une des réponses pour l'aquaculture française est la diversification des espèces élevées, associée à un effort soutenu pour la qualité des produits. Le pays est ainsi premier producteur européen d'alevins de bars et de daurades mais aussi premier producteur de caviar d'élevage.

L'élevage des percidés se place ainsi dans une niche économique encore peu importante, mais qui se développe progressivement en France et à l'échelle européenne pour répondre à une demande encore supérieure à l'offre, surtout en produits frais. Deux espèces, principalement la perche (*Perca fluviatilis*), mais aussi le sandre (*Sander lucioperca*), trouvent facilement des débouchés grâce à leurs qualités gustatives remarquables. À ce jour, la production nationale est faible (~ 120 tonnes/an) et l'on trouve sur les marchés des filets congelés issus de perches élevées ou pêchées en Russie, Estonie ou Pologne. Pour répondre à la demande, des élevages intensifs généralement basés sur des systèmes de production fonctionnant en circuit fermé, ont été créés (Irlande, Italie, Danemark, Suisse Pays-Bas et France).

Comme on pouvait le craindre, l'intensification des élevages de perche et des transports internationaux de géniteurs ont apporté leur lot de maladies infectieuses. Des épisodes de mortalités associés à des rhabdovirus ont été observés ces dernières années par exemple dans un élevage de perche irlandais ayant subi 40 % de pertes en 2005 ou dans un élevage de sandre danois qui a dû cesser son activité, la situation devenant incontrôlable. Historiquement, le premier rhabdovirus de perche (PRhV) a été isolé par hasard sur les sujets pré-adultes d'un étang de production de la région Centre, en France en 1980 [2]. Des perches de



Perches (*Perca fluviatilis*)

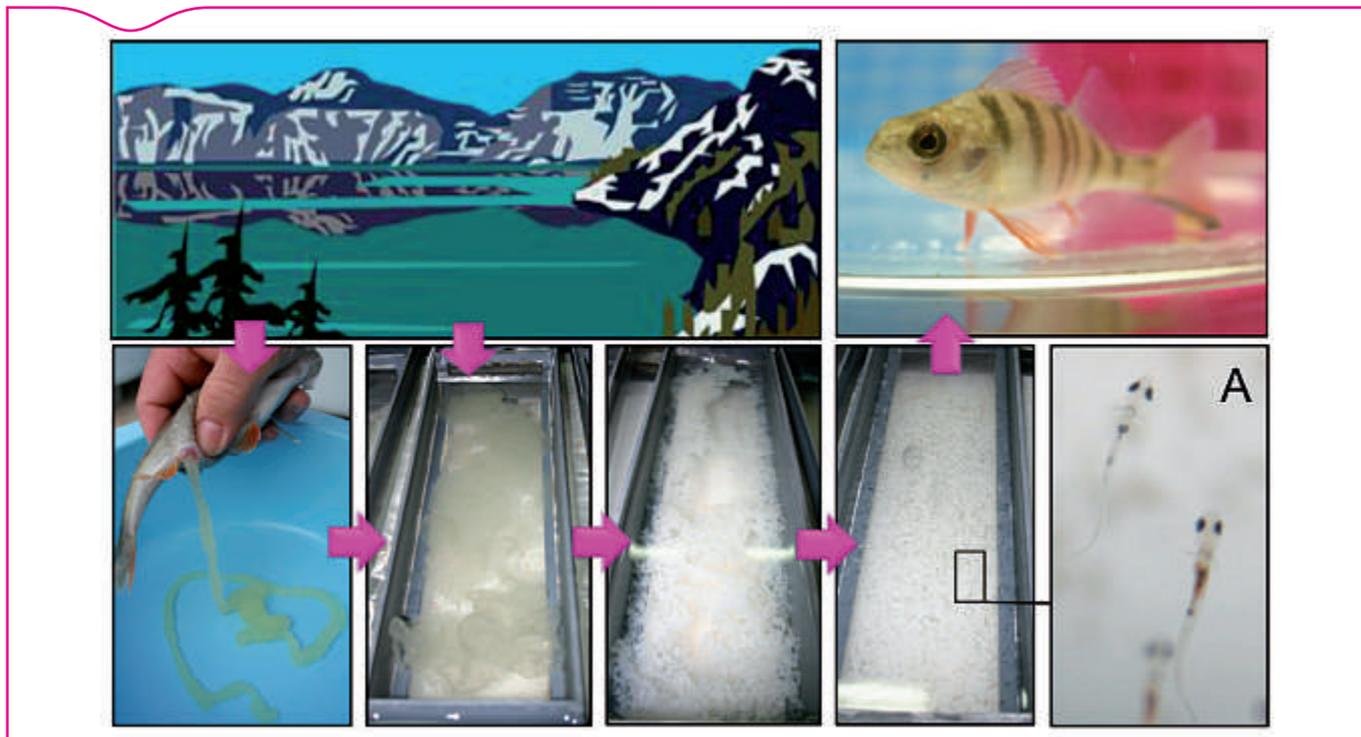


Figure 1. Étapes de la reproduction artificielle de la perche et incidence possible sur la transmission verticale des rhabdovirus. Des géniteurs ou des œufs en ruban sont prélevés dans le milieu naturel pour alevinage et grossissement. (A) stade alevin, particulièrement sensible à la maladie

