

# Investigation en cas d'épidémie de listériose\*

V. GOULET\*\*

**RESUME** *Listeria monocytogenes*, en contaminant les produits alimentaires de grande consommation, peut être à l'origine d'épidémies comme celles survenues en France qui ont concerné 279 cas en 1992 et 39 cas en 1993. Dans ces circonstances, l'investigation épidémiologique basée essentiellement sur des enquêtes cas-témoins permet d'orienter les investigations microbiologiques, de déterminer le ou les aliments (langue de porc de gelée en 1992, rillettes de porc en 1993) responsables, et de contrôler l'épidémie. Ces investigations épidémiologiques coordonnées par le Réseau National de Santé Publique, reposent sur une collaboration avec le Centre National de Référence à l'origine de l'alerte et avec les DDASS chargées d'enquêter sur le terrain. En 1993, l'identification du produit responsable de l'épidémie a permis de le retirer du marché avant la confirmation microbiologique et d'effectuer des recommandations auprès des groupes à risque. Cet article développe les différentes phases de l'enquête épidémiologique illustrées par les épidémies françaises de 1992 et 1993.

**Mots-clés :** *Listeria monocytogenes* - Epidémiologie - Santé publique - Epidémie - Enquête cas-témoin - Aliments contaminés.

La listériose est une infection bactérienne, due à *Listeria monocytogenes*, commune à l'homme et à l'animal. Cette bactérie suscite, depuis la mise en évidence de sa transmission par l'alimentation dans les années 80, un intérêt croissant de la part des scientifiques, des professionnels de la santé et de l'industrie agro-alimentaire. La listériose est une maladie rare mais grave dont l'incidence annuelle en France est de l'ordre de 1 cas pour 100 000 habitants et la létalité d'environ 30 % (1). Elle touche préférentiellement les sujets dont le système immunitaire est altéré : immunodéprimés, femmes enceintes et nouveau-nés, personnes âgées.

En dehors d'enquêtes épidémiologiques particulières (2), la surveillance de la listériose est assurée,

en France, par le centre national de référence (CNR, Institut Pasteur, Paris) (3). Son rôle est de centraliser et d'analyser les souches de *Listeria* provenant des laboratoires de microbiologie. La qualité de cette surveillance repose donc sur la diligence des microbiologistes à transmettre leurs souches au CNR (4). Les méthodes utilisées en routine par le CNR pour la caractérisation des souches sont le sérogroupage et le lysotypage. La surveillance réalisée par le CNR permet de dépister une augmentation inhabituelle du nombre de souches isolées chez l'homme (5). Le seuil d'alerte est difficile à établir car il dépend de plusieurs paramètres : rareté de la souche, nombre de cas observés, caractéristiques de ces cas, concentration géographique et évolution dans le temps. Le CNR exerce sa fonction d'alerte devant toute augmentation ou toute concentration géographique du nombre d'isolements de souches du même lysovar. Compte-tenu de la gravité de cette maladie et du nombre de sujets potentiellement expo-

\* Colloque Bellon, Paris, 17 mars 1995, sur "*Listeria monocytogenes* et sa pathologie".

\*\* Réseau National de Santé Publique, 14 rue du Val d'Osne - F-94415 Saint Maurice Cedex.

sés en cas de transmission par un produit alimentaire de grande consommation, une investigation épidémiologique est alors entreprise. Cet article a pour but d'exposer la méthodologie d'une investigation épidémiologique et de l'illustrer par l'exemple des 2 épidémies françaises de 1992 et 1993.

## METHODE D'INVESTIGATION

### Investigation épidémiologique

#### ETUDE DESCRIPTIVE

- *Définition de cas*

On considère comme un cas de listériose épidémique, tout sujet chez lequel une souche de *Listeria* du lysovar épidémique a été isolée. La définition peut être affinée lorsque d'autres techniques d'identification sont utilisées (ex: électrophorèse en gel pulsé, isoenzymes). Certains cas peuvent alors être exclus secondairement.

