



Les risques émergents en industrie Agroalimentaire: problématique des virus alimentaires

CFIA Metz, le 20 octobre 2011
Joël CROCIANI





Qu'est-ce qu'un virus ?

- **Microorganisme de très petite taille**
 - De 18 à 400 nanomètres (Bactéries : 0,5-5 micromètres)

- **Génome constitué d'un seul type d'acide nucléique**
 - **ARN**
 - Enterovirus : diverses maladies dont gastro-entérites
 - Rotavirus : gastro-entérites infantiles
 - Norovirus : gastro-entérites
 - VHE, VHA : hépatites
 - **ADN**
 - Adenovirus : diverses maladies dont digestives

- **Multiplication via l'infection de cellules hôtes (réplication)**
 - Pas de multiplication dans l'aliment



Les entérovirus

→ Non enveloppés

- Résistance à la plupart des agents chimiques
- Résistance accrue au froid et à la chaleur

→ Transmission féco-orale

→ Disséminés par les selles ou les vomissures

- Titre viral élevé : 10^8 UFP/gramme (Norovirus)

→ Faible dose infectieuse

- 1 à 100 particules de virus



Favorise les épidémies



Les enterovirus les plus fréquemment incriminés dans les épidémies d'origine alimentaire sont les Norovirus (12-47%) et le Virus de l'Hépatite A (5%).



Norovirus

- **Famille des Caliciviridae**
- **Le genre Norovirus comprend 5 génogroupes parmi lesquels GI et GII concernent l'homme**
- **Virus responsable des gastro-entérites**
- **Symptômes**
 - **Délai d'apparition : 12 à 48 heures**
 - **Durée : 12 à 72 heures**
 - **Nature : vomissements, diarrhées, nausées, crampes et douleurs musculaires, maux de tête, fièvre modérée**
- **Pas de système de multiplication cellulaire**
- **Pas de vaccin**