cet étang avaient été introduites dans un laboratoire de l'Inra à des fins expérimentales mais rapidement des signes cliniques (pertes d'équilibre et nage désorganisée) sont apparus, pour aboutir à 30 % de mortalité. Le même scénario se reproduisit en 2001 en Norvège avec des perches capturées dans un lac et acclimatées dans un laboratoire pour des études de reproduction [3]. Dans les deux cas cités, la présence d'un virus de la famille des *Rhabdoviridae* a été mise en évidence grâce à la culture cellulaire *in vitro*. En France, d'autres épisodes de mortalités se sont produits ces dernières années, non seulement en élevage, mais aussi en milieu naturel, notamment dans des lacs alpins (lac d'Annecy, lac Léman) [4]. En 1990, des mortalités massives d'alevins de sandre, corrélées à la présence de virus, ont été observées dans la région où avait été isolé à l'origine le PRhV. Cinq ans plus tard, toujours dans la même région, deux virus sérologiquement proches du PRhV étaient identifiés sur perche et black-bass. Ces éléments suggèrent une persistance de l'infection virale au sein des espèces réceptives de la région géographique concernée et la possibilité d'une transmission inter-espèces. En 2001, un virus a été isolé dans la Dombes sur des perches de 30 à 1000 g qui présentaient pour certaines de fines hémorragies sur le foie et des branchies pâles, démontrant que des poissons adultes sont également sensibles.

Comme pour toutes les viroses de poisson, la lutte repose avant tout sur la prévention en empêchant l'entrée des virus dans les sites de production, ce qui nécessite des outils de diagnostic performants et une bonne connaissance de la biologie, de l'épidémiologie et des possibles mouvements des populations virales existantes. Or, il n'existe pour ces rhabdovirus de percidés que des données encore très fragmentaires.

Transmission verticale

Bien qu'il n'existe pas de données expérimentales publiées à ce sujet, il semblerait que ces virus puissent être directement transmis des géniteurs aux œufs (ovo-contamination, interne ou externe) qui donnent alors naissance à des alevins contaminés. C'est ce schéma qui explique que nombre d'épisodes de mortalités aient lieu au stade alevin, après entrée dans l'élevage de matériel biologique provenant du

milieu sauvage (géniteurs, alevins ou œufs). En effet, les éleveurs et les chercheurs ont souvent recours au milieu naturel pour collecter des géniteurs ou des œufs. Le lac Léman et d'autres lacs alpins sont ainsi des sites privilégiés pour l'approvisionnement d'élevages aussi bien en Suisse, qu'en Italie ou en France. Les œufs, qui sont protégés par une gangue (on parle de « ruban »), peuvent être facilement prélevés dans l'eau et rapportés en élevage (Figure 1). Les progrès récents dans la biologie de la reproduction de la perche laissent présager l'abandon de ces pratiques d'approvisionnement à l'avenir, car il est désormais possible d'assurer le cycle complet de production en structure artificielle (utilisation de programmes photo-thermopériodiques) et de produire des pontes décalées hors saison (Fontaine, communication personnelle). Il devient par conséquent possible de limiter les risques d'introduction de virus dans un élevage intensif en sélectionnant d'emblée une population indemne. Une telle stratégie nécessite toutefois des outils de diagnostic spécifiques qui restent à développer.

Transmission horizontale

C'est le mode de contamination le plus fréquent chez les poissons. Les rhabdovirus aquatiques peuvent se transmettre horizontalement selon plusieurs modalités que l'on suppose valides pour les espèces virales affectant les percidés.

- La transmission horizontale directe est assurée par le contact entre un animal sain et un animal contaminé. Elle est particulièrement redoutable dans les élevages à forte densité ou parmi les espèces à comportement grégaire, ce qui est le cas de la perche.
- L'alimentation, qui utilise des poissons ou des déchets de poissons parfois contaminés, peut également favoriser une transmission directe [5]. C'est ce mode qui est à l'origine, il y a quelques décennies, de l'introduction du virus de la septicémie hémorragique (VHSV⁽¹⁾) dans des élevages de truites arc-en-ciel en Europe. Très vite, les procédés de préparation des aliments d'élevage (en granulés secs) ont neutralisé la propagation des virus par cette voie, mais il reste à l'échelle mondiale nombre d'élevages n'utilisant pas ces technologies.

(1) À déclaration obligatoire.

(2) La suspension virale est mélangée à l'eau dans laquelle baignent les animaux. Ce protocole se rapproche donc d'une contamination naturelle.

- Les autres modes de contamination horizontale sont indirects. L'eau est le principal véhicule de virus. C'est le cas pour les virus de la septicémie hémorragique, virus particulièrement redouté aussi bien dans les élevages de truites que dans le milieu sauvage (une épidémie affecte 18 espèces dans la région des grands lacs en Amérique du Nord depuis 2005 [6]) ainsi que pour celui de la nécrose hémato-poïétique infectieuse (IHNV). La transmission d'une virose entre deux élevages situés sur une même rivière illustre ce mode de transmission.
- La transmission de virus par l'intermédiaire de matériel contaminé (épuisettes, cuves de transport, matériel de tri, etc.) est également fréquemment mise en cause.
- En milieu sauvage ou en élevage extensif, la contamination, directe ou non, peut se faire par des appâts contaminés (pêche de loisir), tandis qu'en élevage extensif, elle peut se faire par l'introduction de poissons vivants lors d'opérations d'empoissonnement. Un tel scénario a été envisagé pour expliquer l'apparition récente d'un nouveau génotype de VHSV dans les grands lacs américains.