- *Caractéristiques des cas*

Les infections touchant les nouveau-nés et femmes enceintes sont dites materno-néonatales (MN). Lorsqu'une souche est isolée à la fois chez un nouveau-né et sa mère, on ne considère qu'un seul cas. Les infections survenant en dehors de tout contexte de grossesse (femme enceinte ou nouveau-né) correspondent à des cas non materno-néonataux (non MN). Pour les cas non MN, l'âge, l'existence d'une pathologie sous-jacente et la forme clinique de la listériose sont pris en compte. La gravité immédiate de l'épidémie est appréciée sur le nombre d'avortements, d'enfants mort-nés ou de décès.

- *Distribution des cas dans le temps et l'espace*

Ces distributions sont représentées sous forme de graphiques : courbe épidémique, carte. Elles s'expriment en taux d'incidence départementaux ou régionaux : nombre de cas épidémiques par rapport à la population du département ou de la région.

- *Enquête exploratoire*

Un interrogatoire sur la consommation d'aliments pouvant être contaminés par *Listeria* est effectué auprès des patients les plus récemment atteints. Cette phase exploratoire permet de formuler des hypothèses qui orienteront la phase initiale de l'enquête épidémiologique.

Au terme de cette étude descriptive, si une hypothèse concernant la source et le mode de transmission de l'épidémie se dégage, une enquête analytique est aussitôt mise en oeuvre. Cette enquête est débutée, même en l'absence d'hypothèse, si de nouveaux cas épidémiques sont recensés. La poursuite de l'épidémie suggère qu'un produit contaminé, à l'origine de ces cas, est toujours en circulation.

#### ETUDE ANALYTIQUE

La méthodologie repose sur l'enquête cas-témoin. Pour déterminer la source de l'épidémie et en identifier son véhicule, il ne suffit pas de connaître les aliments consommés fréquemment par les malades. Il faut que ces aliments soient moins fréquemment consommés par les sujets non infectés. Il est donc indispensable de comparer, pour chaque aliment, la fréquence de consommation des sujets atteints et des témoins non infectés. La force de l'association entre la consommation d'un aliment et la survenue d'une listériose (cas épidémique) est mesurée par l'odds-ratio. La précision de cette mesure est donnée par l'intervalle de confiance de l'odds-ratio.

Un ou plusieurs témoins sont appariés à chaque cas. L'appariement améliore la comparabilité entre les 2 groupes. Le témoin doit avoir la même probabilité que le malade d'avoir été exposé à la source de contamination. Son lieu de résidence doit donc être proche de celui du patient auquel il est apparié. Les témoins doivent avoir la même susceptibilité à la maladie. Les critères d'appariement incluent donc également des facteurs connus pour leur influence sur l'apparition de la maladie.

- Pour chaque cas MN :

- s'il s'agit d'une listériose chez une femme enceinte ou une listériose ayant provoqué un avortement, les témoins sont des femmes appariées sur le terme de la grossesse au moment de l'infection (+/- 4 semaines) et sur la maternité où la patiente a été hospitalisée.

- s'il s'agit d'une listériose chez un nouveau-né, les témoins sont des femmes enceintes ou ayant mis au monde un enfant dans la même maternité, à un terme identique (+/- 4 semaines). Dans les maternités importantes, les témoins sont également appariés sur le secteur géographique de résidence.

● Pour chaque cas non MN :

- s'il s'agit d'un patient avec une pathologie sous-jacente, les témoins sont appariés sur cette pathologie dans l'hôpital où a été identifié le cas de listériose sur l'âge (+/- 10 ans), et dans la mesure du possible sur le lieu de résidence ;

- s'il s'agit d'un patient sans pathologie sous-jacente, ils sont appariés sur l'âge (+/- 10 ans) et le lieu de résidence (+/- 30 km).

Le questionnaire est identique pour les patients et les témoins. Il porte sur tous les aliments connus comme susceptibles d'être contaminés par *Listeria monocytogenes*. Pour limiter les biais liés au recueil d'information, le patient et ses témoins doivent être interrogés par le même enquêteur. Pour améliorer la puissance de la comparaison il est possible d'apparier plusieurs témoins à chaque malade. Le nombre de témoins est choisi en fonction du nombre de cas disponibles et des informations recueillies lors de l'enquête descriptive.

L'investigation épidémiologique est effectuée sur le terrain par les médecins inspecteurs de santé publique et coordonnée par le Réseau National de Santé Publique (RNSP) (7).