Virus de l'Hépatite A

→ **Famille des Picornaviridae**

→ **Virus responsable de l'Hépatite A**

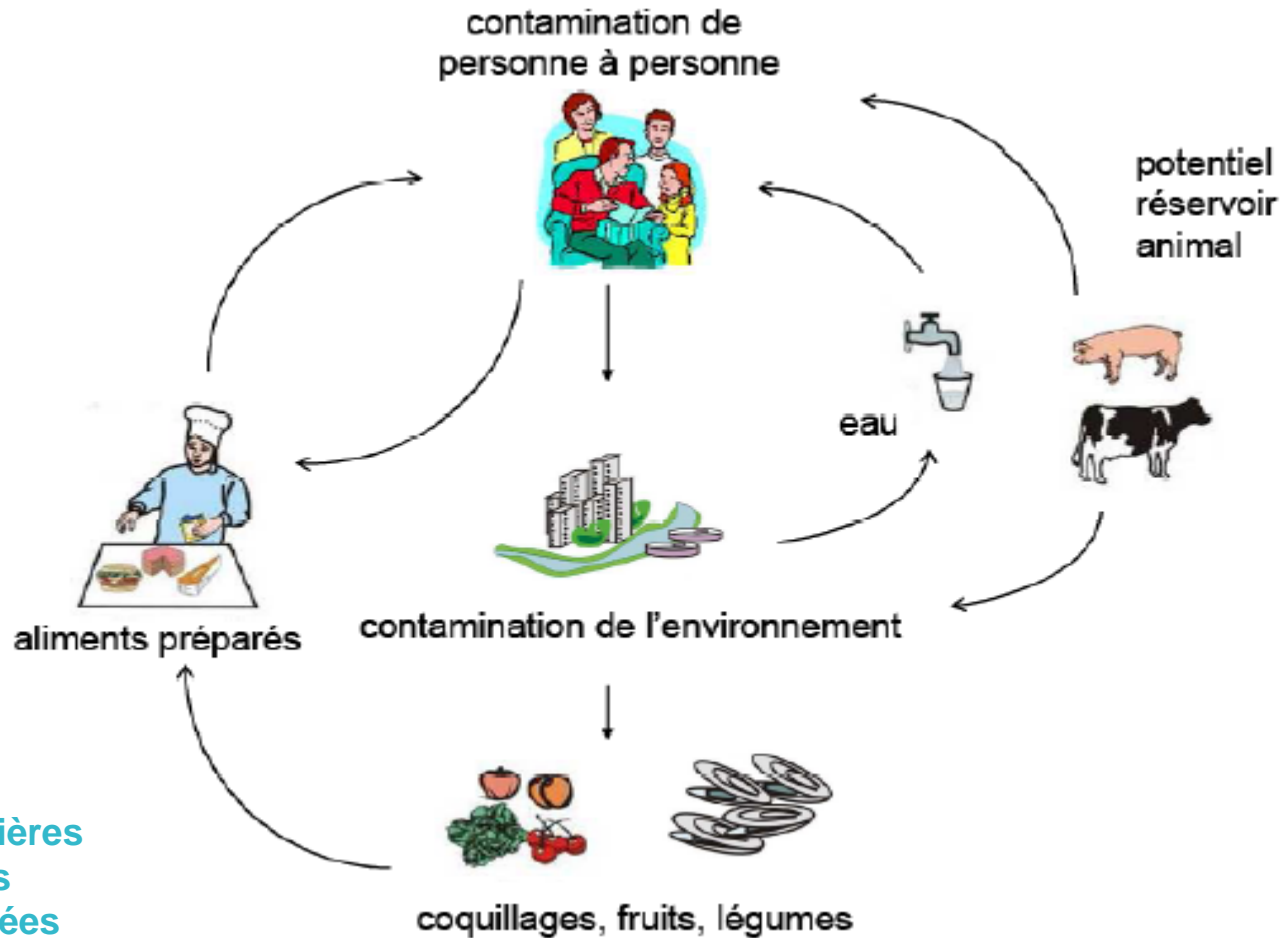
→ **Symptômes**

- **Délai d'apparition : 10 à 50 jours**
- **Durée : 2 semaines en moyenne (6 mois max)**
- **Nature : Fièvre, troubles digestifs, ictère, urines foncées, selles décolorées**

→ **Multiplication en culture cellulaire difficile**

→ **Vaccin disponible**

Cycle de contamination virale



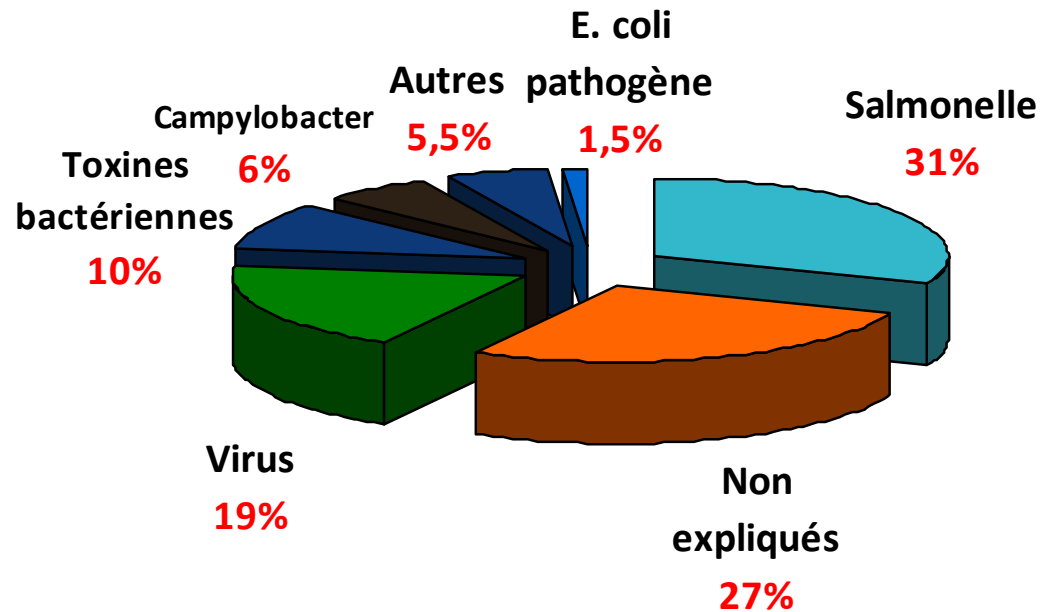
IAA : matières premières contaminées

Non respect des BPH

Union Européenne : 2^{ème} cause des TIAC



19% des TIAC



N = 5550

* Données issues du rapport EFSA 2009

TIAC causées par les virus, UE 2009



↗ **40% des TIAC
par rapport à
2007 et 2008**

**61,1% des
TIAC signalées
par la Lettonie**

Pays	Total foyers de TIAC (N)	Décès
France	77	0
Finlande	32	0
Allemagne	91	0
Italie	42	0
Lettonie	637	0
Lituanie	45	0
Suède	25	0
Royaume-Uni	19	2
TOTAL UE	1043	2