À ce jour, une seule expérimentation a été réalisée afin de tester le potentiel infectieux du PRhV sur perche [2] par voie horizontale. À partir de virus multiplié en culture cellulaire, des perchettes ont été infectées, soit par injection intracraniale, soit par injection intrapéritonéale ou encore par balnéation⁽²⁾, cette dernière voie simulant mieux une infection naturelle. Or, seules les infections par voie intracraniale ont provoqué des mortalités, ce qui suggère une virulence faible dans les conditions utilisées et avec les animaux testés. La possibilité de transmission par l'eau n'a donc pas pu être prouvée pour la perche, ce qui n'exclut pas ce mode de transmission en conditions naturelles, même s'il peut être modulé par des paramètres bien particuliers (charge virale, durée d'exposition, âge des alevins, température, etc.). En revanche, le virus s'est montré fortement pathogène par balnéation sur des alevins de brochet, entraînant une mortalité proche de 50 %. Toutefois, il n'a pas provoqué de mortalité sur des alevins de truite arc-en-ciel âgés de six semaines [7].

Porteurs sains

Les importances relatives de tous ces modes de transmission sont inconnues dans le cas des percidés. Quels qu'ils soient, un facteur épidémiologique clé est l'existence d'animaux porteurs de virus sans signe clinique. Ces porteurs sains circulent sans contrôle lors de transferts commerciaux, très fréquents aux échelles régionale et internationale. Faute d'outils performants pour diagnostiquer et écarter ces porteurs, les animaux suspects sont vraisemblablement introduits dans les élevages. Récemment, un isolat a été trouvé chez une perche saine pêchée dans un lac en Italie (Bovo, communication personnelle). Autre facteur mal connu, la température optimale de déclenchement de la maladie sachant que les variations saisonnières influencent fortement le déclenchement et l'intensité de la symptomatologie [3].

Enfin, une inconnue majeure reste la diversité génétique de ces virus de percidés. Combien de génotypes différents existe-t-il, avec quelle répartition géographique et quelle gamme d'hôtes ?

Identification et gamme d'hôte des rhabdovirus de percidés

La vaste famille des *Rhabdoviridae* comprend six genres et des dizaines d'espèces, affectant des hôtes aussi différents que des végétaux, des mammifères (exemple, le virus de la rage) et les poissons (ictvonline.org). Deux genres peuvent affecter ces derniers : les novirhabdovirus et les vésiculovirus. Le premier comprend plusieurs espèces, dont le VHSV et l'IHNV. Les vésiculovirus incluent, outre quelques virus de mammifères (exemple, le virus de la stomatite vésiculeuse), le virus de la virémie printanière de la carpe (SVCV). D'autres isolats issus d'autres poissons d'eau douce tels que le virus de l'alevin de brochet (PFRV) sont fortement apparentés à ce genre, même s'ils n'y sont pas encore officiellement rangés à ce jour. La classification est cependant

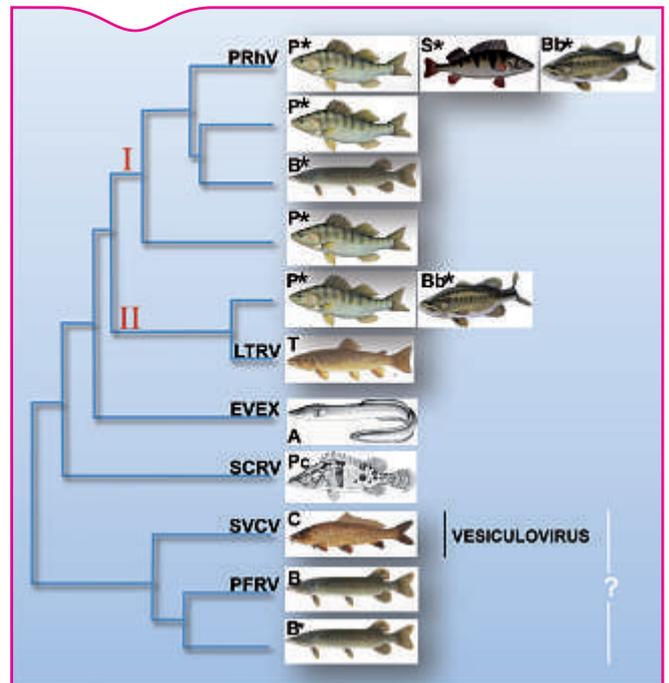


Figure 2. Relations génétiques (nucléoprotéine) entre plusieurs rhabdovirus isolés de poissons d'eau douce en France (*) et dans d'autres régions. Les isolats de perche des génogroupes I et II se distinguent par de faibles relations sérologiques inter-groupes. A : Anguille, B : Brochet, Bb : Black-bass, C : Carpe, P : perche, Pc : Perche chinoise, S : Sandre, T : Truite de lac (illustrations Wikipedia et FAO, échelle non respectée). PRhV : Perch Rhabdovirus; LTRV : Lake trout rhabdovirus; EVEX : *Eel virus european X*; SCR : *Siniperca chuatsi rhabdovirus*; SVCV : *Spring viremia of carp virus*; PFRV : *Pike fry rhabdovirus*.

plus problématique pour une autre série de virus isolés de poissons d'eau douce (percidés, black-bass, ombre, brochet, truite sauvage, etc.), qui certes se rapprochent génétiquement des vésiculovirus, mais s'en distinguent au niveau sérologique et génétique [3, 8, 9]. Faute de séquençage complet du génome de ces isolats et de caractérisation biologique approfondie, leur classification reste encore incertaine.