### Investigation microbiologique

A l'exception des produits laitiers, il n'existe pas de normes microbiologiques concernant *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires. Toutefois, le producteur est tenu de mettre sur le marché des produits ne mettant pas en danger la santé des consommateurs. Le producteur doit donc prendre en compte le risque de contamination par *L. monocytogenes* et est ainsi dans l'obligation de mettre en place des systèmes de contrôle à la production. La détection de *L. monocytogenes* dépend de la taille de l'échantillon et de la fiabilité des méthodes d'analyse qui sont longues et coûteuses. Le développement récent de techniques d'identification rapides et moins coûteuses sont utiles à l'industriel pour analyser les points critiques des chaînes de fabrication des produits à risque. Toutefois, ces méthodes ne permettent pas de caractériser les souches alors que c'est un point important pour l'analyse épidémiologique. En outre, dans la majorité des cas, les souches de *Listeria* isolées lors des contrôles sur les lieux de production ne sont pas conservées, ce qui rend impossible une confrontation en cas de problème épidémique.

En situation épidémique, les prélèvements non orientés effectués pour rechercher la source de la contamination sont coûteux et non productifs. L'exemple suisse montre qu'il a fallu plusieurs années d'enquête pour identifier le vacherin comme véhicule d'une épidémie qui s'est poursuivie de 1983 à 1987 (6). Pour être opérationnelle, l'investigation microbiologique doit donc être guidée par l'interrogatoire des malades et les résultats de l'étude cas-témoins. En France, elle est effectuée sur les lieux de distribution par les agents des directions départementales de la consommation et de la répression des fraudes, sur les lieux de production et chez les patients par les agents des directions départementales des services vétérinaires.

### EPIDEMIE DE 1992 (8)

En 1992, 279 cas ont été identifiés à partir de la première définition de cas (infection à *L. monocytogenes* de lysovar 2389/2425/3274/2671/47/108/340). Ce lysovar était connu en France puisqu'il était régulièrement observé par le CNR sur des souches humaines. L'analyse par électrophorèse en gel pulsé a révélé qu'en fait, seulement 249 patients pouvaient être considérés comme infectés par la même souche. Dans cette épidémie, 33 % des cas étaient MN, 45 % des cas étaient non MN avec présence d'une pathologie associée, et 22 % des cas, non MN, sans pathologie sous-jacente. Au total, au décours de cette épidémie, ont été recensés 66 décès et 22 avortements. Cette épidémie a touché 79 départements et a duré 10 mois (figure 1) (8).

Au début de cette épidémie, l'enquête microbiologique a été centrée sur les produits laitiers, la souche incriminée étant du même lysovar que la souche à l'origine d'épidémies antérieures dues à la contamination de fromages [Californie : fromage frais de type mexicain (9), Suisse : vacherin (10)]. L'enquête cas-témoin initiale n'a pas permis d'identifier un aliment responsable, en particulier parmi les produits laitiers. Elle a cependant révélé que les sujets atteints consommaient plus fréquemment de la charcuterie que les témoins. L'enquête microbiologique a alors été orientée vers ces produits. La souche épidémique a été isolée sur différents produits de charcuterie impliquant plusieurs usines dont l'une produisant de

Epidémie de Listériose 1992		Nombre total de cas : 279	
nombre de cas MN : 92	nombre d'avortements : 22	nombre de décès : 7	
nombre de cas non MN avec terrain fragilisé : 125		nombre de décès : 51	
nombre de cas non MN sans terrain fragilisé : 62		nombre de décès : 8	