* Données issues du rapport EFSA 2009

Foyers TIAC, France 2009



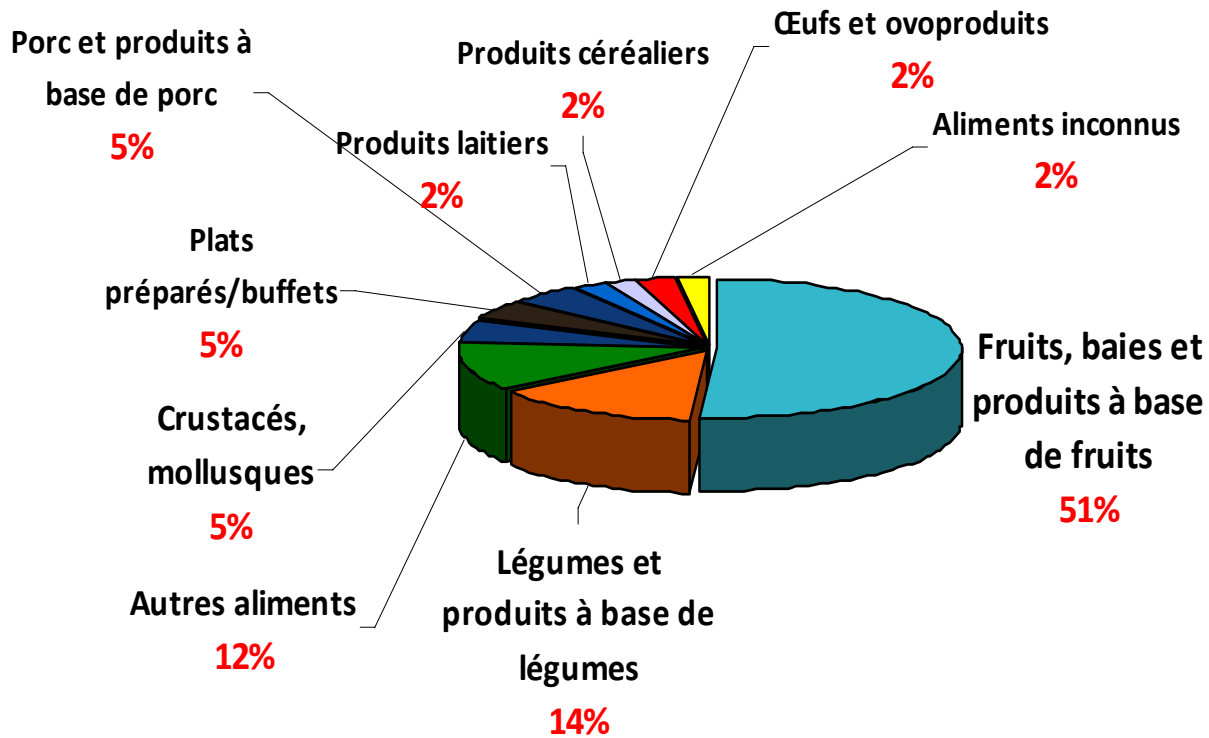
Agents pathogènes (confirmés + suspectés)	Foyers déclarés aux Ddass et DDSV en 2009		
	Nombre d'épisodes	Cas humains	Décès
Virus	76	2250	0
<i>Salmonelle</i>	143	1254	1
Toxines bactériennes	388	4238	5
<i>Campylobacter</i>	18	118	0
<i>Shigella</i>	6	44	0
Histamine	48	208	0
Autres pathogènes	53	367	0
Agents inconnus	523	5426	3
Total agents	1255	13905	9