Un travail précurseur de séquençage d'une courte portion du gène de la polymérase a montré que le virus de perche PRhV isolé en France en 1980 présente moins de 86 % de similarité avec deux autres espèces de vésiculovirus, les SVCV (carpe) et PFRV (brochet) ce qui explique l'absence de relations sérologiques observée [3, 10]. Un taux de similitude du même ordre a été trouvé entre le PRhV et un rhabdovirus de truite de lac sauvage de Finlande (LTRV), même si dans ce cas des relations sérologiques, faibles certes, ont été remarquées. En revanche, une forte similitude, supérieure à 97 %, a été mise en évidence entre le PRhV et un isolat de brochet du Danemark, un isolat de sandre de la région Centre et un isolat d'ombre (*Thymallus thymallus*) du Jura suggérant l'existence d'un complexe viral porté par plusieurs espèces dans des zones géographiques variées en Europe. Nous avons récemment apporté des éléments complémentaires en faveur de cette hypothèse grâce à de nouvelles sondes qui ont permis d'étudier la collection d'isolats viraux enrichie depuis trois décennies par plusieurs équipes nationales et internationales. Ainsi, des génotypes très similaires au PRhV sont trouvés chez d'autres espèces hôtes, telles que le black-bass de la région Centre, confirmant une gamme d'hôte élargie pour des virus fortement apparentés au PRhV. En poursuivant la caractérisation d'autres isolats de percidés, au moins deux génogroupes majeurs I et II ont été identifiés, l'un (I) étant séparé en trois branches dont l'une porte le PRhV (Figure 2). Le génogroupe II inclut deux isolats de black-bass et de perche de France, mais aussi deux isolats de truite sauvage du nord de l'Europe (LTRV).

Une telle diversité génétique implique des difficultés pour le développement d'outils de diagnostic très spécifiques, et indique une situation épidémiologique très complexe entre tous ces isolats issus de

poissons d'eau douce en Europe. Quels sont les facteurs à considérer pour comprendre cette situation? Les réservoirs viraux restent à identifier. En effet, les percidés coexistent avec d'autres espèces dans le milieu sauvage, et parfois en élevage, et peuvent sans doute échanger des virus. Par ailleurs, les transferts de poissons d'un environnement à un autre sont très fréquents, entre régions mais aussi de la ferme vers le milieu naturel (empoissonnement) et vice-versa (alevinage). En outre, certaines espèces sauvages réceptives telles que la truite de lac (*Salmo trutta*), sont susceptibles de véhiculer des virus du milieu marin vers le milieu dulçaquicole continental au cours de leur migration, ce qui élargit considérablement le réservoir viral potentiel. La détection en France d'un virus de perche génétiquement proche d'un virus de truite sauvage de Finlande pose la question du risque de propagation aux élevages de truite arc-en-ciel. La surveillance doit donc être accrue pour éviter l'émergence d'un virus potentiellement aussi virulent et contagieux que le VHSV, virus dont le contrôle a un coût important.

À cette fin, les efforts pour compléter le tableau global de la diversité génétique virale doivent être poursuivis, notamment à l'occasion de prélèvements de routine, sans lien obligatoire avec des épisodes de mortalités. C'est par hasard, au cours d'une surveillance de routine du VHSV, que le premier rhabdovirus de brochet a été isolé en France en 2008 à partir d'un poisson adulte asymptomatique. Après séquençage, le virus s'est révélé différent des deux autres virus de brochet connus à ce jour, dont le virus de brochet danois proche du PRhV. En revanche, de fortes similitudes ont été trouvées avec un virus de brochet identifié en Allemagne. Il semble donc probable que des campagnes de dépistage dans le milieu naturel ou en élevage semi-intensif permettraient de mettre en évidence de nouveaux virus.

Même si aucune séquence complète de rhabdovirus de percidés n'est encore disponible à ce jour, les informations génétiques acquises confortent l'idée d'une séparation entre les vésiculovirus et les isolats de percidés. Selon toute probabilité, ces virus seront classés dans un nouveau genre viral encore à créer, avec pour membre type un virus de poisson isolé en chine, le *Siniperca chuatsi* Rhabdovirus.

Remerciements

Les auteurs remercient les collègues français et étrangers qui, depuis 1986, ont fourni des isolats viraux ou des informations épidémiologiques (LDA 39, LDA 40, GDSAA, Inra-VIM, URAFPA Nancy Université, DTU Aarhus, IZS Padoue), particulièrement Pascal Fontaine, Pierre de Kinkelin et Françoise Pozet.

Références bibliographiques

- [1] Anonyme (2010) La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture, Département des pêches et de l'aquaculture, FAO.
- [2] M. Dorson, C. Torchy, Chilmonczyk S., De Kinkelin P., Michel C. (1984) A rhabdovirus pathogenic for perch (*Perca fluviatilis* L.): isolation and preliminary study. *J Fish Dis*, 7: 241-245.
- [3] Dannevig B. H., Olesen N. J., Jentoft S., Kvellestad A., Taksdal T., Håstein T. (2001) The first isolation of a rhabdovirus from perch (*Perca fluviatilis*) in Norway. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, 21(5): 186-194.
- [4] Pozet F., Morand M. (2005) Pathologie de la perche. *Aquafilia*, 9: 23-27.
- [5] Oidtmann B., Joiner C., Reese R. A., Stone D., Dodge M., Dixon P. (2011) Risks Associated with Commodity Trade: Transmission of Viral Haemorrhagic Septicaemia Virus (VHSV) to Rainbow Trout Fry from VHSV-Carrying Tissue-Homogenates. *Transboundary and Emerging Diseases*, in press.
- [6] Kim R., Faisal M. (2010) Emergence and resurgence of the viral hemorrhagic septicemia virus (Novirhabdovirus, *Rhabdoviridae*, Mononegavirales). *Journal of Advanced Research*.
- [7] Dorson M., De Kinkelin P., Torchy C., Monge D. (1987) Sensibilité du brochet *Esox lucius* à différents virus de salmonidés (NPI, SHV, NHI) et au rhabdovirus de la perche. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 307: 91-101.
- [8] Johansson T., Nylund S., Olesen N. J., Bjorklund H. (2001) Molecular characterisation of the nucleocapsid protein gene, glycoprotein gene and gene junctions of rhabdovirus 903/87, a novel fish pathogenic rhabdovirus. *Virus Res*, 80(1-2): 11-22.
- [9] Johansson T., Ostman-Myllyoja L., Hellstrom A., Martelius S., Olesen N. J., Bjorklund H. (2002) A novel fish rhabdovirus from sweden is closely related to the Finnish rhabdovirus 903/87. *Virus Genes*, 25(2): 127-138.
- [10] Betts A. M., Stone D. M., Way K., Torhy C., Chilmonczyk S., Benmansour A., De Kinkelin P. (2003) Emerging vesiculo-type virus infections of freshwater fishes in Europe. *Dis Aquat Organ*, 57(3): 201-212.