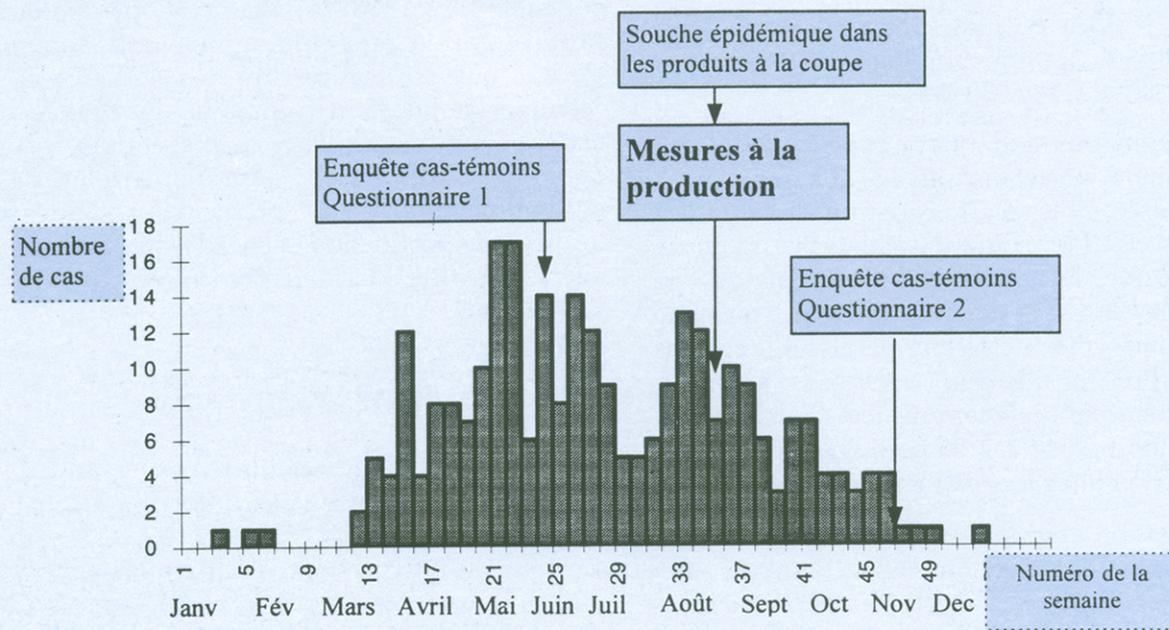


Fig. 1 : Epidémie de listériose à lysovar 2389/2425/3274/2671/47/108/340  
France : Mars - Décembre 1992

la langue de porc en gelée. Les mesures de désinfection dans cette usine ont donc été prises sur des arguments bactériologiques.

Un nouvel interrogatoire des malades et des témoins, prenant en compte tous les produits de charcuterie contaminés par la souche épidémique, a permis d'établir que la langue de porc en gelée était le véhicule majeur de l'épidémie. Une étude complémentaire sur les lieux d'approvisionnement habituels des malades et des témoins a permis de connaître la marque de la langue de porc en gelée qui y était vendue. L'analyse cas-témoin de cette information n'a mis en cause qu'une seule marque de langue de porc en gelée. Elle a également établi que certains patients s'étaient contaminés en consommant des produits de charcuterie vendus à la coupe dans un stand où la langue de porc en gelée de la marque incriminée était également présente (11).

En conclusion, l'enquête épidémiologique a été longue non pas par manque de puissance, le nombre de malades et de témoins interrogés étant important, mais parce que le véhicule majeur de l'épidémie, la langue de porc en gelée, ne figurait pas sur le premier questionnaire d'investigation. Bien qu'elle n'ait pas mis en évidence le véhicule de l'épidémie, l'enquête cas-témoin initiale a été essentielle en orientant les prélèvements microbiologiques vers les produits de charcuterie. L'épidémie s'est poursuivie avec une décroissance régulière du nombre des cas recensés au cours des 20 semaines suivant la mise en place de mesures de désinfection dans l'usine. Au moment où ces mesures ont été prises, aucun argument épidémiologique n'avait permis d'établir une relation de causalité. Il n'y a donc pas eu de recommandations concernant ce produit auprès du grand public.