* InVS, Surveillance des TIAC

Données de la DO 2009

Publication 03/2011

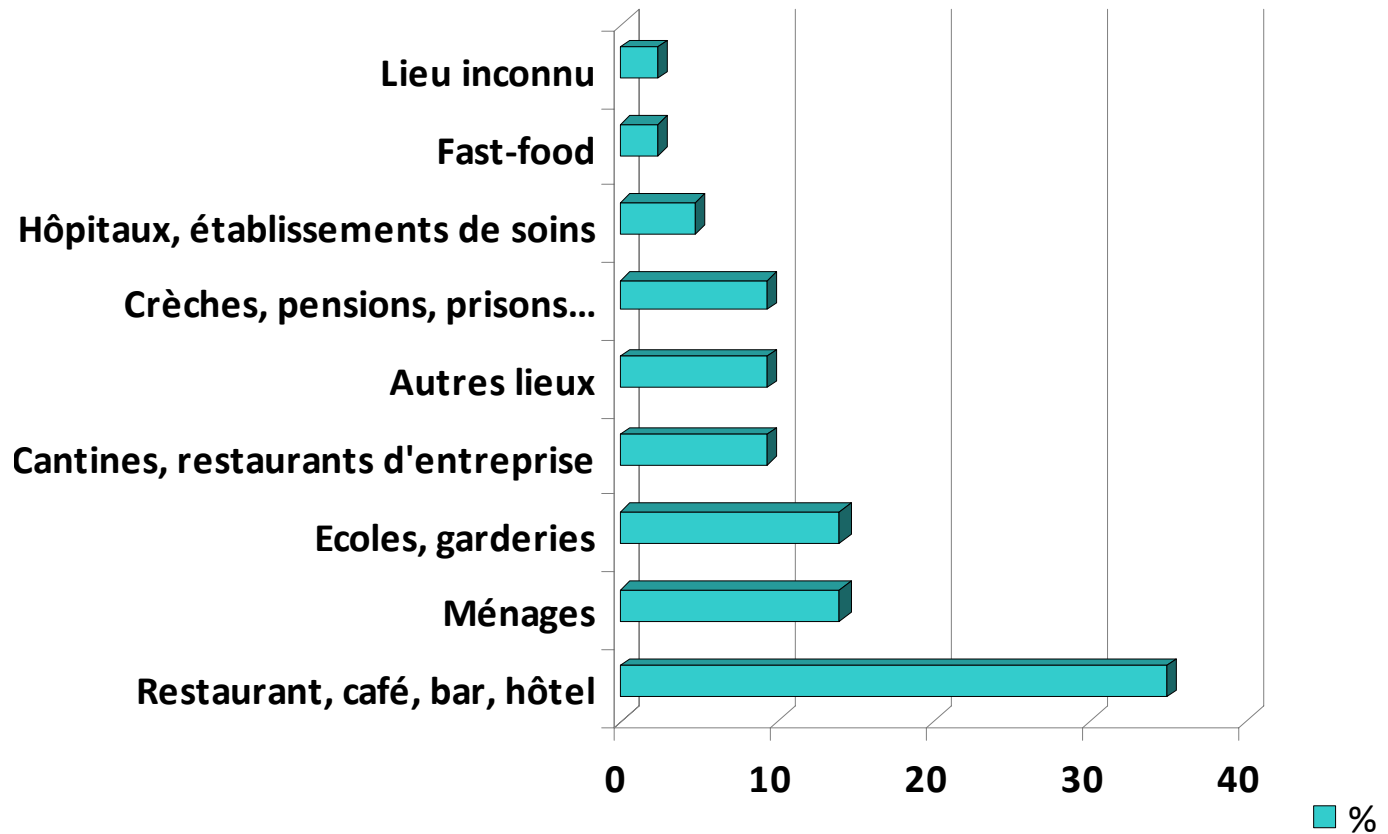
Familles d'aliments – TIAC causées par les Calicivirus (dont norovirus) UE 2009



N = 43

* Données issues du rapport EFSA 2009

Lieux d'occurrence – TIAC causées par les Calicivirus (dont norovirus) UE 2009



N = 43

* Données issues du rapport EFSA 2009



Alertes récentes en Europe Rapid Alert System for Food and Feed

- ❖ **Danemark, 10/2011 :** **Norovirus dans des framboises surgelées en provenance de Serbie**
- ❖ **Danemark, 10/2011 :** **Norovirus dans des fruits des bois en provenance de Belgique**
- ❖ **France, 03/2011 :** **Norovirus dans des moules en provenance des Pays-Bas**
- ❖ **Norvège, 03/2011 :** **Norovirus dans des huîtres en provenance des Pays-Bas**
- ❖ **Pays-Bas, 02/2011 :** **Virus de l'hépatite A dans des dattes en provenance d'Algérie**
- ❖ **Danemark, 02/2011 :** **Norovirus dans des framboises surgelées en provenance de Chine**

Epidémie Hépatite A France (Données InVS, BEH du 12 avril 2011)



Entre 2006 et 2009:

5101 cas d'hépatite A déclarés en France,
soit ~ **1275 cas/an.**

Janvier 2010 :

2 foyers d'hépatite A identifiés dans le Lot et les Hautes-Pyrénées via la déclaration obligatoire + autres cas dans d'autres départements identifiés par le CNR

- Investigation nationale
- **59 cas** identifiés dans **19 départements**
- Origine: consommation de **tomates semi-séchées dans sandwicheries d'une même chaîne.**
- Tomates semi-séchées importées de Turquie, fournisseur commun en France.



L'importation de produits alimentaires de pays de haute endémicité pour le VHA peut entraîner des épidémies dans des pays ayant une part croissante de leur population non immunisée.