Le *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* est désormais consultable sur Internet.

Recherchez un article
du *Bulletin épidémiologique* sur:
www.anses.fr/bulletin-epidemiologique/index.htm

The screenshot shows the search results page of the ANSES Bulletin épidémiologique website. At the top, there is a search bar with the text "Rechercher un article" and a button "Afficher par défaut". Below the search bar, there is a table of search results. The table has columns for "Titre de l'article", "Date de parution", "Auteur", and "Mots-clés / Mots-clés". The first row shows an article titled "Nouveaux aspects de la maladie - salmonelles de l'épave" with a date of "mars 2011 (02-02)" and authors "Jeanne Lerguez, Hélène Sedone, Ludovic Bouché, Nicolas, Françoise Mouton, Christian Dreyfus". Other rows include articles about salmonellosis in shellfish, salmonellosis in broilers, and salmonellosis in shellfish. The table also includes a "Page" column and a "Rechercher" button.

Étude de la persistance d'*Histomonas meleagridis* dans les élevages de dindes atteints d'histomonose

Rozenn Souillard (1) (rozenn.souillard@anses.fr), Pierre Yves Moalic (2), Jean-Michel Repérant (1), Denis Leon (1), Loïc Balaine (1), Nicolas Etteradossi (1), Virginie Michel (1)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan - Plouzané

(2) Laboratoire Labofarm, Loudéac

Résumé

Depuis l'interdiction en 2003 de tous les anti-histomoniques, l'histomonose est réapparue dans les élevages de dindes. Cette étude a pour objectifs de rechercher les lieux et les formes de persistance d'*Histomonas meleagridis* dans les élevages de dindes atteints d'histomonose. Dix élevages de dindes atteints d'histomonose ont été suivis chaque semaine pendant au maximum huit semaines. Les tubes digestifs de cinq dindes malades et des prélèvements environnementaux ont été collectés, analysés par PCR temps réel et en parasitologie. Dans les 10 élevages atteints, les prélèvements les plus fréquemment contaminés par *Histomonas meleagridis* étaient les caeca (84,3 %), la poussière (57,9 %) et les fientes (58,3 %). L'ADN d'*Histomonas meleagridis* a pu être détecté dans les caeca jusqu'à 13 semaines après l'apparition de l'histomonose et dans la poussière jusqu'à sept semaines après le départ des dindes malades. *Histomonas meleagridis* semble également diffuser par les sas sanitaires et à l'extérieur par les ventilateurs. En parasitologie, de nombreux flagellés et des formes suggérant des formes kystiques ont été observés, mais il ne s'agirait pas d'*Histomonas meleagridis*. Ce suivi d'élevages a permis d'identifier les lieux de persistance d'*Histomonas meleagridis* dans l'environnement d'élevages de dindes atteints d'histomonose pour une meilleure maîtrise de la maladie.

Mots clés

Histomonas meleagridis, histomonose, dindes, PCR temps réel, environnement

Abstract

Study on the persistence of Histomonas meleagridis in turkey farms infected by histomoniasis

Since the 2003 ban on all anti-histomonal drugs, there has been a resurgence of histomoniasis in turkey farms. This study aims to find where and how *Histomonas meleagridis* persists in turkey farms infected by histomoniasis. Ten infected turkey farms were monitored weekly for up to eight weeks. The digestive tract of five diseased turkeys and environmental samples were collected from each farm and analysed by real-time PCR and for parasitology. In the ten infected farms, the samples most often contaminated by *Histomonas* were from caeca (84.3 %), dust (57.9 %) and droppings (58.3 %). The DNA of *Histomonas* was detected in caeca up to 13 weeks after histomoniasis broke out and in dust up to seven weeks after the removal of diseased birds. *Histomonas* also appears to pass through preventive sanitary locks and outside through ventilation systems. The parasitology analysis revealed numerous flagella and shapes suggesting cystic forms but no *Histomonas*. This monitoring programme identified where *Histomonas* persisted in the environment of histomoniasis-infected turkey farms for better disease control.