## EPIDEMIE DE 1993

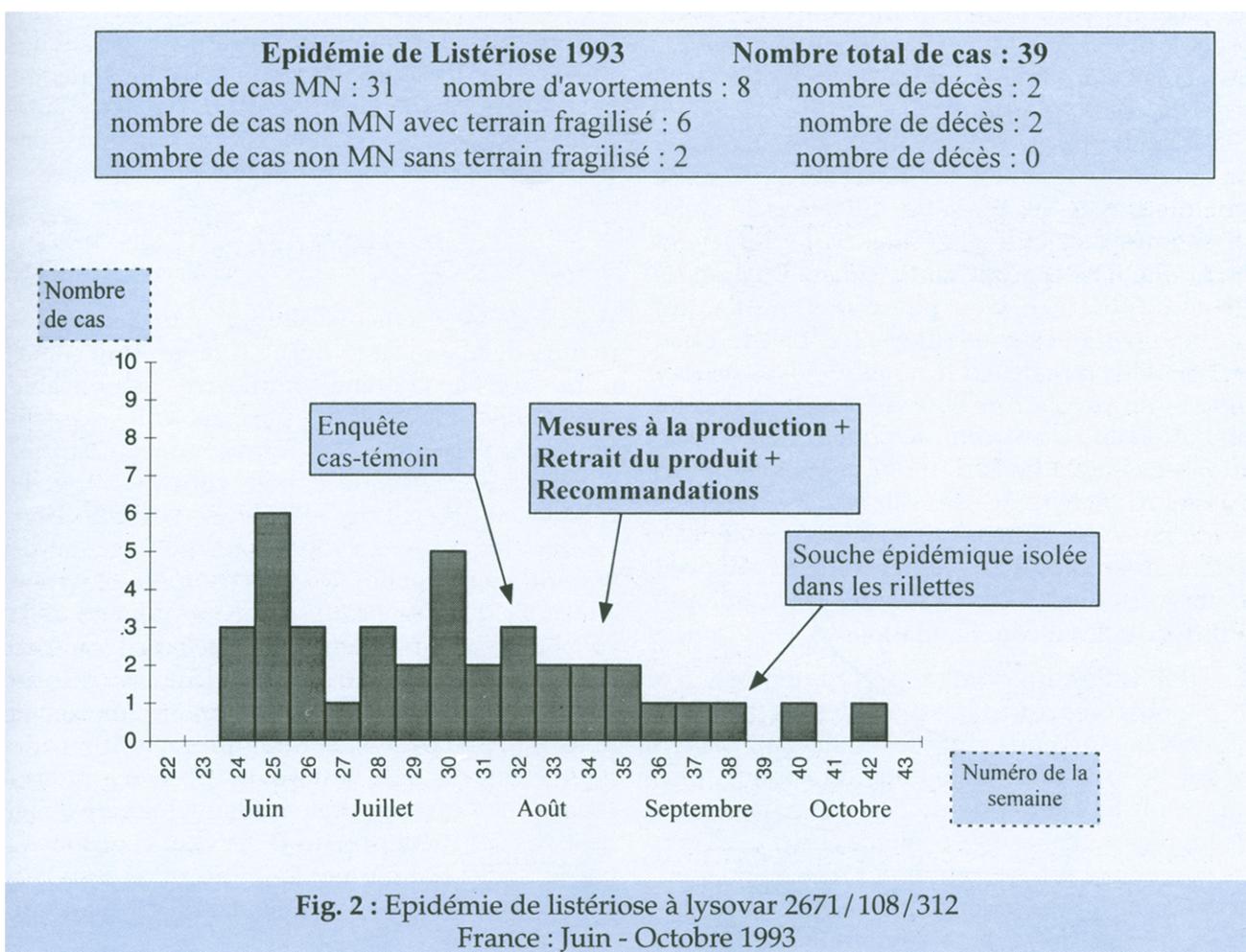
Le lysovar 2671/108/312 à l'origine de cette épidémie étant très rarement identifié, l'alerte a pu être donnée rapidement par le CNR. Quarante cas correspondant à la définition initiale ont été identifiés. L'un d'entre eux ne présentant pas le même profil de restriction en électrophorèse en gel pulsé a été exclu au cours de l'enquête. Dans cette épidémie, les formes MN étaient majoritaires (79 % des cas). Elle a donné lieu à 3 décès, 1 enfant mort-né et 8 avortements. Cette épidémie a touché 25 départements et a duré 4 mois (figure 2) (12).

Au cours de cette épidémie, la responsabilité des rillettes a été évoquée dès l'enquête exploratoire. Cette hypothèse étant très plausible et le nombre de cas épidémiques en progression, une enquête cas-témoin a été mise en place rapidement. Pour favoriser la puissance de cette étude, plusieurs témoins ont été appariés à chaque patient : 4 témoins pour les cas MN et 2 témoins pour les cas non MN.

En moins d'une semaine d'enquête, le RNSP a identifié 2 facteurs de risque : la consommation de rillettes de porc et l'achat de charcuterie dans un magasin d'une grande chaîne de distribution. Le risque apparaissait maximal pour les consommateurs de rillettes de porc achetées dans un magasin de cette chaîne de distribution.