Contexte réglementaire

→ Règlement européen (CE n° 2073/2005)

- « les denrées alimentaires ne doivent pas contenir de microorganismes ni leurs toxines ou métabolites dans des quantités qui présentent un risque inacceptable pour la santé humaine »
- « aucune denrée alimentaire n'est mise sur le marché si elle est dangereuse »

→ Concernant les virus, il n'y a toujours ni norme, ni règlement....mais recherche de virus suggérée dans le règlement 2073 :

- « Il conviendrait en particulier de fixer des critères applicables aux virus pathogènes dans les mollusques bivalves vivants si les méthodes d'analyse sont suffisamment développées. »

→ Les groupes de travail européen et français établissent ensemble une méthode standardisée...14



Contexte réglementaire

→ Groupe de travail européen (CEN/TG275/WG6/TAG4)

- Mise en place d'une méthode standard de détection et de quantification des virus alimentaires
- Virus concernés : NoV GI et GII, VHA
- Matrices concernées : coquillages, fruits, légumes, eau embouteillée
- Méthode comprend : prétraitement, concentration, extraction des acides nucléiques, détection et quantification par RT-PCR en temps réel avec amorces et sondes imposées spécifiques de chaque virus

→ Groupe miroir français existant (Afnor V08B)

→ Codex Alimentarius

- Directives concernant l'application des principes généraux de l'hygiène alimentaire au contrôle des virus dans l'alimentation
- Objectifs pour 2012 : NoV et VHA
- Matrices évaluées : ready-to-eat, mollusques, produits frais



Synthèse besoins

- **Valider les solutions de nettoyage et de décontamination**
- **Valider les Bonnes Pratiques d'Hygiène**
- **Analyser les matières premières (denrées à risques)**
- **Appliquer un plan d'autocontrôle pertinent aux vues des risques décrits**
- **Reconnaître toute poussée épidémique due à NoV et y réagir rapidement**
- **Que faire ?**
 - **Evaluer et quantifier les risques**
 - **Inclure les virus au plan HACCP**
 - **Analyser les risques**
 - **Appliquer des actions préventives, ou des actions correctives**
 - **Mesurer l'impact sur les actions correctives**
 - **Intégrer les résultats dans un plan d'amélioration continue**



Méthodes de mise en évidence d'un virus

→ Culture cellulaire

- Parasitisme absolu : multiplication au sein d'une cellule hôte
- La culture cellulaire est le seul moyen de mettre en évidence l'agent infectieux
- 3 systèmes possibles : animal, œuf embryonné, cultures cellulaires

→ Problème : virus entériques humains pas ou difficilement cultivables

→ Détection antigène

- ELISA, RIA

→ Problème : sensibilité, 10⁴ particules, problème de variabilité antigénique

→ Microscopie électronique

→ Problème : sensibilité de 10⁶ particules, nécessité œil d'expert



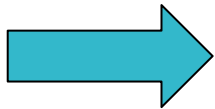
Biologie Moléculaire : RT-PCR

→ PCR : Polymerase Chain Reaction ou amplification génique

→ Basée sur :

- Utilisation d'une enzyme ADN polymérase ADN dépendante
- Sélection d'amorce oligonucléotidique
- Milieu réactionnel et conditions de température

→ Si ARN : nécessité de transcrire en ADNc par une reverse transcriptase



PCR en temps réel : plus rapide, plus sensible (sonde),
standardisable, quantification possible



L'offre Silliker (1)

- **Un laboratoire P2 dédié à la virologie alimentaire**
 - Cergy Pontoise

- **Une gamme de recherche ciblée par matrices**
 - Fruits et Légumes
 - Mollusques
 - Produits transformés
 - Epices et ingrédients
 - Surfaces
 - Eaux

- **Norovirus génogroupes I et II**
 - Détection et identification de Norovirus GI et GII
 - Quantification virus si positif

- **Virus de l'Hépatite A**
 - Détection et identification de Hépatite A
 - Quantification virus si positif



L'offre Silliker (2)

→ Plan d'échantillonnage

- **Produit**
- **Surface**
- **Eau**

→ Consulting and formation

- **Evaluation spécifique du risque**
- **Démarche HACCP spécifique**
- **Gestion de crise**
- **Consulting en cas de contamination**
- **Formation**

→ Recherche sous contrat

- **Validation de Process**
- **Evaluation efficacité de désinfectant**



Contacts Silliker

Christophe DUFOUR
Directeur Scientifique
06.84.52.06.50

Email : christophe.dufour@silliker.eu.com

Joël CROCIANI
Expert Projet Microbiologie
Email : joel.crociani@silliker.fr

Sophie PRADEILLES
Technicienne d'Encadrement
Email : sophie.pradeilles@silliker.fr