Keywords

Histomonas meleagridis, histomoniasis, turkeys, real-time PCR, environment

Une recrudescence des cas d'histomonose a été observée dans les élevages de dindes depuis l'interdiction des anti-histomoniques en 2003. Jusqu'en 2002, l'histomonose représentait moins de 1 % de l'ensemble des maladies signalées chez les dindes par les vétérinaires du RNOEA, le Réseau national d'observations épidémiologiques en aviculture animé par l'unité Épidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané (Anses). En 2003, cette maladie a atteint 6 % de l'ensemble des maladies signalées chez les dindes par les vétérinaires du réseau, puis sa fréquence a diminué ces dernières années. Même si l'histomonose reste relativement peu fréquente dans les élevages de dindes, elle représente une préoccupation sanitaire majeure étant donné les fortes mortalités observées. L'histomonose est provoquée par un protozoaire flagellé, *Histomonas meleagridis* (McDougald, 2005). Certaines données épidémiologiques sur l'histomonose restent à élucider. Notamment, des formes kystiques d'*Histomonas meleagridis* ont été récemment mises en évidence à partir de cultures du parasite, mais sur le terrain la persistance d'*Histomonas meleagridis* dans des élevages atteints par la maladie n'a pour le moment pas été étudiée (Zaragatzki et al., 2010). L'objectif de cette étude était de rechercher les lieux de persistance d'*Histomonas meleagridis* dans l'environnement d'élevages atteints d'histomonose et de ses formes de persistance à partir d'analyses PCR *Histomonas meleagridis* et d'analyses parasitologiques. Il s'agit de données épidémiologiques indispensables à la mise en œuvre de mesures de lutte efficaces contre la maladie.

Matériel et méthode

Visite des élevages atteints d'histomonose et prélèvements

Les vétérinaires et les organisations professionnelles avicoles ont été informés du protocole de l'étude afin que l'unité Épidémiologie et

bien-être en aviculture et cuniculture du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané (Anses) soit averti des cas cliniques d'histomonose dans les élevages de dindes. Les visites des dix élevages ont lieu à la déclaration du cas clinique d'histomonose, puis toutes les semaines pendant au maximum huit semaines. Lors de chaque visite, des prélèvements sont réalisés à l'intérieur du bâtiment (15 fientes caecales et 5 caeca de dindes malades, 2 pédichiffonnettes, 1 chiffonnette, de la poussière, des ténébrions, de l'eau des abreuvoirs et en bout de ligne), dans le sas sanitaire (2 pédichiffonnettes et 2 chiffonnettes) et à l'extérieur du bâtiment (2 chiffonnettes de parois et 3 pédichiffonnettes). Un questionnaire épidémiologique est également renseigné.

Analyses PCR *Histomonas meleagridis*

Les prélèvements collectés sont analysés par la technique PCR temps réel développée et validée par le laboratoire Labofarm. Cette technique permet de détecter le protozoaire *Histomonas meleagridis*. Les résultats sont restitués selon la valeur des cycles seuils (Ct), inversement proportionnelle à la quantité d'ADN présente dans l'échantillon: Ct>40 : résultat négatif, 35<Ct<40 : résultat très faiblement positif (présence de traces d'ADN d'*Histomonas meleagridis*) et Ct<35 : résultat positif.

Analyses parasitologiques

Les échantillons PCR *Histomonas meleagridis* positifs sont examinés en parasitologie pour tenter de mettre en évidence par observation directe des formes de résistance du parasite. En plus d'examen microscopiques directs sur frottis frais, des colorations au bleu de méthylène et au lugol ont été réalisées. Les examens directs visaient à observer les éléments mobiles (flagellés) et les colorations étaient destinées à la mise en évidence de formes kystiques.

Résultats

Les cas d'histomonose

L'histomonose est apparue plus précocement dans les élevages de dindes de chair que de dindes futures reproductrices (Tableau 1). Les pourcentages de mortalité liés à la maladie ont varié de 1,5 % à 25 %. Dans les bâtiments, un seul sexe était atteint par la maladie. Cette situation pourrait s'expliquer par la séparation des sexes dans les bâtiments (un grillage ou une cloison) et par le mode de transmission directe du parasite entre dindes par absorption cloacale.

Tableau 1. Descriptif des 10 élevages de dindes atteints d'histomonose

N° élevage	Type d'élevage	Effectif mis en place	Sexe atteint	Âge en semaines	Mortalité en %
1	Chair	9000 mâles 7000 femelles	Mâles	3	9
2	Futur reproducteur	4880 femelles	Femelles	11	3,5
3	Futur reproducteur	1147 mâles 4240 femelles	Femelles	14	9,5
4	Futur reproducteur	2218 femelles	Femelles	14	25
5	Chair	4590 mâles 4190 femelles	Mâles	12	18
6	Chair	4896 mâles 4690 femelles	Mâles	6	1,5
7	Chair	6630 mâles	Mâles	8	20
8	Chair	4681 mâles 4161 femelles	Mâles	7	16
9	Futur reproducteur	405 mâles 4416 femelles	Femelles	12	8
10	Chair	6700 mâles	Mâles	6	21

Détection d'*Histomonas meleagridis* par PCR à l'intérieur des bâtiments

À l'intérieur des bâtiments, parmi l'ensemble des échantillons collectés, les prélèvements les plus fréquemment contaminés par *Histomonas meleagridis* sont les caeca (83.4 %), les fientes (58.3 %) et la poussière (57.9 %) (Figure 1). Dans les caeca, le parasite a été détecté par PCR jusqu'à 13 semaines après la déclaration du cas d'histomonose. Concernant les prélèvements environnementaux, la poussière est l'échantillon le plus contaminé. L'ADN d'*Histomonas meleagridis* a été détecté jusqu'à 7 semaines après le départ des dindes malades. *Histomonas meleagridis* a été détecté par PCR à partir des ténébrions dans trois élevages. Les ténébrions sembleraient donc peu porteurs du parasite. Le parasite a également été détecté dans deux échantillons d'eau des abreuvoirs prélevés dans deux élevages. L'eau des abreuvoirs serait probablement contaminée à partir des fientes caecales.