Ces arguments épidémiologiques associés à l'isolement d'une souche épidémique sur les lieux de production des rillettes durant le mois précédant l'enquête, ont conduit le producteur en liaison avec les autorités sanitaires à suspendre la fabrication de rillettes et à procéder au retrait des pots commercialisés.

Des mesures d'accompagnement ont suivi cette décision de retrait du produit. Des panneaux d'information ont été placés dans les rayons de libre service de charcuterie des supermarchés concernés. Ils recommandaient aux consommateurs de rapporter les pots de rillettes de la marque incriminée. D'autre part, un communiqué



de presse émanant de l'administration recommandait aux femmes enceintes qui auraient consommé ce produit de consulter leur médecin en cas de fièvre.

La confirmation microbiologique, par l'isolement de la souche épidémique sur plusieurs pots de rillettes n'est intervenue que 3 semaines après la prise de décision de retrait des rillettes. L'analyse cas-témoin finale a montré que les rillettes de porc étaient le véhicule majeur de l'épidémie, mais que d'autres produits comme le pâté de foie et le paté de campagne ont également pu être à l'origine de certains cas.

Une évaluation de l'efficacité des mesures prises en cours d'enquête a été réalisée au terme de l'épidémie. Le nombre de cas de listériose évités a été estimé en fonction du nombre de cas observés par rapport à la quantité de rillettes produites pendant la période à risque. On peut ainsi considérer qu'environ 5 cas de listériose ont été évités par le retrait des 30 tonnes de rillettes de porc en pot.

Une décroissance brutale d'infection MN a été observée après que les recommandations aient été faites au grand public. Le retrait des rillettes de la vente ne peut expliquer la rapidité de cette décroissance puisqu'au moment du retrait, un certain nombre de femmes enceintes étaient en phase d'incubation de la maladie. En effet, le délai d'incubation, calculé chez des patientes ayant donné une date d'achat ou de consommation de rillettes de porc (et n'ayant pas consommé d'autres produits à risque) s'échelonne entre 10 et 42 jours. Il est possible de calculer le nombre de cas hebdomadaire de cas de listériose attendus dans cette population en tenant compte de la durée d'incubation de la maladie et du nombre moyen de cas observés avant le retrait des rillettes. Au lieu des 9 cas attendus pendant les 6 semaines suivant les recommandations, 4 cas materno-néonataux ont été observés durant cette période, ce qui montre l'utilité de telles recommandations.

Une diminution du nombre de cas non MN n'a pas été observée après le retrait des rillettes. Les premiers cas survenus avant le retrait concernaient des sujets, sans immunodépression connue, présentant un tableau clinique de méningite ou de méningo-encéphalite. Par contre les listérioses non MN survenues après le retrait des rillettes de porc, ont concerné des patients immunodéprimés, (3 cirrhoses et 1 insuffisant rénal) ou fragilisé (prothèse

de hanche). Une première hypothèse serait que les patients immunodéprimés ayant ingéré des aliments contaminés pendant la période à haut risque ont eu un portage digestif avec une bactériémie secondaire au moment d'une baisse de leur immunité. L'autre hypothèse serait que ces patients auraient consommé d'autres charcuteries produites par la même usine mais moins contaminées que les rillettes. L'inoculum présent dans ces produits aurait donc été insuffisant pour provoquer une infection chez une femme enceinte ou un sujet en bonne santé mais suffisant pour entraîner une bactériémie chez les sujets aux défenses immunitaires altérées.

En conclusion, l'investigation épidémiologique de ces 2 épisodes épidémiques a permis de guider les prélèvements microbiologiques et d'identifier le véhicule de l'épidémie (1992) ou de retirer du marché le produit à l'origine de l'épidémie avant la confirmation microbiologique de sa contamination (1993). En outre, l'investigation de 1992 a montré que la contamination croisée pouvait être à l'origine d'un nombre important de cas épidémiques. En 1993, l'investigation épidémiologique a montré que le nombre d'infections materno-néonatales pouvait être réduit par des recommandations appropriées auprès des femmes enceintes.