Détection d'*Histomonas meleagridis* par PCR dans les sas sanitaires

Dans les sas sanitaires, parmi les six élevages de dindes de chair, *Histomonas meleagridis* a été détecté avec des résultats positifs dans deux élevages et très faiblement positifs dans trois élevages. Parmi les quatre élevages de dindes futures reproductrices, *Histomonas meleagridis* a été détecté avec des résultats positifs dans deux élevages et très faiblement positifs dans les deux autres élevages. Le parasite semble donc pouvoir diffuser par les sas sanitaires.

Détection d'*Histomonas meleagridis* par PCR à l'extérieur des bâtiments

À l'extérieur des bâtiments, parmi les sept bâtiments dynamiques suivis dans l'étude, on retrouve *Histomonas meleagridis* dans six élevages avec des résultats positifs à partir des chiffonnettes réalisées au niveau des ventilateurs et dans trois élevages à partir de celles réalisées au niveau des trappes. Les bâtiments dynamiques possèdent des trappes d'admission de l'air dans les bâtiments et des ventilateurs permettant

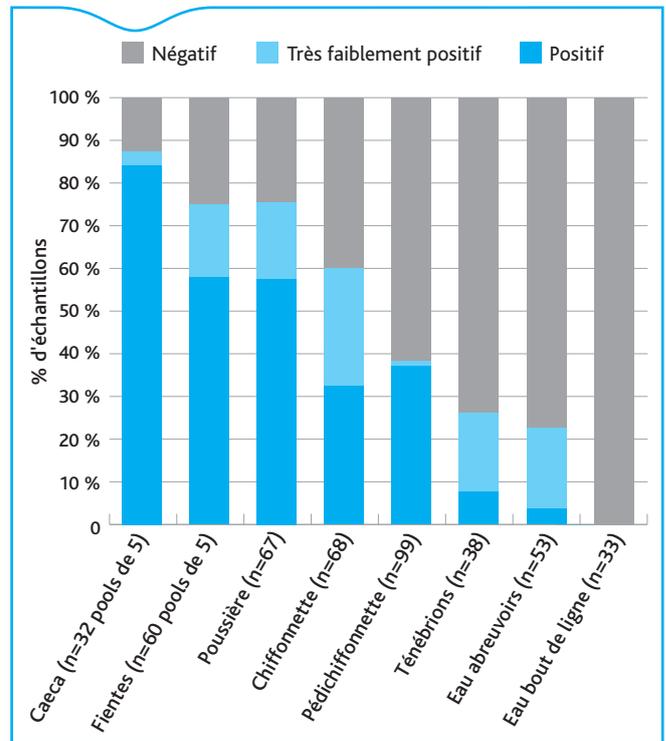


Figure 1. Répartition des résultats PCR des prélèvements collectés à l'intérieur des bâtiments (en %) (n = nombre d'échantillons analysés)

d'extraire l'air de ces derniers. Par ailleurs, pour les pédichiffonnettes réalisées à l'extérieur des bâtiments, on retrouve *Histomonas meleagridis* avec des résultats positifs autour des deux bâtiments dynamiques qui présentaient également les plus forts niveaux de contamination au niveau des ventilateurs. Le parasite a probablement pu être rejeté par les ventilateurs (dans la poussière contenant des particules de fientes) et ainsi être détecté sur le sol autour des bâtiments.

Les analyses parasitologiques

De nombreux flagellés et des formes pouvant faire penser à des formes kystiques ont été observés, mais il ne s'agirait pas d'*Histomonas meleagridis*. En effet, à partir des échantillons dans lesquels des formes suspectes ont été observées, les résultats PCR *Histomonas meleagridis* se sont avérés négatifs.

Discussion

Jusqu'à présent, lors de cas cliniques d'histomonose sur le terrain, *Histomonas meleagridis* était détecté par PCR à partir d'organes, essentiellement dans le foie et les caeca (Hafez *et al.*, 2005), de ténébrions (Huber *et al.*, 2007) et récemment à partir de mouches et de flaques d'eau boueuse à l'extérieur d'un bâtiment (Hauck *et al.*, 2010). Les résultats de notre étude montrent qu'il est également possible de détecter *Histomonas meleagridis* par PCR dans de nombreux prélèvements environnementaux pendant plusieurs semaines à l'intérieur des bâtiments, mais également dans le sas sanitaire et à l'extérieur des bâtiments, ce qui permet de préconiser des mesures de lutte adaptées pour mieux maîtriser la maladie. Un dépoussiérage complet du bâtiment apparaît essentiel pour éviter une récurrence de la maladie. Les mesures de biosécurité doivent être également renforcées pour éviter toute propagation du parasite, notamment par les sas sanitaires. Par ailleurs, récemment, des formes kystiques d'*Histomonas meleagridis* ont été mises en évidence à partir de cultures du parasite (Zaragatzki *et al.*, 2010). Dans notre étude, les analyses parasitologiques n'ont pas permis de mettre en évidence de formes kystiques d'*Histomonas meleagridis*. Les examens directs ou avec coloration semblaient inadaptés au regard de la diversité et de la richesse des formes observées. L'utilisation de marqueurs spécifiques d'*Histomonas meleagridis* permettrait d'identifier et d'observer spécifiquement d'éventuelles formes de résistance d'*Histomonas meleagridis*.

Conclusion

Cette étude a permis d'identifier les lieux de persistance d'*Histomonas meleagridis* dans l'environnement des élevages de dindes atteints d'histomonose et conduit à recommander un renforcement de certaines mesures sanitaires (dépoussiérage des bâtiments et mesures de biosécurité).