## CONCLUSION

A l'ère de la grande distribution et de la consommation de masse, la diffusion d'un produit contaminé sur le marché peut être responsable d'épidémies touchant des dizaines, voire des centaines de personnes. Le premier niveau de prévention de ce risque est un contrôle strict et régulier au niveau des structures de production. Le deuxième niveau repose sur un système de surveillance capable de détecter toute situation anormale. L'efficacité de ce système dépend de la collaboration la plus large possible avec les microbiologistes qui, en transmettant leurs souches au CNR, permettent de centraliser l'information et de détecter précocément une augmentation du nombre de cas de listériose. Le troisième niveau repose sur l'investigation épidémiologique effectuée par les médecins de DDASS et coordonnée par le RNSP, qui permet l'identification du véhicule de l'épidémie dont dépendent les mesures de santé publique.

## SUMMARY

## INVESTIGATION OF LISTERIOSIS OUTBREAKS

Contamination by *Listeria monocytogenes* of food products sold on a large scale can be at the origin of outbreaks such as in France in 1992 (279 cases) and in 1993 (39 cases). The investigation of these outbreaks was based on case-control studies which identified the major vehicles of the outbreaks (pork tongue in jelly in 1992, pork pâté in 1993). Detection of outbreaks are made by the National Reference Laboratory of listeriosis (Institut Pasteur, Paris) and the epidemiological investigation is coordinated by the Réseau National de Santé Publique. In 1993, the identification of the vehicle of an outbreak lead the manufacturer to recall the incriminated brand of pork pâté. During this outbreak, recommendations to pregnant women made by public health authorities reduced the number of expected cases. This paper illustrates the different phases of an epidemiological investigation through the example of the two French outbreaks of 1992 and 1993.

**Key-words :** *Listeria monocytogenes* - Epidemiology - Outbreak - Case-control study - Public health - Food-borne.

## REFERENCES

1. REBIERE I., GOULET V. - La listériose : revue générale et référence à l'épidémie française de 1992. Lettre Infectiol. 1993 ; VIII : 130-5.
2. GOULET V., BROHIER S. - La listériose en France en 1986. Recensement auprès de laboratoires hospitaliers. Pathol Biol. 1989 ; 37 : 206-11.
3. JACQUET Ch., MIEGEVILLE A.F., CATIMEL B. et coll. - La listériose humaine en France en 1991, 1992 et 1993. Bilan à partir des souches adressées aux centres nationaux de référence. Bull Epidémiol Hebdom. 1994 ; 28 : 123-5.
4. HUBERT B. - Les Centres Nationaux de Références. Une place importante dans la surveillance des maladies transmissibles. Rev Prat Méd Gén. 1990 ; 115 : 2257-62.
5. ROCOURT J., CATIMEL B., JACQUET Ch. et coll. - Epidémie de listériose. Apport de la microbiologie. Méd Mal Infect. 1992 ; 22 : 31-4.
6. BILLE J., GLAUSER M.P., MEAN F. et coll. - Listériose. Données épidémiologiques récentes relatives à la listériose humaine en Suisse. Bull Office Fédéral Santé Publique. 1986 ; 50 : 413-4.
7. Circulaire D.G.S/V.S/93 N° 55 du 25 août 1993 concernant les relations de l'Administration avec le Réseau National de Santé Publique. BEH. 1993 : 36.
8. GOULET V., LEPOUTRE A., ROCOURT J. et coll. - Epidémie de listériose en France - Bilan final et résultats de l'enquête épidémiologique. Bull Epidémiol Hebdom. 1993 ; 4 : 13-4.
9. LINNAN M.J., MASCOLA L., LOU X.D. et coll. - Epidemic listeriosis associated with Mexican-Style cheese. New Engl J Med. 1988 ; 319 : 823-8.
10. BILLE J., GLAUSER M.P. - Listériose en Suisse. Bull Office Fédéral Santé Publique. 1988 ; 3 : 28-9.
11. GOULET V., LEPOUTRE P., MARCHETTI P. et coll. - Epidemiologic implication of food cross-contamination in a nation-wide outbreak of listeriosis in France in 1992. Abstract n°1458. 33rd ICAAC, New Orleans, USA, 1993.
12. Epidémie de listériose à lysovar 2671-108-312 en France - Résultats préliminaires de l'enquête épidémiologique coordonnée par le Réseau National de Santé Publique. Bull Epidémiol Hebdom. 1992 ; 33 : 163.