Références bibliographiques

- [1] Hafez, H.M., Hauck, R., Luschow, D., McDougald, L., (2005). Comparison of the specificity and sensitivity of PCR, nested PCR, and real-time PCR for the diagnosis of histomoniasis. *Avian Dis* 49, 366-370.
- [2] Hauck, R., Balczulat, S., Hafez, H.M., (2010). Detection of DNA of *Histomonas meleagridis* and *Tetratrichomonas gallinarum* in German poultry flocks between 2004 and 2008. *Avian Dis* 54, 1021-1025.
- [3] Huber, K., Gouilloud, L., Zenner, L., (2007). A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Histomonas meleagridis* (Protozoa: Sarcocystidophora). *Avian Pathol* 36, 279-282.
- [4] McDougald, L.R., (2005). Blackhead disease (histomoniasis) in poultry: a critical review. *Avian Dis* 49, 462-476.
- [5] Zaragatzki, E., Mehlhorn, H., Abdel-Ghaffar, F., Rasheid, K.A.S., Grabensteiner, E., Hess, M., (2010). Experiments to produce cysts in cultures of *Histomonas meleagridis* - The agent of histomoniasis in poultry. *Parasitology Research* 106, 1005-1007.

Brève. Émergence en France d'un nouveau variant pathogène de virus de la maladie hémorragique virale du lapin

Short item. Emergence in France of a new pathogenic variant of rabbit haemorrhagic disease virus

Ghislaine Le Gall-Reculé (1) (ghislaine.legall-recule@anses.fr), Françoise Zwingelstein (1), Samuel Boucher (2), Bernadette Le Normand (3), George Plassiart (4), Yves Portejoie (5), Anouk Decors (6), Stéphane Marchandeau (7)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan - Plouzané

(2) Labovet Conseil, Les Herbiers

(3) Clinique de Bretagne, Saint-Brice-en-Cogles

(4) Laboratoire d'anatomie pathologique vétérinaire de Metz

(5) Anjou Laboratoire

(6) ONCFS, Unité sanitaire de la faune

(7) ONCFS, Centre national d'études et de recherche appliquée (CNERA), Petite faune sédentaire de plaine

Mots clés : calicivirus, lapin, émergence virale / **Keywords:** calicivirus, rabbit, viral emergence

Depuis fin août 2010, d'importants épisodes cliniques de la maladie hémorragique virale du lapin (RHD), une maladie due à un calicivirus et létale pour les lapins de l'espèce *Oryctolagus cuniculus*, ont été décrits dans des élevages de lapins de chair du nord-ouest de la France, touchant le cheptel reproducteur et les lapereaux en engraissement. Dans plusieurs de ces élevages, le protocole de vaccination contre la RHD des femelles reproductrices était correctement suivi. À la même période et dans les mêmes régions, des mortalités parfois massives de lapins de garenne ont été enregistrées par le réseau de surveillance épidémiologique Sagir. Les analyses moléculaires réalisées mi-octobre à l'Anses au Laboratoire de Ploufragan - Plouzané ont permis d'identifier un virus RHD génétiquement différent de ceux identifiés jusqu'alors dans les pays où la RHD est présente. Son faible degré d'homologie et sa position phylogénique distante des différents groupes génétiques formés par les calicivirus pathogènes et non pathogènes du lapin connus à ce jour montrent que le virus découvert constitue un nouveau variant de virus RHD [1]. Le même virus est à l'origine des épizooties de RHD décrites dans la faune sauvage.

À ce jour, ce nouveau virus a été identifié dans plus d'une centaine d'élevages et dans plusieurs populations de lapins de garenne du grand ouest et de la moitié nord de la France. Son impact est toutefois contrasté en terme de taux de mortalité. Les lésions macroscopiques et microscopiques qu'il provoque évoquent clairement la RHD. Il semble en revanche que la protection croisée entre cette souche et les souches connues de RHD, y compris vaccinales, ne soit que partielle. Des collaborations nationales et internationales ont été établies, en particulier avec le laboratoire de référence de l'OIE de référence des caliciviroses des lagomorphes, pour déterminer la pathogénicité et le profil antigénique de ce variant, vérifier le niveau de protection croisée conférée par les vaccins et améliorer sa détection. En plus de l'acquisition de données moléculaires complètes qui permettront d'établir précisément les relations génétiques de ce variant et de contribuer à l'étude de l'évolution des calicivirus du lapin, une étude épidémiologique va être menée sur la faune sauvage pour suivre sa propagation et rechercher rétrospectivement sa présence dès 2009.

Référence bibliographique

- [1] Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Boucher S., Le Normand B., Plassiart G., Portejoie Y., Decors A., Bertagnoli S., Guérin J.-L., Marchandeau S. (2011). Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France. *Vet Record*, 168: 137-138.

Directeur de publication : Marc Mortureux
Directrice associée : Pascale Briand
Comité de rédaction : Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Anne Dufour, Françoise Gauthard, Pascal Hendriks, Paul Martin, François Moutou, Élisabeth Repérant, Julien Santolini
Rédacteur en chef : Didier Calavas
Rédactrice en chef adjointe : Anne Bronner

Secrétaire de rédaction : Sandrine Baron, Florence Lavissière
Responsable d'édition : Fabrice Coutureau
Assistante d'édition : Céline Leterg
Anses - www.anses.fr
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
Courriel : bulletin.epidemie@anses.fr

Conception et réalisation : Parimage
Photographies : Anses, Parimage, Fotolia
Impression : Bialec
95 boulevard d'Austrasie - 54000 Nancy
Tirage : 5000 exemplaires
Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018
n° 76226

